

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 583 690**

51 Int. Cl.:

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 21/55 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2010** **E 10782667 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016** **EP 2499492**

54 Título: **Sensor óptico**

30 Prioridad:

11.11.2009 GB 0919742

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

21.09.2016

73 Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
290 Concord Road
Billerica, MA 01821, US

72 Inventor/es:

GODDARD, NICHOLAS JOHN y
TAYLOR, PAUL

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 583 690 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

Sensor óptico

[0001] La presente invención se refiere a un sensor óptico y a un método de detección óptica.

5 **[0002]** Los sensores que son capaces de monitorizar interacciones biológicas con una alta sensibilidad y en tiempo real son de una gran importancia tanto en la investigación de las ciencias biológicas como en la industria. Existen varios sensores que monitorizan cambios en el índice de refracción (u otras propiedades ópticas) de una muestra biológica como resultado de interacciones moleculares. Dichos cambios en las propiedades ópticas de la muestra pueden medirse como un cambio en una propiedad de la luz que pasa a través de la muestra, tal como la intensidad.

10 **[0003]** En un sensor típico, la luz se acopla en un modo guiado de una guía de ondas óptica. Una onda evanescente asociada al modo guiado se extiende en una muestra biológica, que puede, por ejemplo, mantenerse en un gel o estar en forma líquida. En algunos sensores es posible ajustar la profundidad a la que la onda evanescente se extiende en la muestra biológica alterando el ángulo incidente en el que la luz se acopla a la guía de ondas. Si se produce un cambio en la muestra biológica entonces el índice de refracción de la muestra
15 biológica cambiará. Este cambio del índice de refracción es experimentado por la onda evanescente asociada al modo guiado. Los cambios que se producen en la muestra biológica pueden por lo tanto observarse monitorizando la luz que se emite desde el modo guiado de la guía de ondas óptica.

20 **[0004]** Es conveniente detectar contaminantes en el agua. Este es particularmente el caso del agua ultrapura, que puede, por ejemplo, utilizarse para ensayos químicos o inyecciones intravenosas. En este caso, no solo debe el agua estar libre de agentes biológicos tales como bacterias, sino que debe también estar libre de las endotoxinas que producen.

25 **[0005]** Algunos métodos para detectar bacterias en el agua detectan la acción de bacterias vivas y, por consiguiente, son insensibles a las endotoxinas. También son insensibles a las bacterias muertas o a las bacterias descompuestas. Otros métodos detectan la acción de enzimas que indican la presencia reciente de bacterias. Sin embargo, para que esto funcione las enzimas no deben haber sido desnaturalizadas. Es decir, deben funcionar todavía para que se pueda detectar su acción. Los dos métodos anteriores requieren normalmente la utilización de reactivos adicionales.

30 **[0006]** Es posible detectar endotoxinas utilizando métodos de la técnica anterior. Sin embargo, los métodos utilizados para detectar endotoxinas normalmente requieren condiciones controladas y la utilización de reactivos adicionales. Uno de dichos métodos implica la utilización de células sanguíneas de amebocitos de un cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*). Las células sanguíneas forman coágulos cuando se colocan en contacto con una endotoxina bacteriana, incluso en concentraciones muy bajas de endotoxinas. Los métodos anteriores para la detección de bacterias y endotoxinas son ineficientes y pueden resultar ineficaces en algunas circunstancias. Además, no se prestan a la monitorización continua del agua para buscar contaminantes.

35 **[0007]** Roche P J R *et al.*: "Multiple surface plasmon resonance quantification of dextromethorphan using a molecularly imprinted beta-cyclodextrin polymer: A potential probe for drug-drug interactions", *Sensors and Actuators B*, Elsevier Sequoia S.A., Lausanne, CH, vol. 139, n.º 1, 20 mayo 2009 (2009-05-20), páginas 22-29; da a conocer un sensor de resonancia de plasmones superficiales para la detección del dextrometorfano supresor de la tos común.

40 **[0008]** WO2007/109096 da a conocer un método de fotopolimerización para fijar una película de microsensor químico a una superficie de óxido que incluye las etapas de pretratamiento de la superficie de óxido para formar una superficie funcionalizada, revestimiento de la superficie funcionalizada con una solución de prepolímero y polimerización de la solución de prepolímero con luz ultravioleta para formar la película de microsensor químico. El método también permite la formación de películas impresas moleculares mediante fotopolimerización. La
45 formación de películas de detección multicapa y películas modeladas está permitida mediante la utilización de técnicas de fotoenmascaramiento para permitir el modelado de múltiples regiones de una película de detección seleccionada, o la creación de una superficie de sensor que contiene varias películas diseñadas para detectar diferentes compuestos.

50 **[0009]** US2007/00592111 da a conocer una película químicamente sensible para su utilización en un detector de TNT, donde la película químicamente sensible incluye una estructura polimérica porosa y una pluralidad de grupos funcionales básicos integrados en la estructura polimérica porosa, y los grupos funcionales básicos son selectivamente reactivos con el TNT. Las guías de ondas revestidas con estas películas pueden utilizarse en dispositivos de detección que son capaces de detectar de manera selectiva el TNT en una muestra. Se dan a conocer métodos para la fabricación de películas, guías de ondas y sensores.

[0010] WO2004/081572 da a conocer sensores activos de superficie que comprenden matrices de polímero funcional impresas hechas a medida para detectar especies químicas específicas de interés y una tecnología de impresión molecular iniciada superficial sin marcadores para aplicaciones en sensores activos de superficie.

5 **[0011]** US2004/0058380 da a conocer sensores de superficie molecularmente impresa fabricados para la detección de moléculas iónicas. Las moléculas objetivo se reconocen por la combinación de una interacción hidrófoba con la capa de polímero impresa para proporcionar especificidad y una interacción electrostática para proporcionar sensibilidad. Las técnicas de impresión de superficie de acoplamiento con un método de detección electroquímica, tal como la potenciometría, permiten el reconocimiento específico de moléculas objetivo y la traducción del acto de reconocimiento en una señal de salida por el sensor.

10 **[0012]** US6670286 da a conocer un método de fotopolimerización para fijar una película de microsensor químico a una superficie de óxido que incluye las etapas de pretratamiento de la superficie de óxido para formar una superficie funcionalizada, revestimiento de la superficie funcionalizada con una solución de prepolímero y polimerización de la solución de prepolímero con luz ultravioleta para formar la película de microsensor químico. El método también permite la formación de películas impresas moleculares mediante fotopolimerización. La formación de películas de detección multicapa y películas modeladas está permitida mediante la utilización de técnicas de fotoenmascaramiento para permitir el modelado de múltiples regiones de una película de detección seleccionada, o la creación de una superficie de sensor que contiene varias películas diseñadas para detectar diferentes compuestos.

20 **[0013]** Dickert F L *et al.*: "Synthetic receptors as sensor coatings for molecules and living cells", *Analyst*, Royal Society of Chemistry, GB, vol. 126, n.º 6, 1 junio 2001 (2001-06-01), páginas 766-771; da a conocer polímeros impresos molecularmente no covalentes aplicados como revestimientos sensibles a guías de ondas planas y dispositivos sensibles a la masa para la detección selectiva de varios grupos de analitos en las fases gaseosa y acuosa. La impresión de la cavidad en la mayor parte del material del sensor así como las técnicas de impresión de superficie se utilizan para enriquecer los analitos que van desde subnanómetros hasta micrómetros en tamaño de analito. Los dispositivos revestidos proporcionan sensibilidad a, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos policíclicos, derivados de xantina, muestras de café complejas y microorganismos enteros.

30 **[0014]** WO00/46589 da a conocer sensores de resonancia de plasmones superficiales que comprenden un chip sensor construido con conjuntos lateralmente integrados de unidades de chip sensor planas y un transductor óptico construido con conjuntos lateralmente integrados de unidades de transductor óptico plano. El chip sensor reemplazable está separado del transductor óptico por un hueco y con interconexiones ópticas perpendiculares entre el chip sensor y el transductor óptico. La óptica de enfoque y colimación y las áreas de detección están integradas en el mismo chip sensor, mientras que las interconexiones ópticas entre el chip sensor y el transductor óptico se basan en haces de luz colimados que inciden perpendicular a las interfaces. La óptica de enfoque comprende una combinación de un elemento óptico difractingo reflectante en la superficie superior y un espejo plano opcional en la superficie trasera de las unidades del chip sensor.

40 **[0015]** WO99/44042 da a conocer una estructura de guía de onda que comprende un medio que dispone de una capa de detección, una segunda capa de material que tiene un índice de refracción superior al del medio y un sustrato. La estructura define una guía de ondas capaz de soportar un modo óptico confinado en una capa de detección. El medio está adaptado para la realización de reacciones químicas o biológicas dentro del medio que darán lugar a un cambio de una propiedad óptica de la capa de detección de la guía de ondas. El grosor y los índices de refracción de las capas se seleccionan de manera que un modo óptico confinado en la capa de detección sufrirá sustancialmente reflexión antirresonante como consecuencia de la interfaz entre la capa de detección y la segunda capa y la interfaz entre la segunda capa y el sustrato. De manera alternativa, la guía de ondas puede comprender un medio de detección de índice bajo sostenido entre un superestrato y un sustrato cada uno de los cuales tiene un índice de refracción superior al del medio. La guía de ondas puede ser capaz de soportar dos modos, de manera que uno de los modos puede utilizarse como una referencia durante la medición de propiedades ópticas de un medio. La guía de ondas puede ser capaz de soportar un modo de guía de ondas de fuga, siendo la presencia del modo de guía de ondas de fuga indicada por un pico de luz devuelto de la guía de ondas.

50 **[0016]** Es conveniente superar o mitigar al menos uno de los inconvenientes anteriores.

[0017] De conformidad con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un sensor óptico que comprende una guía de ondas de modo de fuga que tiene una capa de detección que está impresa molecularmente de manera que recibirá y retendrá entidades objetivo a detectar, comprendiendo además el sensor óptico un aparato de detección dispuesto para detectar un cambio del índice de refracción de la guía de ondas de modo de fuga que se produce cuando las entidades objetivo se reciben y se retienen en la capa de detección.

[0018] La capa de detección puede comprender sitios de recepción que presentan formas que son adecuadas para la recepción de las entidades objetivo.

[0019] La capa de detección puede comprender sitios de recepción que presentan grupos funcionales que son complementarios a los grupos funcionales de las entidades objetivo.

5 [0020] La capa de detección puede ser porosa.

[0021] Las entidades objetivo pueden ser un compuesto organofosforado o una biomolécula, tal como ribonucleasa, que puede estar inactiva.

[0022] La guía de ondas puede incluir una capa de material que presenta un índice de refracción que es superior al índice de refracción de la capa de detección. La capa de material puede ser una capa de metal.

10 [0023] La capa de detección puede ser una capa de polímero. El polímero puede ser un polímero a base de carbono o silicio.

[0024] El sensor puede formar parte de un detector de contaminación que es parte de un sistema de purificación de agua.

15 [0025] De conformidad con un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método de detección óptica que utiliza un sensor óptico que comprende una guía de ondas de modo de fuga que presenta una capa de detección que está impresa molecularmente de manera que recibirá y retendrá entidades objetivo, comprendiendo el método la colocación de una parte del sensor en una trayectoria de flujo de fluido, fluyendo el fluido a fin de ponerse en contacto con al menos una superficie de la capa de detección, el acoplamiento de la luz en un modo guiado de la guía de ondas de modo de fuga de manera que la capa de detección reciba al menos una parte de la luz, y la monitorización de una propiedad de la luz emitida desde la guía de ondas de modo de fuga, cambiando la propiedad en el caso de que las entidades objetivo se reciban y se retengan en la capa impresa molecularmente y, por lo tanto, cambie el índice de refracción de la capa impresa molecularmente.

20 [0026] La capa de detección puede ser porosa con respecto al fluido en circulación, permitiendo de esta manera que el fluido fluya en la capa de detección.

25 [0027] La capa de detección puede comprender sitios de recepción que presentan formas que son adecuadas para la recepción de las entidades objetivo.

[0028] La capa de detección puede comprender sitios de recepción que presentan grupos funcionales que son complementarios a los grupos funcionales de las entidades objetivo.

30 [0029] La propiedad de la luz emitida que se monitoriza puede ser la intensidad de la luz y/o el ángulo en el que la luz se emite de la guía de ondas.

[0030] Las entidades a detectar pueden ser ribonucleasa, que puede estar inactiva.

[0031] El fluido puede ser agua.

[0032] Las entidades a detectar pueden ser un contaminante o un producto de un contaminante.

35 [0033] Otras características preferidas y ventajosas de los diversos aspectos de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción.

[0034] A continuación se describirán modos de realización específicos de la presente invención, a modo de ejemplo únicamente, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 es una vista transversal esquemática de un sensor óptico de conformidad con un modo de realización de la presente invención.

40 Las Figuras 2 y 3 son vistas transversales esquemáticas de una guía de ondas del sensor óptico que se muestra en la figura 1;

Las Figuras 4a, 4b y 4c son diagramas de un proceso utilizado para crear un polímero impreso molecularmente de conformidad con la presente invención.

45 La Figura 5 es un diagrama de un proceso mediante el cual una entidad objetivo es recibida por una cavidad de polímero molecular creada mediante el proceso que se muestra en las Figuras 4a a 4c;

La Figura 6 es un gráfico que muestra un primer esquema general de la relación entre la reflectividad de una guía de ondas y el ángulo en el que la luz es incidente en la guía de ondas;

La Figura 7 es un gráfico que muestra un segundo esquema general de la relación entre la reflectividad de una guía de ondas y el ángulo en el que la luz es incidente en la guía de ondas;

La Figura 8 es un gráfico que muestra un tercer esquema general de la relación entre la reflectividad de una guía de ondas y el ángulo en el que la luz es incidente en la guía de ondas;

5 La Figura 9 es un gráfico que muestra la diferencia entre la posición de un píxel pico y un píxel de referencia como una función de la concentración de una entidad objetivo a la que una guía de ondas está expuesta para dos guías de ondas independientes, una de las cuales comprende una capa de detección de polímero impresa molecularmente de conformidad con un modo de realización de la invención y la otra de las cuales comprende una capa de detección de polímero no impresa molecularmente;

10 La Figura 10 es un gráfico que muestra, como una función de la concentración de una exposición de entidad objetivo, la diferencia entre la posición del píxel pico utilizando una guía de ondas que comprende una capa de detección de polímero impresa molecularmente de conformidad con la presente invención y utilizando una guía de ondas que tiene una capa de detección de polímero no impresa molecularmente;

15 La Figura 11 es una vista transversal esquemática de la guía de ondas del sensor óptico que se muestra en las figuras 2 y 3 y un gráfico correspondiente del índice de refracción.

La Figura 12 es una vista transversal esquemática de una guía de ondas alternativa del sensor óptico y un gráfico correspondiente del índice de refracción.

20 La Figura 13 es un gráfico que muestra una primera respuesta de varias guías de ondas que pueden formar parte de un sensor óptico de conformidad con la invención, teniendo cada una de las guías de ondas una capa de polímero impresa molecularmente que ha sido revestida por rotación utilizando diferentes parámetros;

La Figura 14 es un gráfico que muestra una segunda respuesta de las guías de ondas de la figura 13;

La Figura 15 es un gráfico que muestra una primera respuesta de una guía de ondas, que puede formar parte de un sensor óptico de conformidad con la invención, en varias condiciones; y

25 La Figura 16 es un gráfico que muestra una segunda respuesta de la guía de ondas de la figura 15 en dichas varias condiciones.

30 **[0035]** Haciendo referencia a la Figura 1, un sensor óptico 10 comprende una guía de ondas 12 localizada en un prisma 14. La luz de una fuente de luz 16 se dirige hacia la guía de ondas 12 a través de una lente de colimación 18, un diafragma de apertura 20, una primer polarizador 22, una primera lente convergente 24 y el prisma 14. El polarizador 22 se utiliza para seleccionar una polarización adecuada de la luz. La luz entra en la guía de ondas mediante el prisma, que acopla la luz en la guía de ondas. Parte de la luz se filtra posteriormente de la guía de ondas 12 y pasa a través del prisma 14. La luz viaja desde el prisma 14 a través de una segunda lente convergente 26, un segundo polarizador 28 que está cruzado en relación con el primer polarizador 22 y en un detector 30. El detector 30 es un detector de intensidad lumínica tal como un conjunto de CCD o fotodiodo. Se puede utilizar cualquier detector de radiación adecuado. En algunos modos de realización, el segundo polarizador 28 puede omitirse.

40 **[0036]** La Figura 2 muestra parte de la guía de ondas 12 con más detalle. La guía de ondas 12 comprende una capa de detección 34 dispuesta sobre una capa de metal 38. La guía de ondas 12 está situada en comunicación de flujo con un conducto 32 a través del cual fluye un fluido 31 (flujo denotado por la flecha A). La capa de metal 38 está dispuesta sobre un sustrato 36. El sustrato, que puede por ejemplo estar formado a partir de cuarzo, puede unirse al prisma 14 (véase la figura 1). El prisma 14 puede utilizarse para acoplar la luz dentro y fuera de la guía de ondas 12. En algunos modos de realización, la capa de metal 38 tiene un grosor de 20 nm. Sin embargo, se puede utilizar cualquier grosor de capa de metal 38 adecuado. El grosor de la capa de metal 38 puede estar por ejemplo entre 0,5 nm y 200 nm.

45 **[0037]** La capa de detección 34 es una capa de polímero, que puede por ejemplo ser a base de carbono o silicio. Una ventaja de los polímeros a base de silicio, en comparación con unos a base de carbono similares, es que pueden producirse en presencia de aire. Esto no es posible utilizando polímeros a base de carbono porque reaccionan con el oxígeno en el aire. En concreto, si el polímero a base de carbono se forma mediante un proceso de polimerización de radical libre, entonces el oxígeno reaccionará con los radicales libres. Los polímeros a base de silicio pueden comprender, por ejemplo, siloxanos lineales o un sol-gel en forma de entramado.

50 **[0038]** Con el fin de ayudar en la comprensión de la forma en la que funciona la capa de detección 34, resulta instructivo considerar primero la manera en la que se fabrica la capa de detección. Una capa de polímero se

aplica por rotación mientras se encuentra en estado fluido (es decir, antes de que se endurezca) sobre la capa de metal 38. Durante el revestimiento por rotación, la tensión superficial en la mezcla de polímero fluido ayuda a asegurar que la superficie 40 de la capa de detección 34 sea sustancialmente plana. Esto ayuda a minimizar el ruido o las pérdidas de señales devueltas de la guía de ondas 12 durante su utilización (el ruido o las pérdidas pueden causarse por la dispersión debido a las imperfecciones en la superficie de la capa de detección). Se pueden utilizar métodos alternativos al del revestimiento por rotación para aplicar una capa de polímero a la capa de metal 38. Dichos métodos alternativos incluyen el revestimiento por inmersión, el revestimiento por pulverización y la impresión serigráfica.

[0039] Las Figuras 4a a 4c muestran de manera esquemática un proceso de impresión molecular que se produce en la capa de detección 34 durante su formación. En una primera etapa, mostrada en la figura 4a, entidades de una estructura similar o idéntica a las entidades a detectar se mezclan con una mezcla de monómeros y un disolvente, de manera que la mezcla está en un estado fluido. La mezcla de monómeros comprende al menos un tipo de monómero funcional y puede comprender también al menos un tipo de monómero de reticulación. El propósito de un monómero funcional dentro de una mezcla de monómeros es diferente al de un monómero de reticulación, como se analiza con más detalle a continuación. Las entidades que se mezclan con la mezcla de monómeros se denominan en el presente documento entidades modelo 42. Se ha comprobado que una relación adecuada en masa de los componentes de la mezcla de monómeros es 1:4:20 entidades modelo : monómero funcional : monómero de reticulación; y que una relación adecuada en masa de la mezcla de monómeros con respecto al disolvente es 3:4. Sin embargo, los expertos en la materia comprenderán que se puede utilizar cualquier otra relación adecuada de componentes de la mezcla de monómeros y de disolvente.

[0040] Como se menciona anteriormente, la mezcla de monómeros contiene monómeros funcionales 44, cada uno de los cuales incluye un grupo funcional 46. La mezcla de monómeros puede contener más de un tipo de monómero funcional. Cada tipo de monómero funcional tiene un grupo funcional diferente 46 (estos se representan de manera esquemática en la Figura 4a mediante formas diferentes). Los grupos funcionales 46 son complementarios a los grupos funcionales 48 de las entidades modelo 42. Aunque en la Figura 4a se muestran tres tipos de grupos funcionales 48 de entidades modelo, la entidad modelo puede tener cualquier número de tipos de grupos funcionales.

[0041] Los grupos funcionales de monómeros 46, en presencia de la entidad modelo 42, pueden interactuar con los grupos funcionales 48 de la entidad modelo correspondientes mediante cualquiera de los siguientes tipos de interacción reversible: (a) enlace(s) covalente(s) reversible(s), (b) grupos de unión polimerizables unidos de manera covalente que se activan para la interacción no covalente mediante escisión modelo, (c) interacciones electrostáticas, (d) interacciones hidrófobas o de van der Waals (tales como enlaces de hidrógeno), (e) coordinación con un centro de metal, (f) unión, que implica uniones covalentes y no covalentes, y (g) uniones semicovalentes, cuando el enlace inicial formado es covalente y la unión subsiguiente es no covalente.

[0042] Los grupos funcionales 46 de los monómeros 44 interactúan con los grupos funcionales correspondientes 48 de las entidades modelo 42, provocando que una pluralidad de monómeros 44 se disponga alrededor de cada entidad modelo 42 (como se muestra en la Figura 4a).

[0043] Los monómeros 44 pueden tener, por ejemplo, grupos funcionales amino y/o ácido carboxílico. Los monómeros funcionales posibles se pueden clasificar según el tipo, incluyendo acrílicos, alcoholes, alquinos saturados, aminas, arilo, ácidos carboxílicos, ésteres o éteres; o según la propiedad incluyendo ácidos (es decir, ácido metacrílico), neutros (es decir, estireno) o básicos (es decir, 4-vinilpiridina). A continuación se encuentra una lista de algunos monómeros funcionales comunes que pueden ser adecuados para utilizarse en la fabricación de una matriz de polímero impresa molecularmente: acrilatos (ácido acrílico (AA), ácido metacrílico (MMA, por sus siglas en inglés), trifluorometil ácido acrílico (TFMAA), metileno-2- ácido succínico (MSA, por sus siglas en inglés), N,N'-dimetilamino-etil metacrilato (DMA)), acrilamidas (acrilamida (AAm), 2-acrilamido-2-metil-1-propano ácido sulfónico (AMPSA, por sus siglas en inglés), N-(2-aminoetil)-metacrilamida (2AEMA) dietilaminoetil metacrilato (DAEMA)), estirenos (4-vinil ácido benzoico (4VBA, por sus siglas en inglés), 2-(4-vinilfenil)-1,3-propanodiol (4ES, por sus siglas en inglés), (4-vinilfenil(-metil amina N,N' ácido diacético (VPMADA, por sus siglas en inglés), N,N'-dietil-(4-vinil fenil) amidina (D4VPA, por sus siglas en inglés), 4-(1,4,7-triazacilononano-metil) estireno (4TCMS, por sus siglas en inglés), 4-vinil fenil ácido bórico (VPBA, por sus siglas en inglés)), piridinas e imidazoles (4-vinil piridina (4VP), 2-vinil piridina (2VP), 1-vinil imidazol (1VI), 4-vinil imidazol (4VI)).

[0044] Como se menciona anteriormente, la mezcla de monómeros puede contener también al menos un tipo de monómero de reticulación. Los monómeros de reticulación ayudan a evitar cualquier distorsión en la matriz de polímero a medida que se forma y ayuda, por lo tanto, a mantener la forma de cualquier estructura formada durante el proceso de impresión. Los polímeros de reticulación comunes que pueden utilizarse en la creación de una matriz de polímero adecuada impresa molecularmente incluyen: diemacrilato de etilenglicol (EDMA, por sus siglas en inglés), p-divinilbenceno (DVB), N,N'-etilenbis(prop-2-eneamida) (EPEA), tetraetoxisilano (TEOS),

trimetilolpropano trimetacrilato (TRIM), N,N'-metilen bisacrilamida (MBA), p,p'-diisocianatodifenilmetano (DIDM), bisacrilolo piperazina (BAP) y N,N'-metilen diacrilamida (metilbisacrilamida).

5 **[0045]** El disolvente, que también puede conocerse como un porógeno, puede disolver todos los componentes de la mezcla de monómeros. Una de las funciones del disolvente es generar poros dentro del polímero fabricado. Como tal, el disolvente puede afectar a la estructura del polímero resultante. Por ejemplo, el acetoneitrilo como disolvente en las redes de acrilato produce una estructura más macroporosa que el cloroformo. Los disolventes adecuados pueden incluir: tolueno, cloruro de metileno, cloroformo, acetoneitrilo, ácido acético, metanol, etanol, dimetilformamida y agua. Estos se pueden utilizar individualmente o en combinación unos con otros.

10 **[0046]** En ciertas exposiciones puede ser conveniente incluir aditivos adicionales en la mezcla de monómeros. Por ejemplo, se puede incluir un plastificante para reducir la temperatura de transición vítrea del polímero resultante y, por consiguiente, disminuir la viscosidad interna, aumentando, de este modo, su flexibilidad en volumen.

15 **[0047]** En una etapa siguiente, mostrada en la figura 4b, la mezcla de monómeros 44 se polimeriza y se reticula con las entidades modelo 42 *in situ*. Esto forma una matriz de polímero sólida 50 que contiene una pluralidad de cavidades 52 que tienen un tamaño y configuración que es capaz de recibir las entidades modelo 42 y, por lo tanto, las entidades a detectar. Un ejemplo de un proceso de polimerización que puede utilizarse es la polimerización por radicales libres. Sin embargo, se puede utilizar cualquier proceso de polimerización adecuado, como comprenderá un experto en la materia.

20 **[0048]** En el caso de la polimerización por radicales libres, la polimerización se inicia por la adición de un compuesto iniciador, que en condiciones específicas da lugar a radicales libres. Las condiciones requeridas pueden, por ejemplo, ser un cambio térmico o un cambio fotoquímico como resultado de la irradiación del iniciador. Cuando el iniciador está implicado en una reacción fotoquímica debido a la irradiación, se conoce como un fotoiniciador. En algunos casos, el cambio en las condiciones provoca una escisión de enlace unimolecular del iniciador para producir radicales libres. En otros casos, el iniciador está implicado en una reacción biomolecular en la que un estado excitado del iniciador interactúa con una segunda molécula (un coiniciador) para generar radicales libres. Un ejemplo de iniciador de radicales libres térmico es alfa, alfa'-azoisobutironitrilo (AIBN) y un ejemplo de fotoiniciador es 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA, por sus siglas en inglés).

30 **[0049]** La gama de iniciadores de radicales libres es amplia y se puede utilizar cualquier iniciador adecuado. La elección del iniciador puede depender de muchos factores entre los que se incluye la solubilidad del iniciador en un disolvente concreto o su proceso de descomposición. El proceso de descomposición puede tener una relevancia particular si el proceso de descomposición es sensible a temperaturas que son similares a las que se realiza la mezcla de monómeros 44 con las entidades modelo 42. Por ejemplo, si el proceso de descomposición de un iniciador tiene una energía de activación que es demasiado baja, entonces puede darse la producción prematura de radicales libres y, por consiguiente, la polimerización, antes de que los monómeros hayan interactuado con las entidades modelo. La polimerización prematura no es deseable puesto que puede significar que las cavidades 52 no están formadas correctamente y, por lo tanto, el polímero no está impreso con las entidades modelo 42. Esto puede hacer que las cavidades 52 no puedan recibir las entidades a detectar.

40 **[0050]** El iniciador se puede escoger de manera que tenga un enlace débil que, cuando se rompe, produce radicales libres (el término "enlace débil" debe interpretarse en el sentido de un enlace que es más débil que los enlaces (u otras interacciones) entre las entidades modelo 42 y los monómeros 44). Cuando esto ocurre, la energía utilizada para iniciar la polimerización mediante la producción de los radicales libres no romperá ninguno de los enlaces (u otras interacciones) entre los monómeros 44 y las entidades modelo 42.

45 **[0051]** Como entenderán los expertos en la materia, se pueden utilizar muchos tipos de radicales libres. Una vez que el iniciador produce los radicales libres, el proceso de polimerización continúa de una manera convencional. Los radicales libres convierten algunos de los monómeros en radicales (eliminando electrones de los mismos), que pueden a continuación unirse con otros monómeros para crear radicales de cadena más grande. Estos a su vez pueden reaccionar entonces de manera adicional con otros monómeros o radicales de cadena y así sucesivamente en forma de cascada. La reacción en forma de cascada puede terminarse de diversas maneras, la más común de las cuales es la reacción de dos radicales entre sí. La química de la polimerización por radicales libres es muy conocida en la técnica y, por consiguiente, no se incluyen detalles adicionales en el presente documento.

55 **[0052]** La descripción anterior se refiere a la utilización de monómeros orgánicos en la creación del polímero impreso molecularmente. Como se menciona anteriormente, también es posible crear el polímero utilizando monómeros inorgánicos, por ejemplo, monómeros alcóxidos de silicio. Dichos monómeros adecuados incluyen: tetraetoxisilano (TEOS), 3-aminopropiltriethoxisilano (APTES), 3-metacriloxipropiltrimetoxisilano y 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (MEMO/TMSM), metiltrimetoxisilanos (MTMOS), fenil trimetoxisilano (PTMOS, por sus siglas en inglés), tetrametoxisilano (TMOS), metiltriethoxi-silano (MTEOS), (3-glicidoxipropil) trimetoxisilano

(GPTMS), viniltrietoxisilano (VTEOS), feniltrimetoxisilano (TMPS, por sus siglas en inglés), etiltrimetoxisilanos (ETMOS) y butiltrimetoxisilanos (BTMOS). Los polímeros producidos por estos monómeros se denominan sol-geles. Se ha demostrado que controlando el pH y el volumen del disolvente (generalmente agua) utilizado en la mezcla de monómeros, es posible afectar a la porosidad del sol-gel resultante. Por ejemplo, la utilización de una mezcla de monómeros que contiene un volumen elevado de agua que tiene un pH alto producirá un material más poroso. Ejemplos de mezclas de monómeros que se pueden utilizar (y la relación entre cantidades de cada monómero) incluyen: TEOS: H₂O: Etanol (1:4: 4) y TEOS: APTES: PTMOS, (30 : 1:1,5).

[0053] Para crear un sol-gel, se realiza la mezcla de monómeros para experimentar una reacción de hidrólisis y una reacción de condensación. Se puede utilizar un catalizador como parte de la reacción de hidrólisis. El tipo de catalizador utilizado puede influir en la estructura del sol-gel resultante. Por ejemplo, utilizar HF en lugar de HCL como catalizador promueve unos tiempos de gelificación más rápidos y/o poros más grandes en el sol-gel resultante.

[0054] Se puede utilizar cualquier disolvente adecuado en la mezcla de monómeros. Entre los disolventes adecuados se incluyen: agua, n-heptano, tetrahidrofurano (THF), metanol (MeOH), hidróxido de amonio (NH₄OH), etoxietanol, etanol, dodecilbenceno, acetonitrilo, acetona y diclorometano.

[0055] Una vez que se ha creado el sol-gel, éste debe secarse. El proceso de secado puede afectar a la estructura del sol-gel final, puesto que el secado puede causar contracción. Si la contracción es sustancial, puede afectar a la capacidad del sol-gel para recibir entidades objetivo. Se pueden añadir diversos aditivos a la mezcla de monómeros para controlar la velocidad de secado y reducir, de este modo, la probabilidad de que se produzca contracción sustancial durante el secado. Estos aditivos, que se conocen generalmente como aditivos químicos para el control del secado (DCCA, por sus siglas en inglés), pueden por ejemplo ser formamida, dimetilformamida (DMF), acetonitrilo o ácido oxálico. También se pueden utilizar surfactantes. El secado se puede llevar a cabo en un entorno de presión controlada.

[0056] En la figura 4c se muestra una etapa final que es común tanto a los polímeros orgánicos como a los no orgánicos. En esta etapa final, las entidades modelo 42 se eliminan (por ejemplo, mediante enjuague) de la matriz de polímero 50. Esto se puede realizar de diversas maneras. Por ejemplo, se puede utilizar un disolvente para aumentar el polímero 50 y, por lo tanto, aumentar el tamaño de las cavidades 52, permitiendo de esta manera que las entidades modelo 42 se enjuaguen. Tras el secado (eliminación del disolvente del polímero 50), las cavidades 52 pueden volver a su tamaño original (es decir, su tamaño antes de que el polímero se hiciera aumentar mediante el disolvente). De manera alternativa, las entidades modelo 42 pueden descomponerse y enjuagarse. Un reactivo adecuado para descomponer las entidades objetivo de tipo proteína 42 puede ser la proteasa. Se puede utilizar un ácido fuerte que no daña la estructura del polímero para descomponer las entidades objetivo 42. Un reactivo de este tipo que se ha comprobado que funciona es una mezcla 1:9 de ácido acético y metanol en la que se deja que se empape la matriz de polímero 50 durante dos horas.

[0057] Otros métodos que pueden utilizarse para eliminar las entidades modelo 42 de la matriz de polímero 50 incluyen: el lavado del polímero 50 con un fluido que compite de manera más alta por al menos uno de los grupos funcionales de las entidades modelo 42 que el polímero; la exposición del polímero 50 a un agente que provoca que el enlace entre las entidades modelo 42 y la matriz de polímero 50 se escinda; y la exposición del polímero 50 a un agente que provoca que el enlace entre las entidades modelo 42 y la matriz de polímero 50 se destruya.

[0058] Los polímeros a base de silicio tienden a ser más duros, menos porosos, menos elásticos y menos flexibles que los polímeros a base de carbono similares y por este motivo puede resultar más difícil enjuagar las entidades modelo 42 de los polímeros a base de silicio que de los polímeros a base de carbono. Sin embargo, la longitud de las cadenas utilizadas para formar los polímeros a base de silicio puede seleccionarse de manera que haya una flexibilidad suficiente presente en el polímero para permitir que las entidades modelo 42 se enjuaguen del mismo.

[0059] Después de que las entidades modelo se hayan eliminado de la matriz de polímero 50, la matriz de polímero se puede secar (por ejemplo a temperatura ambiente al vacío).

[0060] Después de haber eliminado las entidades modelo 42, el polímero 50 se queda con una pluralidad de cavidades 52 que contienen una disposición de grupos funcionales 46 que es complementaria a la forma y la disposición de los grupos funcionales de la entidad a detectar. Cada cavidad 52 y sus grupos funcionales correspondientes 46 se denomina en lo sucesivo un sitio de recepción 54.

[0061] El proceso de impresión molecular, particularmente la polimerización y la mezcla de monómeros, puede realizarse a una temperatura que es lo suficientemente baja para que poca o ninguna energía térmica esté disponible para revertir las interacciones una vez se han producido entre los monómeros funcionales 44 y las entidades modelo 42. La inversión de estas interacciones no es deseable puesto que provocará la formación de sitios de recepción 54 que son menos capaces de recibir de manera selectiva entidades objetivo 56. Por este

motivo, la polimerización puede por ejemplo iniciarse utilizando luz ultravioleta en vez de utilizar un aumento de temperatura.

[0062] Los siguientes son ejemplos específicos de técnicas para fabricar una capa de detección de polímero impresa molecularmente:

- 5 **[0063]** En cada uno de los siguientes ejemplos, la capa de metal 38 se limpia antes de la formación de la capa de detección de polímero. La limpieza es un proceso de múltiples etapas en el que el sustrato 36 y la capa de metal 38 se lavan secuencialmente en baños que contienen diferentes soluciones, cada uno durante un periodo de 30 minutos. La secuencia de solución utilizada es: 2 % en volumen de limpiador neutro (tal como SODOSIL®) en solución acuosa, agua desionizada, isopropanol, agua desionizada, etanol, agua desionizada en un baño ultrasónico, hidróxido de sodio, agua desionizada, ácido clorhídrico 1 M y finalmente agua desionizada. El sustrato 36 se seca a continuación en una atmósfera de nitrógeno.

Ejemplo 1

- 15 **[0064]** Un sustrato de sello (no mostrado) se limpia de conformidad con el método descrito anteriormente. El sustrato de sello se incuba a continuación en una solución que contiene las entidades objetivo 42. En este ejemplo, las entidades objetivo son RNasa A. La solución de RNasa A es una solución salina tamponada con fosfato que contiene 0,05 mg/ml de RNasa A. El sustrato de sello se expone a la solución de RNasa durante dos horas a temperatura ambiente. El sustrato de sello revestido se seca a continuación en una atmósfera de nitrógeno. En algunos modos de realización, el sustrato de sello revestido de RNasa puede posteriormente revestirse de manera adicional con una capa de azúcar protectora. Un azúcar adecuado para este fin es un disacárido, una solución 1 M del cual, por ejemplo, se puede aplicar por rotación sobre la RNasa. La capa de azúcar protectora ayuda a mantener la forma de la RNasa, mejorando de esta manera la estructura de cualquier polímero resultante impreso molecularmente.

- 25 **[0065]** Se crea una mezcla de monómeros en la que se mezclan monómeros de reticulación EGDMA, TEGDMA PEG400DMA y/o PEG600DMA con monómeros funcionales 4VP, MMA y/o SM. A continuación se añade fotoiniciador DMPA a la mezcla de manera que es aproximadamente 0,5 % de la mezcla de monómeros en peso. Se pipetea cuatro microlitros de la solución de monómero sobre una superficie limpiada de manera adecuada, por ejemplo, la de un portaobjetos de vidrio limpiado de conformidad con el método descrito anteriormente. El sustrato de sello revestido se pone a continuación en contacto con la mezcla de monómeros, primero en un ángulo pequeño (inferior a 15°) para evitar atrapar burbujas, y después se aplana. De esta manera, la mezcla de monómeros se fusiona con las entidades objetivo que están revestidas sobre el sustrato de sello. El portaobjetos de vidrio, la mezcla de monómeros y el sustrato de sello se colocan a continuación en una máquina de revestimiento por rotación y se hacen girar a velocidades de hasta aproximadamente 8500 rpm para producir una superficie muy plana de la mezcla de monómeros. El revestimiento por rotación de la mezcla de monómeros sobre el portaobjetos de vidrio se realiza en una atmósfera de nitrógeno. El sustrato de sello y la mezcla de monómeros revestida sobre el portaobjetos de vidrio se exponen después a una fuente de luz ultravioleta (UV A filtrada) a una intensidad de 75 mW/cm² durante un periodo de 10 minutos, con el fin de hacer que la mezcla de monómeros se polimerice para producir la capa de polímero impresa molecularmente. Después de la polimerización, el portaobjetos de vidrio se retira. La capa de polímero impresa molecularmente se une a continuación a la capa de metal 38 sobre el sustrato 36 utilizando un adhesivo adecuado adaptador de índice de refracción. El sustrato de sello se elimina entonces, exponiendo la superficie impresa. De manera alternativa, en algunos modos de realización la capa de polímero impresa molecularmente se puede revestir con una película de metal, siendo unido entonces el sustrato 36 a esta película de metal utilizando un adhesivo adecuado adaptador de índice. Cuando se realiza esto, la película de metal constituye la capa de metal 38. Como alternativa adicional, la mezcla de monómeros se puede pipetear directamente sobre la capa de metal 38 sobre el sustrato 36. En este caso, el sustrato de sello se pone en contacto con la mezcla de monómeros sobre la capa de metal 38 y la mezcla de monómeros se aplica por rotación sobre la capa de metal del sustrato y posteriormente se polimeriza como antes. Una vez que se completa la polimerización, el sustrato de sello se puede eliminar, dejando la capa de polímero impresa molecularmente *in situ* sobre la capa de metal 38 sobre el sustrato 36.

- 50 **[0066]** Con el fin de eliminar las entidades modelo de RNasa, se utiliza una solución de elución acuosa de hidróxido de sodio 0,8 % y dodecilsulfato sódico 2 %. El polímero se lava con 50 ml de la solución de elución a 80 °C durante 30 min. Una vez que se completa esto, el polímero se estabiliza lavándolo tres veces en agua desionizada durante 5 min. Esto completa la fabricación de la capa de polímero impresa molecularmente. Si la capa de detección no se va a utilizar de inmediato, puede almacenarse en una solución salina tamponada con fosfato.

Ejemplo 2

[0067] En un ejemplo alternativo, la capa de polímero impresa molecularmente de RNasa A se forma como un polímero inorgánico. Se fabrica una capa de polisiloxano (que puede denominarse andamio) en un proceso de dos etapas y se aplica sobre la capa de metal 38 sobre un sustrato 36. En primer lugar, se mezcla una solución de prehidrólisis que comprende 1,32 ml de TEOS (monómero de reticulación), 0,235 ml de agua desionizada (disolvente), 0,33 ml de HCl 0,1 M (catalizador) y 0,4 ml de etanol absoluto (codisolvente). Se deja que la solución de prehidrólisis repose a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente, la mezcla de prehidrólisis se mezcla con una solución que contiene 0,33 ml de c-aminopropiltriétoxilano (APS) (monómero funcional) y 1 ml de 0,1 M y docecilsulfato sódico (SDS, por sus siglas en inglés) (agente espumante utilizado para generar macroporosidad). La mezcla resultante se mezcla en un vórtex tanto para mezclar los componentes de silano como para espumar el sol. Después de que la mezcla se haya fusionado con las entidades objetivo y se haya revestido sobre el portaobjetos de vidrio o la capa de metal (por ejemplo, como se describe anteriormente en el Ejemplo 1), se produce la gelificación. El polímero se deja en reposo entonces a temperatura ambiente durante 24 horas y a continuación se seca a 40 °C durante 48 horas. Después se lavan minuciosamente todas las muestras con solución salina tamponada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés), pH 7.4, para eliminar los residuos. Si la capa de detección no va a utilizarse inmediatamente, puede almacenarse en la oscuridad (se ha comprobado que esto aumenta la longevidad operativa de la capa de detección).

Ejemplo 3

[0068] En un ejemplo alternativo adicional, la capa de polímero impresa molecularmente es un polímero orgánico que se imprime molecularmente con cafeína. Se crea una mezcla de monómeros que contiene 0,03 g de cafeína (entidad modelo), 0,54 g de ácido metacrílico (MMA, por sus siglas en inglés) (monómero funcional), 5,64 g de etilenglicol dimetacrilato (EDMA) (monómero de reticulación), 0,1 g de DMPA (fotoiniciador) y 1 ml a 20 ml de cloroformo (disolvente porógeno). La mezcla de monómeros se deja entonces reposar durante al menos 48 horas. Después de esto, la mezcla se desgasifica en un baño de sonicación durante 30 minutos y a continuación se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos.

[0069] Puesto que la mezcla de monómeros se mezcla directamente con la mezcla modelo, no es necesario utilizar un sustrato de sello (aunque este método también funcionaría). En su lugar, a continuación se aplican por rotación doscientos microlitros de la mezcla de monómeros sobre la capa de metal 38 sobre el sustrato 36 a 3600 rpm durante un periodo de 1 minuto. Mientras que la mezcla de monómeros se está revistiendo por rotación, se utiliza iluminación UV a 360 nm para iniciar el proceso de polimerización.

[0070] Una vez que se ha formado la capa de polímero, las entidades modelo se eliminan utilizando una mezcla de metanol y ácido acético en la relación de 4:1 en volumen, con la cual se lava el polímero durante hasta 24 horas. El tiempo que se tarda en lavar las entidades modelo de la capa de polímero depende del grosor de la capa de polímero. Cuanto más delgada sea la capa, menos tiempo llevará lavar las entidades modelo. Por ejemplo, la capa de polímero producida en este ejemplo requiere un lavado durante un periodo de 10 minutos. Otro método para eliminar las entidades modelo es utilizar un lavado secuencial con disolventes individuales tales como ácido acético, acetonitrilo, ácido fosfórico, metanol, etanol y tetrahidrofurano. La superficie del polímero puede tener un lavado final con una solución tampón o agua destilada según sea necesario.

[0071] En este ejemplo, la unión funcional dentro del polímero impreso molecularmente con cafeína resulta predominantemente del átomo de hidrógeno del grupo carboxilo de MMA que forma un enlace de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cafeína. Sin embargo, también pueden contribuir otras fuerzas electrostáticas e interacciones π - π hidrófobas.

Ejemplo 4

[0072] En un ejemplo adicional, la capa de polímero impresa molecularmente es un polímero inorgánico impreso con cafeína. Esta se fabrica creando una mezcla de monómeros que comprende: 7,2 g de agua (disolvente) con ácido clorhídrico añadido para establecer un pH de 1.2, 20,8 g de TEOS (monómero) y 14,4 g de etanol (codisolvente). La mezcla de monómeros se mezcla con cafeína y se remueve durante 24 horas para permitir que la reacción tenga lugar. Puesto que la mezcla de monómeros se mezcla directamente con la mezcla modelo, no es necesario utilizar un sustrato de sello (aunque este método también funcionaría). En su lugar, una parte de la mezcla de monómeros que incluye entidades modelo de cafeína se aplica por rotación sobre la capa de metal 38 sobre un sustrato 36. El polímero se seca a continuación en un horno sellado durante 24 horas a 60 °C. Después del secado, el polímero se deja reposar a temperatura ambiente durante al menos 12 horas para que se estabilice.

[0073] Se ha comprobado que el rendimiento del polímero resultante se mejora si la mezcla de monómeros es ácida (pH 1-6). Se ha comprobado que la aceptación de la cafeína en el polímero resultante disminuye con el aumento de la polaridad del disolvente. Se piensa que esto se debe a que los aditivos polares pueden interferir con las interacciones del enlace de hidrógeno entre las entidades modelo y los monómeros funcionales dentro de la mezcla de monómeros.

[0074] Una vez que el polímero se ha formado, las entidades modelo se eluyen lavando el polímero en etanol. De manera alternativa, las entidades modelo pueden eliminarse mediante calcinación a 600 °C. La porosidad del polímero impreso puede mejorarse lavándolo con ácido láctico (se piensa que esto puede aflojar la red de sílice).

Ejemplo 5

5 **[0075]** En un ejemplo adicional, la capa de polímero impresa molecularmente es un sol-gel impreso con paraoxón. La mezcla de monómeros se crea de la siguiente manera: 3 ml de TEOS (monómero), equivalente a 13,5 mmol, se mezclan con 200 µl de PTMOS (monómero), equivalente a 1,2 mmol, y 3 ml de etanol (codisolvente) hasta que se aclara. A continuación se añaden 100 µl de ácido clorhídrico concentrado para hacer
10 la mezcla ácida. Después se añaden 200 µl de APTES (monómero), equivalente a 0,9 mmol, junto con 1 ml de agua (codisolvente). La mezcla se desgasifica en un baño de sonicación durante hasta 30 minutos y a continuación se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos. Después, se mezclan 2 ml de mezcla de monómeros con 200 µL de solución etanólica de paraoxón, equivalente a 0,02 mmol. La mezcla se deja reposar durante 24 horas. A continuación, se aplican por rotación 30 µl de la mezcla de monómeros reaccionada sobre una capa de metal 38 sobre un sustrato 36 a 4000 rpm durante 20 segundos. Se ha comprobado que esto crea una película
15 de polímero de un grosor de 534 +/- 6 nm. El sustrato revestido se deja a continuación secar a temperatura ambiente durante 24 horas. El paraoxón se extrae del sol-gel impreso utilizando un extractor Soxhlet con etanol.

Ejemplo 6

20 **[0076]** Se puede crear un sol-gel impreso con paraoxón similar utilizando una mezcla de monómeros de la siguiente manera: tres mililitros de TMOS (monómero), equivalente a 20,3 mmol, se mezclan con 3 ml de 2-etoxi etanol (codisolvente), 370 µl de PTMOS (monómero), equivalente a 2,2 mmol, y 420 µl de TMOS-CTAC (monómero), equivalente a 0,6 mmol, hasta que se aclara. A continuación se añade 1 mililitro de ácido clorhídrico 0,1M y 1 ml de agua (codisolvente). Después se remueve la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente y se desgasifica en un baño de sonicación durante hasta 30 minutos y a continuación se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos. Posteriormente, se mezclan 2 ml de mezcla de monómeros con 200 µl de solución etanólica
25 de paraoxón 0,1 M. Posteriormente, se aplican por rotación 30 µl de la mezcla de monómeros reaccionada sobre una capa de metal limpia 38 sobre un sustrato 36 a 4000 rpm durante 20 segundos. Se ha comprobado que esto crea una película de polímero con un grosor de 534 +/- 6 nm. El sustrato revestido se seca a continuación a temperatura ambiente durante 24 horas. De nuevo, el paraoxón se extrae del sol-gel impreso mediante extracción Soxhlet con etanol.

30 **[0077]** Se ha comprobado que el sol-gel a base de TEOS hidroliza más lentamente en condiciones de hidrólisis ácida que el sol-gel a base de TMOS.

Ejemplo 7

35 **[0078]** Un método alternativo adicional para la producción de un sol-gel impreso con paraoxón es utilizar una mezcla de monómeros que conste de las siguientes sustancias; TMOS: PhTMOS: APTES: etanol: ácido clorhídrico: agua en una proporción molar de 1: 0,1: 0,1: 4: 0,003: 4. Una vez que se ha añadido una solución etanólica de paraoxón, la mezcla de monómeros reaccionada puede aplicarse por rotación sobre una capa de metal 38 sobre un sustrato 36 a 4000 rpm durante 20-60 segundos. Una vez que el sol-gel se ha secado, las moléculas de paraoxón modelo pueden extraerse en etanol. De manera alternativa, pueden extraerse mediante
40 lavado en una solución acuosa de metanol 50 % en volumen que contiene 1,0 M de hidróxido de potasio durante hasta 24 horas.

Ejemplo 8

45 **[0079]** En un ejemplo adicional, la capa de polímero impresa molecularmente es un polímero orgánico impreso con colesterol. El método es sustancialmente el mismo que el explicado anteriormente para otros polímeros orgánicos. La mezcla de monómeros comprende: 0,387 g de colesterol (modelo), 0,682 ml de ácido metacrílico MMA (monómero funcional), 4,72 ml de EGDMA (monómero de reticulación), 0,05 g de AIBN (iniciador térmico) o DMPA (iniciador UV); y 7,5 ml de cloroformo (disolvente). Se pueden utilizar disolventes alternativos, tales como etanol, tolueno, heptano o hexano. La mezcla del disolvente de colesterol se puede realizar por ejemplo hasta a 60 °C (esto puede ayudar a asegurar que el colesterol se disuelve por completo). Los monómeros funcionales
50 alternativos que se pueden utilizar incluyen 4-vinilpiridina, estireno y ciclodextrina. Los monómeros de reticulación alternativos que se pueden utilizar incluyen etilvinilbenceno, divinilbenceno, trimetilolpropano y trimetacrilato. Después de la polimerización, se elimina el cloroformo y se seca el polímero en una estufa de vacío durante 12 horas a temperatura ambiente.

Ejemplo 9

55 **[0080]** Se puede fabricar un sol-gel impreso con colesterol con la siguiente mezcla de monómeros: 41,7 g de TEOS (equivalente a 200 mmol) y 40,8 g de anhídrido acético (equivalente a 400 mmol) mezclados a 140 °C

durante 12 horas, seguido de 7,73 g de colesterol (equivalente a 20 mmol). Estos componentes se mezclan durante un periodo de tiempo de hasta 2 días y a continuación se dejan secar hasta endurecerse hasta a 60 °C.

Ejemplo 10

5 **[0081]** De manera alternativa, un sol-gel impreso con colesterol se puede fabricar con la siguiente mezcla de monómeros: 10,4 g de TEOS (equivalente a 50 mmol), 50 ml de THF, 9 ml de agua destilada y 0,01 ml de solución acuosa de amoníaco (25 % en peso) como catalizador, seguido de 1,93 g de colesterol, equivalente a 5 mmol.

10 **[0082]** La entidad modelo puede eliminarse de un polímero inorgánico impreso con colesterol lavando el polímero con una mezcla de ácido acético y tetrahidrofurano a una proporción volumétrica de 1:1, o cloroformo y ácido acético a una proporción volumétrica de 4:1. Sustancias alternativas que pueden utilizarse para la eliminación de modelos incluyen acetonitrilo, tetrahidrofurano, metanol, ácido acético, acetona y etanol.

15 **[0083]** Haciendo referencia de nuevo a la Figura 2, se pueden utilizar silanos para ayudar a la adhesión de la capa de polímero impresa 34 a la capa de metal 38. Se puede utilizar, por ejemplo, 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (MPS, por sus siglas en inglés) para ayudar en la adhesión del metal al polímero (o del vidrio al polímero). Otros silanos, tales como viniltrimetoxisilano (VTS), ayudan con las propiedades de resistencia a la corrosión del polímero resultante. Un método para la aplicación de silanos comprende la adición de una parte pequeña a un disolvente adecuado, por ejemplo a una mezcla de etanol 95 % y mezcla de agua 5 % en volumen. Esta mezcla se puede añadir entonces a la mezcla de monómeros. Otro método implica una etapa de producción extra, en la que la capa de silano se proporciona por separado encima de la capa de metal 38. A continuación, el polímero impreso molecularmente se aplica encima de la capa de silano.

25 **[0084]** Una vez que se ha formado el polímero impreso molecularmente, se puede utilizar como una capa de detección. La Figura 5 muestra la manera en que una cavidad 52 del polímero impreso molecularmente 50 recibe y retiene una entidad objetivo. La cavidad 52 y los grupos funcionales correspondientes 46 en combinación se denominan en el presente documento sitio de recepción 54. Una entidad objetivo 56 (es decir, una entidad a detectar) encaja dentro del sitio de recepción 54 y además tiene grupos funcionales 57 que son complementarios a los del sitio de recepción 54 tanto en lo que respecta a su tipo como a su posicionamiento relativo. Otras entidades que no tienen la combinación requerida de forma y sitios de recepción no se recibirán y retendrán en la cavidad (las entidades pasarán a través de la cavidad o no entrarán en la cavidad).

30 **[0085]** No es necesariamente el caso de que cada sitio de recepción 54 es idéntico. En el proceso por el cual se forman los sitios de recepción 54 (véase la Figura 4a), los monómeros 44 se colocan ellos mismos alrededor de la entidad modelo 42 aleatoriamente, sometidos únicamente a interacciones entre los grupos funcionales de los monómeros 44 y los grupos funcionales correspondientes en las entidades modelo 42. Como tal, la forma y el tamaño exacto de la cavidad 52, así como la posición, la orientación y el tipo de los grupos funcionales correspondientes 46 que forman un sitio de recepción particular 54 puede variar.

35 **[0086]** Para que funcionen los sitios de recepción 54 con el fin de que reciban una entidad objetivo de manera que se pueda retener, es conveniente que la cavidad 52 sea lo suficientemente grande para recibir la entidad objetivo 56 y que la posición relativa y el tipo de grupos funcionales 46 del sitio de recepción 54 se correspondan con los grupos funcionales 57 de las entidades objetivo 56. Por este motivo, puede ser posible utilizar una entidad modelo 42 que sea diferente a la entidad objetivo 56 cuando se forma el polímero impreso molecularmente (y, por consiguiente, los sitios de recepción 54). Sin embargo, cuando se hace esto, los sitios de recepción creados de este modo deben tener un tamaño capaz de recibir la entidad objetivo 56 y tener grupos funcionales 46 de un tipo y posicionamiento relativo que puedan interactuar con los grupos funcionales correspondientes 57 en la entidad objetivo.

45 **[0087]** En un modo de realización particular, la entidad objetivo 56 es ribonucleasa (también conocida como RNasa). Sin embargo, la entidad objetivo puede ser cualquier biomolécula elegida. Por ejemplo, la entidad objetivo puede ser cualquier enzima, incluyendo fosfatasa alcalina (ALP, por sus siglas en inglés). Tanto la RNasa como la ALP son biomoléculas relativamente grandes con pesos moleculares de más de 500 g por mol. Sin embargo, la entidad objetivo 56 puede ser una molécula más pequeña (por ejemplo, con un peso molecular inferior a 500 g por mol). Ejemplos de moléculas más pequeñas incluyen organofosfatos (por ejemplo paraoxón)

50 y alcaloides (por ejemplo cafeína).

55 **[0088]** Dependiendo de la porosidad de la capa de polímero impresa molecularmente, una entidad objetivo relativamente pequeña 56 puede ser lo suficientemente pequeña para que sea capaz de difundirse en los sitios de recepción 54 dentro de la matriz 50, mientras que una entidad objetivo relativamente grande puede ser demasiado grande para permitir difundirse en la matriz 50. Cuando la entidad objetivo 56 es demasiado grande para permitir su difusión en la matriz 50, las entidades objetivo 56 todavía pueden ser recibidas por sitios de recepción impresos molecularmente sobre la superficie de la matriz 50. El polímero impreso molecularmente puede de esta manera permitir la presencia de la entidad objetivo a detectar.

[0089] El polímero impreso molecularmente puede formar parte de un sensor óptico, por ejemplo como se describe de manera adicional anteriormente en relación con la figura 1. El sensor óptico puede por ejemplo formar parte de un sistema de purificación que se utiliza para producir agua muy pura (por ejemplo para utilizarse en aplicaciones de ensayos químicos). El sensor óptico puede por ejemplo configurarse para monitorizar la presencia en el agua de contaminantes tales como agentes biológicos (incluyendo bacterias) o las endotoxinas que estos producen.

[0090] Con el fin de detectar una amplia variedad de bacterias, incluso si ya no están vivas, es posible detectar entidades que son componentes de bacterias. Un ejemplo de ello es la RNasa. La RNasa es una enzima utilizada por las bacterias para catalizar la hidrólisis del ácido ribonucleico, o ARN, en componentes más pequeños. Las bacterias secretan RNasa mientras están vivas y liberan RNasa cuando se descomponen. Como tal, la presencia de RNasa es un indicador de la presencia de bacterias vivas o bacterias que han muerto. El sensor óptico puede configurarse para detectar la presencia de RNasa en el agua.

[0091] Haciendo referencia de nuevo a la figura 2, una guía de ondas 12 de un sensor óptico comprende una capa de polímero impresa molecularmente 34 proporcionada sobre una capa de metal 38. La guía de ondas 12 está situada en comunicación de flujo con un conducto 32 a través del cual fluye un fluido 31 (flujo denotado por la flecha A). La capa de metal 38 se proporciona sobre un sustrato 36. La RNasa 56 está presente en el agua 31 dentro de un conducto 32 (el conducto puede formar parte de un sistema de purificación de agua). A medida que el agua 31 y la RNasa suspendida 56 fluyen a través del conducto, el agua y la RNasa pueden fluir en la capa de polímero impresa molecularmente 34 (a través de una superficie porosa 40 de la capa). La capa de polímero impresa molecularmente 34 incluye una pluralidad de sitios de recepción 54. A medida que la RNasa 56 se mueve a través de la capa de polímero impresa molecularmente 34, la RNasa pasa a través de los sitios de recepción 54. La orientación de la RNasa puede ser cambiante y la RNasa puede pasar a través de varios sitios de recepción 54 que tienen orientaciones diferentes. La RNasa 56 puede encontrar un sitio de recepción con una orientación y grupos funcionales 46 dispuestos de manera que ésta interactúa con los grupos funcionales y es retenida dentro del sitio de recepción 54.

[0092] La Figura 3 corresponde a la figura 2, pero muestra varios sitios de recepción 54 que han recibido y retenido RNasa 56. Aunque no se muestra en la figura 3, la RNasa 56 también puede ser recibida y retenida por sitios de recepción 54 que se encuentran en la superficie de la capa de polímero impresa molecularmente 34. Si la capa de polímero impresa molecularmente no es lo suficientemente porosa para permitir que la RNasa pase a la capa a través de la superficie 40 entonces la RNasa puede solo ser recibida y retenida por los sitios de recepción 54 que se encuentran en la superficie 40 de la capa 34.

[0093] La retención de entidades objetivo 56 por la capa de polímero impresa molecularmente 34 altera las propiedades ópticas de la capa de polímero impresa molecularmente. Esto afecta a la forma en la que la luz que se propaga viaja a través de la guía de ondas 12, permitiendo de esta manera la modificación de un parámetro de la luz a medir. Por ejemplo, el índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente 34 puede cambiar, lo cual a su vez puede modificar la intensidad de la luz vista por un detector 30 (véase la figura 1). En un ejemplo, la RNasa 56 es retenida por un sitio de recepción 54. Esto hace que el agua que estaba previamente presente dentro del sitio de recepción 54 se desplace. Puesto que el índice de refracción de la RNasa 56 es diferente del índice de refracción del agua, el índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente 34 se cambia. Esto permite que la presencia de la RNasa 56 en la capa de polímero impresa molecularmente 34 se detecte de manera óptica.

[0094] Con el fin de detectar ópticamente la presencia de una entidad objetivo (por ejemplo, RNasa) en la capa de detección 34, la luz se dirige a la guía de ondas 12 utilizando el aparato que se muestra en la figura 1. La luz se dirige a la guía de ondas 12 en un ángulo incidente B concreto (véase la figura 2) de manera que se acopla a través de la capa de metal 38 y en la capa de polímero impresa molecularmente 34 para excitar un modo guiado dentro de la guía de ondas 12 (es decir, se acopla en el modo guiado). El ángulo incidente B que proporciona el acoplamiento en el modo guiado puede denominarse el ángulo incidente resonante.

[0095] El modo guiado se centra en la capa de polímero impresa molecularmente 34. El modo de guía es un modo de fuga y, por consiguiente, algo de luz se acopla fuera del modo guiado. La luz se acopla fuera del modo guiado con un ángulo de salida C que es igual al ángulo incidente resonante B. El valor del ángulo incidente resonante B en el que se acopla la luz en el modo guiado (y, por lo tanto, el valor del ángulo de salida C) cambiará si cambia el índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente 34.

[0096] La luz incidente en la guía de ondas 12 que no se acopla al modo guiado de fuga puede reflejarse desde la guía de ondas 12.

[0097] Cuando la luz se acopla al modo guiado en el ángulo incidente resonante B, y entonces se acopla fuera posteriormente de nuevo, experimenta un cambio de fase. La capa de metal 38 actúa para convertir este cambio

de fase en un cambio de intensidad. Esto permite que la presencia de acoplamiento resonante en la guía de ondas se detecte utilizando un detector de intensidad.

[0098] La capa de metal 38 tiene un índice de refracción que es considerablemente superior al de la capa de polímero 34. Este índice de refracción superior de la capa de metal 38, comparado con la capa de polímero 34, hace que la luz que se desplaza dentro de la capa de polímero 34 se refleje desde el borde entre la capa de polímero y la capa de metal. De esta manera, la luz que se desplaza dentro de la capa de polímero 34 se desplazará más lejos dentro de la capa de polímero antes de acoplarse fuera de la capa de polímero.

[0099] El aumento del tamaño de la diferencia del índice de refracción entre la capa de metal 38 y la capa de polímero 34 aumentará la reflectividad del borde entre la capa de polímero y la capa de metal. El aumento de la reflectividad del borde entre la capa de polímero y el metal hará que la luz se desplace más lejos dentro de la capa de polímero antes de acoplarse fuera de la capa de polímero 34. Esto a su vez aumenta la interacción entre la luz y la capa de polímero 34, aumentando de esta manera la sensibilidad de la guía de ondas a los cambios en una propiedad óptica de la capa de polímero.

[0100] La mayoría del índice de refracción de la capa de metal 38 surge del componente complejo del índice de refracción. Por consiguiente, la capa de metal 38 absorbe la luz que se dirige a la guía de ondas 12 (es considerablemente más absorbente que la capa de polímero 34). La capa de metal se proporciona con un grosor lo suficientemente pequeño para que una parte significativa de la luz dirigida a la guía de ondas 12 pueda pasar a través de la capa de metal 38 y acoplarse a la capa de polímero 34 (y también pasar de nuevo a través de la capa de metal).

[0101] Aunque la guía de ondas mostrada en las figuras 2 y 3 tiene una capa de metal, se puede utilizar cualquier capa de material apropiada en vez de la capa de metal 38. El material utilizado debe tener un índice de refracción superior al de la capa de polímero 34. La capa de material debe ser lo suficientemente delgada para que permita que una parte significativa de la luz dirigida a la guía de ondas 12 pase a la capa de polímero 34. Entre los ejemplos de materiales adecuados se incluyen tintes y nanotubos de carbono (además de los metales).

[0102] Los metales tienden a tener un índice de refracción alto en un intervalo amplio de longitudes de onda, mientras que los tintes tiende a tener un índice de refracción alto para un intervalo relativamente reducido de longitudes de onda. Por consiguiente, una guía de ondas con una capa de metal se puede utilizar junto con la luz en un intervalo más amplio de longitudes de onda que una guía de ondas con una capa de tinte.

[0103] En una disposición alternativa, la capa de metal 38 no está presente en la guía de ondas. En este caso, el cambio de fase puede por ejemplo detectarse utilizando un segundo polarizador 28 que está situado entre la guía de ondas y el detector 30. El segundo polarizador 28 puede estar cruzado con respecto al primer polarizador 22 (situado entre la fuente de luz 16 y la guía de ondas 12), de manera que solo transmite la luz que ha experimentado un cambio de fase. Esto permite que la presencia de acoplamiento resonante en la guía de ondas se detecte utilizando un detector de intensidad. El cambio de fase puede detectarse de manera alternativa utilizando otros medios, por ejemplo un interferómetro tal como un interferómetro de Michelson o un interferómetro de Mach-Zender.

[0104] Si se excita un modo guiado de fuga en la guía de ondas 12 utilizando luz incidente en un ángulo incidente resonante B, esto se verá como un pico (o en algunas circunstancias una bajada) en la intensidad de la luz detectada en ese ángulo C. Si una capa de metal 38 está presente en la guía de ondas 12, el índice de refracción de la capa de metal (entre otras cosas) puede determinar si se ve un pico o si se ve una bajada.

[0105] Las Figuras 6 a 8 son gráficos que muestran diferentes esquemas de reflectividad de la guía de ondas 12 dependiendo del índice de refracción de la capa de metal 38. Los gráficos, que se generaron utilizando simulaciones, muestran la reflectividad (R) de la guía de ondas 12 como una función del ángulo incidente B (denotado en el presente documento por θ). Otras variables se mantienen constantes, incluyendo el grosor de la capa de metal y de la capa de detección, y el índice de refracción de la capa de detección. La Figura 6 muestra la relación entre la reflectividad y el ángulo de incidencia de una capa de metal 38 con un componente real del índice de refracción que es inferior a aproximadamente 0,7 (por ejemplo, oro). La Figura 7 muestra la relación entre la reflectividad y el ángulo de incidencia para una capa de metal 38 con un componente real del índice de refracción que está entre aproximadamente 0,7 y aproximadamente 1,4 (por ejemplo, aluminio). La Figura 8 muestra la relación entre la reflectividad y el ángulo de incidencia de una capa de metal 38 con un componente real del índice de refracción que es superior a aproximadamente 1,5 (por ejemplo, titanio).

[0106] Los picos y los valles de los gráficos mostrados en las figuras 6 a 8 son indicativos del ángulo incidente resonante B de la guía de ondas 12, puesto que hay una relación fija entre los picos o los valles y el ángulo incidente resonante B. Como se puede observar a partir de los gráficos, en algunos casos puede resultar más fácil detectar un pico de intensidad reflejada y en otros casos puede resultar más fácil detectar una bajada de intensidad reflejada. En esta descripción, se describe la detección de un pico de intensidad reflejada. Sin embargo, la detección de una bajada de intensidad reflejada puede realizarse de manera equivalente.

- 5 **[0107]** El ángulo incidente resonante B en el que se acopla la luz en un modo guiado de fuga depende de las propiedades ópticas de la capa de detección 34 y, en concreto, del índice de refracción de la capa de detección. Haciendo referencia a la figura 3, las entidades objetivo 56 (por ejemplo, RNasa) tienen un índice de refracción superior al del agua 31. Por lo tanto, cuando la RNasa desplaza el agua en los sitios de recepción 54, el índice de refracción de la capa de detección 34 aumenta. Este aumento del índice de refracción cambia el ángulo incidente resonante B en el que se puede excitar un modo guiado de fuga en la guía de ondas 12 (y en consecuencia cambia el ángulo C en el que la luz se acopla desde el modo guiado). Esto significa que la presencia de RNasa (u otra entidad objetivo) en el agua 31 (u otro fluido) puede indicarse por un cambio del ángulo incidente resonante B requerido para excitar un modo de guía de fuga en la guía de ondas.
- 10 **[0108]** El cambio del ángulo incidente resonante B puede observarse dirigiendo la luz a la guía de ondas 12 en un intervalo de ángulos y midiendo la luz que se emite desde la guía de ondas en un intervalo de ángulos. De manera alternativa, puede observarse dirigiendo la luz a la guía de ondas 12 en el ángulo incidente resonante y monitorizando la luz emitida desde la guía de ondas (ya sea la luz acoplada de nuevo fuera de la guía de ondas o la luz transmitida desde un extremo de la guía de ondas). Cuando se utiliza este enfoque, el cambio en el índice de refracción de la capa de detección 34 reducirá la cantidad de luz acoplada en el modo guiado, puesto que el ángulo en el que la luz se dirige hacia la guía de ondas ya no será el ángulo resonante. Esto se verá como un cambio de intensidad de la luz reflejada desde la guía de ondas (o un cambio de intensidad de la luz transmitida desde un extremo de la guía de ondas).
- 15 **[0109]** La Figura 9 es un gráfico que muestra el movimiento del ángulo en el que se observa un pico de intensidad reflejada desde una guía de ondas que representa la invención. El movimiento del pico de intensidad reflejada se mide en términos de píxeles de un detector. El movimiento del pico se mide para muestras dentro de las cuales se ha disuelto cafeína en etanol con concentraciones diferentes. Los discos no sombreados de la figura 9 son resultados obtenidos con una guía de ondas que tenía una capa de polímero que se había impreso molecularmente con cafeína (producida de conformidad con el ejemplo 3 anterior). Los discos sombreados de la figura 9 son resultados obtenidos con una guía de ondas que tenía una capa de polímero que no había sido impresa molecularmente (denominada en lo sucesivo polímero no impreso (PNI)). La guía de ondas con PNI se produjo de conformidad con el ejemplo 3 anterior, pero sin la inclusión de cafeína en la mezcla de monómeros antes de la polimerización.
- 20 **[0110]** Los resultados se obtuvieron dirigiendo la luz a cada guía de ondas utilizando el aparato que se muestra en la figura 1. La luz se dirigió a la guía de ondas en un intervalo de ángulos incidentes. El detector 30 utilizado fue un conjunto CCD. Los cambios en el ángulo incidente resonante del modo de la guía de ondas se midieron midiendo un cambio en la posición del píxel dentro del conjunto CCD que medía la mayor intensidad de luz incidente (este píxel se denomina en lo sucesivo el píxel pico). El cambio de la posición del píxel pico se midió en relación con la posición del píxel pico que se observó cuando no había cafeína presente en el etanol.
- 25 **[0111]** La posición del píxel pico se midió utilizando la guía de ondas con la capa de polímero PNI. Antes de la medición de la posición del píxel pico, la capa de polímero PNI 34 de la guía de ondas se expuso durante un periodo de 10 minutos a una de un grupo de soluciones de cafeína disuelta en etanol de concentración diferente. Las concentraciones de cafeína utilizadas fueron 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M y 10^{-2} M. Puesto que no hay sitios de recepción 54 para la cafeína dentro de la capa de polímero PNI, no debe observarse ningún cambio en el índice de refracción de la capa de polímero (y, por consiguiente, ningún cambio en el ángulo incidente resonante). Las posiciones del píxel pico medidas para la guía de ondas con la capa de polímero PNI expuesta a cada concentración de solución de cafeína se compararon con la posición del píxel pico medida cuando no había cafeína presente en el etanol.
- 30 **[0112]** La posición del píxel pico se midió utilizando la guía de ondas con la capa de polímero impresa molecularmente 34 sensible a la cafeína de conformidad con un modo de realización de la presente invención. De nuevo, antes de la medición de la posición del píxel pico, la capa de polímero 34 se expuso durante 10 minutos a una de un grupo de soluciones de cafeína disuelta en etanol con concentraciones diferentes. De nuevo, las concentraciones de cafeína utilizadas fueron 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M y 10^{-2} M. Puesto que la capa de polímero impresa molecularmente se realizó utilizando cafeína como entidad modelo, la cafeína es una entidad objetivo para la capa de polímero 34. Se cree que 10 minutos es un tiempo suficiente para que un número significativo de moléculas de cafeína se unan con los sitios de recepción 54 en este caso. En otros casos se pueden utilizar otros tiempos de exposición (por ejemplo hasta 24 horas). Las moléculas de cafeína que son recibidas por los sitios de recepción 54 alteran el índice de refracción de la capa de polímero 34 y, por consiguiente, cambian el ángulo incidente resonante B en el que la luz se acopla a la guía de ondas 12. Como se puede observar a partir de los discos no sombreados de la figura 9, la posición medida del píxel pico aumentó a medida que aumentaba la concentración de la solución de cafeína.
- 35 **[0113]** La Figura 10 muestra, como una función de la concentración de la solución de cafeína, la diferencia entre la posición del píxel pico para la guía de ondas con la capa de polímero impresa molecularmente sensible a la cafeína y la posición del píxel pico de la guía de ondas con la capa de polímero PNI. La línea que une los puntos
- 40
- 45
- 50
- 55

es una línea de mejor ajuste que se generó utilizando un ajuste sigmoideo de 3 parámetros. El gráfico de la figura 10 muestra que la guía de ondas con la capa de polímero impresa molecularmente exhibe un movimiento mensurable del píxel pico si se expone a la entidad objetivo de cafeína a concentraciones de aproximadamente 5×10^{-4} M y por encima durante un periodo de 10 minutos. Se cree que un movimiento mensurable del píxel pico puede lograrse también exponiendo la capa de polímero 34 a un concentración menor de cafeína pero durante un periodo de tiempo que es superior a 10 minutos.

[0114] Se puede utilizar un sensor de conformidad con la presente invención como parte de un sistema de purificación. Por ejemplo, en el caso del agua, si se detecta la RNasa (u otra entidad objetivo) en el agua, entonces se sabe que el agua está contaminada. En este caso, el agua se elimina y el sistema de purificación utilizado para purificar el agua se limpia con el fin de eliminar la contaminación. Cabe señalar que el sensor se puede utilizar como parte de un sistema de purificación que purifica cualquier líquido elegido.

[0115] El cambio en el índice de refracción de la capa de polímero 34 debido a la presencia de entidades a detectar resulta del desplazamiento desde los sitios de recepción 54 del líquido, que tiene un índice de refracción concreto, por las entidades objetivo que tienen un índice de refracción diferente. En el modo de realización descrito, el líquido es agua y las entidades objetivo tienen un índice de refracción que es superior al del agua. Como tal, cuando el agua es desplazada por las entidades objetivo, el índice de refracción de la capa de polímero 34 aumenta. Sin embargo, si el líquido tuviera un índice de refracción superior al de las entidades objetivo, las entidades objetivo provocarían una reducción en el índice de refracción de la capa de polímero 34 cuando se recibieran en los sitios de recepción 54. La detección de una reducción en el índice de refracción de la capa de polímero 34 puede detectarse de una manera análoga a la de la detección de un aumento en el índice de refracción de la capa de polímero 34.

[0116] La utilización de un sensor óptico para la detección de contaminantes dentro de un sistema de purificación de agua proporciona dos beneficios. En primer lugar, no está limitado a la detección de un tipo específico de bacterias, sino que puede detectar un amplio intervalo de bacterias (puesto que detecta productos de su existencia y/o descomposición). Como tal, no solo se puede detectar un amplio intervalo de bacterias, sino que también se pueden detectar si han dejado de estar vivas recientemente. En segundo lugar, a diferencia de muchas pruebas para detectar la RNasa que existen actualmente, la RNasa no tiene que estar activa para detectarse. Las pruebas actuales se basan en la utilización de la acción de la RNasa en una reacción para mostrar su presencia. Sin embargo, los modos de realización de la invención no requieren que la RNasa esté activa, puesto que solo se necesita la forma y la orientación relativa de los grupos funcionales para que la RNasa se reciba en los sitios de recepción 54 y, por consiguiente, se detecte. Como tal, la RNasa que está desnaturalizada se puede detectar tal fácilmente como la RNasa activa. Esto tiene la ventaja de que la RNasa se puede detectar en un amplio intervalo de entornos, por ejemplo en un intervalo de valores de pH y temperatura. La RNasa también se puede detectar en varios tipos de disolventes. Esto elimina la necesidad de reactivos adicionales, tales como tampones, y permite que la detección de la RNasa se realice en agua.

[0117] La ausencia de un requisito de reactivos y condiciones ambientales especiales al detectar la RNasa proporciona el beneficio adicional de que el sensor 10 puede formar parte de un régimen de detección continua. En un régimen de detección continua el sensor 10 está en comunicación dentro de un conducto 32 a través del cual el fluido (por ejemplo, agua) fluye de manera continua. El detector proporciona una señal de salida continua que indica en tiempo real la presencia (o no) de una entidad objetivo en el fluido.

[0118] La fuerza de la interacción o interacciones entre las entidades objetivo 56 y los sitios de recepción impresos molecularmente 54 puede ser alta. Por consiguiente, en algunos casos puede no ser posible eliminar las entidades objetivo 56 una vez que se han retenido en los sitios de recepción 54. En esta situación, el sensor óptico 10, o al menos la parte de la guía de ondas 12 del mismo, será un dispositivo de un solo uso y puede reemplazarse una vez se ha detectado la contaminación.

[0119] En algunos casos, puede ser posible eliminar las entidades objetivo 56 utilizando un proceso similar al utilizado para eliminar la entidad modelo 42 durante el proceso de impresión molecular. Cuando se hace esto, el sensor óptico 10 puede reutilizarse. El proceso de eliminación de las entidades objetivo puede comprender evitar que el fluido que contiene entidades objetivo fluya más allá del sensor 10 y que entonces fluya un fluido alternativo más allá del sensor 10. El fluido alternativo contiene un reactivo adecuado para eliminar las entidades objetivo unidas 56 de los sitios de recepción 54. Una vez que se eliminan las entidades objetivo, el flujo del fluido alternativo se detiene. Entonces se reanuda el funcionamiento normal del sensor 10.

[0120] Las figuras 11 y 12 muestran de manera esquemática dos maneras alternativas en las que se puede construir la guía de ondas 12. En la figura 11, la guía de ondas 12 comprende una capa de metal 38, una capa de polímero impresa molecularmente 34 y un conducto 32 a través del cual puede fluir fluido 31 (en funcionamiento el conducto contiene agua o algún otro fluido). El conducto 32 puede adoptar la forma de una celda de flujo (no mostrada) que puede estar unida a la capa de polímero impresa molecularmente 34 de manera

hermética. Un modo guiado 59 se centra en la capa de polímero impresa molecularmente 34, que tiene un índice de refracción superior al del fluido en el conducto 31.

5 **[0121]** En la figura 12, la guía de ondas 12 comprende una capa de metal 38, una capa de guía de ondas 58, una capa de polímero impresa molecularmente 34 y un conducto 32. La capa de guía de ondas 58 está situada entre la capa de metal 38 y la capa de polímero impresa molecularmente 34 y tiene un índice de refracción superior al de la capa de polímero impresa molecularmente. Un modo guiado se centra en la capa de guía de ondas 58, y un componente evanescente del modo guiado se extiende a la capa de polímero impresa molecularmente.

10 **[0122]** Las construcciones de guía de ondas alternativas mostradas en las figuras 11 y 12 funcionan de manera similar. Una diferencia entre ellas es que la sensibilidad de la guía de ondas mostrada en la figura 11 es mayor que la de la guía de ondas mostrada en la figura 12, puesto que pasa más luz a la capa de polímero impresa molecularmente 34. En otras palabras, en el modo de realización mostrado en la figura 11, puesto que la capa de polímero impresa molecularmente 34 es una y la misma que la capa de guía de ondas 58, la interacción entre la capa de polímero impresa molecularmente 34 y la luz incidente es más fuerte, dando lugar a una mayor
15 sensibilidad a las entidades objetivo.

[0123] Como se analiza anteriormente, el ángulo incidente resonante de una guía de ondas que forma parte de un sensor óptico de conformidad con la presente invención depende del índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente. Otros factores pueden también influir en el ángulo incidente resonante.

20 **[0124]** Las figuras 13 y 14 son gráficos que muestran la respuesta de tres guías de ondas diferentes. En concreto, las figuras 13 y 14 muestran gráficos de la intensidad de radiación medida como una función del ángulo incidente para las tres guías de ondas. Los resultados mostrados en estos gráficos se obtuvieron dirigiendo la luz en cada guía de ondas utilizando el aparato que se muestra en la figura 1. La luz se dirigió a cada guía de ondas en un intervalo de ángulos incidentes. En este caso, la fuente de luz utilizada fue un láser y la intensidad de la luz fue medida por el detector en unidades arbitrarias.

25 **[0125]** Cada una de las guías de ondas tenía un capa impresa molecularmente que era una capa de sol-gel impresa con cafeína fabricada de conformidad con el método detallado en el Ejemplo 4 anterior. Cada guía de ondas era igual excepto que cada una estaba formada mediante el revestimiento por rotación de la capa de polímero impresa molecularmente sobre la capa de metal a una velocidad diferente y/o durante un periodo de tiempo diferente. El revestimiento por rotación del polímero impreso molecularmente sobre la capa de metal en
30 condiciones diferentes (por ejemplo, velocidad de rotación diferente y/o durante un periodo de tiempo diferente) puede afectar al grosor de la capa formada impresa molecularmente y/o la extensión y/o la gravedad de cualquier imperfección de la superficie de la capa de polímero formada impresa molecularmente. Otras variables se mantuvieron constantes, incluyendo el grosor de la capa de metal.

35 **[0126]** En la figura 13, las líneas 80, 81 y 82 muestran las respuestas de tres guías de ondas independientes que se han fabricado mediante el revestimiento por rotación de la capa de polímero impresa molecularmente durante 30 segundos a 8000 rpm, durante 20 segundos a 7000 rpm y durante 30 segundos a 7000 rpm respectivamente. Las respuestas de las guías de ondas se muestran como una función del ángulo de acoplamiento externo. Haciendo referencia a la figura 1, el ángulo de acoplamiento externo es el ángulo entre la normal a la superficie de la guía de ondas 12 y la dirección en la que la luz de entrada procedente de la fuente de luz 16 es incidente
40 en el prisma 14.

45 **[0127]** En la figura 14, las líneas 83, 84 y 85 muestran las respuestas de las mismas guías de ondas de la figura 13, donde las guías de ondas se han fabricado mediante el revestimiento por rotación de la capa de polímero impresa molecularmente durante 30 segundos a 8000 rpm, durante 20 segundos a 7000 rpm y durante 30 segundos a 7000 rpm respectivamente. Las respuestas de las guías de ondas se muestran como una función del ángulo de acoplamiento interno. Haciendo referencia a la figura 1, el ángulo de acoplamiento interno es el ángulo entre la normal a la superficie de la guía de ondas 12 y la dirección en la que la luz de entrada procedente de la fuente de luz 16 pasa a través del prisma 14 a medida que se desplaza hacia la guía de ondas 12.

50 **[0128]** Las figuras 13 y 14 muestran que el ángulo incidente resonante de la guía de ondas (que está relacionado con la posición de cada pico respectivo en los gráficos) se ve afectado por las condiciones utilizadas para revestir por rotación la capa de polímero impresa molecularmente. En concreto, los gráficos muestran que la guía de ondas que tiene una capa de polímero impresa molecularmente que se reviste por rotación durante un tiempo más corto (20 segundos) tiene un ángulo incidente resonante que es inferior en aproximadamente 2 grados que los ángulos incidentes resonantes de las guías de ondas que se revisten por rotación durante un tiempo más largo (30 segundos).

55 **[0129]** Los gráficos de las figuras 13 y 14 también muestran que la intensidad de la luz medida que se emite desde la guía de ondas que tiene una capa de polímero impresa molecularmente que se reviste por rotación durante un tiempo más corto (20 segundos) es menor que la intensidad de la luz medida que se emite desde la

guía de ondas que tiene una capa de polímero impresa molecularmente que se reviste por rotación durante un tiempo más largo (30 segundos).

[0130] El ángulo incidente resonante superior y la intensidad de salida de luz superior de las guías de ondas que se revisten por rotación durante un tiempo relativamente largo pueden derivarse del hecho de que el aumento del tiempo de revestimiento por rotación disminuye la extensión y/o la gravedad de cualquier imperfección de la superficie sobre la superficie de la capa de polímero formada impresa molecularmente. La reducción de la extensión y/o la gravedad de cualquier imperfección de la superficie hará que la superficie de la capa de polímero impresa molecularmente sea más plana. Hacer más plana la superficie de la capa de polímero impresa molecularmente puede reducir la cantidad de luz incidente sobre la superficie de la capa de polímero impresa molecularmente que se dispersa por la superficie. Aumentar el tiempo de revestimiento por rotación puede también reducir el grosor de la capa de polímero formada impresa molecularmente.

[0131] Las figuras 15 y 16 son gráficos que muestran la respuesta de una guía de ondas en cuatro condiciones diferentes. En concreto, los gráficos muestran la intensidad de radiación medida como una función del ángulo incidente para la guía de ondas en las cuatro condiciones diferentes. Los resultados se obtuvieron dirigiendo la luz a cada guía de ondas utilizando el aparato que se muestra en la figura 1. La luz se dirigió a cada guía de ondas en un intervalo de ángulos incidentes. En este caso, la fuente de luz utilizada fue un láser y la intensidad de la luz fue medida en unidades arbitrarias por el detector.

[0132] La guía de ondas que se utilizó para obtener los resultados que se muestran en las figuras 15 y 16 tenía una capa impresa molecularmente que era una capa de sol-gel impresa con cafeína fabricada de conformidad con el método detallado en el Ejemplo 4 anterior. La primera condición en la que se midió la respuesta de la guía de ondas fue cuando la capa de polímero impresa molecularmente de la guía de ondas se había lavado con agua después de que se creara la guía de ondas. La segunda condición en la que se midió la respuesta de la guía de ondas fue cuando la capa de polímero impresa molecularmente se había lavado con agua y después con etanol: La tercera condición en la que se midió la respuesta de la guía de ondas fue que la capa de polímero impresa molecularmente se había lavado con agua, después con etanol y posteriormente había sido expuesta a una solución de cafeína durante un periodo de 1 minuto. La cuarta condición en la que se midió la respuesta de la guía de ondas fue que la capa de polímero impresa molecularmente se había lavado con agua, después con etanol y posteriormente había sido expuesta a una solución de cafeína durante 5 minutos.

[0133] En las figuras 15 y 16, las líneas 86 y 90 muestran la respuesta de la guía de ondas en la primera condición; las líneas 87 y 91 muestran la respuesta de la guía de ondas en la segunda condición; las líneas 88 y 92 muestran la respuesta de la guía de ondas en la tercera condición y las líneas 89 y 93 muestran la respuesta de la guía de ondas en la cuarta condición;

[0134] Las respuestas de la guía de ondas en condiciones diferentes mostradas en la figura 15 se muestran como una función del ángulo de acoplamiento externo. Haciendo referencia a la figura 1, el ángulo de acoplamiento externo es el ángulo entre la normal a la superficie de la guía de ondas 12 y la dirección en la que la luz de entrada procedente de la fuente de luz 16 es incidente en el prisma 14. Las respuestas de la guía de ondas en condiciones diferentes mostradas en la figura 16 se muestran como una función del ángulo de acoplamiento interno. Haciendo referencia a la figura 1, el ángulo de acoplamiento interno es el ángulo entre la normal a la superficie de la guía de ondas 12 y la dirección en la que la luz de entrada procedente de la fuente de luz 16 pasa a través del prisma 14.

[0135] Las figuras 15 y 16 muestran que el ángulo incidente resonante de la guía de ondas (que está relacionado con la posición de cada pico respectivo en los gráficos) es mayor para las dos condiciones (tercera y cuarta condición) de la guía de ondas en las que las capas de polímero impresas molecularmente se han expuesto a la cafeína, en comparación con el de las condiciones de la guía de ondas en las que la capa impresa molecularmente se ha lavado solo con agua, o se ha lavado con agua y etanol respectivamente. En concreto, las condiciones (tercera y cuarta condición) de la guía de ondas que presentan capas de polímero impresas molecularmente que se han expuesto a la cafeína tienen ángulos incidentes resonantes que son aproximadamente 0,5 grados mayores que aquellas en las que la capa de polímero impresa molecularmente se ha lavado solo con agua (primera condición), o con agua y etanol (segunda condición) respectivamente. Como se ha analizado anteriormente, esto se debe a que la cafeína se une a los sitios de recepción en la capa de polímero impresa molecularmente y, por lo tanto, aumenta el índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente.

[0136] Además, puede observarse que el ángulo incidente resonante de la guía de ondas es mayor para la cuarta condición de la guía de ondas (que está relacionado con la posición del pico de cada una de las líneas 89 y 93) que para la tercera condición de la guía de ondas (que está relacionado con la posición de cada uno de los picos de las líneas 88 y 92). Se cree que esto es debido a que la guía de ondas en la cuarta condición se expuso a la solución (de cafeína) de la entidad objetivo durante más tiempo que la guía de ondas en la tercera condición. Debido a esto, hubo una mayor oportunidad para que las entidades objetivo (cafeína) se uniesen con los sitios de

recepción de la guía de ondas en la cuarta condición en comparación con la guía de ondas en la tercera condición. Por este motivo, se pueden unir más entidades objetivo (cafeína) con la guía de ondas en la cuarta condición que con la guía de ondas en la tercera condición, aumentando de esta manera en mayor medida el índice de refracción de la guía de ondas en la cuarta condición que el de la guía de ondas en la tercera condición.

[0137] En la descripción anterior, el acoplamiento resonante de la luz en el modo guiado de fuga se ha utilizado para proporcionar la detección de un cambio del índice de refracción de la capa de detección. En una disposición alternativa, se puede utilizar la resonancia de plasmones superficiales para detectar el cambio del índice de refracción. Los plasmones superficiales son ondas electromagnéticas superficiales que se propagan a lo largo de una interfaz entre un metal y un dieléctrico. Puesto que las ondas electromagnéticas se encuentran en el borde del metal y el dieléctrico, son muy sensibles a cualquier cambio en este borde. Se puede construir una guía de ondas en la que la capa de polímero impresa molecularmente se encuentra en la capa de metal y la resonancia de plasmones superficiales se utiliza para detectar cambios de una propiedad óptica de la capa de polímero impresa molecularmente.

[0138] Se pueden utilizar otros mecanismos de detección óptica para detectar el cambio del índice de refracción (u otra propiedad óptica) de la capa de polímero impresa molecularmente.

[0139] Una guía de ondas que proporciona un modo guiado de fuga permite la utilización de materiales con un índice de refracción relativamente bajo para formar la capa de polímero impresa molecularmente 34 o la capa de guía de ondas 58 en comparación con los utilizados para la resonancia de plasmones superficiales. Esto puede facilitar la utilización de una amplia variedad de materiales, incluyendo por ejemplo polímero, sol-gel o hidrogel.

[0140] Una ventaja adicional de la utilización de un modo guiado de fuga es que, dado que hay una diferencia relativamente pequeña entre el índice de refracción de la capa de detección 34 y el del fluido 31, el ángulo de resonancia en el que se excita el modo de fuga es relativamente agudo: Se pretende que el término "relativamente agudo" signifique más agudo que el que se lograría si se utilizara la resonancia de plasmones superficiales como mecanismo de detección.

[0141] Puede resultar difícil utilizar los sensores de resonancia de plasmones superficiales, puesto que utilizan una capa de metal muy delgada, cuyo grosor no se puede seleccionar fácilmente. El grosor de la capa de metal en combinación con el ángulo en el que la luz incidente cae sobre el sensor de resonancia de plasmones superficiales determina la profundidad de penetración de un componente de onda evanescente del modo de superficie que interactúa con la capa de polímero impresa molecularmente. La variación del ángulo de la luz incidente permite normalmente que la profundidad de penetración de la onda evanescente se ajuste de varias micras a varias decenas de nanómetros. Puesto que el grosor de la capa de metal no se puede variar fácilmente, el intervalo de profundidades de penetración de la onda evanescente y, por lo tanto, la profundidad de detección no se pueden seleccionar fácilmente.

[0142] En contraste con esto, cuando se utiliza una guía de ondas de fuga es predominantemente el grosor de la capa de guía de ondas el que controla la penetración de la luz evanescente. Puesto que la capa de polímero impresa molecularmente 34 es relativamente gruesa en comparación con la de la capa de metal en la resonancia de plasmones superficiales, su grosor y, por lo tanto, la profundidad de penetración de la onda evanescente por encima de la capa de la guía de ondas, se puede controlar más fácilmente. En general, el grosor de la capa de guía de ondas de una guía de ondas de fuga es alrededor de diez veces más grueso que el de la capa de metal utilizada en la construcción de una resonancia de plasmones superficiales. El elemento de control de la penetración de la onda evanescente es útil cuando se utiliza una construcción tal como la que se muestra en la figura 12, puesto que permite controlar el grado de penetración de la luz en la capa de polímero impresa molecularmente. La utilización de una capa de guía de ondas gruesa es particularmente ventajosa a la hora de medir un cambio en el índice de refracción de la capa de polímero impresa molecularmente (siendo la capa de guía de ondas y la capa de polímero impresa molecularmente una y la misma en este caso). Esto se debe al hecho de que, en general, cuanto mayor es el grosor de la capa de guía de ondas, mayor es el orden del modo que puede llevar la capa de guía de ondas. Cuanto mayor es el orden del modo que se puede llevar en la capa de guía de ondas, mayor es la proporción de luz incidente en la guía de ondas que permanece dentro de la capa de guía de ondas y, por lo tanto, mayor es la sensibilidad del sensor a un cambio en el índice de refracción de la capa de guía de ondas.

[0143] En el caso de la resonancia de plasmones superficiales, la luz dirigida al sensor es luz polarizada magnética transversal (TM, por sus siglas en inglés).

[0144] Una desventaja de las guías de ondas de modo de fuga conocidas es que en algunos casos se requieren ópticas de detección para detectar una bajada de intensidad de la luz devuelta desde la guía de ondas y para seguir el movimiento angular de esa bajada. La ausencia de luz es intrínsecamente más difícil de detectar que un

pico de intensidad de luz. La utilización de la capa de metal 38 para proporcionar un pico de intensidad de luz cuando se excita un modo de guía de ondas de fuga puede, de esta manera, resultar ventajosa.

5 [0145] Las dimensiones de la guía de ondas se pueden seleccionar de manera que exciten una variedad de números de modos. Las dimensiones de la guía de ondas se pueden seleccionar para determinar la profundidad de penetración de una onda evanescente. La selección de las dimensiones apropiadas para la guía de ondas puede depender de la longitud de ondas de la luz utilizada. Se puede utilizar una fuente de luz 16 que sea sustancialmente monocromática. Entre los ejemplos de fuentes de luz monocromática se incluyen LASER y RCLED (diodos emisores de luz de cavidad resonante).

10 [0146] Aunque en la descripción anterior se han proporcionado ejemplos específicos de estructuras de guía de ondas, se pueden utilizar otras estructuras de guía de ondas adecuadas.

[0147] Aunque la descripción anterior se refiere a la detección de RNasa, en agua, se pueden detectar otras entidades objetivo. Las entidades objetivo pueden estar en un fluido distinto al agua.

15 [0148] Aunque la capa de polímero impresa molecularmente se describe como porosa, puede ser posible utilizar una capa de polímero impresa molecularmente no porosa. Cuando se realiza esto, las entidades objetivo se recibirán solo en la superficie superior de la capa de polímero impresa molecularmente y la señal resultante será, por lo tanto, menos fuerte que la que se proporciona mediante los modos de realización ilustrados de la invención. Que la capa de polímero impresa molecularmente se pueda considerar porosa depende de si las entidades objetivo se pueden difundir a través de la capa de polímero impresa molecularmente. Un factor que es relevante en la determinación de si este es el caso es el tamaño relativo de las cavidades 52 y las entidades objetivo. En general, es más probable que la capa de polímero impresa molecularmente sea porosa si las cavidades 52 son del mismo orden de tamaño o más grandes que las entidades objetivo. Si la capa de polímero impresa molecularmente no es porosa, entonces cualquier captura de entidades objetivo por la capa de polímero impresa molecularmente ocurrirá en la superficie de la capa de polímero impresa molecularmente. En dichas situaciones, puede ser conveniente tener una capa (capa de polímero impresa molecularmente) de guía de ondas que tenga un grosor que sea capaz de llevar solo un único modo. Esto maximizará el componente evanescente de la luz incidente en la guía de ondas y, por tanto, aumentará la sensibilidad del sensor a las entidades objetivo que están en el borde de la capa de guía de ondas o fuera de la misma.

25 [0149] Aunque los modos de realización descritos de la invención se refieren a una guía de ondas que tiene una capa de polímero impresa molecularmente, la invención puede comprender de manera alternativa una capa de no polímero que se haya impreso molecularmente.

30

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un sensor óptico que comprende una guía de ondas de modo de fuga que tiene una capa de detección que está impresa molecularmente de manera que recibirá y retendrá entidades objetivo a detectar, comprendiendo además el sensor óptico un aparato de detección dispuesto para detectar un cambio del índice de refracción de la guía de ondas de modo de fuga que se produce cuando las entidades objetivo se reciben y se retienen en la capa de detección.
- 2.** Sensor óptico de conformidad con la reivindicación 1, en el que la capa de detección comprende sitios de recepción que presentan formas que son adecuadas para la recepción de las entidades objetivo.
- 10 **3.** Sensor óptico de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la capa de detección comprende sitios de recepción que presentan grupos funcionales que son complementarios a los grupos funcionales de las entidades objetivo.
- 4.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que la capa de detección es porosa.
- 5.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que las entidades objetivo son ribonucleasa.
- 15 **6.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que las entidades objetivo están inactivas.
- 7.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que la guía de ondas de modo de fuga incluye una capa de material que presenta un índice de refracción que es superior al índice de refracción de la capa de detección.
- 20 **8.** Sensor óptico de conformidad con la reivindicación 7, en el que la capa de material es una capa de metal.
- 9.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que la capa de detección es una capa de polímero.
- 10.** Sensor óptico de conformidad con cualquier reivindicación anterior, en el que el sensor forma parte de un detector de contaminación que proporciona una detección continua de la contaminación como parte de un sistema de purificación de agua.
- 25 **11.** Método de detección óptica que utiliza un sensor óptico que comprende una guía de ondas de modo de fuga que presenta una capa de detección que está impresa molecularmente de manera que recibirá y retendrá entidades objetivo, comprendiendo el método:
- 30 la colocación de una parte del sensor en una trayectoria de flujo de fluido, fluyendo el fluido a fin de ponerse en contacto con al menos una superficie de la capa de detección;
- el acoplamiento de la luz en un modo guiado de la guía de ondas de modo de fuga de manera que la capa de detección reciba al menos una parte de la luz; y
- 35 la monitorización de una propiedad de la luz emitida desde la guía de ondas de modo de fuga, cambiando la propiedad en el caso de que las entidades objetivo se reciban y se retengan en la capa impresa molecularmente y, por lo tanto, cambie el índice de refracción de la capa impresa molecularmente.
- 12.** Método de detección óptica de conformidad con la reivindicación 11, en el que la capa de detección es porosa con respecto al fluido en circulación, permitiendo de esta manera que el fluido se disperse en la capa de detección; y/o
- 40 en el que la capa de detección comprende sitios de recepción que presentan formas que son adecuadas para la recepción de las entidades objetivo; y/o
- en el que la capa de detección comprende sitios de recepción que presentan grupos funcionales que son complementarios a los grupos funcionales de las entidades objetivo.
- 13.** Método de detección óptica de conformidad con las reivindicaciones 11 o 12, en el que la propiedad de la luz emitida que se monitoriza es la intensidad de la luz y/o
- 45 el ángulo en el que la luz se emite de la guía de ondas de modo de fuga.
- 14.** Método de detección óptica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que el fluido es agua y las entidades a detectar son ribonucleasa.
- 15.** Método de detección óptica de conformidad con la reivindicación 14, en el que la ribonucleasa está inactiva.

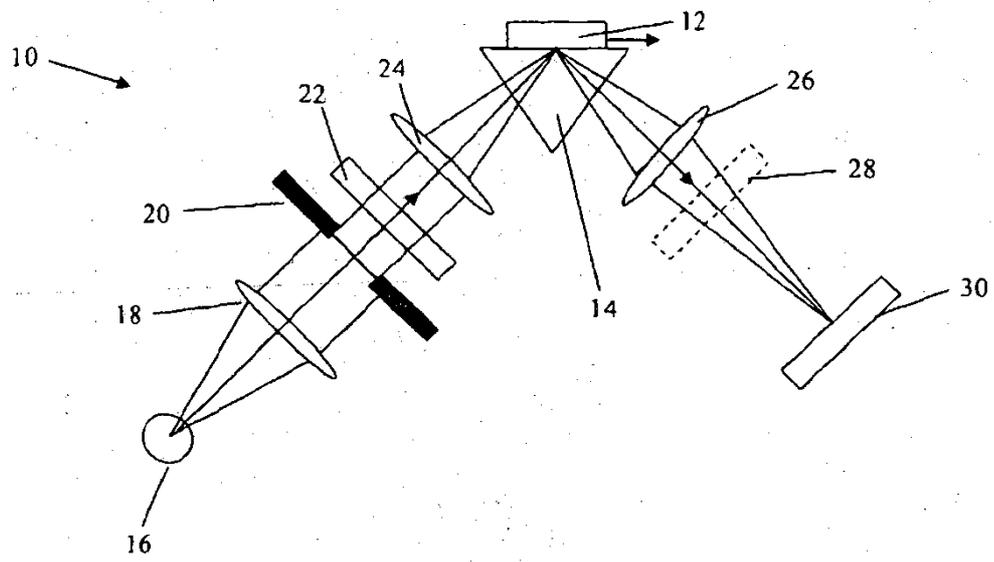


Figura 1

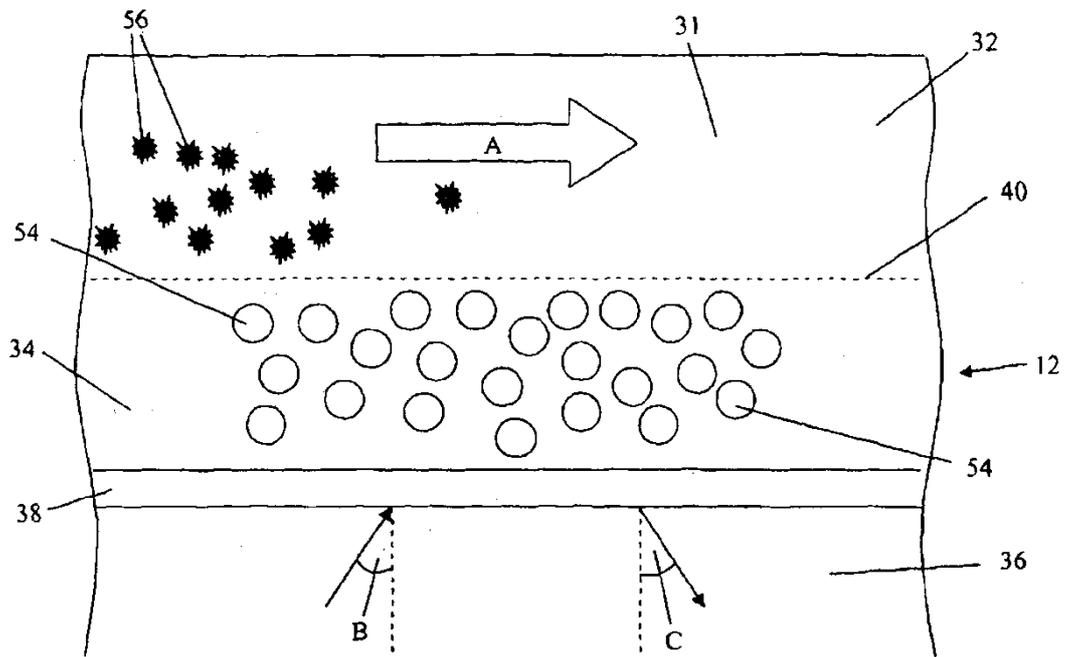


Figura 2

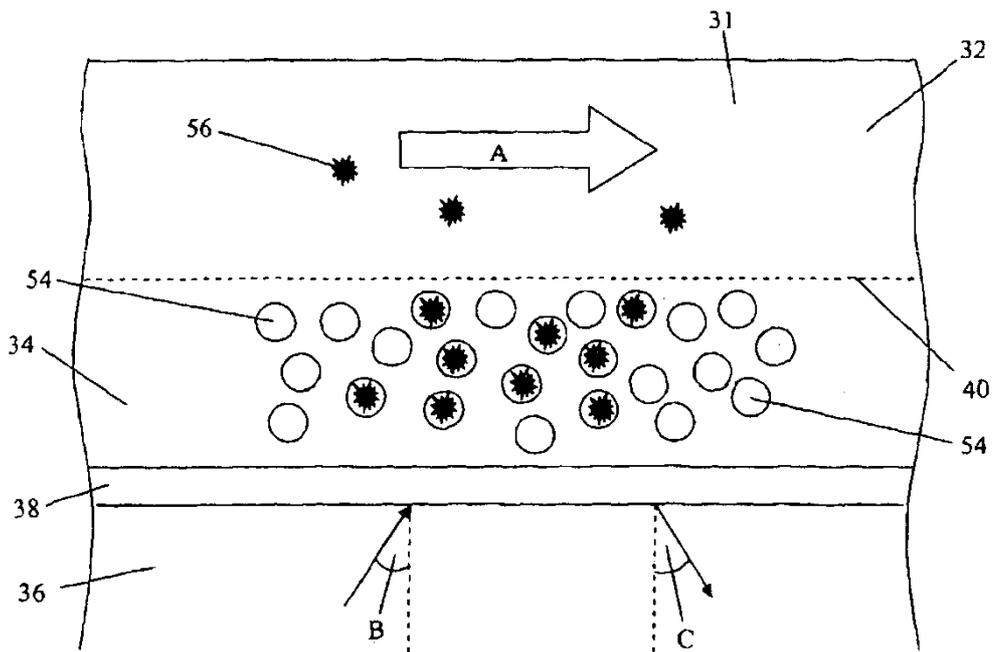
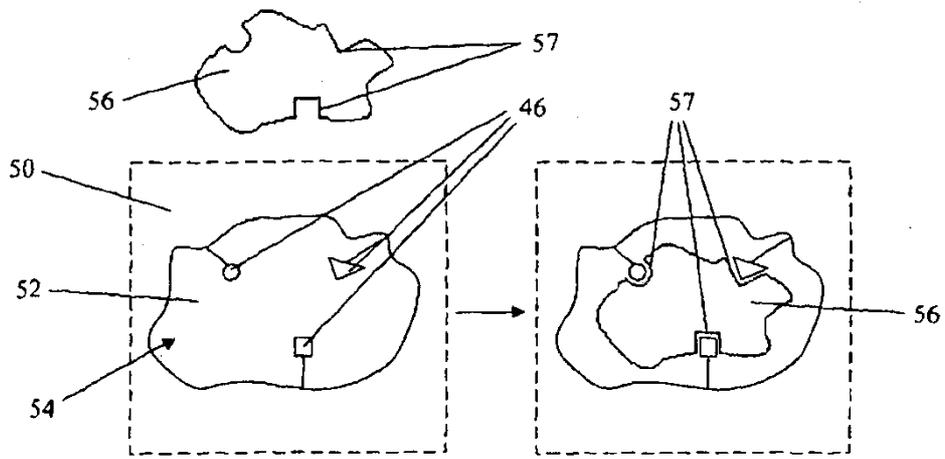
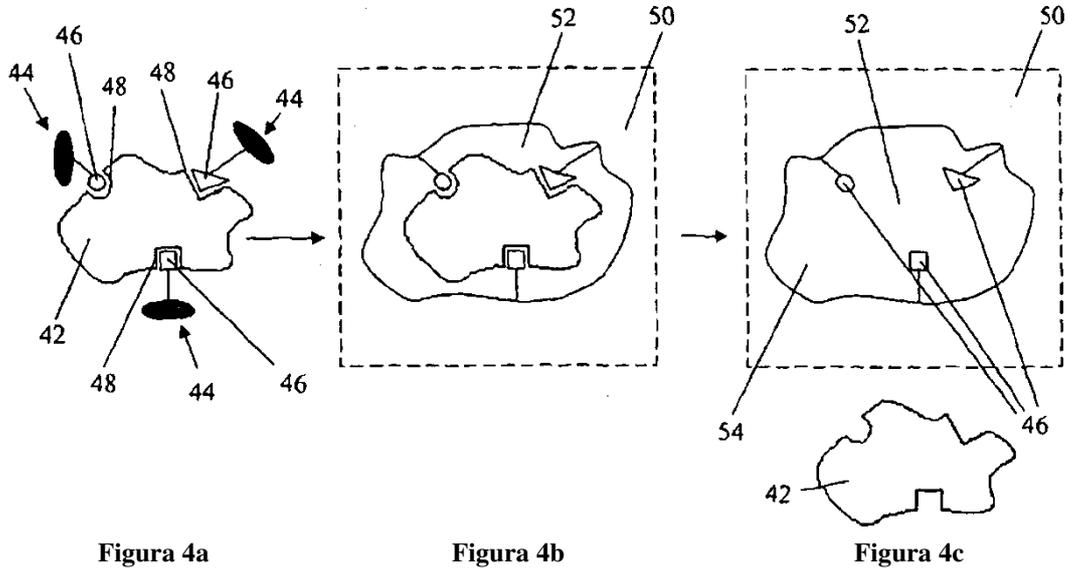


Figura 3



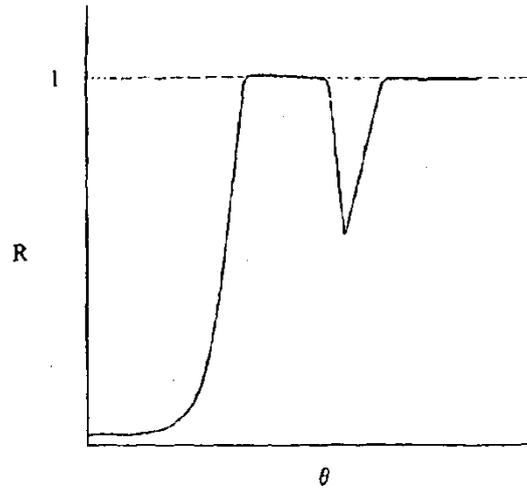


Figura 6

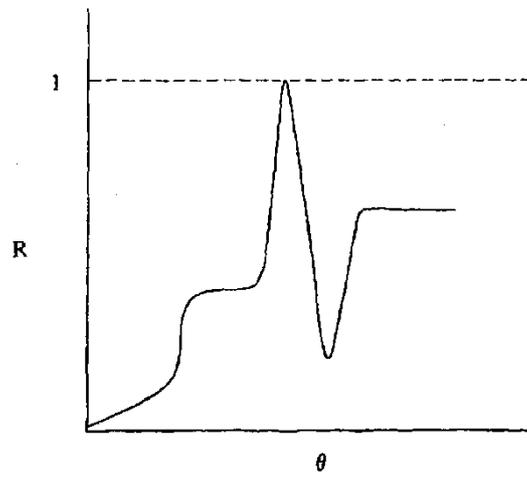


Figura 7

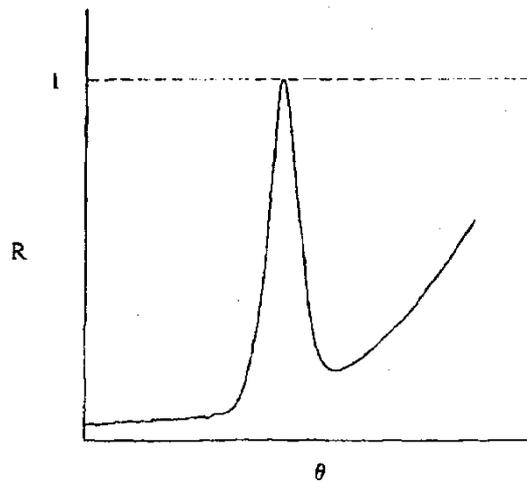


Figura 8

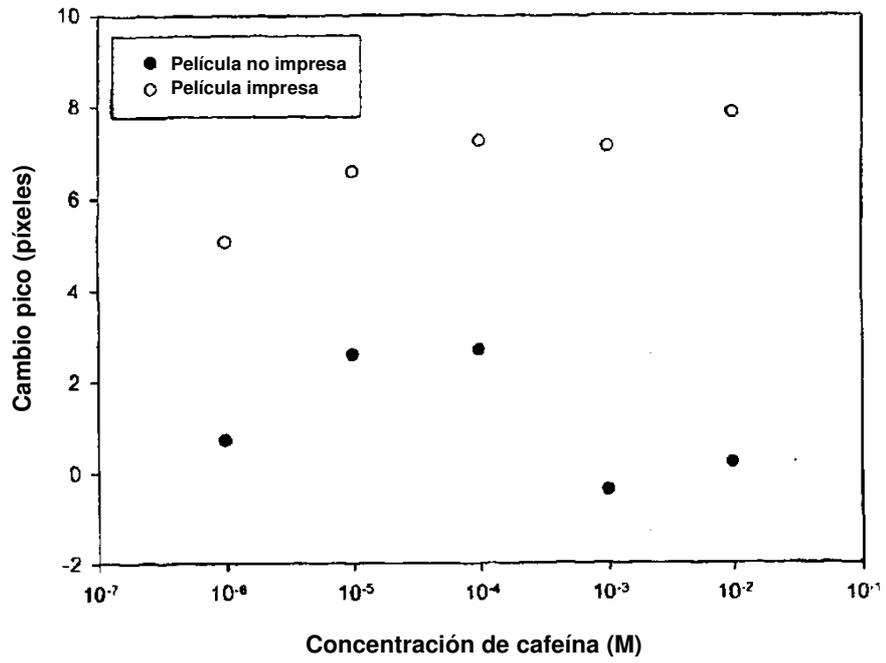


Figura 9

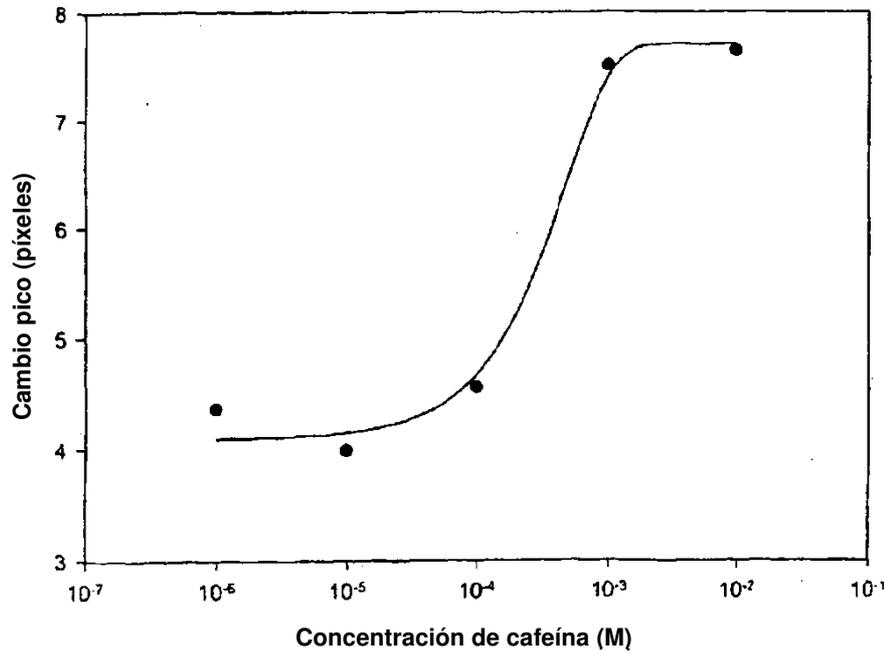


Figura 10

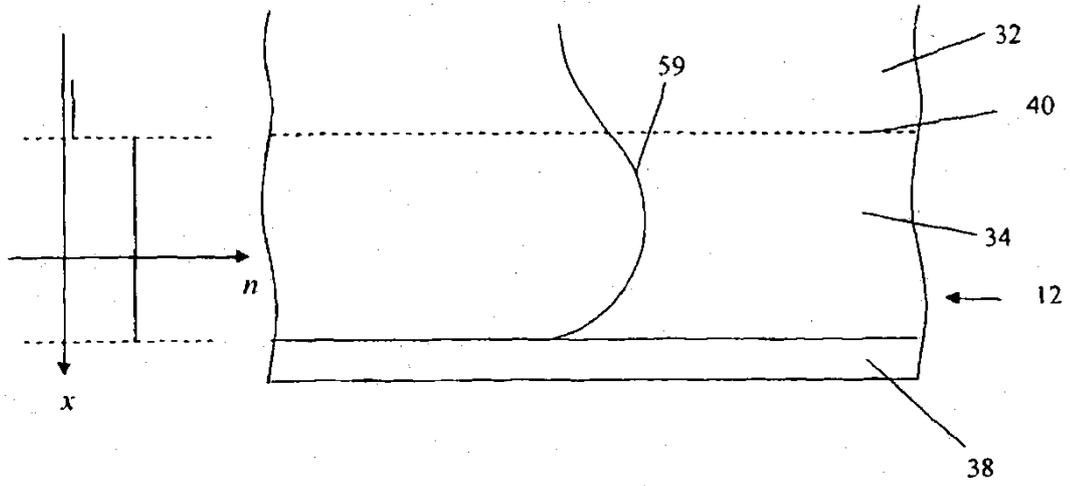


Figura 11

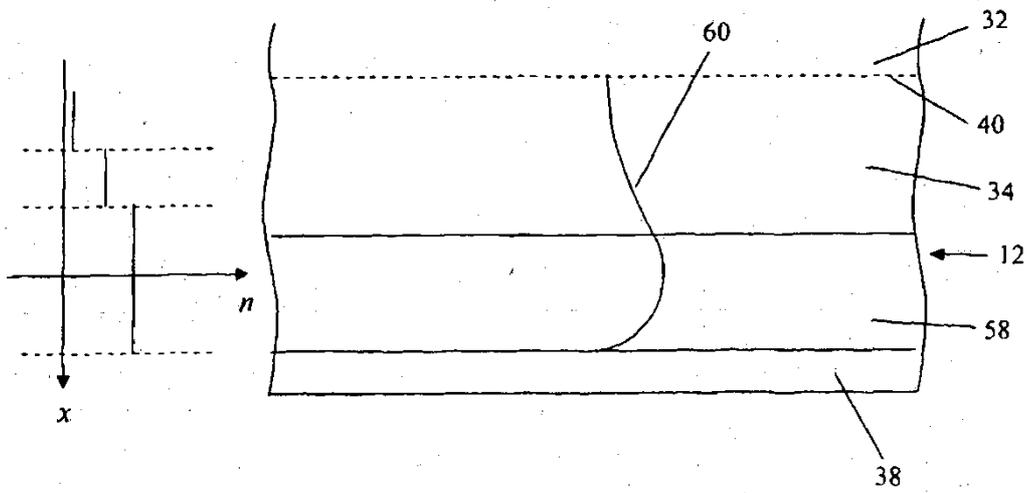


Figura 12

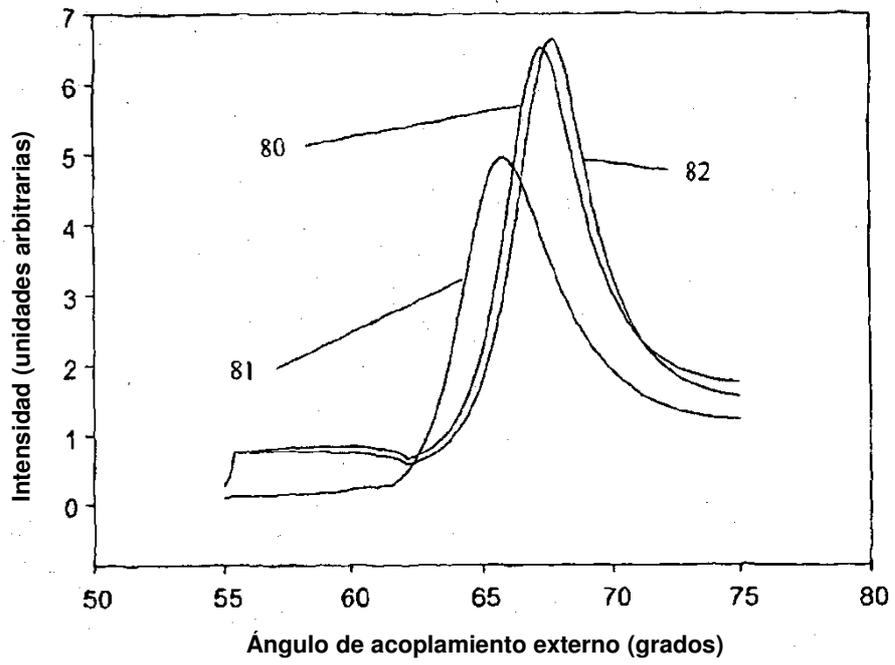


Figura 13

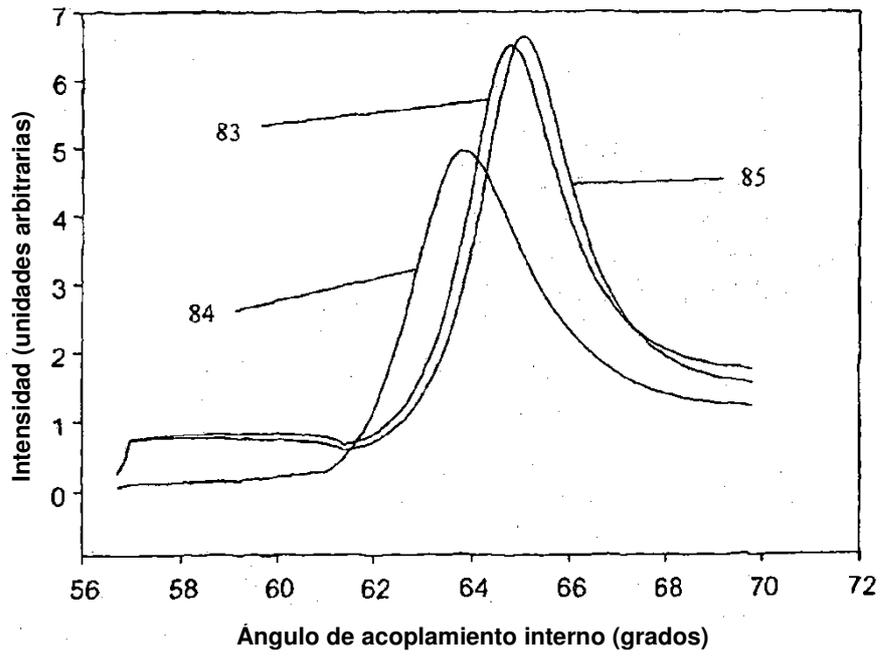


Figura 14

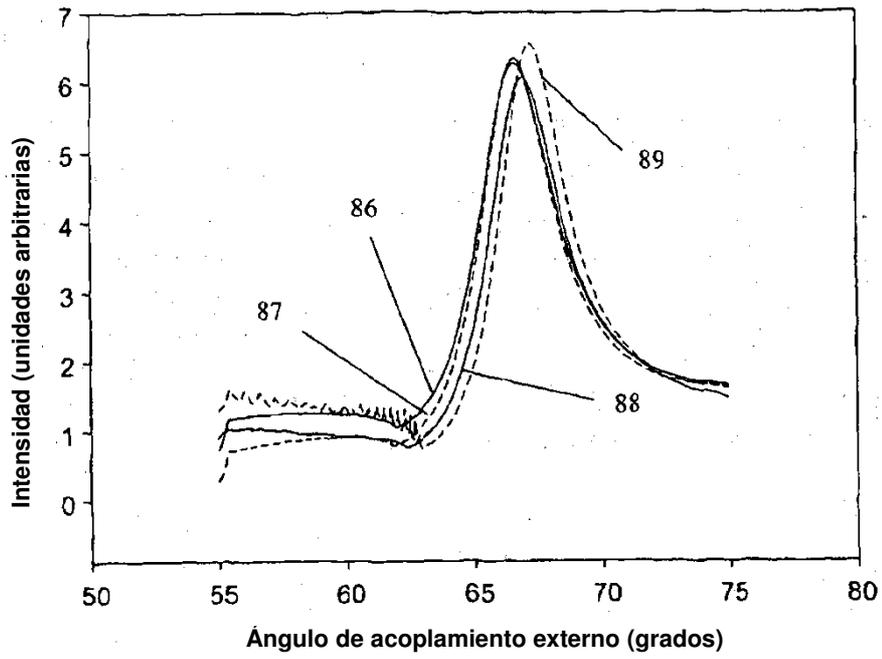


Figura 15

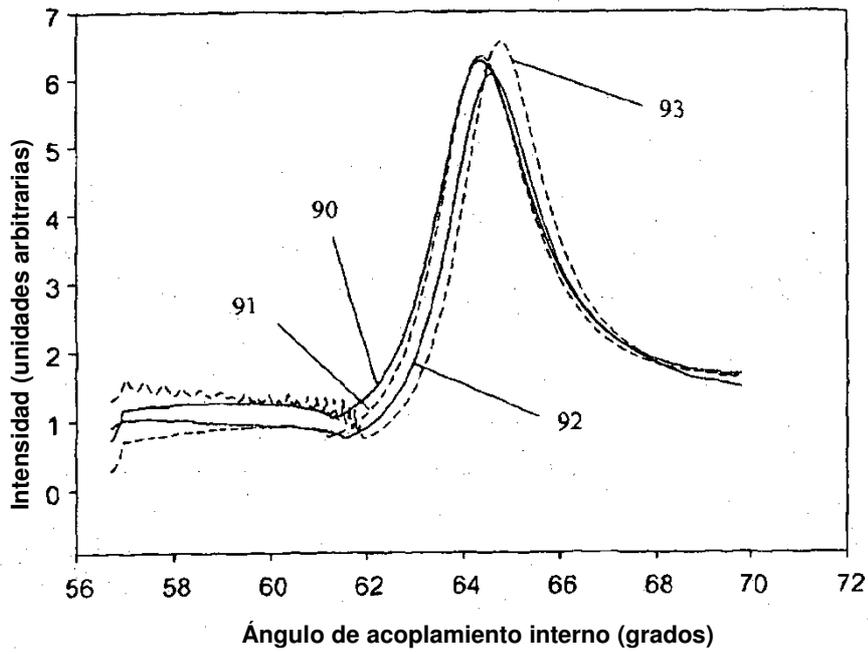


Figura 16