

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 958**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 21/77 (2006.01)

H01S 5/14 (2006.01)

G01N 27/447 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2009 E 09003077 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.08.2016 EP 2101167**

54 Título: **Detector químico óptico y método asociado**

30 Prioridad:

10.03.2008 US 45570

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

17.11.2016

73 Titular/es:

**OCTROLIX BV (100.0%)
PO BOX 456
7500 AH ENSCHEDE, NL**

72 Inventor/es:

**HEIDEMANN, RENE GERRIT y
DEKKER, RONALD**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 589 958 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

Detector químico óptico y método asociado

CAMPO DEL INVENTO

El presente invento se refiere a la detección química en general, y, más particularmente, a la detección química óptica.

5 ANTECEDENTES DEL INVENTO

Los sistemas de microfluidos ofrecen una ventaja potencial en aplicaciones tales como síntesis, destilación, y análisis químicos. Se han desarrollado numerosos sistemas de microfluidos, en los que volúmenes diminutos de fluido son mezclados, separados, calentados, hechos reaccionar, y similares. Con el fin de controlar tales procesos, es imperativo que cada componente químico sea controlado. Esto requiere, fundamentalmente, una capacidad para detectar la presencia de una sustancia química en un fluido. Además, es ventajoso ser capaz de vigilar la concentración química también en tiempo real.

En general, un componente químico no puede, por sí mismo, ser medido directamente. Como resultado, los métodos de detección se basan en la detección de un cambio en una propiedad mensurable de la sustancia química, tal como la conductividad eléctrica, viscosidad, color, absorción, índice de refracción, y similares. Como tal, los componentes químicos son a menudo denominados como analitos. Un analito es una sustancia o constituyente químico que es determinado en un procedimiento analítico, tal como una valoración. Por ejemplo, en un ensayo de inmunidad, el analito puede ser el ligante o el aglutinante, mientras que en las pruebas de glucosa en sangre, el analito es la glucosa. Para los propósitos de esta memoria, que incluye reivindicaciones adjuntas, el término analito es utilizado para referirse a un componente químico o biológico presente en una solución portadora, tal como una solución tampón.

Hay muchos métodos conocidos para detectar la presencia de un analito en un fluido. Estos incluyen la microscopia fluorescente, la inspección visual del fluido, la vigilancia de la conductividad eléctrica del fluido, y la detección óptica de un cambio en una propiedad óptica del fluido. En la mayoría de los sistemas de la técnica anterior, sin embargo, estos métodos se basan en la detección de un cambio muy pequeño en una propiedad de la solución. Para complicar más las cosas, estos métodos proporcionan a menudo una señal de salida que varía de forma lineal, proporcional con el pequeño cambio en la propiedad. Como resultado, la intensidad de la señal asociada con la presencia de la señal es a menudo baja y así la relación señal a ruido de la señal de salida es pobre. Esto limita la sensibilidad de tales métodos de detección.

La microscopia fluorescente ofrece una detección de alta sensibilidad de un analito; sin embargo, requiere la existencia de una molécula fluorescente adecuada que puede ser unida al analito. En una aplicación fluorescente típica, un analito es etiquetado selectivamente con una molécula fluorescente llamada un fluoróforo (por ejemplo, proteína fluorescente verde (GFP), fluoresceína o DyLight 488, etc.). El espécimen "etiquetado" es iluminado con luz de una longitud de onda (o longitudes de onda) específicas que es absorbida por los fluoróforos. La luz absorbida hace que emitan luz en un color diferente al de la luz absorbida. La presencia del analito es indicada cuando esta luz emitida es detectada. Un sistema de detección fluorescente requiere normalmente un microscopio, una fuente luminosa (por ejemplo, una lámpara de arco de xenón o una lámpara de vapor de mercurio), filtros de múltiples colores, y un espejo o divisor de haz dicróico (es decir, un espejo que refleja un color pero no otro). Los filtros y los elementos dicróicos son elegidos para hacer coincidir las longitudes de onda de excitación y emisión del fluoróforo utilizado para etiquetar el espécimen. Aunque capaz de una alta sensibilidad, un sistema de detección fluorescente es bastante complicado y puede ser muy costoso.

Otros métodos de detección óptica se basan generalmente en hacer pasar un haz de luz a través del fluido y detectar un cambio en la absorción o en el índice de refracción a través de la detección de un cambio en la intensidad del haz de luz. Hay varios inconvenientes para tales aproximaciones, sin embargo. En primer lugar, el cambio en la propiedad óptica medida es típicamente pequeño. Con el fin de obtener una señal de salida detectable, por tanto, debe ser cuestionada una gran cantidad de fluido. Como resultado, la región de detección de tales sistemas es típicamente grande. Cuando un analito empieza a alcanzar la región de detección, su concentración no es uniforme e inicialmente es muy baja. Como solo una pequeña parte de la región de detección contiene analito, su efecto sobre todo el haz de luz es silenciado. Esto reduce la posibilidad efectiva inducida por la llegada del analito. Cuando el analito continúa fluyendo a la región de detección y la llena, el nivel de concentración se acumula lentamente y la señal de salida cambia lentamente hasta que es detectable. Estos factores conducen a una incertidumbre en el momento en el que ha llegado el analito. Además, la necesidad de cuestionar una gran cantidad de fluido aumenta el coste de tal sistema ya que su tamaño total debe ser aumentado para acomodar la mayor región de detección.

En segundo lugar, como estos métodos requieren que la energía óptica pase a través de la propia solución, son inapropiados para utilizar en algunas aplicaciones. Por ejemplo, algunos analitos son sensibles a la luz y pueden ser dañados o alterados químicamente cuando son expuestos a tal energía.

Existe una necesidad, por tanto, para que la detección química sea muy sensible y que pueda proporcionar rápidamente una señal de salida discernible.

El documento US 2006/0268260 A1 describe un aparato y un método para el análisis de células, que utiliza un láser con cavidad externa. La cavidad externa incluye un microcanal para transportar células a una región de focalización. Dependiendo del índice de refracción de las células la longitud efectiva de la cavidad externa es cambiada. Las células son movidas a través del microcanal por fuerzas electrocinéticas.

5 RESUMEN DEL INVENTO

El presente invento permite la detección de uno o más analitos presentes en un fluido mediante un método y un aparato como se ha definido en las reivindicaciones 1 y 6, respectivamente. Las realizaciones del presente invento son en particular muy adecuadas para utilizar en aplicaciones de microfluidos, tales como de laboratorio sobre un chip, reactores químicos sobre un chip, reactores de microfluidos, sistemas analíticos, electroforesis capilar, y similares.

10 Las realizaciones del presente invento, como la técnica anterior, proporcionan una señal de salida cuando una propiedad óptica de una solución tampón, tal como el índice de refracción, cambia debido a la presencia de un analito en la solución. En la técnica anterior, sin embargo, la señal de salida es una función sustancialmente lineal del cambio en la propiedad óptica. Como resultado, un pequeño cambio en la propiedad óptica es difícil de discernir porque conduce solamente a una señal de salida pequeña. Enfoques de la técnica anterior, por tanto, emplean típicamente una gran
15 región de detección de manera que un cambio pequeño puede ser detectado más fácilmente.

En contraste con la técnica anterior, el presente invento proporciona un elemento de detección que puede proporcionar una respuesta sustancialmente no lineal a un cambio en una propiedad óptica de la solución tampón. Un resonador de guía de ondas es utilizado como el elemento de detección, en el que la longitud de onda a la que el resonador de guía de ondas es ópticamente resonante es una función del índice de refracción del fluido en una región de detección. El revestimiento del resonador de guía de ondas comprende el fluido y la longitud de onda resonante del resonador de guía de ondas, por tanto, depende fuertemente del índice de refracción del fluido. Como resultado, la intensidad de una señal luminosa proporcionada a un detector por el resonador de guía de ondas es una función altamente no lineal del índice de refracción del fluido. Además, en algunas realizaciones, el elemento de detección es aproximadamente del mismo tamaño que la muestra de analito, permitiendo una salida rápida y definitiva en respuesta a la presencia del analito en la
20 región de detección.

El presente invento proporciona una señal luminosa a un detector, en la que la presencia de un analito en un fluido en una región de detección es indicada por la intensidad de la señal luminosa. Un resonador de guía de ondas recibe luz, que tiene una primera longitud de onda, procedente de una fuente. El resonador de guía de ondas proporciona entonces una señal luminosa de salida, que tiene la primera longitud de onda, a un detector, en el que la intensidad de la señal luminosa de salida está basada en la resonancia óptica del resonador de guía de ondas.
25

El resonador de guía de ondas está dispuesto en una configuración de espejo de resonador de guía de ondas que forma un espejo externo de un láser de cavidad externa. La intensidad y longitud de onda de la salida de este espejo de cavidad externo están basadas en el índice de refracción de un fluido en una región de detección. La concentración de un analito en el fluido es determinada, basada en un desplazamiento en la longitud de onda resonante del resonador de guía de ondas.
30

Una realización del presente invento, comprende un conducto de fluido para transportar un fluido, en que el conductor del fluido, comprende una segunda región; y un primer resonador de guía de ondas, en que el primer resonador de guía de ondas es ópticamente resonante para un primer componente espectral cuando el fluido en la segunda región tiene un primer índice de refracción, y en que el primer resonador de guía de ondas es ópticamente resonante para un segundo componente espectral cuando el fluido en la segunda región tiene un segundo índice de refracción.
35

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La fig. 1 representa un diagrama esquemático de detalles de un sistema de electroforesis capilar de acuerdo con la técnica anterior.

45 La fig. 2 muestra una representación esquemática de un resonador típico de anillo acoplado lateralmente de la técnica anterior para acoplar luz desde una primera guía de ondas de bus a una segunda guía de ondas de bus.

La fig. 3 representa un método para detectar la presencia de un analito en una solución de acuerdo con una realización ilustrativa del presente invento.

La fig. 4 representa un diagrama esquemático de detalles de un sistema de electroforesis capilar de acuerdo con la realización ilustrativa del presente invento.

50 La fig. 5A representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo que no está de acuerdo con el presente invento.

La fig. 5B representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo que no está de acuerdo con el presente invento.

La fig. 5C representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo que no está de acuerdo con el presente invento.

La fig. 5D representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo que no está de acuerdo con el presente invento.

- 5 La fig. 5E representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo que no está de acuerdo con el presente invento.

La fig. 6 representa un gráfico de una señal de salida desde el elemento sensor 410 de acuerdo con la realización ilustrativa de la fig. 4.

- 10 La fig. 7 representa un diagrama esquemático de detalles de un sensor de acuerdo con una realización del presente invento.

La fig. 8 representa un método para detectar analito y calcular la concentración del analito en un fluido de acuerdo con la realización de la fig. 7.

La fig. 9 representa un gráfico de detalles de la respuesta óptica de un láser de cavidad externa de acuerdo con la realización de la fig. 7.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los términos que aparecen a continuación son proporcionados con las definiciones explícitas siguientes para utilizar en la comprensión de la memoria e interpretación de las reivindicaciones adjuntas:

Rango espectral libre es la distancia (en espacio de frecuencia) entre picos de transmisión adyacentes.

- 20 **Componente espectral** se refiere a la energía óptica caracterizada por una longitud de onda particular. En el contexto de las aplicaciones tecnológicas del mundo real, en contraposición a una descripción teórica, un componente espectral nunca estará caracterizado realmente sólo por una única longitud de onda. En su lugar, el espectro electromagnético del componente espectral incluirá una pluralidad de longitudes de onda que están centradas alrededor de una longitud de onda predominante, primaria o central.

- 25 **Relación de acoplamiento evanescente** se refiere a una relación entre dos o más elementos, típicamente guías de onda ópticas, en que una señal óptica que se desplaza a través de uno de los elementos es capaz de acoplarse al menos en alguna de su energía óptica, mediante un acoplamiento de campo evanescente, al otro elemento.

Otras definiciones pueden aparecer a lo largo de esta memoria según sea apropiado.

- 30 El presente invento proporciona la detección de una especie química o agente biológico en una solución contenida en un sistema de microfluidos, tal como en una aplicación de laboratorio en un chip. Aunque la realización ilustrativa descrita aquí comprende un sistema de electroforesis capilar, resultará evidente para los expertos en la técnica, cómo hacer y utilizar realizaciones alternativas del presente invento que comprenden sistemas de microfluidos distintos de los sistemas de electroforesis capilar, tales como laboratorio sobre un chip, reactor químico, reactores de microfluidos, sistemas analíticos, electroforesis capilar, y similares.

- 35 La fig. 1 representa un diagrama esquemático de detalles de un sistema de electroforesis capilar (en lo que sigue, sistema CE) de acuerdo con la técnica anterior. El sistema CE 100 comprende un canal de flujo 102, un depósito fuente 104, un depósito del destino 106, un canal de muestras 108, una entrada de muestras 110, una salida de muestras 112, un procesador 114, y un sensor 116.

- 40 La electroforesis capilar es una técnica bien conocida para analizar muestras de sustancias químicas, células, y sustancia biológica. En funcionamiento, una solución tampón fluye a través del canal de flujo 102 desde el depósito fuente 104 al depósito de destino 106. El procesador 114 aplica una alta tensión de estado estacionario, V , típicamente en el rango de 10-30 kilovoltios, entre el depósito fuente 104 y el depósito de destino 106. Esta alta tensión induce el flujo electro-osmótico de la solución tampón a lo largo del canal del grupo 102 desde el depósito fuente 104 al depósito de destino 106. En algunos sistemas CE, el flujo de solución tampón a través del canal de flujo 102 es inducido aplicando un diferencial de presión entre el depósito fuente 104 al depósito de destino 106.

- 45 En el instante $t(0)$, el procesador 114 aplica un impulso de tensión $V(t)$ entre la entrada de muestras 110 y la salida de muestras 112. Esta tensión aplicada induce una carga de solución de muestra que ha de ser inyectada en la solución tampón en la región de mezcla 118, donde se mezcla con la solución tampón.

- 50 Cuando la carga de solución de muestra fluye a través de la longitud, $d1$, del canal de flujo 102, la solución de muestra se disocia en sus analitos constituyentes. Los analitos se separan debido a que cada analito se desplaza a través del canal del grupo 102 a una tasa que está basada en sus propiedades físicas individuales.

El detector 116 es un detector óptico para detectar la presencia de un analito en la solución tampón en la región de detección 120. En algunos sistemas CE, se ha utilizado una inspección visual para detectar la presencia de un analito. En otros sistemas CE, medios de detección no óptica, tales como sensores de conductividad eléctrica, se utilizan para detectar un analito.

5 El detector 116 genera una señal en respuesta a un cambio en las características ópticas de la solución en la región de detección 120, en que el cambio es debido a la presencia de un analito en la solución tampón. Antes de que cualquiera de los analitos constituyentes de la solución de muestra la alcance, la región de detección 120 contiene solamente solución tampón pura. Como resultado, la señal óptica 124 es recibida por el fotodetector 126 en una intensidad de estado estacionario. La intensidad de la señal óptica en el fotodetector 126 está basada en el coeficiente de absorción y el índice de refracción de la solución tampón pura. Antes de la llegada de un analito a la región de detección 120, por tanto, el fotodetector 126 proporciona una señal de salida 128 de estado estacionario al procesador 114.

10 En el instante $t(1)$, un primer analito alcanza la región de detección 120, lo que provoca un cambio en el coeficiente de absorción y/o en el índice de refracción de la solución. Esto provoca un cambio en la energía óptica recibida por el fotodetector 126 y un cambio correspondiente en la señal de salida 128. Cuando el primer analito deja la región de detección 120, la señal de salida 128 vuelve a su nivel de estado estacionario anterior. Este proceso se repite en el instante $t(2)$ para un segundo analito, en el instante $t(3)$ para un tercer analito, y así sucesivamente.

15 El procesador 114 recibe la señal de salida 128 y determina el instante entre la inyección de muestras, $t(0)$ y el instante en que cada analito ha sido detectado en la región de detección 120 (es decir, $t(1)$, $t(2)$, etc.). El procesador 114 deriva entonces una intensidad para cada analito basada en este diferencial de tiempo y en la distancia, $d1$, entre la región de mezcla 118 y la región de detección 120 (es decir, $t(1) - t(0)$, $t(2) - t(0)$, etc.), y la geometría del canal de flujo.

20 Aunque detectores ópticos conocidos, tales como el detector 116, proporcionan un medio de detección de analito, tienen varios inconvenientes. En primer lugar, un cambio en las propiedades ópticas de la solución en la región de detección 120 induce típicamente sólo un pequeño cambio en el haz óptico 124 ya que el haz óptico pasa a través sólo de una pequeña cantidad de solución. Con el fin de conseguir un cambio detectable en la energía óptica recibida, por tanto, la anchura, $w1$, de la región de detección es agrandada. La longitud de interacción de la región de detección 120 es directamente proporcional a su anchura, $w1$.

25 Una región de detección ancha, sin embargo, conduce a una incertidumbre en el tiempo de llegada del analito. Cuando el primer analito llega a la región de detección 120, la mayor parte de la región de detección contiene aún solución tampón pura. Como resultado, es difícil de detectar un cambio en las propiedades ópticas de la solución en la región de detección. Cuando la concentración del analito en la región de detección aumenta hasta un nivel suficiente, se detectará un cambio en la intensidad de la señal óptica 124. Este cambio, sin embargo, ocurrirá de una manera relativamente lenta. Además, una región de detección ancha conduce a una incertidumbre en la distancia en la que se ha desplazado el analito cuando es detectado. Como resultado, puede ser difícil identificar de manera correcta un analito con los métodos de detección óptica de la técnica anterior.

30 Además, una región de detección ancha aumenta el tamaño completo del chip de micro-fluido, lo que conduce a un coste incrementado. Además, se requieren a menudo ópticas adicionales, tales como una lente cilíndrica para expandir el haz óptico 124 en una dimensión al tiempo que lo restringe en otra dimensión. Esto también conduce a un coste del sistema y complejidad adicionales.

35 En contraste con los métodos de detección de la técnica anterior, el presente invento proporciona una detección más definitiva de la presencia de analito en una solución. El presente invento comprende un resonador de guía de ondas que está integrado con el canal de flujo para formar una pequeña región de detección. El presente invento se basa en el hecho de que el resonador de guía de ondas tiene una respuesta no lineal. Como resultado, un pequeño cambio de índice de refracción de la solución en la región de detección puede causar un gran cambio en las características resonantes del resonador de guía de ondas.

40 Como la interacción efectiva entre la solución y la señal óptica es aumentada, en comparación a las aproximaciones de la técnica anterior, la región de detección puede ser muy pequeña. De hecho, en algunas realizaciones, la región de detección no necesita ser más ancha que el tamaño del propio resonador de guía de ondas. Además, algunas realizaciones del presente invento comprenden guías de ondas que están caracterizadas por un núcleo interior de dióxido de silicio y un núcleo exterior de nitrato de silicio. Esta estructura del núcleo de guía de ondas permite ventajosamente el uso de un revestimiento delgado para guías de ondas del resonador de guía de ondas. Así, el acoplamiento óptico entre la solución y el resonador de guía de ondas es más fácilmente habilitado, como se ha descrito a continuación y con referencia a la fig. 5A.

Funcionamiento del Resonador de Guía de Ondas

45 Un resonador de guía de ondas comprende un elemento ópticamente resonante y una, o más típicamente dos, guías de ondas lineales. Las guías de ondas lineales son usualmente denominadas "guías de onda de puerto" o "guías de onda de bus", la última frase será utilizada aquí. En un resonador de disco, el elemento ópticamente resonante es un disco

macizo de material óptico. En un resonador de anillo, el elemento ópticamente resonante es un bucle cerrado de material de guía de ondas (en lo que sigue denominado como una "guía de ondas de bucle"). Las realizaciones descritas aquí comprenden todos los resonadores de anillo. Será evidente para un experto en la técnica, sin embargo, después de leer esta memoria, cómo hacer y utilizar realizaciones alternativas del presente invento que comprendan uno o más resonadores de disco.

Ciertas frecuencias de luz resuenan dentro de la guía de ondas de bucle y, como consecuencia de la geometría del resonador, la luz resonante se acopla entre la guía de ondas de bucle y la guía de ondas de bus. Un resonador de anillo, por tanto, funciona efectivamente como un acoplador óptico muy selectivo dependiente de la longitud de onda.

En la mayor parte de las implementaciones, la energía luminosa es acoplada dentro y fuera de la guía de ondas de bucle del micro-resonador mediante un acoplamiento de campo evanescente. Un campo óptico evanescente es la parte del campo óptico de luz guiada que se extiende más allá de la superficie física de un núcleo de guía de ondas (por ejemplo, la parte del campo óptico que se extiende al revestimiento de la guía de ondas). La intensidad y magnitud del campo óptico evanescente más allá del núcleo de guía de ondas es una función del contraste entre el índice de refracción del núcleo y las capas de revestimiento, y el índice de refracción de la propia capa de revestimiento. La capacidad para que un campo óptico evanescente se acople desde una guía de ondas a otra es una función de la proximidad de las dos guías de onda, del índice de refracción y del grosor de las capas de revestimiento de las guías de onda, del índice de refracción de cualquier material entre los revestimientos de las guías de onda, y de la longitud de onda de la luz.

En un resonador de anillo convencional, el acoplamiento evanescente entre una guía de ondas de bucle y una guía de ondas de bus es conseguido colocando ambas en estrecha proximidad. La luz que se propaga en la guía de ondas de bus que está en la longitud de ondas resonante es acoplada desde la guía de ondas de bus a la guía de ondas de bucle. La luz que se propaga en la guía de ondas de bus que está fuera de resonancia (es decir no a la longitud de onda de resonancia) puede puentear la guía de ondas de bucle y continúa propagándose hacia abajo a la guía de ondas de bus.

En el presente invento, el acoplamiento evanescente entre una guía de ondas de bus y una guía de ondas de bucle es habilitado cuando los revestimientos de la guía de ondas de bucle y de la guía de ondas de bus están en contacto con una solución que tiene un índice de refracción apropiado. Las propiedades ópticas de la solución son incorporadas a las características ópticas del revestimiento de la guía de ondas. Como resultado, el índice de refracción de la solución tiene un impacto dramático sobre la capacidad de guiar la luz de las guías de ondas. En efecto, la solución resulta parte de los revestimientos de las guías de onda de bucle y de bus. El índice de refracción de la solución, por ello, determina para qué longitudes de onda se acopla el campo óptico evanescente entre la guía de ondas de bucle y la guía de ondas de bus (es decir, para qué longitudes de onda el resonador de guía de ondas es ópticamente resonante).

La forma del "bucle" de la guía de ondas de bucle cerrado es típicamente circular, ovalada o elíptica, pero puede tener alternativamente una circunferencia curvada de manera arbitraria en forma de un anillo distorsionado. La guía de ondas de bucle utilizada en conjunción con el presente invento tendrá típicamente una forma circular para minimizar su tamaño, pero cualquiera de las geometrías antes mencionadas puede ser utilizada de manera adecuada.

Los resonadores de anillo son fabricados típicamente en una de dos disposiciones: "acoplada lateralmente" o "acoplada verticalmente". En un resonador de anillo acoplado lateralmente, las guías de onda de bus están en el plano de la guía de ondas de bucle. En un resonador acoplado verticalmente, las guías de onda de bus están situadas o bien ambas por encima, ambas por debajo, o una por encima y una por debajo de la guía de ondas de bucle. Cada una de estas dos disposiciones básicas tiene ventajas e inconvenientes bien comprendidos. Puede ser utilizada cualquier disposición en conjunción con el presente invento.

La fig. 2 muestra una representación esquemática de un resonador de anillo típico acoplado lateralmente de la técnica anterior para acoplar luz desde una primera guía de ondas de bus a una segunda guía de ondas de bus. El resonador de anillo 200 comprende una guía de ondas de bucle cerrado 232 y dos guías de onda de bus 234 y 238. El resonador de anillo 200 tiene cuatro puertos: un puerto de entrada 236A y un puerto de paso 236B definido sobre la guía de ondas de bus 234 y un puerto de adición 240A y un puerto de caída 240B definidos sobre la guía de ondas de bus 238.

Una parte de cada una de las guías de onda de bus 234 y 238 es adyacente y tangencial (es decir, en la dirección de una tangente) a la guía de ondas de bucle 232. En esta parte de las guías de onda de luz, están separadas de la guía de ondas de bucle 232 por un espacio G. Este espacio es lo bastante pequeño para permitir el acoplamiento de campo evanescente, como se ha descrito previamente.

En algunas implementaciones alternativas (no representadas), partes respectivas de cada una de las guías de onda 234 y 238 que son adyacentes a la guía de ondas de bucle 232 no son tangenciales a ella; en su lugar, se curvan alrededor de una parte de la guía de ondas de bucle 232 para aumentar la longitud de interacción (acoplamiento). En algunas otras implementaciones, un resonador de anillo acoplado verticalmente incluye guías de onda de bus que están dispuestas ortogonalmente entre sí (véase por ejemplo la Patente Norteamericana N° 6.411.752).

Ciertas longitudes de onda de luz resuenan dentro de la guía de ondas de bucle 232 como una función de características del bucle. Considérese una señal óptica de múltiples longitudes de onda que se propaga en la guía de ondas de bus 234

más allá del puerto de entrada 236A. La luz que tiene una longitud de onda que está fuera de resonancia con la guía de ondas de bucle 232 puentea el bucle y es emitida desde el puerto de paso 236B de la guía de ondas de bus 234. La luz que tiene una longitud de onda que está en resonancia se acopla a la guía de ondas de bucle 232 mediante un acoplamiento del campo evanescente. Como es utilizado en esta memoria y en las reivindicaciones adjuntas, cuando "luz" o un "componente espectral" es descrito como estando "fuera de resonancia" significa que la longitud de onda de la luz o del componente espectral es diferente de una longitud de onda resonante de la guía de ondas de bucle 232. De manera similar, cuando la luz o un componente espectral es descrito como estando "en resonancia", significa que la longitud de onda de la luz o del componente espectral es la misma que una longitud de onda resonante de la guía de ondas de bucle 232.

La luz en resonancia que es acoplada desde la guía de ondas de bus 234 se propaga en la guía de ondas de bucle 232 y se acopla a la guía de ondas de bus 238 mediante un acoplamiento de campo evanescente. La luz que está acoplada a la guía de ondas de bus 238 se propaga en una dirección opuesta a la luz que se desplaza en la guía de ondas de bus 234 debido a las orientaciones respectivas de las distintas guías de onda. Como consecuencia, la luz resonante acoplada a la guía de ondas de bus 238, desde la guía de ondas de bus 234 a través de la guía de ondas de bucle 232 será emitida desde el puerto de caída 240B. Esta luz resonante se reunirá con la luz fuera de resonancia que se propaga a lo largo de la guía de ondas 238 desde el puerto de adición 240A.

De manera análoga, la luz en resonancia que se desplaza en la guía de ondas de bus 238 a través del puerto de adición 240A se acopla a la guía de ondas de bucle 232. Esa luz se acopla a la guía de ondas de bus 234 y se propaga a través del puerto de paso 236B, junto con la luz fuera de resonancia procedente del puerto de entrada 236A. En la disposición que está representada en la fig. 2, el resonador de anillo 200 es hecho funcionar de modo que la luz se propague unidireccionalmente - en este ejemplo en sentido contrario a las agujas del reloj - a través de la guía de ondas de bucle 232.

La fig. 3 representa un método para detectar la presencia de un analito en una solución de acuerdo con una realización ilustrativa del presente invento. El método 300 comprende operaciones para realizar electroforesis capilar. Será evidente para un experto en la técnica, después de leer esta memoria, que la electroforesis capilar es simplemente una aplicación para la que el presente invento es adecuado. El método 300 está descrito más abajo con referencia adicional a las figs. 4, 5A y 6.

La fig. 4 representa un diagrama esquemático de detalles de un sistema de electroforesis capilar de acuerdo con la realización ilustrativa del presente invento. El sistema CE 400 comprende un canal de flujo 102, un depósito fuente 104, un depósito de destino 106, un canal de muestras 108, una entrada de muestras 110, una salida de muestras 112, un procesador 114, y un sensor 302.

El método 300 comienza con la operación 301, en la que está previsto el elemento sensor 410.

En la operación 302, el elemento sensor 410 recibe una señal luminosa 408 procedente de la fuente 406.

La fuente 406 es una fuente de luz sustancialmente monocromática que está centrada en una longitud de onda de aproximadamente 850 nm, de manera bien conocida. En algunas realizaciones, la fuente 406 emite luz centrada en una longitud de onda diferente de 850 nm. Otras longitudes de onda corrientes adecuadas incluyen 633 nm, 670 nm, 780 nm, longitudes de onda dentro del rango de 1400 nm a 1650 nm, longitudes de onda dentro del rango de 1250 nm a 1380 nm, y así sucesivamente. Resultará evidente para los expertos en la técnica, sin embargo, que el diseño de la guía de ondas de bucle cerrado 502 y de la guía de ondas de bus 504 depende de la longitud de onda de la luz emitida por la fuente 406. Dispositivos adecuados para utilizar en la fuente 406 incluyen, sin limitación, los láser semiconductores, los láser emisores de superficie de cavidad vertical (VCSEL), los láser de gas, los diodos emisores de luz, y similares. Será evidente para un experto en la técnica cómo fabricar y utilizar la fuente 406.

La fig. 5A representa un diagrama esquemático de detalles de un elemento sensor comparativo 410. El elemento sensor 410 comprende una guía de ondas de bucle cerrado 502 y una guía de ondas de bus 504. La guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504 definen colectivamente el resonador 506 de guía de ondas. Aunque en el ejemplo ilustrativo, el resonador 506 de guía de ondas es un resonador de anillo acoplado lateralmente, resultará evidente para un experto en la técnica, después de leer esta memoria, cómo fabricar y utilizar ejemplos alternativos en los que el resonador 506 de guía de ondas es un resonador de anillo acoplado verticalmente, un resonador de disco acoplado lateralmente, o un resonador de disco acoplado verticalmente.

La guía de ondas de bucle cerrado 502 es un anillo de guía de ondas que está formado sobre el canal de flujo 102. Como resultado, el fluido 508 en la región de detección 404 del canal del flujo 102 se acopla ópticamente con el revestimiento de la guía de ondas de bucle cerrado 502. En la realización ilustrativa, la guía de ondas de bucle cerrado 502 tiene un diámetro de aproximadamente 50 micrones. En algunas realizaciones, el diámetro de la guía de ondas de bucle cerrado 502 está dentro del rango de aproximadamente 15 micrones a aproximadamente 250 micrones. En la mayor parte de las aplicaciones, el diámetro deseado de la guía de ondas de bucle cerrado 502 viene dictado por el tamaño del canal de flujo 102 y el rango espectral libre deseado (es decir, la distancia (en espacio de frecuencia) entre equipos de transmisión adyacentes) del resonador de guía de ondas. Resultará evidente para un experto en la técnica

que el rango espectral libre del resonador de anillo 502 es inversamente proporcional a su diámetro.

La guía de ondas de bus 504 es una guía de ondas formada en estrecha proximidad a la guía de ondas de bucle cerrado 502. La guía de ondas de bucle cerrado 502 está formada sobre el canal de flujo 102 de modo que el fluido 508 en la región de detección 404 del canal de flujo 102 se acopla ópticamente con el revestimiento de la guía de ondas de bucle cerrado 502.

En algunos ejemplos, la guía de ondas de bucle cerrado 502 y una parte de la guía de ondas de bus 504 están formados en el canal de flujo 102.

La guía de ondas de bus 504 y la guía de ondas de bucle cerrado 502 están separadas por el espacio G1. En la realización ilustrativa, el espacio G1 es aproximadamente de 50 nanómetros (nm). En algunos ejemplos el espacio G1 está dentro del rango de aproximadamente 10 nanómetros (nm) a aproximadamente 1 micrómetro. El tamaño del espacio G1 es seleccionado para permitir una relación de acoplamiento deseada entre la guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504.

Cuando el fluido 508 está presente en la región de detección 404, el fluido constituye una parte de las capas de revestimiento para cada una de las guías de onda de bucle cerrado 502 y de la guía de ondas de bus 504. Como resultado, el índice de refracción del fluido afecta a las longitudes de onda a las que el resonador 506 de guía de ondas es ópticamente resonante. Como resultado, el espacio G1 es seleccionado para proporcionar una primera relación de acoplamiento evanescente deseada entre la guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504, para una luz que tiene una longitud de onda de 850 nm, cuando el fluido 508 está en la región de detección 404 está libre de analitos. Alternativamente, el espacio G1 es seleccionado para proporcionar una segunda relación de acoplamiento evanescente deseada, para una luz que tiene una longitud de onda de 850 nm, cuando el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito.

Aunque compatible virtualmente con cualquier tecnología de guía de ondas, el resonador de anillo 502 y la guía de ondas de bus 504 están formados preferiblemente utilizando una tecnología de guía de ondas que comprende un núcleo compuesto - específicamente, un núcleo interior de dióxido de silicio y un núcleo exterior de nitruro de silicio. Ejemplos de guías de onda de núcleo compuesto adecuadas están descritos en detalle en la Patente Norteamericana N° 7.146.087, concedida el 6 de diciembre 2006. Tales guías de onda de núcleo compuesto permiten un acoplamiento más efectivo del fluido 508 y de sus capas de revestimiento, ya que sus capas de revestimiento son típicamente mucho más delgadas que las de las tecnologías de guía de ondas más convencionales. Como resultado, los resonadores de guía de ondas formados utilizando una tecnología de guía de ondas de núcleo compuesto, pueden exhibir una dependencia de la característica resonante más fuerte sobre el índice de refracción del fluido 508 que las formadas utilizando una tecnología de guía de ondas convencional.

En la operación 303, el canal de flujo 102 está lleno con fluido 508, que comprende una solución tampón pura, típicamente una solución salina. El procesador 114 aplica entonces una alta tensión entre el depósito fuente 104 y el depósito de destino 106 para inducir un flujo de fluido 508 entre ellos. En algunas realizaciones, el flujo de fluido 508 es inducido por otros medios, tales como presión, acción capilar, o efecto sifón.

El procesador 114 es un procesador lógico de propósito general, que es también capaz de controlar tensiones aplicadas al depósito fuente 104, al depósito de destino 106, a la entrada de muestras 110, y a la salida de muestras 112. El procesador 114 está también configurado para recibir la señal de salida 416 procedente del detector 414 y derivar una identidad de un analito. Resultará evidente para los expertos en la técnica, después de leer esta memoria, cómo hacer y utilizar el procesador 114.

En la operación 304, la señal luminosa 412 es proporcionada al detector 414 desde el elemento sensor 410.

La relación de la intensidad de la señal luminosa 412 a la intensidad de señal luminosa 408 es una función de la relación de acoplamiento entre la guía de ondas del bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504. Como se ha descrito antes, y con respecto a la fig. 5A, esta relación de acoplamiento es una función del índice de refracción de fluido 508 en la región de detección 404. Cuando el fluido 508 está libre de analito (es decir, es solución tampón pura), tiene un primer índice de refracción. Cuando el fluido 508 comprende un analito, tiene un segundo índice de refracción.

En el ejemplo ilustrativo, cuando el fluido 508 en la región de detección 404 está libre de analito, el resonador de 506 guía de ondas está dimensionado y dispuesto para estar "en resonancia" para la luz que tiene una longitud de onda de 850 nm. El término "en resonancia" significa que la guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504 están en una relación de acoplamiento evanescente. En otras palabras, la energía óptica en la guía de ondas de bus 504 se acopla a la guía de ondas de bucle cerrado 502 a través del espacio G1.

Alternativamente, cuando el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito, el resonador 506 de guía de ondas no está ya en resonancia, sino que en vez de ello está "fuera de resonancia" para la luz que tiene una longitud de onda de 850 nm. El término "fuera de resonancia" significa que la guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504 están en una reacción de acoplamiento sustancialmente no evanescente. En otras palabras, la mayor parte o la totalidad de la energía óptica en la señal luminosa 408 pasa por la guía de ondas de bucle cerrado 502 y está por ello

contenida en la señal luminosa 412.

En la operación 305, el detector 414 proporciona una señal de salida 416, que está basada en la señal luminosa 412, al procesador 114.

5 En la operación 306, el procesador 114 aplica un impulso de tensión entre la entrada de muestras 110 y la salida de muestras 112. Esta tensión aplicada induce una carga de solución de muestra que ha de ser inyectada en el fluido 508 en la región de mezcla 118, donde se mezcla con la solución tampón. La carga de solución de muestra es inyectada en el fluido 508 en el instante $t(0)$. La solución de muestra comprende una mezcla de un primer analito y de un segundo analito.

10 Cuando el fluido 508 fluye desde el depósito fuente 104 al depósito de destino 106, lleva la carga de solución de muestra a lo largo del canal de flujo 102 durante la distancia $d2$ (es decir, desde la región de mezcla 118 a la región de detección 404). Cuando la carga de la solución de muestra se mueve a lo largo de la distancia $d2$, se disocia en sus partes constituyentes del primer analito y del segundo analito. Cada analito se mueve a lo largo del canal de flujo 102 a una tasa que es función de su movilidad electroforética única. La movilidad electroforética es proporcional a la carga iónica de un analito e inversamente proporcional a las fuerzas de fricción presentes en la solución tampón. Cuando dos analitos en una muestra tienen diferentes cargas o experimentan diferentes fuerzas de fricción, se separarán uno del otro cuando emigran a través de una solución tampón. Las fuerzas de fricción experimentadas por un ión de analito dependen de la viscosidad del medio y del tamaño y forma del ión.

15 En la operación 307, el procesador 114 detecta un cambio en la señal de salida 416 en el instante $t(1)$, debido a la llegada del primer analito a la región de detección 404. Una representación de la señal de salida 416 está mostrada en la fig. 6.

20 Durante el tiempo entre $t(0)$ y $t(1)$, el fluido 508 en la región de detección 404 es solución tampón pura y el resonador 506 de guía de ondas está en resonancia. Como resultado, la luz es acoplada desde la guía de ondas de bus 504 a la guía de ondas de bucle cerrado 502. Cuando la luz se desplaza alrededor de la guía de ondas de bucle cerrado 502, la energía óptica es perdida a través de la atenuación típicamente asociada con la propagación en cualquier tecnología de guía de ondas de superficie. Como resultado, la intensidad de la señal luminosa 412 es reducida desde la de la señal luminosa 408. Durante este período de tiempo, la señal de salida 416 está a un nivel de tensión $V1$.

25 Debido a la llegada del primer analito en el instante $t(1)$, el índice de refracción del fluido 508 en la región de detección 404 cambia a su segundo índice de refracción. Como resultado, el resonador 506 de guía de ondas resulta fuera de resonancia y la luz no se acopla ya desde la guía de ondas de bus 504 a la guía de ondas de bucle cerrado 502. Toda la energía óptica de la señal luminosa 408 está entonces presente en la señal luminosa 412, ya que no hay atenuación debido a la propagación en la guía de ondas de bucle cerrado 502. La señal de salida 416, por ello, aumenta desde el nivel de tensión $V1$ al nivel de tensión $V2$.

30 Cuando el fluido 508 continúa fluyendo a través del canal de flujo 102, el primer analito resulta agotado de la región de detección 404 en el instante $t(2)$. En este punto, el índice de refracción del fluido 508 vuelve a su primer índice de refracción. La energía óptica es de nuevo acoplada desde la guía de ondas de bus 504 a la guía de ondas de bucle cerrado 502, y la señal de salida 416 vuelve al nivel de tensión $V1$.

35 Con la continuación del flujo de fluido 508, el segundo analito llega a la región de detección 404 en el instante $t(3)$. Como con la llegada del primer analito, el resonador 506 de guía de ondas resulta de nuevo fuera de resonancia y la señal de salida 416 vuelve al nivel de tensión $V2$.

40 En el instante $t(4)$, el segundo analito resulta agotado de la región de detección 404 y la señal de salida 416 vuelve al nivel de tensión $V1$.

45 Debería observarse que la diferenciación del primer analito del segundo analito depende de que haya una separación física entre ambos en el fluido 508. Ya que, como se ha descrito antes, cada analito emigra a una tasa dependiente de sus características únicas; su separación física aumentará con una distancia de migración mayor. El presente invento, por ello, permite un rendimiento analítico mejorado para un sistema CE en virtud de su menor región de detección y distancia de separación, $d2$, proporcional más larga.

50 Debería también observarse que el índice de refracción del fluido 508 es función de la concentración de analito en el fluido. El presente invento permite una ventaja adicional sobre la técnica anterior, por tanto, ya que el tamaño del elemento sensor puede ser aproximadamente el mismo tamaño que el de la carga de solución de muestra que ha de ser detectada. Como resultado de los tamaños estrechamente coincidentes, cuando una carga de analito alcanza la región de detección 404, el cambio en el índice de refracción es más brusco y más fácilmente detectado utilizando realizaciones de acuerdo con el presente invento.

Resultará evidente para los expertos en la técnica que el presente invento es adecuado para analizar muestras que tienen cualquier número de analitos.

En la operación 308, el procesador 114 deriva una identidad para el primer analito y el segundo analito basado tiempos de migración, el caudal del fluido 508, y la geometría del canal de flujo 102.

5 La fig. 5B representa un diagrama esquemático de detalles de otro elemento sensor comparativo. El elemento sensor 510 comprende una guía de ondas de bucle cerrado 502, una guía de ondas de bus 504, y una guía de ondas de bus 512. La guía de ondas de bucle cerrado 502, la guía de ondas de bus 504, y la guía de ondas de bus 512 definen colectivamente el resonador 514 de guía de ondas.

La guía de ondas de bus 512 es análoga a la guía de ondas de bus 504, y está separada de la guía de ondas de bucle cerrado 502 por el espacio G1.

10 En funcionamiento, cuando el fluido 508 en la región de detección 404 es solución tampón pura, el resonador 514 de guía de ondas está en resonancia para la luz que tiene una longitud de onda de 850 nm. Como resultado, la energía óptica se acoplará desde la guía de ondas de bus 512 a la guía de ondas de bus 504 a través de la guía de ondas de bucle cerrado 502. Mientras el fluido 508 en la región de detección 404 está libre de analito, por tanto, la señal luminosa 412 tendrá una intensidad elevada y la señal de salida 416 tendrá un nivel de tensión alto.

15 Cuando el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito, sin embargo, el índice de refracción del fluido 508 cambiará y el resonador 514 de guía de ondas estará fuera de resonancia para la luz que tenga una longitud de onda de 850 nm. Como resultado, poca o ninguna energía óptica se acoplará desde la guía de ondas de bus 512 a la guía de ondas de bus 504 a través de la guía de ondas de bucle cerrado 502. Mientras el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito, por tanto, la señal luminosa 412 tendrá una baja intensidad y la señal de salida 416 estará a un nivel de tensión bajo.

20 La fig. 5C representa un dibujo esquemático de detalles de otro elemento sensor comparativo. El elemento sensor 516 comprende el resonador 506 de guía de ondas y la guía de ondas 512. El resonador 506 de guía de ondas y la guía de ondas 512 están dispuestos en una disposición de interferómetro.

25 En funcionamiento, la señal luminosa 408 es distribuirla en señales luminosas 518 y 520 en guías de ondas de bus 504 y 512, respectivamente. Cuando el fluido 508 en la región de detección 404 es solución tampón pura, el resonador 506 de guía de ondas está en resonancia para la luz que tiene una longitud de onda de 850 nm. Como resultado, la señal luminosa 518 se acoplará desde la guía de ondas de bus 504 a la guía de ondas de bucle cerrado 502. Esto provoca un retardo de fase sobre la señal luminosa 522. La señal luminosa 522 y la señal luminosa 520 son combinadas en la señal luminosa 412. Debido al retardo de fase inducido sobre la señal luminosa 522 por el resonador 506 de guía de ondas, sin embargo, las señales luminosas 522 y 520 se interfieren de manera destructiva. Esto reduce la intensidad de la señal luminosa 412. Mientras el fluido 508 en la región de detección 404 está libre de analito, por tanto, la señal luminosa 412 tendrá una baja intensidad y la señal de salida 416 estará a un nivel de tensión bajo.

30 Cuando el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito, sin embargo, el índice de refracción del fluido 508 cambiará y el resonador 506 de guía de ondas resultará fuera de resonancia para la luz que tiene una longitud de onda de 850 nm. Como resultado, poca o ninguna energía óptica se acoplará desde la guía de ondas de bus 504 a la guía de ondas de bucle cerrado 502 y un pequeño retardo de fase o ninguno es inducido sobre la señal luminosa 522. Las señales luminosas 522 y 520 se combinan de manera constructiva, por tanto, y la señal luminosa 412 tiene una alta intensidad. Mientras el fluido 508 en la región de detección 404 comprende un analito, por tanto, la señal luminosa 412 tendrá una intensidad alta y la señal de salida 416 tendrá un nivel de tensión alto.

35 La fig. 5D representa un diagrama esquemático de detalles de otro elemento sensor comparativo. El elemento sensor 524 comprende una guía de ondas de bucle cerrado 502, una guía de ondas de bus 504, y una guía de ondas de bus 512. La guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504 definen colectivamente el resonador 526 de guía de ondas. El resonador 526 de guía de ondas y la guía de ondas de bus 512 están dispuestos en una disposición de interferómetro.

40 El funcionamiento del elemento sensor 524 es análogo al funcionamiento del elemento sensor 516. El retardo de fase inducido sobre la señal luminosa 522 es mejorado, sin embargo, en virtud de una segunda región de acoplamiento evanescente entre la guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504.

45 La fig. 5E representa un diagrama esquemático de detalles de otro elemento sensor comparativo. El elemento sensor 526 comprende guías de ondas de bucle cerrado 502-1 y 502-2, una guía de ondas de bus 504, y una guía de ondas de bus 512. La guía de ondas de bucle cerrado 502 y la guía de ondas de bus 504 definen colectivamente el resonador 506-1 de guía de ondas. La guía de ondas de bucle cerrado 502-2 y la guía de ondas de bus 512 definen colectivamente el resonador 506-2 de guía de ondas. Cada uno de los resonadores 506-1 y 506-2 es análogo al resonador 506 de guía de ondas. Colectivamente, los resonadores 506-1 y 506-2 de guía de ondas proporcionan una señal diferencial que permite la detección de una diferencia en la presencia de analito en las regiones de detección 404-1 y 404-2.

50 El elemento sensor 526 permite la detección de la presencia de un analito con separación espacial y/o temporal. En funcionamiento, cuando una carga de solución de muestra en el fluido 508 fluye desde el depósito fuente 104 al depósito de destino 106, un analito será detectado en primer lugar en el resonador 506-1 de guía de ondas. Como con el

resonador 506 de guía de ondas, la llegada de un analito en la región de detección 404-1 da como resultado un cambio en la intensidad de la señal luminosa 412-1. De manera similar, cuando el analito llega a la región de detección 404-2, la intensidad de la señal luminosa 412-2 cambia.

En virtud de sus múltiples regiones de detección, el elemento sensor 526 proporciona:

- 5 i. inmunidad mejorada al ruido medioambiental (por ejemplo, cambios de temperatura, etc.); o
- ii. inmunidad mejorada al ruido láser; o
- iii. una salida de señal diferencial basada en la presencia relativa de analito en las regiones de detección 404-1 y 404-2; o
- iv. una indicación del caudal de un analito; o
- 10 v. cualquier combinación de i, ii, iii, iv.

En algunas aplicaciones, por ejemplo aplicaciones químicas de laboratorio sobre un chip y de micro-reactor, puede ser ventajoso diferenciar la presencia de analito en dos o más regiones que están físicamente próximas entre sí. Además de permitir tal diferenciación, el elemento sensor 526 permite la detección del caudal, progresión a través de un sistema de microfluidos, y detección de concentración relativa.

- 15 Además, en algunas aplicaciones, el ruido de fondo procedente de cambios medioambientales o el ruido parásito asociado con la fuente 406 pueden degradar la relación de señal a ruido de la salida del elemento sensor. Como cada resonador de guía de ondas incluido en el elemento sensor 526 recibe luz desde la misma fuente y está sujeto a las mismas condiciones medioambientales, el impacto dañino de tal ruido puede ser mitigado.

- 20 Aunque el elemento sensor 526 comprende dos resonadores de guía de ondas, resultará evidente para un experto en la técnica, después de leer esta memoria, cómo hacer y utilizar ejemplos alternativos en los que un elemento sensor comprender cualquier número de resonadores de guía de ondas y regiones de detección.

En algunas realizaciones, las señales luminosas 412-1 y 412-2 son combinadas en una señal luminosa 412. En algunas realizaciones, la intensidad de esta señal luminosa combinada 412 depende de la fase relativa de las señales luminosas 412-1 y 412-2.

- 25 Un diferencial de tiempo entre la llegada de analito en regiones de detección 404-1 y 404-2 puede ser utilizado, por ejemplo, como un indicador de caudal de analito, para vigilar de tasa de reacción, para señalar la presencia de dos reactivos, y similares.

- 30 La fig. 7 representa un diagrama esquemático de detalles de un sensor de acuerdo con una realización del presente invento. El sensor 700 comprende un láser 702, un espejo 704 de resonador de guía de ondas, y un detector 414. El láser 702 y el espejo 704 definen colectivamente el láser 712 de cavidad externa.

- 35 El láser 702 es un láser semiconductor que emite luz que tiene un ancho espectral que rodea una longitud de onda central de aproximadamente 833 nm. El láser 702 es análogo a la fuente 406, sin embargo la longitud de onda central del láser 702 puede ser sintonizada sobre un rango de sintonización de varias decenas de nanómetros. Resultará evidente para los expertos en la técnica cómo fabricar y utilizar el láser 702. En algunas realizaciones, el láser 702 comprende un VCSEL. Debería observarse que la longitud de onda de emisión de 833 nm es simplemente ejemplar. Resultará evidente para un experto en la técnica que el presente invento es independiente de la longitud de onda y que cualquier láser adecuado puede ser utilizado para el láser 702; por ello, el láser 702 puede emitir luz a cualquier longitud de onda consistente con la tecnología láser.

- 40 El espejo 704 del resonador de guía de ondas (en lo que sigue denominado como el espejo 704) comprende una guía de ondas de bucle cerrado 502 y guías de ondas de bus 504 y 512, cada una de las cuales está separada de la guía de ondas de bucle cerrado por el espacio G1. El espejo 704 está dimensionado y dispuesto para devolver selectivamente un componente espectral al láser 702, en que la resonancia óptica del espejo 704 determina la longitud de onda del componente espectral. Específicamente, el espejo 704 esta dimensionado y dispuesto para devolver selectivamente un componente espectral que tiene una longitud de onda de 833 nm al láser 702 cuando el fluido 508 en la región de
- 45 detección 404 está libre de analito.

La fig. 8 representa un método para detectar un analito y calcular la concentración del analito en un fluido de acuerdo con la realización de la fig. 7.

- 50 El método 800 está descrito aquí con referencia continuada a las figs. 4 y 7 y referencia adicional a la fig. 9. La fig. 9 representa un gráfico de detalles de la respuesta óptica de un láser de cavidad externa de acuerdo con la realización de la fig. 7.

El método 800 comienza con la operación 801, en la que el láser 702 es excitado eléctricamente y emite la señal

luminosa 706 que tiene una longitud de onda central 902 y un ancho espectral 904.

5 En la operación 802, el canal de flujo 102 está lleno con fluido 508, que comprende una solución tampón pura, típicamente una solución salina. El procesador 114 aplica entonces una alta tensión entre el depósito fuente 104 y el depósito de destino 106 para inducir un flujo de fluido 508 entre ellos. En algunas realizaciones, el flujo de fluido 508 es inducido por otros medios, tales como presión, acción capilar, o efecto sifón.

En la operación 803, el espejo 704 recibe la señal luminosa 706.

10 En la operación 804, el espejo 704 refleja selectivamente el componente espectral 708-1 de nuevo al láser 702. Cuando el componente espectral 708-1 es acoplado a la cavidad láser del láser 702, la ganancia de la cavidad láser es mejorada para longitudes de onda contenidas en el componente espectral 708-1. Además, la emisión por el láser 702 de fotones que tienen longitudes de onda no contenidas en el componente espectral 708-1 es suprimida después de un breve período de tiempo. Como resultado, la señal luminosa 710-1 resulta rápidamente una versión amplificada del componente espectral 708-1, que coincide con la longitud de onda central 906 y el ancho espectral 908 del componente espectral 708-1.

En la operación 805, el detector 414 recibe la señal luminosa 710-1 y genera la señal de salida 416.

15 En la operación 806, el procesador 114 aplica un impulso de tensión entre la entrada de muestras 110 y la salida de muestras 112. Esta tensión aplicada induce que una carga de solución de muestra sea inyectada en el fluido 508 en la región de mezcla 118, donde se mezcla con la solución tampón. La carga de solución de muestra es inyectada en el fluido 508 en el instante $t(0)$. La solución de muestra comprende una mezcla de un primer analito y de un segundo analito.

20 De manera similar al método 300, descrito anteriormente y con respecto a la fig. 3, cuando el fluido 508 fluye desde el depósito fuente 104 al depósito de destino 106, lleva la carga de solución de muestra a lo largo del canal de flujo 102 durante la distancia $d2$ (es decir, desde la región de mezcla 118 a la región de detección 404). Cuando la carga de solución de muestra se mueve a lo largo de la distancia $d2$ se disocia en sus partes constituyentes del primer analito y segundo analito. Cada analito se mueve a lo largo del canal de flujo 102 a una tasa que es función de su movilidad electroforética única.

25 En el instante $t(1)$, el primer analito alcanza la región de detección 404 y el índice de refracción de fluido 508 en la región de detección 404 cambia basado en la concentración de analito en el fluido. Cuando el índice de refracción del fluido 508 cambia, lo hace también la longitud de onda del componente espectral reflejado por el espejo 704 al láser 702. Como resultado, la longitud de onda central del componente espectral reflejado selectivamente se desplaza desde una longitud de onda de 906 a una longitud de onda de 910, en que la diferencia entre estas longitudes de onda está basada en la concentración de analito en la región de detección 404. Este desplazamiento en la longitud de onda central del componente espectral reflejado provoca un desplazamiento proporcional en la longitud de onda central de la salida de luz por el láser 712 de cavidad externa (es decir, la señal luminosa 710-1 desplaza a la señal luminosa 710-2).

30 Cuando la señal luminosa 710-1 desplaza a la señal luminosa 710-2, su pico de emisión ya no está alineado con el pico del espectro de emisión del láser 702. Como resultado, la intensidad de la señal luminosa 710-2 es menor que la intensidad de la señal luminosa 710-1. Esta reducción de intensidad induce una caída proporcional en el nivel de tensión de la señal de salida 416 en el instante $t(1)$.

La operación 807, el procesador 114 detecta la caída de tensión en la señal de salida 416 en el instante $t(1)$.

35 En la operación 808, el procesador 114 sintoniza el láser 702 para maximizar la intensidad de la señal luminosa 710-2, y por tanto maximiza la señal de salida 416. En algunas realizaciones, el procesador sintoniza el láser 702 controlando la corriente con la que el láser es excitado. En algunas realizaciones, el procesador 114 controla un filtro sintonizable sobre la salida del láser 702.

40 En la operación 809, el procesador 114 deriva una identidad para el primer analito basado en la diferencia entre $t(1)$ y $t(0)$. Además, el procesador 114 deriva un nivel de concentración para el primer analito basado en la cantidad de sincronización de longitud de onda requerida para maximizar la intensidad de la señal luminosa 710-2.

45 Cuando el primer analito se disipa de la región de detección 404, la señal luminosa 710-2 desplaza de nuevo a la señal luminosa 710-1.

Las operaciones 807 a 809 son repetidas para cada analito contenido en la muestra inyectada al fluido 508 en el instante $t(0)$.

50 Ha de comprenderse que la descripción muestra sólo un ejemplo de la realización ilustrativa y que pueden ser consideradas muchas variaciones del invento por los expertos en la técnica después de leer esta descripción y que el marco del presente invento ha de ser determinado por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende:

5 proporcionar un conducto de fluido (102) para transportar un fluido desde una primera región (118) a una segunda región (404), estando la segunda región ópticamente acoplada con un primer espejo (704) del resonador de guía de ondas que comprende una o dos guías de onda lineales (504, 512) acopladas de manera evanescente a un resonador de disco o a un resonador de anillo (502), de tal modo que el primer espejo (704) resonante de guía de ondas refleje un primer componente espectral (708-1) de nuevo a un láser (202) cuando el fluido en la segunda región (404) está libre de analito y refleje un segundo componente espectral (708-2) de nuevo al láser (702) cuando el fluido en la segunda región (404) comprende un analito, y cuya resonancia óptica está basada en el índice de refracción del fluido en la segunda región (404), y en el que el primer espejo (704) del resonador de guía de ondas y el láser (702) definen colectivamente un láser de cavidad externa (712) que proporciona una primera señal luminosa (710) cuya longitud de onda central (902, 906) está basada en la resonancia óptica del primer espejo (704) del resonador de guía de ondas;

inducir un flujo de un fluido desde la primera región (118) a la segunda región (404);

15 introducir una muestra que comprende un analito en el fluido, en que la muestra es introducida en el conducto de fluido (102) en la primera región (118) y en un primer instante, $t(0)$, y en el que el fluido tiene un primer índice de refracción cuando está libre de analito y un segundo índice de refracción cuando comprende el analito;

detectar la presencia de un analito en la solución tampón en la segunda región (404) con un detector (414) que proporciona una señal eléctrica (416) cuya magnitud está basada en la intensidad de la primera señal luminosa (710), y

20 calcular un diferencial de tiempo entre el primer instante $t(0)$, en el que el analito está presente en la primera región (118), y un segundo instante, $t(1)$, en el que ocurre un cambio desde una primera magnitud de la señal eléctrica (416).

2. El método de la reivindicación 1 que comprende proporcionar al primer espejo (704) del resonador de guía de ondas de tal modo que sea ópticamente resonante en una primera longitud de onda (906) cuando el fluido en la segunda región (404) está libre de analito y ópticamente resonante en una segunda longitud de onda (910) cuando el fluido en la segunda región (404) comprende un analito, comprendiendo el método además las operaciones de:

25 detectar un cambio en la intensidad de la primera señal luminosa (710) desde una primera intensidad a una segunda intensidad;

cambiar la longitud de onda del láser (702) por una sintonización de longitud de onda, en la que la magnitud de sintonización de longitud de onda requerida para maximizar la intensidad de la primera señal luminosa (710) está basada en un nivel de concentración del primer analito; y

30 calcular un valor para la concentración del analito en el fluido en la segunda región (404) basado en la sintonización de longitud de onda.

3. El método de la reivindicación 1, que comprende además proporcionar el primer espejo (704) del resonador de guía de ondas de tal modo que sea ópticamente resonante en una primera longitud de onda cuando el fluido en la segunda región (404) está libre de analito y ópticamente resonante en una segunda longitud de onda cuando el fluido en la segunda región (404) comprende un analito, en el que el diferencial de tiempo entre $t(0)$ y el segundo instante $t(1)$ está basado en un cambio en la intensidad de la primera señal luminosa (710).

4. El método de la reivindicación 1 que comprende además proporcionar el primer espejo (704) del resonador de guía de ondas de tal modo que sea ópticamente resonante en una primera longitud de onda cuando el fluido en la segunda región (404) está libre de analito y ópticamente resonante en una segunda longitud de onda cuando el fluido en la segunda región (404) comprende un analito, en el que el diferencial de tiempo entre $t(0)$ y un segundo instante, $t(1)$ está basado en un cambio en la longitud de onda central de la primera señal luminosa.

5. El método de la reivindicación 1 que comprende además determinar la intensidad del analito basado en (1) el diferencial de tiempo y (2) la separación entre la segunda región (404) y la primera región (118).

6. Un aparato que comprende:

45 un conducto de fluido (102) que comprende una primera región (118) y una segunda versión (404), estando el conducto de fluido dimensionado y dispuesto para transportar un fluido que tiene un primer índice de refracción cuando está libre de analito y un segundo índice de refracción cuando comprende un analito;

un medio de inducción de flujo (+/- V) para inducir flujo del fluido desde la primera región (118) a la segunda región (404);

50 un láser (712) de cavidad externa que comprende un láser (702) y un primer espejo (704) del resonador de guía de ondas que comprende una o dos guías de onda lineales (504, 512) acopladas de manera evanescente a un resonador de disco o a un resonador de anillo (502), de tal modo que el primer espejo (704) resonante de guía de ondas refleje un

- 5 primer componente espectral (708-1) de nuevo a un láser (702) cuando el fluido en la segunda región (404) está libre de analito y refleje un segundo componente espectral (708-2) de nuevo al láser (702) cuando el fluido en la segunda región (404) comprende un analito, y cuya resonancia óptica está basada en el índice de refracción del fluido en la segunda región (404), y en el que el láser (712) de cavidad proporciona una primera señal luminosa (710) cuya longitud de onda central (906) está basada en la resonancia óptica del primer espejo (704) del resonador de guía de ondas;
- un detector (414) para detectar la presencia de un analito en la solución tampón en la segunda región (404) proporcionando el detector una señal eléctrica (416) cuya magnitud está basada en la intensidad de la primera señal luminosa (710); y
- 10 un procesador lógico (114) de propósito general que está dimensionado y dispuesto para calcular un diferencial de tiempo entre un primer instante $t(0)$, en el que el analito está presente en la primera región (118), y un segundo instante, $t(1)$, en el que ocurre un cambio desde una primera magnitud de la señal eléctrica (416) ocurre.
7. El aparato de la reivindicación 6 en el que el láser (702) es un láser semiconductor.
8. El aparato de la reivindicación 7 en el que el procesador (114) está además dimensionado y dispuesto para cambiar la longitud de onda del láser (702) por una sintonización de longitud de onda para maximizar la intensidad de la primera señal luminosa (710) y calcular un valor para la concentración del analito en el fluido en la segunda región (404) basado en la sincronización de longitud de onda.
- 15 9. El aparato de la reivindicación 8 que comprende además un medio de inyección de muestra (+/- $V(t)$) para inyectar una muestra que contiene el analito en el fluido en la primera región (118).

FIG. 1 (Técnica Anterior)

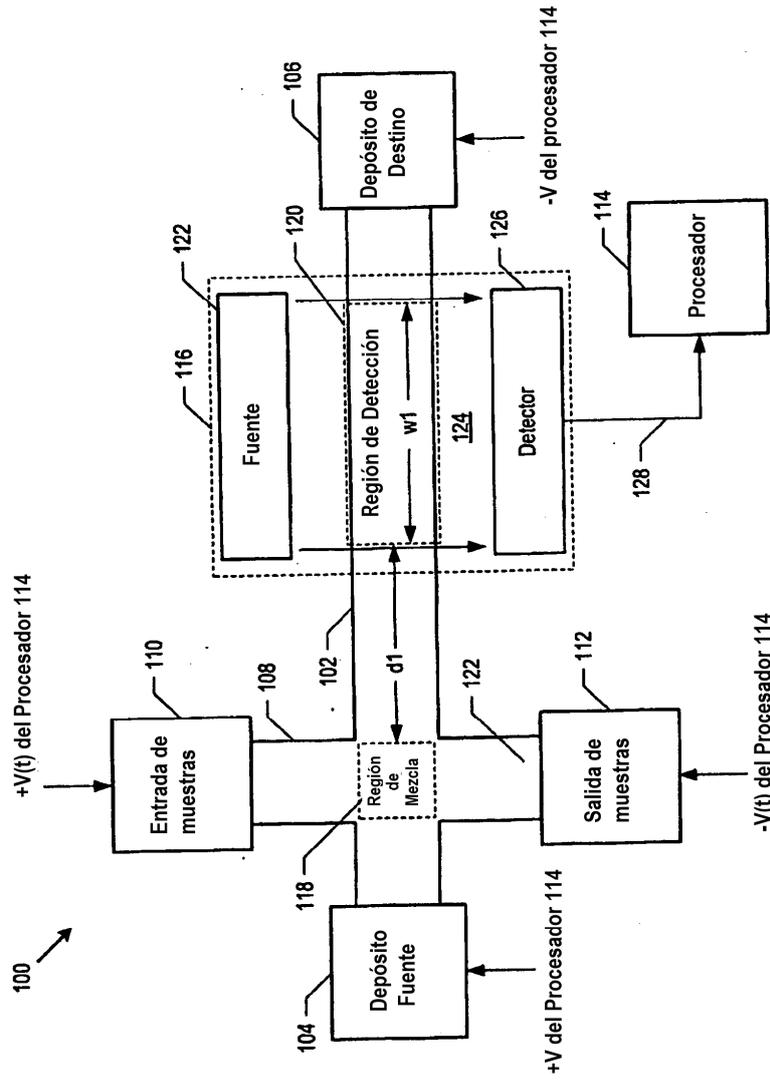


FIG. 2 (Técnica Anterior)

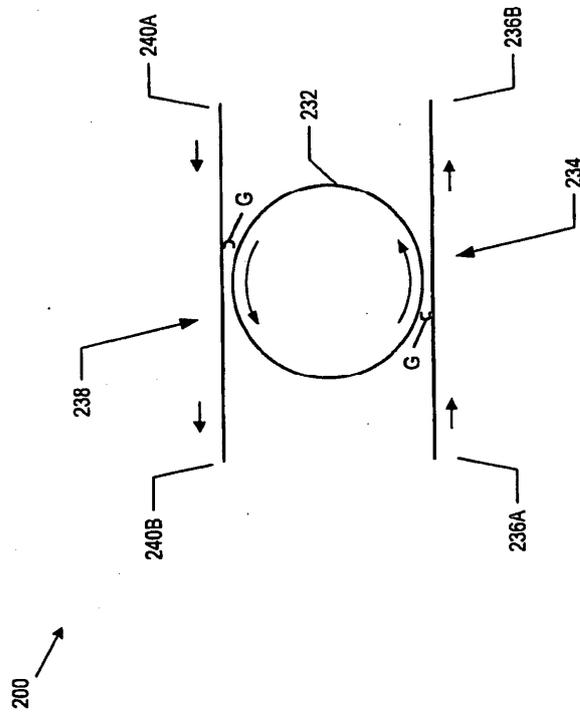


FIG. 3

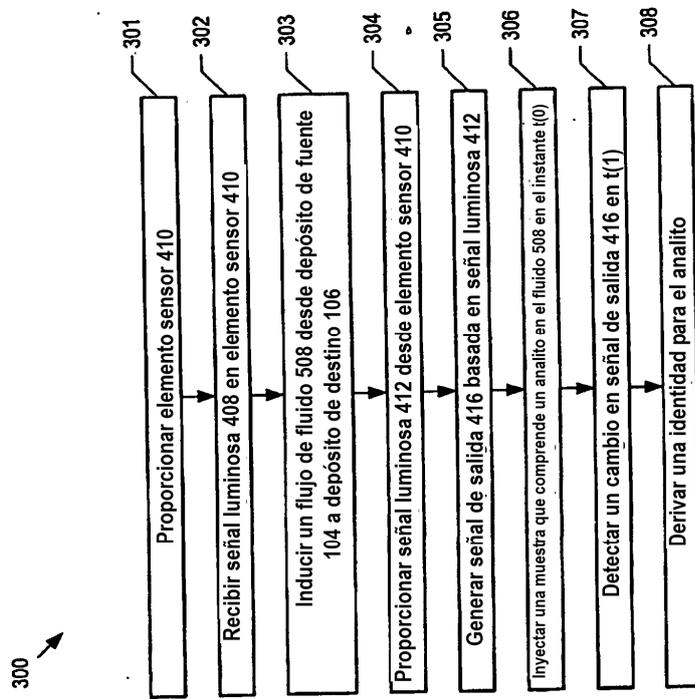
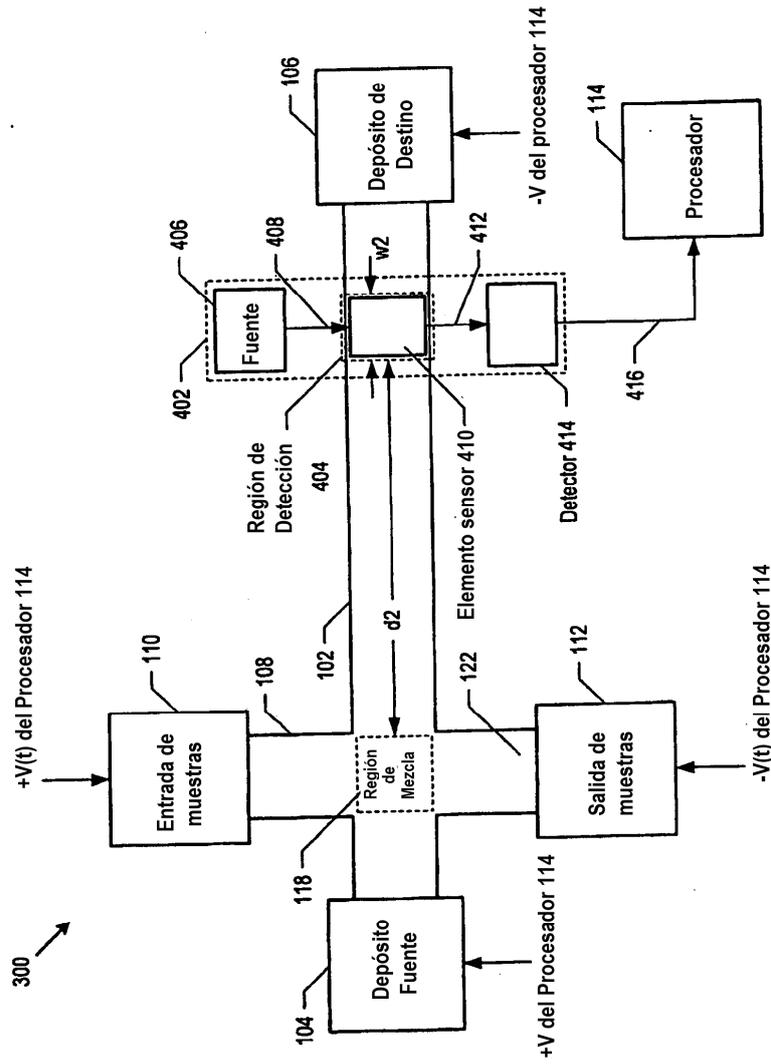


FIG. 4



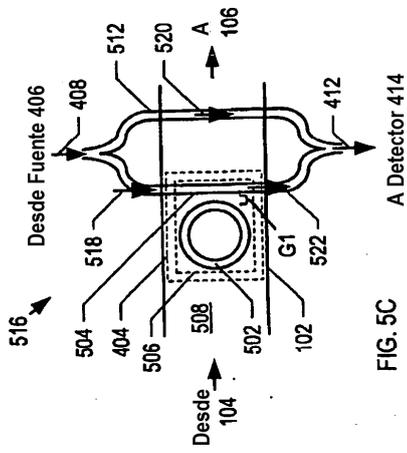


FIG. 5C
A Detector 414

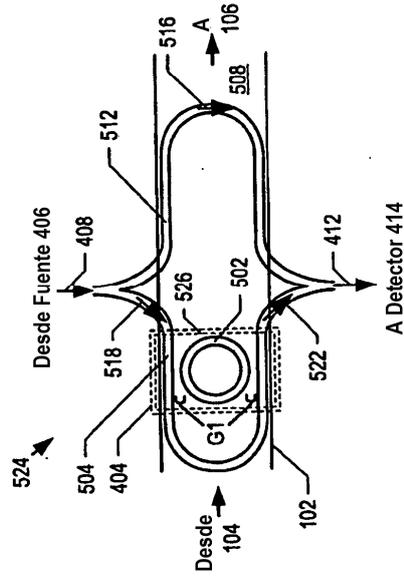


FIG. 5D
A Detector 414

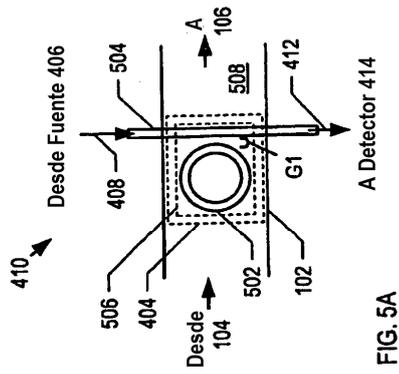


FIG. 5A
A Detector 414

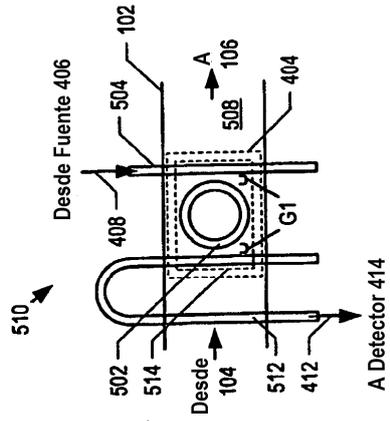


FIG. 5B
A Detector 414

FIG. 6 Señal de Salida 416

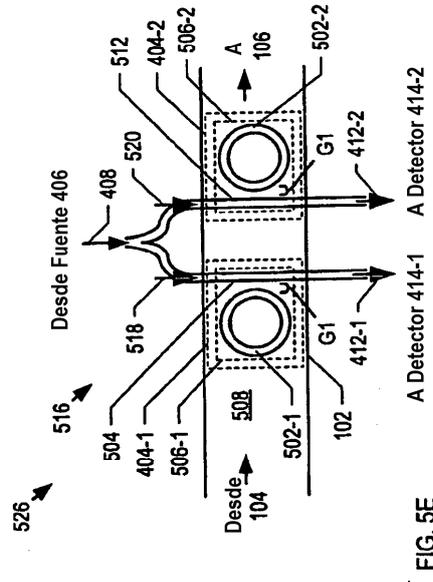
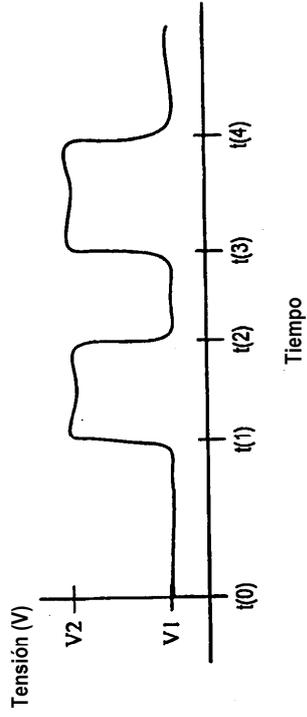


FIG. 5E A Detector 414-1 A Detector 414-2

FIG. 7

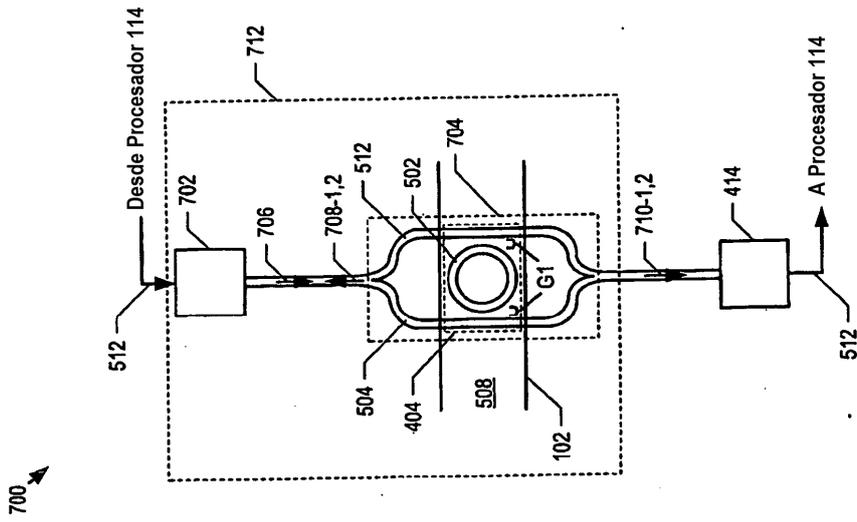


FIG. 8

