

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 628**

51 Int. Cl.:

C03C 23/00 (2006.01)

C08J 7/00 (2006.01)

G02B 6/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.02.2013 PCT/GB2013/050300**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.08.2013 WO13117941**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2013 E 13705240 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 2819968**

54 Título: **Material novedoso**

30 Prioridad:

08.02.2012 GB 201202128

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

18.08.2020

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF LEEDS (100.0%)
Woodhouse Lane, Horsforth
Leeds, Yorkshire LS2 9JT, GB**

72 Inventor/es:

**JOSE, GIN;
FERNANDEZ, TONEY TEDDY;
GRANT, PETER JOHN;
JHA, ANIMESH;
SAHA, SIKHA y
STEENSON, DAVID PAUL**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 779 628 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

Material novedoso

5 La presente invención se refiere a un sustrato que comprende una capa de iones implantados, por ejemplo un catión, en donde la capa de iones implantados tiene una distribución uniforme de los iones implantados a una profundidad significativamente mayor de lo que previamente era posible. La invención comprende además dicho sustrato en donde el sustrato es un sustrato basado en silicio, tal como vidrio. La invención también puede comprender el uso de dicho material como una guía de ondas y/o el uso de dicho material en dispositivos de medición.

10 La deposición de plasma por láser pulsado de femtosegundos (fs-PLD) es una técnica relativamente nueva comparada con su homólogo de pulsos de nanosegundos. Realizada tecnológicamente en un dispositivo de estado sólido a mediados de la década de los 90, la fs-PLD está surgiendo actualmente como una tecnología prometedora en el campo de la deposición de películas finas debido al uso de láseres de femtosegundos. Dependiendo de la frecuencia de repetición y la duración del pulso en una interacción de láser fs-materia se puede ajustar para convertirse en un proceso caliente con difusión de calor o un proceso frío debido a la falta de un proceso de difusión de calor y por lo tanto, el láser se usa para la producción de columna de plasma e iones energéticos en varias otras técnicas tales como la implantación de iones. Los informes recientes sobre películas finas por fs-PLD se basan principalmente en materiales cristalinos y semiconductores. En este momento se ha descrito la implantación a una escala de solo unas pocas decenas de nanómetros, conocida de otra manera como subplantación. Los autores de la invención han encontrado que es posible la implantación a una profundidad mucho mayor. Esta observación tiene el potencial de producir nuevos materiales y estructuras que de otra forma son imposibles de fabricar. La única posibilidad de implantar iones, tales como iones de tierras raras, abre un nuevo campo de ingeniería de dispositivos fotónicos con respecto al dopaje selectivo de sitio por enmascaramiento, impresión directa de circuitos fotónicos, amplificadores ópticos integrados en materiales novedosos, sensores múltiples con fuente de bombeo integrada y lecturas de datos, posibilidad de diseño de multisensores de un solo chip, estructuras de superredes por deposición de múltiples objetivos.

25 La solicitud de patente internacional, número de publicación: WO 2011/030157 describe un método de aplicación de una película a un sustrato por ablación de un objetivo con radiación de un láser, de modo que se deposita sobre el sustrato una cantidad de la capa objetivo. Skelland y Townsend (1995) *Journal of Non-Crystalline Solids* 188, 243-253, describe la implantación de iones en sustratos de vidrio sódico-cálcico calentados de modo que el perfil de los iones implantados muestra un máximo distinto con una caída gradual de la densidad iónica en cada lado.

30 Los autores de la invención han encontrado un procedimiento que permite implantar una capa de iones en un sustrato, tal como vidrio a una profundidad mucho mayor de lo que era posible previamente.

Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un sustrato que comprende una capa de iones implantados de acuerdo con la reivindicación 9 de la presente memoria. La profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm, o al menos 200 nm, por ejemplo al menos 500 nm.

35 Los autores de la invención han encontrado también que el procedimiento proporciona una distribución sustancialmente uniforme de la densidad de los iones implantados en la capa implantada en lugar del perfil de densidad que muestra un máximo seguido de una caída en la densidad de iones implantados, de una forma en la que las profundidades de los iones sobrepasan la difusión convencional y la implantación de iones de alta energía, debido a barreras estructurales importantes para la difusión/implantación de iones. Los autores de la invención también han encontrado que el procedimiento proporciona una terminación muy rápida y sustancialmente discontinua en la distribución de la densidad de los iones implantados en el borde terminal de la capa implantada dentro del sustrato, en lugar del perfil de densidad que muestra una disminución gradual y continua en la densidad de los iones implantados. La distribución de iones, o nivel de concentración, puede disminuir desde el nivel promedio (p. ej., sustancialmente uniforme) de la capa a un nivel de concentración o distribución sustancialmente sin iones, a lo largo de una distancia de aproximadamente 30 nm o menos, o más preferiblemente de aproximadamente 20 nm o menos o incluso más preferiblemente aproximadamente 10 nm o menos. Esto permite que se forme un "borde" terminal interior claramente definido en la capa implantada.

50 El sustrato comprende una capa de iones implantados en donde la capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados. La uniformidad sustancial puede ser a lo largo de las secciones/direcciones transversal y horizontal, tanto en la dirección a través de la superficie de sustrato implantada como transversal a la misma (es decir, en la superficie). La uniformidad sustancial en la distribución de iones se puede poner de manifiesto como un nivel de concentración de iones implantados sustancialmente uniforme que varía en no más de aproximadamente +/-10% del nivel medio de concentración de iones de la capa como un todo, o más preferiblemente en no más de +/-8%, o incluso más preferiblemente en no más de aproximadamente +/-5% el nivel medio de concentración de iones de la capa como un todo. Esta variación se puede cuantificar en términos de un valor de la desviación estándar del nivel de concentración de iones. Se postula, pero no se afirma, que la uniformidad en la distribución de iones puede surgir de la siguiente manera. Se puede irradiar un vidrio objetivo mediante un láser

pulsado potente, por ejemplo, para generar por ablación láser una nube de iones para implantar en la superficie de un sustrato para formar una superficie funcional como se describe en la presente memoria. Un pulso de ablación inicial produce un primer flujo de iones para que lleguen a la superficie del sustrato, tras lo cual los iones son implantados sustancialmente en la superficie, en lugar de a una profundidad significativa. Un pulso de ablación láser posterior genera un segundo flujo de iones en la superficie del sustrato, que desplaza los iones previamente implantados (el primer flujo de iones) más dentro del sustrato y al hacer esto ocupa sustancialmente la región de la superficie del sustrato previamente ocupada por el primer flujo de iones. El proceso de desplazamiento hacia el interior de todos los iones previamente implantados en el sustrato, por cada flujo de entrada de iones sucesivo en la superficie del sustrato, se cree que "apila" los iones implantados cada vez más en el cuerpo del sustrato en una distribución que extiende (a más abajo) su superficie. La uniformidad de la distribución puede surgir en parte de la uniformidad de las características de la luz láser de ablación (energía de la luz, longitud de onda de la luz, duración del pulso de ablación, frecuencia de repetición del pulso, etc.).

El sustrato comprende una capa de iones implantados en donde la capa de iones implantados se extiende sustancialmente desde la superficie más externa del sustrato. La capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados que se extiende dentro del sustrato desde su superficie más externa. Esto difiere de las capas de iones implantados existentes que se forman disparando iones energéticos en un sustrato para formar una capa enterrada que existe a una cierta distancia significativa por debajo de la superficie del sustrato.

La implantación de iones que se extienden a la superficie del sustrato tiene ventajas que incluyen mayor sensibilidad en un biosensor de un aspecto de la invención, y también la formación directa de estructuras ópticas de la superficie tales como regiones de mayor índice de refracción y/o estructuras de guía de ondas en el sustrato (p. ej., un patrón de circuito fotónico).

Los autores de la invención también han encontrado que el procedimiento facilita la implantación de iones a una mayor densidad que los procedimientos de la técnica anterior.

El sustrato puede comprender una capa de iones implantados en donde la capa de iones implantados tiene una densidad de iones implantados del orden de 10.000 a varios cientos de miles de ppm, dependiendo de las concentraciones de iones en el material objetivo usado para la ablación fs-láser. Por ejemplo, cuando se usaba un objetivo de vidrio de telurito con 80% en moles de TeO_2 -10% en moles de ZnO -9% en moles de Na_2O y 1% en moles de óxido Er_2O_3 para hacer la implantación con plasma por láser en una superficie de sílice limpia a 700°C , las concentraciones de iones implantados de Te^{4+} , Na^+ , Zn^{2+} y Er^{3+} corresponden a casi la mitad de las concentraciones de cationes en los materiales objetivo en masa (p. ej., 50% en iones de Si^{4+} , 40% en iones de Te^{4+} , 5% en iones de Zn^{2+} , 4,5% en iones de Na^+ , y 0,5% en iones de Er^{3+}). Estas densidades son mayores de 10^{21} iones. cm^{-3} . En procedimientos convencionales, las densidades que se pueden lograr son de un orden de magnitud menos. Esta capacidad específica para lograr concentraciones de iones notablemente altas permite a los autores de la invención diseñar superficies a medida que en el pasado no se podían lograr para aplicaciones de guías de luz. Dicho procedimiento también permite diseñar las propiedades dieléctricas y espectroscópicas en la capa de implantación. Por ejemplo, la capa de implantación se puede dopar con iones de tierras raras para el diseño de láseres y amplificadores, pero también se pueden integrar en vertical con espejos relevantes y materiales fotoactivos/sensibles, p. ej., un metal, polímero, semiconductor, material cerámico ferroeléctrico para la conversión de frecuencias y manipulación, una superficie biológica con una proteína. Una multitud de funciones ópticamente activas y pasivas se pueden obtener por una combinación de materiales químicamente diferentes sobre una superficie dieléctrica (vidrio, polímero y material cerámico).

El sustrato puede comprender una capa de iones implantados en donde:

(i) la capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados;

(ii) en donde la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm, o al menos 200 nm, por ejemplo al menos 500 nm.

El sustrato puede comprender una capa de iones implantados en donde:

(i) la capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados; y

(ii) la densidad de iones implantados es al menos 10^{18} iones. cm^{-3} (p. ej., 10^{21} iones. cm^{-3} o más, tal como aproximadamente 10^{23} iones. cm^{-3}).

El sustrato puede comprender una capa de iones implantados en donde:

(i) la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm, o al menos 200 nm, por ejemplo al menos 500 nm; y

(ii) la densidad de iones implantados es al menos 10^{18} iones. cm^{-3} (p. ej., 10^{21} iones. cm^{-3} o más, tal como aproximadamente 10^{23} iones. cm^{-3}).

El sustrato puede comprender una capa de iones implantados en donde:

(i) la capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados;

5 (ii) en donde la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm, o al menos 200 nm; y,

(iii) la densidad de iones implantados es al menos 10^{18} iones. cm^{-3} (p. ej., 10^{21} iones. cm^{-3} o más, tal como aproximadamente 10^{23} iones. cm^{-3}).

La profundidad de penetración de la capa de iones depende del sustrato usado, pero en general sería de al menos 50 nm o al menos 250 nm, al menos 300 nm, al menos 400 nm, al menos 500 nm, al menos 750 nm, al menos 1 μm , al menos 1,5 μm , al menos 2,0 μm , al menos 2,5 μm y al menos 3 μm . En una realización la capa tiene una profundidad de aproximadamente 0 nm a aproximadamente 3 μm , por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 0 nm a aproximadamente 2,5 μm , de aproximadamente 0 nm a aproximadamente 2 μm , de aproximadamente 0 nm a aproximadamente 1,5 μm o de aproximadamente 0 nm a aproximadamente 1 μm . En una realización adicional, la capa tiene una profundidad de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 3 μm , por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 2,5 μm , de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 2 μm , de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 1,5 μm o de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 1 μm .

En general la densidad de iones implantados puede ser al menos 10^{16} iones. cm^{-3} puede ser hasta 10^{23} iones. cm^{-3} (p. ej., en vidrio de sílice), por ejemplo 5×10^{21} iones. cm^{-3} .

La capa de iones implantados puede comprender uno o más iones diferentes.

20 La capa implantada puede estar en la cara exterior del sustrato o puede comprender una capa dentro del sustrato. La capa implantada puede comprender una capa o puede comprender dos o más capas con una combinación diferente de composiciones de iones en cada capa. Para evitar dudas, donde hay más de dos capas, dos o más capas no adyacentes pueden tener la misma composición de iones, por ejemplo, para formar un sándwich. Se pueden prever múltiples materiales diferentes como objetivos para hacer a medida la composición de la capa de iones. Se puede formar inicialmente una primera capa, que se extiende desde la superficie del sustrato a una profundidad dada, y posteriormente se puede formar una segunda capa por adición de iones implantados adicionales a los iones implantados en la capa existente, o empujando los iones de la capa existente a mayor profundidad dentro del sustrato formando así dos capas adyacentes y sucesivas. Por ejemplo, se puede formar una primera capa usando iones de un primer elemento (o grupo de elementos) por un procedimiento de implantación de iones de acuerdo con los métodos de la invención. Después, se puede formar una segunda capa sobre la primera capa usando iones de un segundo elemento (o un segundo grupo de elementos) diferente del primer grupo. Se ha encontrado que la implantación de los segundos iones en la superficie con implantación previa de los primeros iones, cubre la capa de los primeros iones para ser empujados/desplazados adicionalmente en el sustrato por los segundos iones. El resultado es una capa implantada que se extiende desde la superficie del sustrato a una profundidad de la subcapa superior de los segundos iones, y después se extiende desde el borde de la subcapa superior a una subcapa inferior que comprende los primeros iones.

La capa implantada puede abarcar sustancialmente el área entera del sustrato o puede comprender una o más zonas (p. ej., patrones de camino óptico de guía de ondas). Las zonas pueden comprender distintas áreas sobre o dentro del sustrato o una o más de las zonas pueden solaparse. Las zonas pueden comprender el mismo ion o iones o una o más zonas pueden comprender un ion o iones diferentes.

El ion puede ser un catión.

El ion se puede seleccionar de cualquier catión que sea ionizable, por ejemplo, uno o más de los siguientes grupos:

(i) uno o más iones prelantánidos y/o lantánidos;

45 (ii) iones de erbio, iterbio, neodimio, praseodimio, holmio, cerio, itrio, samario, europio, gadolinio, terbio, disprosio o lutecio;

(iii) iones Nd^{3+} , Yb^{3+} , Er^{3+} , Tm^{3+} , Pr^{3+} , Ho^{3+} , Sm^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} y Ce^{3+} , La^{3+} ;

(iv) iones de telurio, germanio, zinc, sodio y erbio;

(v) iones metálicos: por ejemplo, de Bi, W, Nb, Ta, Ti, Mo, Cr, Mn, Ga, In, Sn, Pb

(vi) uno o más uno o más iones actínidos;

(vii) actinio, americio, berkelio, californio, curio, einstenio, fermio, lawrencio, mendelevio, neptunio, nobelio, plutonio, protactinio, torio y uranio,

(viii) uno o más metales de transición;

(ix) uno o más cationes seleccionados de los grupos (i) a (ix) anteriores.

5 (x) Uno o más aniones que pueden ser de F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, e iones calcógenos (S y Se).

El sustrato basado en silicio puede comprender silicio, vidrio, óxido de silicio o hidruro de silicio, polímero de siloxano.

En una realización adicional, el sustrato basado en silicio es vidrio. Los ejemplos de vidrio incluyen: vidrios de sílice, fosfato, telurito, derivados de telurito, germanato, bismutato, boratos, acetatos, haluros, calcogenuros y de la ruta de solgel.

10 El sustrato polimérico puede comprender poli(metacrilato de metilo) (PMMA), poli(alcohol vinílico) (PVA), polieteretercetona (PEEK), poli(tereftalato de etileno) (PET), poliimida (PI), polipropileno (PP), y politetrafluoroetileno (PTFE), poldimetoxisiloxano (PDMS).

15 Los nuevos sustratos con iones implantados de la invención tienen aplicación en una serie de tecnologías, por ejemplo, en comunicación, tecnología de ordenadores y reproducción de imágenes, iluminación de estado sólido y en montajes láser. El nuevo sustrato con iones implantados de la invención se puede usar en ópticas integradas (p. ej., como una fuente de señales, amplificador, divisor de longitudes de onda, etc.), detección química, detección ambiental, biosensores, micro-nano espectroscopía, comunicación óptica, dispositivos microfluídicos, dispositivos optofluídicos, amplificadores de terahercios, laboratorio en un chip o tomografía óptica.

El nuevo sustrato de iones implantados de la invención se puede usar como una guía de ondas.

20 En una realización de la invención se proporciona una guía de ondas que comprende un sustrato de iones implantados de la invención. Los ejemplos de guías de ondas ópticas incluyen: guías de ondas planas, guías de ondas planares, fibras ópticas y otras guías de ondas tales como las que serían evidentes para la persona experta.

25 El intervalo de longitudes de onda de fluorescencia en un chip que comprende un sustrato de la invención viene dado por los iones que se implantan en el sustrato. El experto estará familiarizado con las propiedades espectrales de iones de dopaje adecuados y por lo tanto elegirá los iones adecuados para preparar un sustrato de iones implantados con propiedades espectrales adecuadas.

El ejemplo de propiedades espectrales incluye"

(i)	950-1200 nm	Yb ³⁺ ;
(ii)	intervalo 1500-1650 nm	Er ³⁺ ;
(iii)	1400 - 1530 y 1600 - 2200	Tulio;
(iv)	1900 - 2500 nm	Ho ³⁺ ;
(v)	1750 nm - 2200 nm	codopaje con iones Tm ³⁺ y Ho ³⁺ ;
(vi)	950 nm - 2500nm	codopaje con Yb ³⁺ , Er ³⁺ , Tm ³⁺ y Ho ³⁺ ;
(vii)	2000 - 4500 nm	Dy ³⁺ / Tb ³⁺ / Er ³⁺

Un sistema biosensor que incluye la invención puede comprender:

- 30 (i) un láser (p. ej., un láser de bombeo);
 (ii) un sustrato de iones implantados de la invención (p. ej., una guía de ondas con una superficie funcional); y
 (iii) un detector de luz (p. ej., para detectar luz del sustrato de iones implantados).

Un sistema biosensor que incluye la invención puede comprender:

(i) un láser (p. ej., un láser de bombeo);

(ii) un sustrato de iones implantados de la invención (p. ej., comprendido en un chip fotónico); y

(iii) un detector de luz y un procesador de señales para recibir y procesar señales de detección del detector de luz (p. ej., un integrador de chip fotónico).

5 El sustrato puede tener un espesor en el intervalo de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 10 mm, tal como en el intervalo de 0,5 mm a aproximadamente 3 mm, p. ej., cuando se usa en guías de ondas de la invención. El sustrato puede ser una capa fina (p. ej., con un espesor de aproximadamente 50 nm o más) de uno o más de los siguientes materiales dispuestos o formados sobre cualquier material sólido, p. ej., un material de soporte: sílice, silicato, fosfato, telurito, derivados de telurito, germanato, bismutato, boratos, acetatos, haluros, calcogenuros y vidrios de la ruta de solgel. El láser puede estar dispuesto para introducir luz en un extremo, lado o borde del sustrato (p. ej., guía de ondas) de modo que la luz láser es guiada a lo largo del sustrato internamente al sustrato de iones implantados.

En una realización el detector es un fotodiodo rápido. En una realización el fotodiodo es un fotodiodo de microsegundos, en una realización adicional un fotodiodo de nanosegundos.

15 Un uso de los sustratos de iones implantados de la invención es en la detección no invasiva de metabolitos, tales como glucosa, en animales, tal como en un método novedoso que mide el tiempo de vida de la fotoluminiscencia.

En este método, la banda espectral de fotoluminiscencia del(de los) dopante(s) se superpone con las bandas de absorción características en 1530-2200 nm) de las moléculas de glucosa en las longitudes de onda del NIR.

20 El tiempo de vida de la fotoluminiscencia de los iones de tierras raras se modifica en la película fina de vidrio contenida en un sensor fotónico debido a la amplificación por dispersión aleatoria y localización de los fotones fotoluminiscentes. Cuando un medio que contiene glucosa interactúa con la película, el tiempo de vida se modifica en función de la concentración de glucosa debido a su absorción específica, así como a propiedades de dispersión molecular. Por lo tanto, mediante una medición precisa del tiempo de vida de la fotoluminiscencia, se puede deducir la concentración de glucosa en el medio. Puesto que las propiedades de absorción y dispersiones de los fotones a diferentes longitudes de onda dentro de la banda de emisión varían con la concentración de glucosa, el cambio en el tiempo de vida de la fotoluminiscencia a diferentes longitudes de onda se puede usar como una característica adicional para potenciar la señal debida a la glucosa frente a otras interferencias. Este nuevo concepto de medición se llama técnica de tiempo de vida de la fotoluminiscencia resuelta espectralmente (SRPL) y es el nuevo principio de detección que se aplica en el sensor fotónico. Este nuevo planteamiento evita las desventajas de los métodos espectroscópicos directos tales como baja sensibilidad debido a la fuerte señal de absorción y proporciona la capacidad de la vigilancia continua de la glucosa.

35 Para describir el principio del sensor basado en la medición del tiempo de vida de la fotoluminiscencia, el chip fotónico y la piel se pueden tratar como un medio de dispersión combinado debido a sus propiedades de dispersión característicamente similares. Aunque la piel actúa como un medio de dispersión y absorción, la ganancia o amplificación de la señal óptica es proporcionada principalmente por la superficie funcional dopada que está bajo la excitación/bombeo de láser (980 nm).

40 Las moléculas de glucosa pueden interactuar con los fotones de NIR generados a partir del chip de dos formas, principalmente por absorción y por dispersión inducida. Hay una gran dependencia entre las propiedades de dispersión de la sangre entera y la concentración de matriz de glucosa (p. ej. ref. [1] más adelante). Se propuso un modelo satisfactorio basado en varias observaciones experimentales que conducían a una posible explicación de la dependencia de la dispersión de la luz con la concentración de glucosa en la sangre, y es probable que sea causada por cambios en el desajuste del índice de refracción entre los RBC y plasma (véanse las refs. [2, 3] más adelante). Puesto que se observa que un aumento en la concentración de glucosa induce un aumento en la dispersión de la luz, exige una gran diferencia en el desajuste del índice de refracción de los glóbulos rojos (RBC) y el plasma. Se sabe que el índice de refracción de los RBC es mayor que el del plasma sanguíneo y también se ha cuantificado que el aumento del índice de refracción del plasma con la adición de glucosa es aproximadamente un aumento de $2,73 \times 10^{-5}$ por milimolar en la concentración de glucosa (véase las referencias [4, 5] más adelante). Si es así, entonces el índice de refracción de los RBC debería aumentar más para mantener un desajuste mayor. La razón clave detrás del aumento sustancial del índice de refracción de los RBC se cree que se debe a la glicación no enzimáticas de los grupos amino libre de la hemoglobina (véase la ref. [6]). Sin embargo, hay variaciones del índice de refracción debidas a cambios en las dimensiones de los RBC que conducen a su mayor densidad de empaquetamiento. Estas variaciones dependen de nuevo de la absorción de glucosa de los glóbulos rojos, donde se ha demostrado que los RBC reducen su diámetro total debido al mecanismo de contracción osmótica (reduciendo la concentración de glucosa) y conduce a un aumento en la atenuación de la luz por la muestra de sangre (véase la ref. [7]).

55 Cualquier aumento medido en el tiempo de vida de los fotones de la señal se puede atribuir a haber recorrido caminos más largos en el medio como resultado de la mayor probabilidad de dispersión coherente. Esta observación se ha

modelizado de forma teórica de modo que se puede demostrar que la longitud del camino acuoso efectivo aumentaba entre 1,1 y 1,2 mm en comparación con la longitud del camino geométrico de 1 mm de las células de muestra usadas para el experimento (véase la ref. [1]). En una descripción sencilla, esto significa que la dispersión coherente conduce a tiempo de vida medido/aparente más prolongado mientras que la absorción por moléculas reduce el tiempo de vida aparente de la señal medida. Se observaron dos zonas diferentes en la figura 7 donde se midió el tiempo de vida de la fluorescencia frente a diferentes concentraciones de glucosa en sangre entera humana. Se postula, pero no se asegura, que la reducción del tiempo de vida de la fluorescencia a aproximadamente 400 μ s a la concentración de glucosa 10 mM podría surgir de la absorción y/o dispersión incoherente dentro de las muestras de sangre. Pero para concentraciones superiores a 10 mM, se encontró que el tiempo de vida aumentaba, lo que se podía atribuir a procesos de dispersión coherentes. Esta observación está de acuerdo con la explicación detallada proporcionada antes en relación con el desajuste del índice de refracción entre el plasma y los glóbulos rojos.

Además, por el método de medición de SRPL que usa la invención, se puede deducir la concentración de la molécula en cuestión en comparación con otras moléculas (metabolitos) y dispersores con señales de interferencia que están presentes, basándose en los coeficientes de absorción que dependen de la longitud de onda. Esto puede ser importante para la medición continua de glucosa no invasiva ya que varias señales de interferencia de la piel del sujeto pueden contribuir a ambigüedades en las mediciones.

Referencias:

[ref. 1] Airat K. Amerov et al., *Analytical Chemistry* 77 (14), 4587 (2005).

[ref. 2] G. Mazarevica et al., *J Biomed Opt* 7 (2), 244 (2002).

[ref. 3] Leonid D. Shvartsman et al., SPIE, Amsterdam, Netherlands, 2000 Vol. 4162, pp. 120.

[ref. 4] Matthias Kohl et al., *Opt. Lett.* 19 (24), 2170 (1994).

[ref. 5] John S. Maier et al., *Opt. Lett.* 19 (24), 2062 (1994).

[ref. 6] D. E. Goldstein et al., *Clin Chem* 32 (10 Suppl), B64 (1986).

[ref. 7] Airat K. Amerov et al., SPIE, San Jose, CA, USA, 2003 Vol. 4965, pp. 7.

La Figura 7 demuestra esta pendiente de tendencia hasta una concentración de ~ 10 mMol/l para tres longitudes de onda diferentes (1543 nm, 1550 nm, 1580 nm) cuando se usaba una película con implantación de Er^{3+} de ~ 1 μ m de espesor para la medición en muestras de sangre en condiciones controladas. Sin embargo, en concentraciones mayores que esta, la tendencia se invierte y se puede atribuir a la mayor competición entre dispersión y absorción. La glucosa tiene una respuesta de absorción plana ($\sim 7 \times 10^{-5}$ $\text{mM}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$) dentro de la región de 1534 - 1580 nm, por lo tanto, a longitudes de onda más largas, la reducción en la sección transversal de dispersión será a una mayor magnitud debido a la dependencia de la 4ª potencia de λ . En este contexto, la interacción de fotón de luz-medio líquido opera principalmente en el fenómeno de absorción donde se pierden los fotones conduciendo a la reducción del tiempo de vida de la PL.

Este fenómeno en general se pone de manifiesto en un aumento grande (cientos de microsegundos) del tiempo de vida medido en la región hipoglucémica e incluso hasta niveles de concentración de 10 mMol/l y por lo tanto da como resultado una excelente sensibilidad.

En una realización de la invención se proporciona un método para la medición no invasiva de un metabolito en un animal, que comprende:

(i) aplicar un biosensor, que incluye la invención, en o cerca de dicho animal, por ejemplo, aplicar dicho sensor a la piel del animal, comprendiendo dicho sensor una superficie funcional (p. ej., en una guía de ondas) de la invención;

(ii) irradiar dicha superficie funcional con una fuente de luz, por ejemplo, un láser, de modo que una parte de la luz fotoluminiscente escapa a dentro del animal;

(iii) medir el tiempo de vida de la fotoluminiscencia de la luz escapada

en donde el tiempo de vida de recuperación se correlaciona con el nivel del metabolito.

En una realización adicional el cambio en el tiempo de vida de la fotoluminiscencia a diferentes longitudes de onda se puede usar como una característica adicional para potenciar la señal debida a un metabolito de interés frente a otras interferencias y también para calibrar el sistema.

Un láser adecuado para usar en sistemas biosensores y métodos de detección de la invención incluyen un láser en el espectro visible e infrarrojo cercano. Por ejemplo, un láser con longitudes de onda en el espectro del infrarrojo cercano

tal como aquellos con longitudes de onda de aproximadamente 780 a aproximadamente 2200 nm, tal como en el intervalo de aproximadamente 980 nm a aproximadamente 1100 nm, por ejemplo aproximadamente 980 nm.

En una realización, la potencia de dicho láser está en el intervalo de 1 mW a 500 mW, tal como aproximadamente 50 mW.

- 5 La fuente de luz, por ejemplo un láser puede tener un ángulo de incidencia en el sustrato de 0° a 90°, por ejemplo, aproximadamente 45°.

10 Cuando se mide el tiempo de vida de recuperación en métodos de detección de la invención, la fuente de luz, por ejemplo, un láser se enciende y apaga, por ejemplo con una frecuencia de aproximadamente 1 Hz a aproximadamente 1000 Hz, o de aproximadamente 1 Hz a aproximadamente 100 Hz, o de aproximadamente 1 Hz a aproximadamente 10 Hz.

La tecnología de detección de la invención proporciona un ancho de banda de detección amplio, por ejemplo, en el intervalo de 800 a 4000 nm.

15 Las guías de ondas o sustratos ópticos adecuados para los métodos de medición no invasiva de la invención pueden comprender sustratos de iones implantados de la invención, pero también incluirían cualquier guía de ondas o sustrato que facilite la transmisión de luz y la recuperación de una parte de dicha luz de un material biológico suficiente para medir el tiempo de vida de recuperación. En una realización, la superficie funcional es bombeada por un láser de onda continua (cw) ajustable dentro del intervalo de aproximadamente 1510 a aproximadamente 1620 nm.

20 Los metabolitos que se pueden detectar por el método de la invención incluyen: metabolitos moléculas pequeñas, péptidos, lípidos, péptidos, polipéptidos y proteínas. Se pueden detectar mioglobina, HbA1C, troponina y otras sustancias.

Los metabolitos moléculas pequeñas incluyen: glucosa y lactato.

La banda espectral de fotoluminiscencia del(de los) dopante(s) se superpone con las bandas de absorción características del metabolito o metabolitos de interés. Por ejemplo, en el caso de la detección de glucosa, sería aceptable una banda espectral de aproximadamente 1530 a aproximadamente 2200 nm) de las moléculas de glucosa.

- 25 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento para hacer un sustrato de iones implantados de acuerdo con la reivindicación 1 de la presente memoria. Este procedimiento incluye:

ablación de una capa objetivo con radiación incidente de un láser ultrarrápido en presencia de un sustrato de modo que se implante una cantidad de la capa objetivo en el sustrato.

30 El procedimiento puede comprender además usar una o más máscaras/plantillas para facilitar la implantación de iones en zonas específicas del sustrato.

La capa objetivo puede ser cualquier material que cuando se expone a radiación incidente produce un plasma que comprende iones capaces de implantarse en el sustrato. Los ejemplos de capas objetivo incluyen vidrio basado en telurio.

En una realización, la capa objetivo está montada sobre una plataforma giratoria.

- 35 El sustrato está separado de la capa objetivo, por ejemplo a una distancia en el intervalo de aproximadamente 0 mm a 150 mm, o de aproximadamente 50 mm a 150 mm, por ejemplo, una distancia de aproximadamente 70 mm

40 El sustrato se puede calentar para facilitar la implantación de iones en el sustrato. La temperatura óptima para facilitar la implantación de iones dependerá del material objetivo usado. En general, la temperatura óptima es entre 0,5 y 0,75 veces la temperatura de transición vítrea. En la realización, cuando se usa vidrio de sílice se puede usar una temperatura de aproximadamente 973 K.

Por ejemplo, la temperatura de transición vítrea de la sílice es 1100-1200°C. Por lo tanto, el intervalo óptimo es de aproximadamente 550°C - 900°C (823 K-1173 K).

El láser ultrarrápido puede ser un láser de attosegundos, femtosegundos o picosegundos. En una realización, el láser ultrarrápido es un láser de femtosegundos.

- 45 El láser ultrarrápido puede ser, por ejemplo, un láser de Ti-zafiro, un láser de bombeo de diodos, tal como un láser de cristal dopado con Yb o dopado con Cr o un láser de fibra.

El láser puede ser un láser de excímeros o un láser exciplex.

El láser puede ser un láser pulsado ultrarrápido.

En el procedimiento de la invención, el láser ultrarrápido puede emitir pulsos de 15 ps o menos, por ejemplo pulsos en el intervalo de 1 fs a 15 ps. En una realización en el procedimiento de la invención, el láser ultrarrápido emite pulsos de 150 fs o menos, por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 fs, por ejemplo, aproximadamente 100 fs.

Los pulsos se pueden emitir con una frecuencia de repetición en el intervalo de aproximadamente 400 Hz a aproximadamente 1 kHz. En una realización, de 400 Hz a 800 kHz, por ejemplo, aproximadamente 500 kHz.

El láser ultrarrápido puede estar en modo bloqueo.

La potencia media del láser ultrarrápido puede ser de 80 W o menos.

La energía del pulso está típicamente en el intervalo de aproximadamente 10 a 400 microjulios, o preferiblemente de aproximadamente 10 a 200 microjulios, o más preferiblemente de aproximadamente 40 a 150 microjulios, o incluso más preferiblemente de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 microjulios, por ejemplo de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 microjulios, tal como aproximadamente 65 microjulios.

La energía del pulso se puede ajustar selectivamente usando un atenuador.

En una realización, la longitud de onda es típicamente de aproximadamente 800 nm, aunque sería adecuado un amplio intervalo de longitudes de onda.

La radiación incidente puede ser incidente sobre el vidrio objetivo en un ángulo en el intervalo de aproximadamente 0° a aproximadamente 80°, o de aproximadamente 40° a aproximadamente 80°, por ejemplo, aproximadamente 60°.

El procedimiento se lleva a cabo típicamente en una cámara de vacío. El procedimiento se puede llevar a cabo a presión reducida, en concreto a una presión parcial de aproximadamente 80 mTorr a aproximadamente 90 mTorr.

El procedimiento se puede llevar a cabo, por ejemplo, en presencia de un gas, tal como oxígeno o en un gas inerte.

La duración del procedimiento puede ser de aproximadamente 1 minuto o más, por ejemplo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 10 horas, tal como de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 8 horas. En una realización, la duración es de aproximadamente 6 horas.

En una realización adicional de la invención, el procedimiento para hacer un sustrato de iones implantados de la invención, incluye:

(i) proporcionar una capa objetivo;

(ii) proporcionar un sustrato próximo a dicha capa objetivo; y

(iii) dirigir la radiación incidente de un láser (p. ej., un láser pulsado, tal como un láser ultrarrápido) a la capa objetivo para producir un plasma que comprende iones de modo que los iones de dicho plasma son implantados en el sustrato.

El procedimiento puede incluir controlar la profundidad de implantación de la implantación de iones dentro de la capa objetivo controlando uno cualquiera de, o cualquier combinación de los siguientes parámetros del procedimiento: la frecuencia de repetición de pulso del láser pulsado; la energía del pulso de láser; la duración de la aplicación del procedimiento de implantación (p. ej., el tiempo de deposición). El método puede incluir aumentar (o disminuir) selectivamente uno cualquiera o más de estos parámetros del procedimiento para aumentar (o disminuir) la profundidad de la implantación. El procedimiento puede incluir controlar el valor del índice de refracción de la región de iones implantados dentro de la capa objetivo controlando uno cualquiera de, o cualquier combinación de los siguientes parámetros del procedimiento: la frecuencia de repetición de pulso del láser pulsado; la energía del pulso de láser; la duración de la aplicación del procedimiento de implantación (p. ej. el tiempo de deposición). El método puede incluir aumentar (o disminuir) selectivamente uno cualquiera o más de estos parámetros del procedimiento para aumentar (o disminuir) el valor del índice de refracción de la región de iones implantados. Se puede realizar cualquier variación/alteración en uno de dichos parámetros del procedimiento mientras se mantiene uno o todos los otros parámetros del procedimiento sustancialmente constantes, o mientras que también se varía/altera uno o todos los demás parámetros del procedimiento.

El término "aproximadamente" cuando se usa en esta memoria descriptiva se refiere a una tolerancia de $\pm 10\%$ del valor expuesto, es decir, aproximadamente 50% abarca cualquier valor en el intervalo de 45% a 55%, en realizaciones adicionales "aproximadamente" se refiere a una tolerancia de $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$, $\pm 0,2\%$ o $0,1\%$ del valor expuesto.

El término "animal" incluye mamíferos, tales como seres humanos.

El término "dopantes" se refiere a iones implantados en un sustrato. Los dopantes incluyen iones implantados en sustratos de la invención.

5 El término "vidrio" se refiere a un sólido que tiene una estructura no cristalina (es decir, amorfa) y que presenta una transición vítrea cuando se calienta hacia el estado líquido y que transmite luz en el espectro infrarrojo, visible o ultravioleta, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 10 nm a 300 μ m. En una realización, "vidrio" se refiere a un vidrio que transmite luz en el espectro visible, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 380 nm a aproximadamente 740 nm. En una realización adicional, "vidrio" se refiere a un vidrio que transmite luz en el espectro infrarrojo, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 740 nm a aproximadamente 300 μ m. En una realización adicional, "vidrio" se refiere a un vidrio que transmite luz en el espectro ultravioleta, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 380 nm. En otra realización adicional más "vidrio" se refiere a un vidrio que transmite luz en la longitud de onda de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 2000 nm.

El término "implantación" se refiere a que el ion entra en la matriz del sustrato en lugar de formar una película en la superficie del sustrato.

15 La expresión "polímero óptico" se refiere a cualquier polímero que transmite luz en el espectro infrarrojo, visible o ultravioleta, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 10 nm a 300 μ m. En una realización, "polímero óptico" se refiere a un polímero que transmite luz en el espectro visible, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 380 nm a aproximadamente 740 nm. En otra realización, "polímero óptico" se refiere a un polímero que transmite luz en el espectro infrarrojo, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 740 nm a aproximadamente 300 μ m. En una realización, "polímero óptico" se refiere a un polímero que transmite luz en el espectro ultravioleta, es decir, una longitud de onda de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 380 nm. En otra realización adicional, "polímero óptico" se refiere a polímeros ópticos que transmiten luz en el intervalo de longitud de onda de aproximadamente 400 nM a aproximadamente 2000 nm.

El término "sustrato" incluye una referencia a un sustrato basado en silicio o un sustrato polimérico, por ejemplo, un material seleccionado de vidrio o un polímero óptico.

25 La expresión "guía de ondas" se refiere a cualquier elemento que facilite la transmisión de luz a través del mismo, tal como la transmisión guiada. La expresión incluye una referencia a cualquier elemento que facilita la transmisión de luz en un material de interés y facilita la medición de la luz que se recupera del material de interés.

La invención se ilustrará ahora con los siguientes ejemplos no limitantes con referencia a las siguientes figuras.

30 Figura 1 muestra esquemáticamente la ablación, producción de plasma y el procedimiento de implantación de múltiples iones.

Figura 2 muestra las imágenes de SEM y TEM de las secciones transversales del sustrato con una región con implantación altamente definida y de forma sustancialmente uniforme en sílice a dos energías de ablación objetivo diferentes de 47 μ J (muestra A) y 63 μ J (muestra B) respectivamente.

35 Figura 3 muestra cortes de HAADF de 400x1600 nm de elementos individuales de la muestra B con perfiles de intensidad de líneas de los elementos.

Figura 4 represente el espectro Raman de vidrio con difusión de iones en comparación con sílice desnuda y vidrio en masa de telurito.

Figuras 5A representan un diagrama esquemático de un biosensor, tal como un sensor de glucosa de la invención.

40 Figuras 5B representa un diagrama esquemático del biosensor de la figura 5A.

Figura 6 muestra los espectros de capacidad de absorción molar de glucosa (continua), alanina (raya punto-punto), ascorbato (rayas medias), lactato (rayas cortas), urea (puntos) y triacetina (raya-punto) a $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ a lo largo del primer armónico.

45 Figura 7 muestra la variación en el tiempo de vida de la fotoluminiscencia medida a tres longitudes de onda diferentes (1543 nm, 1550 nm, 1580 nm) para una muestra de sangre humana con concentraciones variables de glucosa.

Figura 8 muestra la medición no invasiva de glucosa llevada a cabo en piel porcina.

Figura 9 muestra el perfil de índices de refracción de la muestra B.

Figura 10 muestra el tiempo de vida de la fotoluminiscencia a una longitud de onda de 1535 nm, de la muestra B en comparación con el vidrio objetivo usado para preparar la muestra B (es decir, el vidrio que ha sufrido ablación).

Figura 11 representa un diagrama esquemático de un biosensor, tal como un sensor de glucosa de la invención.

5 Figura 12 muestra los resultados de medición para la detección de tejido sano y no sano del arco aórtico.

Figura 13 muestra la variación en la profundidad/espesor de la capa de iones implantados (medida desde la superficie de un sustrato, p. ej., "guía de ondas" que contiene la capa implantada) en función de los parámetros de la luz láser pulsada usada para la ablación de un vidrio objetivo para producir y hacer nube de iones para implantación.

Abreviaturas usadas:

10 HAADF: mapa elemental de alto ángulo angular en campo oscuro

NIR: infrarrojo cercano

SEM: microscopía electrónica de barrido

TEM: microscopía de transmisión electrónica

Ejemplo - implantación en vidrio de sílice

15 La implantación de múltiples iones en vidrio de sílice 4 se produjo por ablación láser de femtosegundos de un objetivo de vidrio de telurito dopado con erbio que contiene zinc y sodio. Se usó un láser de femtosegundos de Ti-zafiro 1 que funcionaba a una longitud de onda de 800 nm con un ancho de pulso de 100 fs y una frecuencia de repetición máxima de 1 kHz (Coherent Inc, Santa Clara, CA, EE.UU.) para la ablación del objetivo de vidrio 2 que generaba una columna de plasma que se expandía 3 que consiste en múltiples iones metálicos (múltiples iones). Un objetivo de vidrio de telurito con una composición molar de $79,5\text{TeO}_2:10\text{ZnO}:10\text{Na}_2\text{O}:0,5\text{Er}_2\text{O}_3$ produce múltiples iones de Te, Zn, Na y Er, que se difunden en el sustrato de vidrio de sílice 4 en determinadas condiciones de procedimiento. El sustrato de vidrio de sílice se acopló a una cámara de calentamiento dispuesta para calentar el sustrato a la temperatura deseada. La ablación, producción de plasma y el procedimiento de implantación de múltiples iones se muestran de forma esquemática en la figura 1.

25 Se llevaron a cabo experimentos variando la energía del láser, la frecuencia de repetición, la distancia del objetivo al sustrato y finalmente la temperatura del objetivo de la deposición. El objetivo de la deposición no se trasladó por simplicidad del experimento y para una mejor comprensión de la variación de parámetros a lo largo de la superficie de la muestra. Hubo una variación en la profundidad de implantación y el perfil de índices de refracción a lo largo de la superficie cuando se movía radialmente hacia afuera desde el centro, por lo tanto, todas las propiedades características de la modificación proporcionada se midieron desde el centro de la muestra salvo que se indique lo contrario.

30 Se obtuvieron resultados óptimos para energías láser entre $40\ \mu\text{J}$ - $75\ \mu\text{J}$ cuando se trabajaba a 500 Hz y 1 kHz. La distancia del objetivo de ablación al sustrato se ajustó a 70 mm y la temperatura del sustrato se ajustó a 973 K. La figura 2 representa las imágenes SEM y TEM de las secciones transversales del sustrato con una región de implantación altamente definida y de forma sustancialmente uniforme en sílice a dos energías de ablación del objetivo diferentes de $47\ \mu\text{J}$ (muestra A) y $63\ \mu\text{J}$ (muestra B) respectivamente. Las profundidades de difusión de los iones aumentaron de 350 nm a 850 nm con energía láser, mientras que el tiempo de deposición era de 6 horas y la frecuencia de repetición era de 500 Hz en ambos casos. En la figura 2 es claramente visible un límite bien definido de la región difusa y prístina y la región modificada no muestra ningún agrupamiento importante de iones o inhomogeneidades de partículas.

35 Se llevó a cabo un análisis adicional de las características de difusión de cada uno de los iones en sílice usando el mapa de distribución elemental de alto ángulo en campo oscuro (HAADF) de la muestra B. La figura 3 representa cortes de HAADF de 400×1600 nm de elementos individuales. Un perfil de intensidad de líneas muestra el perfil de concentración relativa de cada elemento difundido con un límite bien definido y agudo dentro de la sílice. La concentración de oxígeno 6 en sílice permanecía sin cambios a través del límite, mientras que el silicio 7 mostraba un perfil de concentración complementario con respecto a los elementos difundidos. Esto indica la formación de un vidrio complejo de sílice con iones implantados que aumentan el índice de refracción de 1,457 de la sílice a 1,626. Considerando solo los cationes, se determina que la concentración atómica de silicio en la región de difusión es de 57% mientras que el Te (curva 8), Zn (curva 9), Na (curva 10) y Er (curva 11) constituyen el resto en la muestra A. Esto confirma un proceso de implantación de múltiples iones en una sola etapa en el sustrato de vidrio de sílice.

50

La capa de implantación es muy homogénea y sustancialmente uniforme a lo largo de las secciones transversales y horizontales del sustrato de sílice. Esto podría variar para el silicio u otros sustratos y son posibles formaciones de cristalitas y nanocristalitas.

5 El procedimiento para hacer el sustrato de iones implantados de la invención comprende en general la ablación de una capa objetivo con radiación incidente de un láser en presencia de un sustrato de modo que se implante una cantidad de la capa objetivo en el sustrato. La capa objetivo cuando se expone a la radiación láser incidente produce un plasma que comprende iones capaces de implantarse en el sustrato. El sustrato se calienta para facilitar la implantación de iones en el sustrato. El sustrato está separado de la capa objetivo, p. ej., a una distancia de aproximadamente 70 mm.

10 Una o más máscaras o plantillas pueden cubrir la superficie del sustrato en la que se están implantando los iones para facilitar así la implantación de iones en zonas específicas del sustrato. Estas zonas pueden formar circuitos fotónicos, tales como estructuras de guía de ondas ópticas y caminos en el sustrato, u otros componentes/estructuras ópticas.

Propiedades estructurales de la región implantada:

15 La sílice y el telurito son completamente inmiscibles y no formarán un vidrio estable en el procedimiento convencional de fusión y enfriamiento discontinuo. Sin embargo, en los resultados presentados antes se demuestra que con la modificación de la red es posible la difusión de cationes metálicos que incluyen iones Te^{4+} en la red de vidrio de sílice. Se midieron las propiedades del vidrio de sílice implantado. No se observaron señales de ningún tipo de cristalización en la difracción de electrones y la caracterización de XRD lo que demuestra una fase amorfa completa de vidrio de sílice-telurito. Se usó la espectroscopía Raman para analizar la red de vidrio en la región difusa. La figura 4 representa el espectro Raman del vidrio con difusión de iones en comparación con la sílice desnuda y el vidrio en masa de telurito que carece de cualquier señal característica correspondiente a la fase de vidrio de TeO_2 dentro de la red.

20 Las Figuras 5A y 5B representan un diagrama esquemático de un biosensor 8 de la invención para usar como un sensor de glucosa. El biosensor comprende una láser de bombeo 9, un sustrato de vidrio 10 de iones implantados y un detector de luz 11 para detectar señales ópticas 12 que emanan del sustrato de iones implantados. El láser de bombeo está dispuesto para emitir luz láser 13 que tiene una longitud de onda adecuada para hacer que los iones implantados 14 dentro del sustrato produzcan fluorescencia. El detector de luz es un fotodiodo rápido, tal como un fotodiodo de microsegundos, o un fotodiodo de nanosegundos y está dispuesto para detectar la intensidad de fluorescencia de los iones implantados dentro del sustrato. Es decir, el fotodiodo tiene preferiblemente un tiempo de respuesta de modo que se genera una señal de detección eléctrica en microsegundos, o más preferiblemente nanosegundos en respuesta a la presencia de luz en el detector, y que dicha señal eléctrica se detiene dentro del mismo periodo de tiempo rápido o similar después de que la luz ya no esté presente en el detector. Esta velocidad es preferible con el fin de permitir que el aparato tenga un grado deseado de resolución temporal que permita detecciones de fluorescencia breves y separadas en rápida sucesión. Se puede usar un dispositivo fotomultiplicador igualmente rápido como alternativa.

35 El sustrato tiene un espesor sustancialmente uniforme que está en el intervalo de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 10 mm, tal como en el intervalo de 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. El sustrato de iones implantados define en su región de superficie con implantación 14 una superficie funcional para la detección óptica de la presencia de glucosa a través de fotones de luz fluorescente 15 generada en la región de implantación del sustrato. Se puede denominar un chip fotónico. De hecho, se puede formar directamente un sustrato de la invención sobre la superficie de un láser, tal como un láser de estado sólido, de modo que la superficie funcional del sustrato es bombeada por el láser de estado sólido en uso. Esto ofrece un diseño de chip fotónico muy compacto.

40 El biosensor incluye no solo el detector de luz sino también una unidad de procesador de datos 16 conectada al detector de luz para recibir señales de detección de luz desde el detector de luz y para generar datos que representan esas detecciones. El biosensor incluye además una unidad de control 17 que comprende software, o firmware o circuitos electrónicos, dispuestos para controlar el funcionamiento del láser de bombeo y/o el detector de luz y/o la unidad de procesador de datos según se desee. La combinación del detector de luz y la unidad del procesador de datos se puede denominar un integrador de chip fotónico, en su relación con el chip fotónico. La unidad de control puede emitir señales detectadas, recibidas de la unidad de procesador de señales, para presentar en una pantalla de interfaz humana de la unidad de control 17. Las guías de ondas ópticas (18) guían la luz de bombeo desde el láser de bombeo 9 al sustrato 10, y guían la luz fluorescente del sustrato al fotodiodo a través de una rejilla de difracción 11A dispuesta para separar la luz fluorescente recibida en las bandas de longitud de onda espectral deseadas para la salida al detector óptico en un canal espectral dedicado 11B (p. ej., una guía de ondas). Esto permite que el fotodiodo detecte canales espectrales seleccionados de forma independiente, p. ej., bloqueando la recepción de la luz de todos los canales, excepto el(los) que se desea detectar.

55 La capa de iones implantados del sustrato se forma para extenderse dentro del cuerpo del sustrato desde una superficie/cara plana del sustrato hasta una profundidad sustancialmente uniforme de al menos 50 nm (p. ej., al menos 200 nm) en el vidrio y tiene una distribución sustancialmente uniforme de iones implantados a lo largo de esa

- profundidad. La capa implantada también se extiende a través de la superficie plana para proporcionar un área de superficie funcional de sensibilidad para la detección de glucosa. La superficie puede tener varios mm cuadrados, o cm cuadrados, de tamaño. La distribución de iones implantados en toda esa área también es sustancialmente uniforme. El láser de bombeo y el detector de luz están ambos ópticamente acoplados a un área de superficie posterior del sustrato que es la superficie inversa al área de superficie funcional. Esto significa que el área de superficie funcional se puede aplicar o situar en un objeto u objetivo de estudio deseado (p. ej., la piel o un animal, 19), mientras el bombeo del área funcional y la detección posterior de luz que emana del área de superficie funcional puede tener lugar lejos del objetivo sin requerir que la superficie funcional se mueva con relación al objetivo. Esto permite compacidad en el biosensor y facilidad de uso.
- Este uso de sustratos de iones implantados de la invención permite la detección no invasiva de metabolitos, tales como glucosa, en animales. El método de detección es un método novedoso que mide un tiempo de vida de la fotoluminiscencia para detectar metabolitos tales como la glucosa, en lugar de detectar simplemente a partir de una medición de intensidad de luz aislada.
- La banda espectral de la fotoluminiscencia del(de los) dopante(s) dentro del sustrato de iones implantados se superpone con las bandas de absorción características (p. ej., en el intervalo de 1530-2200 nm) de las moléculas de glucosa en las longitudes de onda del infrarrojo cercano (NIR). Un ejemplo de estas bandas de absorción se ilustra en la figura 6 para la glucosa y para otras moléculas (véase Airat K. Amerov et al., *Appl. Spectrosc.* 58 (10), 1195 (2004)).
- En particular, la figura 6 muestra los espectros de capacidad de absorción molar de glucosa (línea continua), alanina (línea de raya-punto-punto), ascorbato (línea de rayas medias), lactato (línea de rayas cortas), urea (línea de puntos) y triacetina (línea de raya-punto) a $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ a lo largo del primer armónico. Por lo tanto, aunque la presente realización se describe en términos de detección de glucosa, se apreciará fácilmente que se puede aplicar a la detección de otras moléculas tales como las descritas anteriormente.
- Al medir/detectar tiempos de vida de la fluorescencia a longitudes de onda de luz seleccionadas que caen dentro de regiones del espectro de absorción de un metabolito en las que se producen variaciones espectrales significativas, tales como cambios bruscos o sostenidos en los niveles de absorción, se puede identificar la presencia de ese metabolito en términos de los cambios correspondientes en los tiempos de vida de la fluorescencia medidos a diferentes longitudes de onda ópticas dentro de esas regiones del espectro de absorción de un metabolito. Por ejemplo, la glucosa tiene una fuerte pendiente espectral en la región de longitud de onda de aproximadamente 1525 nm a aproximadamente 1650 nm como se muestra en la figura 6, mientras que los otros metabolitos representados en la figura 6 tienen mucha menos variación espectral allí. Esto significa que las variaciones espectrales detectadas en los tiempos de vida de la fluorescencia detectadas dentro de esa región espectral y se pueden usar para inferir o confirmar la presencia de glucosa. Esto se aplica de manera similar a otros metabolitos en otras regiones espectrales.
- La figura 7 y la figura 8 muestran cambios detectados en los tiempos de vida de la fluorescencia cuando se aplica el biosensor (de la manera mostrada en la figura 5 o la figura 11) a una muestra de sangre que contiene glucosa (figura 7) o una muestra de piel porcina (figura 8). Se puede ver que a longitudes de onda más largas (1580 nm) el cambio en los tiempos de vida de la fluorescencia es el mayor y puede ser más sostenido en su correlación con las concentraciones de glucosa (véase la figura 8). En relación con esto, el biosensor se puede disponer para funcionar a una longitud de onda particular (p. ej., 1580 nm) seleccionada entre una pluralidad de longitudes de onda, lo que proporciona dicha respuesta favorable o correlación sostenida.
- El tiempo de vida de la fotoluminiscencia medido de los iones implantados de tierras raras se modifica dentro de la película fina de vidrio contenida en un sensor fotónico debido a la amplificación por dispersión aleatoria y localización de fotones fotoluminiscente. Cuando un medio objetivo que contiene glucosa (p. ej., piel) interacciona con fotones fluorescentes de la película de iones implantados, a través de la superficie funcional de iones implantados, el tiempo de vida de la fotoluminiscencia aparente se modifica en función de la concentración de glucosa dentro del medio objetivo debido a su absorción específica así como propiedades de dispersión molecular.
- Por lo tanto, mediante una medición precisa del tiempo de vida de la fotoluminiscencia de los iones implantados de tierras raras en la superficie funcional, se puede deducir la concentración de glucosa en el medio. Dado que las propiedades de absorción y dispersión de los fotones a diferentes longitudes de onda dentro de la banda de emisión varían en función de la concentración de glucosa, el cambio aparente del tiempo de vida de la fotoluminiscencia de los iones implantados de tierras raras a diferentes longitudes de onda se puede usar como una característica adicional para mejorar la señal debida a la glucosa en comparación con la de otras interferencias (p. ej., metabolitos) como se ha descrito antes con referencia a la figura 6. Este nuevo concepto de medición se puede denominar técnica de tiempo de vida de la fotoluminiscencia espectralmente resuelta (SRPL) y es el nuevo principio de detección que se puede aplicar en el biosensor.
- El método para la medición no invasiva de un metabolito usando el biosensor incluye:

aplicar el biosensor en o cerca del sujeto en el que se está realizando la detección, tal como aplicando la superficie funcional del biosensor a la piel de un animal;

5 irradiar la superficie funcional con la luz de bombeo desde el láser de bombeo durante un período de tiempo de bombeo para excitar la fluorescencia en la superficie funcional, y de manera que una parte de la luz fluorescente escape al animal;

medir el tiempo de vida de la fotoluminiscencia de la luz fluorescente de la superficie funcional, después de que finalice el período de bombeo, usando el fotodiodo y la unidad de procesador de señales.

10 La unidad de procesador de señales está dispuesta para determinar el período de tiempo (el "tiempo de vida de recuperación") requerido para que la intensidad de la luz de fluorescencia medida disminuya en valor en un factor de 1/e. Este período preferiblemente empieza inmediatamente desde el final del período de bombeo, de modo que no se produce bombeo de la superficie funcional durante el período de medición del tiempo de vida. El tiempo de vida de recuperación medido de la luz fluorescente detectada de la superficie funcional se correlaciona con el nivel del metabolito dentro del sujeto en el que se realiza la detección como se ha descrito antes. El procesador de señales está dispuesto para calcular un valor del nivel de concentración de metabolito (p. ej., glucosa) usando dichas correlaciones predeterminadas. Estas correlaciones predeterminadas para un metabolito dado, tal como la glucosa (es decir, niveles de concentración que corresponden al tiempo de vida de recuperación medido) se pueden almacenar previamente en una tabla de consulta dentro de la unidad del procesador de señales (o en una memoria separada accesible por la unidad del procesador de señales) a partir de las cuales la unidad del procesador de señales determina un nivel de concentración a partir de un tiempo de vida de recuperación medido dado y produce el resultado para presentar a un usuario o para almacenar según se desee.

20 La unidad de control 17 está dispuesta para controlar el láser de bombeo para reanudar el bombeo de la superficie funcional con luz de bombeo después de un período de tiempo definido que supera el tiempo de vida de recuperación. Este encendido/apagado controlado del láser de bombeo puede ocurrir con una frecuencia de repetición para adaptarse al usuario. El período "encendido" permite que el láser de bombeo bombee los iones implantados de la superficie funcional, mientras que un período "apagado" sucesivo permite medir un tiempo de vida de recuperación y determinar una concentración de metabolito. La figura 10 ilustra el decaimiento de los niveles de luz de fluorescencia detectados en la superficie funcional cuando se aísla de cualquier sujeto de medición. El decaimiento exponencial cae en un factor de 1/e después de 11,1 ms, lo que corresponde al tiempo de vida de recuperación de la superficie funcional aislada. Este tiempo de vida de recuperación cambia en presencia de un metabolito tal como la glucosa, y la cantidad de cambio está correlacionada con la cantidad de glucosa. La figura 7 muestra un ejemplo de correlación cuando el sujeto en el que se hace la medición es una muestra de sangre libre que contiene glucosa (in vitro) como se muestra en la figura 11, mientras que la correlación que se muestra en la figura 8 se obtiene de una muestra de piel porcina como se muestra en la figura 5. La figura 10 también muestra una curva de decaimiento para el vidrio objetivo usado para generar la nube de plasma (figura 1) durante la implantación de iones del sustrato.

35 La Figura 12 ilustra la capacidad del biosensor para distinguir entre tejido aórtico normal y tejido aórtico anormal, tal como tejido ateroesclerótico. Esto ilustra el uso del biosensor para detectar enfermedades cardiovasculares y cánceres. El cambio en el tiempo de vida de la fluorescencia se muestra en la figura 12 para cinco circunstancias diferentes. El punto de datos más a la izquierda 20 en la figura corresponde a una circunstancia donde el biosensor no está en contacto con ningún tejido del sujeto. El cambio en el tiempo de vida de la fluorescencia es cero. El siguiente punto de datos 21 corresponde a tejido aórtico sano y muestra un cambio positivo en el tiempo de vida de la fluorescencia, mientras que se observa un cambio negativo 22 en el tiempo de vida de la fluorescencia para el tejido ateroesclerótico. Esto ilustra un método de medición para determinar la presencia de tejidos sanos o no sanos de la siguiente manera.

45 Primero, se determina el tiempo de vida de la fluorescencia de la superficie funcional del biosensor en ausencia de tejido; a continuación, el tejido se aplica a la superficie funcional del biosensor y se determina un nuevo tiempo de vida de la fluorescencia en presencia del tejido (p. ej., in vitro como en la figura 11). Si el último tiempo de vida de la fluorescencia es mayor que el primero, entonces el tejido está sano, o bien no está sano si el último tiempo de vida de la fluorescencia es menor que el primero. El procesador de señales del biosensor se puede disponer para hacer esta determinación.

50 En una mejora adicional de este método, se puede añadir erbio (p. ej., en una solución salina: p. ej., cloruro de erbio) al tejido, y se puede medir un segundo tiempo de vida de la fluorescencia. Si el segundo tiempo de vida de la fluorescencia 23 es menor que el primer tiempo de vida de la fluorescencia medido (para el tejido sin erbio), esto es indicativo de tejido sano, o bien si el segundo tiempo de vida de la fluorescencia 24 es mayor (es decir, menos negativo) que el primer tiempo de vida de la fluorescencia medido (para el tejido sin erbio), entonces esto es indicativo de tejido no sano. El procesador de señales del biosensor se puede disponer para hacer esta determinación.

55 El sustrato del biosensor, y en otros aspectos de la invención, está provisto de una capa de iones implantados en el que la capa de iones implantados se extiende sustancialmente desde la superficie más externa del sustrato. Esto se muestra en la figura 3, que muestra la concentración de iones dopantes y del vidrio sustrato en función de la

profundidad en el sustrato desde la superficie más externa del vidrio a través de la cual tuvo lugar la implantación. La parte izquierda de la figura 3 muestra cortes de HAADF como se ha descrito antes, que indican concentraciones de dopantes y otros átomos del sustrato. Cabe señalar que los gráficos de trazos de líneas de los cortes de HAADF que se muestran a la derecha de la figura 3 comienzan justo encima de la superficie más externa del vidrio, cuya superficie se indica por el aumento brusco inicial de las intensidades de señales de HAADF a una "distancia" en la gráfica de unos pocos nm. La capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados que se extiende dentro del sustrato desde su superficie más externa.

Esta distribución de iones produce una región de índice de refracción sustancialmente uniformemente aumentado en el sustrato como se indica por el perfil de índices de refracción efectivos aproximados (simulado) 25 que se muestra en la figura 9. Este perfil ilustra una representación aproximada del cambio en el índice de refracción del sustrato al aumentar la profundidad desde la superficie de la capa de iones implantados. La curva continua representa una simulación (aproximada) de la distribución de los índices de refracción efectivos basada en las propiedades ópticas medidas (p. ej., índices de refracción) de tres modos de propagación óptica diferentes (26, 27, 28) medidos dentro del sustrato y calculados de acuerdo con técnicas estándar para determinar índices de refracción efectivos usando modos de propagación óptica como sería fácilmente evidente para la persona experta. El resultado es un índice de refracción sustancialmente uniforme de aproximadamente 1,625 (medido a una longitud de onda de 633 nm, usando un láser He Ne) a través de la capa implantada, que cae tan rápidamente al índice de refracción del vidrio del sustrato a una profundidad de aproximadamente 1,4 micrómetros donde termina la capa implantada. La distribución de los índices de refracción es una distribución de "salto de índice" y es resultado de la uniformidad de la distribución de iones dentro del sustrato. Una simulación más precisa mostraría un cambio de salto más marcado en el índice de refracción a una profundidad de 1,4 micrómetros. Obsérvese que el índice de refracción del material del sustrato era de aproximadamente 1,457, mientras que el índice de refracción de la capa implantada es 1,625, un aumento muy significativo.

La figura 13 muestra la variación en la profundidad/espesor de la capa de iones implantados medida desde la superficie de un sustrato (p. ej., "guía de ondas") que contiene la capa implantada, en función de los parámetros de la luz láser pulsada usada para la ablación de un vidrio objetivo, para la producción y nube de iones para la implantación. Se puede ver que la profundidad (espesor de la capa), así como el índice de refracción de la capa, aumentan con la frecuencia de repetición del pulso y la energía del pulso láser en el láser de ablación. Aumentar el tiempo de deposición de la capa también aumenta el espesor/profundidad de la capa.

La gráfica izquierda de la figura 13 muestra la profundidad de la capa de implantación y el índice de refracción (los números de cuatro dígitos adyacentes a los puntos de datos) en función de la frecuencia de repetición del pulso creciente. El tiempo de deposición era de 30 minutos a 51 microjulios por pulso de luz láser de ablación. La gráfica central de la figura 13 muestra la profundidad de la capa de implantación y el índice de refracción (los números de cuatro dígitos adyacentes a los puntos de datos) en función de la energía del pulso creciente. El tiempo de deposición era de 6 horas a una frecuencia de repetición de pulso de 500 Hz. La gráfica de la derecha de la figura 13 muestra la capa de implantación en función del tiempo de deposición creciente. La frecuencia de repetición de pulso era de 500 Hz a 51 microjulios por pulso de luz láser de ablación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para fabricar una capa de iones implantados en un sustrato en donde el sustrato comprende un vidrio, comprendiendo el procedimiento: ablación de una capa objetivo de vidrio a base de telurio que comprende un catión con radiación incidente de un láser en presencia del sustrato y en presencia de un gas a una presión en el intervalo de 72 mTorr a 99 mTorr, implantando así una cantidad de la capa objetivo en el sustrato para formar dicha capa de iones implantados que comprende dicho catión, de modo que la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm, y dicho catión se selecciona del grupo de Nd(3+), Yb(3+), Er(3+), Tm(3+), Pr(3+), Ho(3+), Sm(3+), Eu(3+), Tb(3+), Ce(3+) y La(3+).
- 10 2. Un procedimiento de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicha capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados sustancialmente desde la superficie más externa del sustrato.
3. Un procedimiento de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicha capa de iones implantados tiene una densidad de iones implantados de al menos 10^{21} iones.cm⁻³, o al menos 10^{23} iones.cm⁻³.
- 15 4. Un procedimiento de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde el procedimiento se lleva a cabo a una presión parcial en el intervalo de 80 mTorr a 90 mTorr.
5. Un procedimiento de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde el sustrato está separado de la capa objetivo por una distancia en el intervalo de 0 mm a 68,6 mm.
6. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en donde el sustrato está separado de la capa objetivo por una distancia en el intervalo de 45 mm a 68,6 mm.
- 20 7. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 4, en donde el sustrato está separado de la capa objetivo por una distancia en el intervalo de 71,4 mm a 165 mm.
8. Un procedimiento de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde el sustrato se calienta.
- 25 9. Un sustrato que comprende un vidrio, incluyendo el sustrato una capa de iones implantados que comprende un catión seleccionado del grupo de Nd(3+), Yb(3+), Er(3+), Tm(3+), Pr(3+), Ho(3+), Sm(3+), Eu(3+), Tb(3+), Ce(3+) y La(3+) en donde la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 50 nm y en donde la capa de iones implantados tiene una distribución sustancialmente uniforme de los iones implantados sustancialmente desde la superficie más externa del sustrato.
10. Un sustrato de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 200 nm.
- 30 11. Un sustrato de acuerdo con la reivindicación 9, donde la profundidad de penetración de los iones implantados es al menos 500 nm.
12. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde la capa de iones implantados tiene una densidad de iones implantados de al menos 10^{21} iones.cm⁻³, o al menos 10^{23} iones.cm⁻³.
- 35 13. Un sustrato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en donde el sustrato es un vidrio seleccionado de vidrios de sílice, silicato, fosfato, telurito, derivados de telurito, germanato, bismutato y de la ruta solgel.
14. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en donde el sustrato es un polímero óptico.
- 40 15. Un sustrato de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el polímero óptico se selecciona de poli(metacrilato de metilo), poli(alcohol vinílico), polieteretercetona, poli(tereftalato de etileno), poliimida, polipropileno y politetrafluoroetileno.
16. Un sustrato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15, en donde la capa de iones implantados está:
 - (i) en una cara exterior del sustrato; o
 - (ii) dentro del sustrato.
- 45 17. Un sustrato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 16, en donde la capa de iones implantados:
 - (i) abarca sustancialmente toda el área del sustrato; o
 - (ii) comprende una o más zonas.

18. Un sustrato de acuerdo con la reivindicación 17, en donde una o más de las zonas se superponen.
19. Un sustrato de acuerdo con la reivindicación 17 o reivindicación 18, en donde las zonas comprenden los mismos o diferentes iones.
20. Una guía de ondas que comprende un sustrato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 19.
- 5 21. Un biosensor que comprende un sustrato óptico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 19 o una guía de ondas de acuerdo con la reivindicación 20.
22. Un método para la medición no invasiva de un metabolito en un animal que comprende:
- (i) aplicar un biosensor de la reivindicación 21 sobre o cerca de dicho animal, por ejemplo aplicando dicho sensor a la piel del animal, comprendiendo dicho sensor un sustrato óptico o guía de ondas;
- 10 (ii) irradiar dicho sustrato o guía de ondas con una fuente de luz, por ejemplo, un láser, de modo que una parte de la luz escape al animal;
- (iii) medir el tiempo de vida de la fotoluminiscencia de la luz escapada;
- en donde el tiempo de vida de recuperación se correlaciona con el nivel del metabolito.

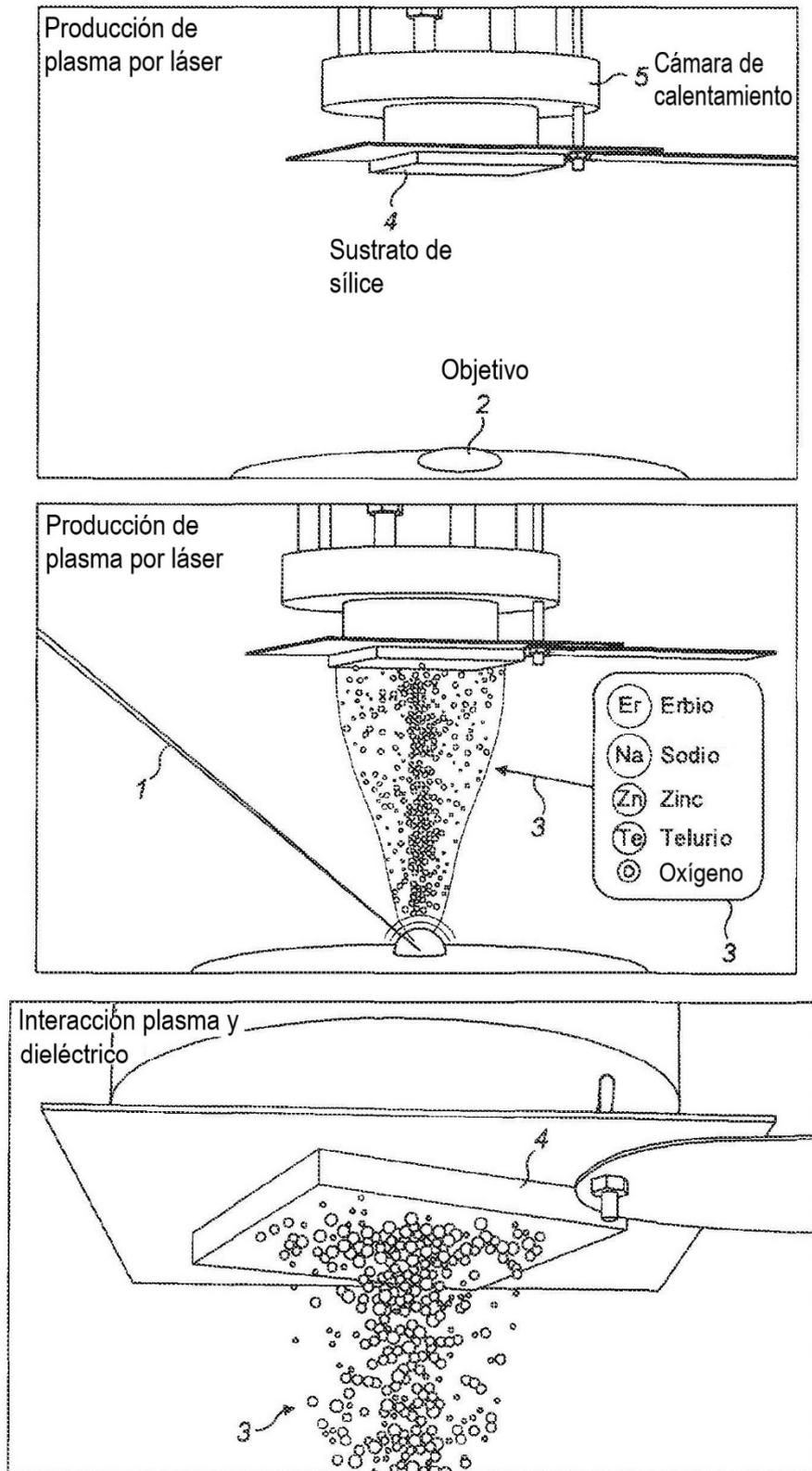


FIG. 1

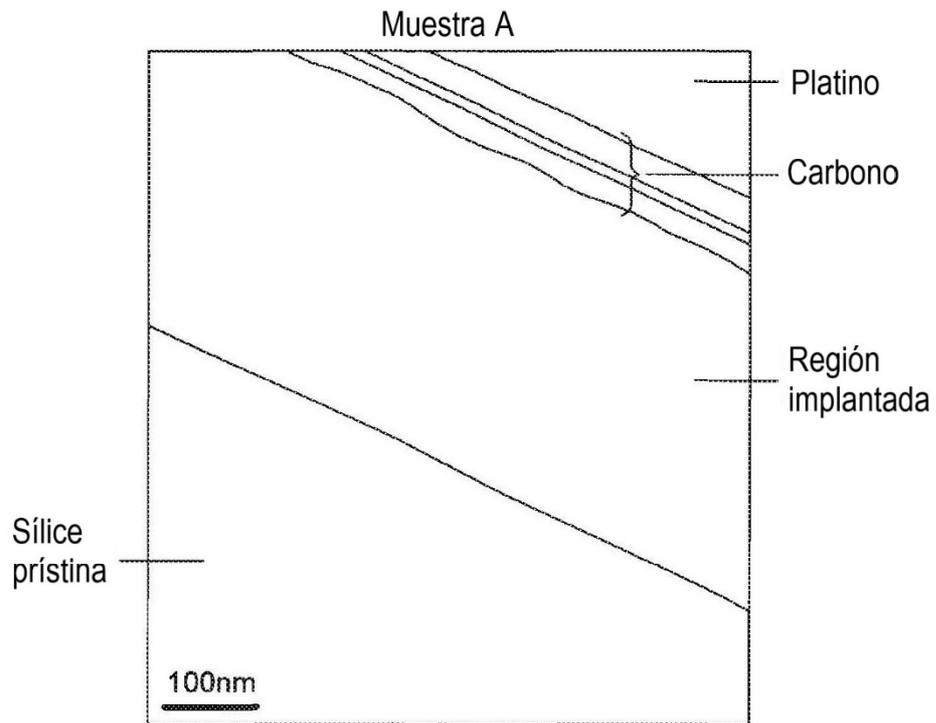


FIG. 2A

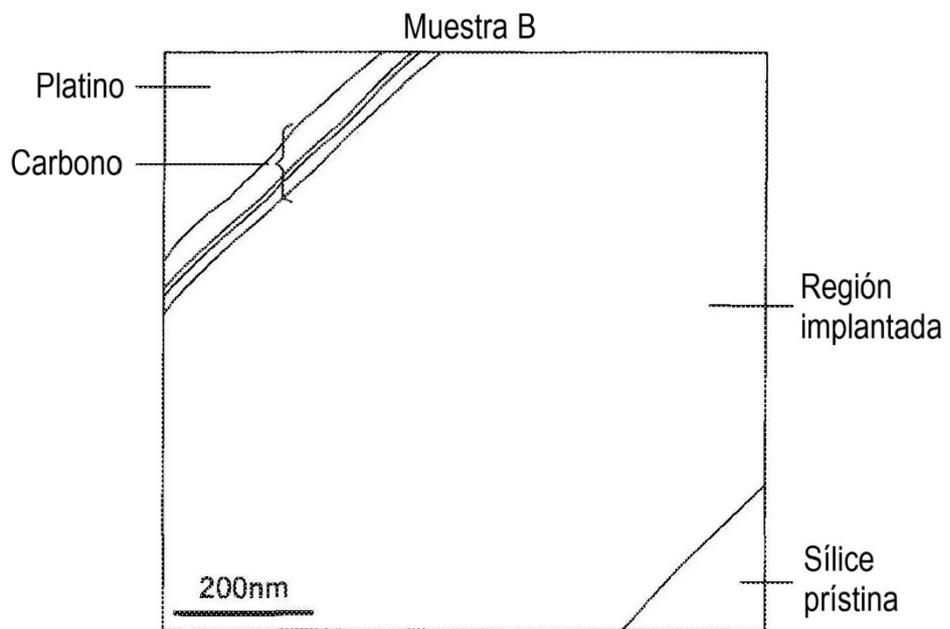


FIG. 2B

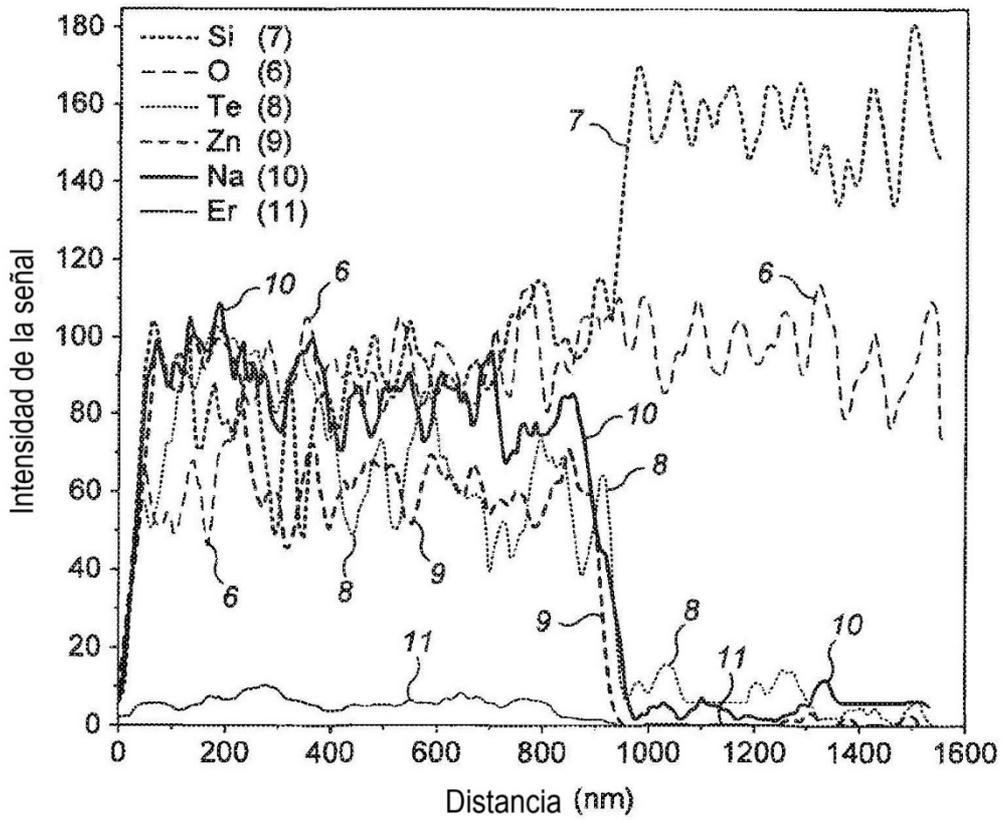
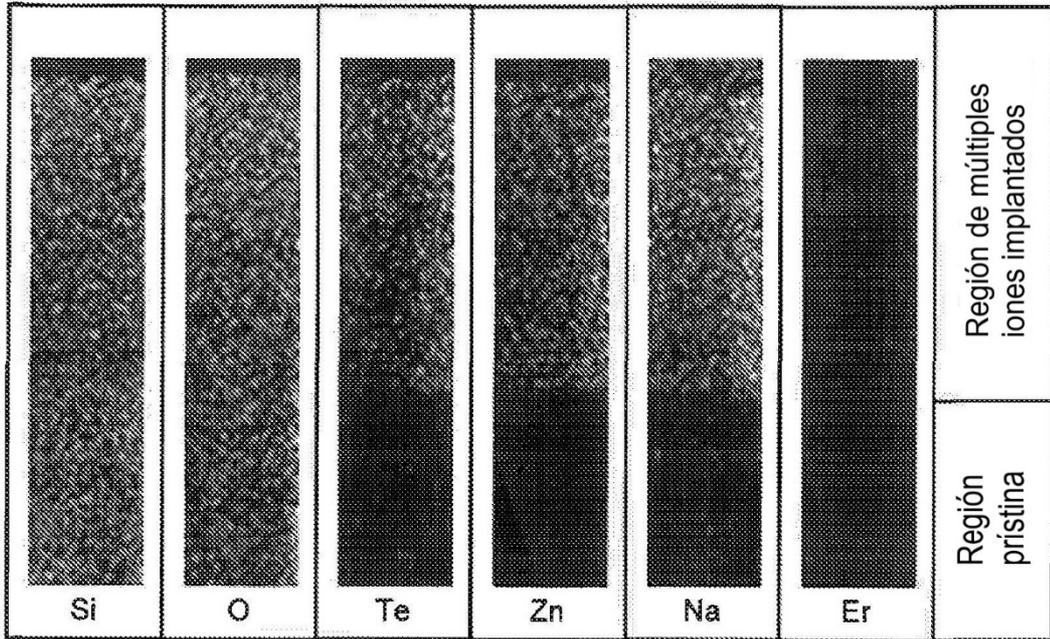


FIG. 3

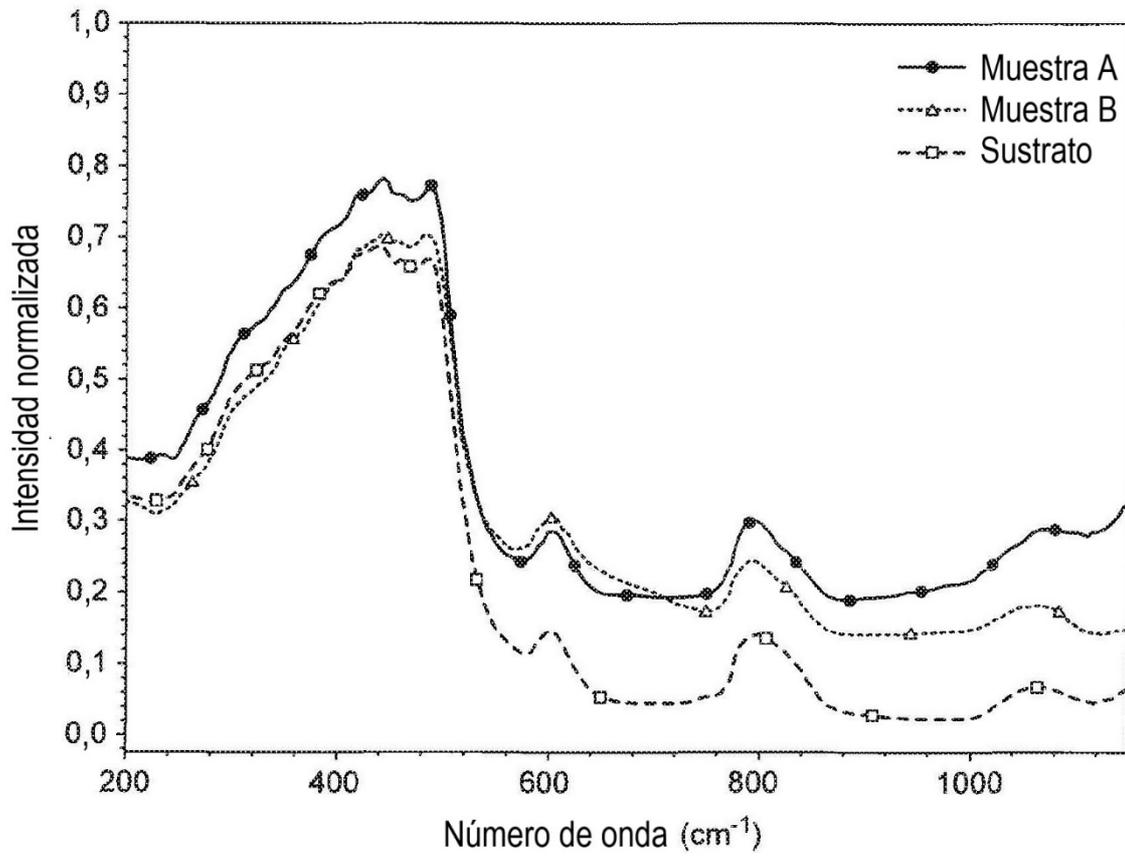


FIG. 4

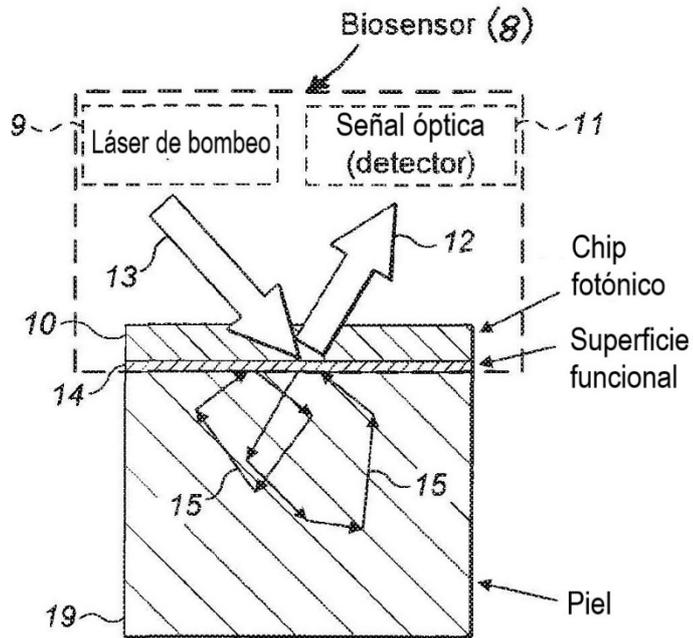


FIG. 5A

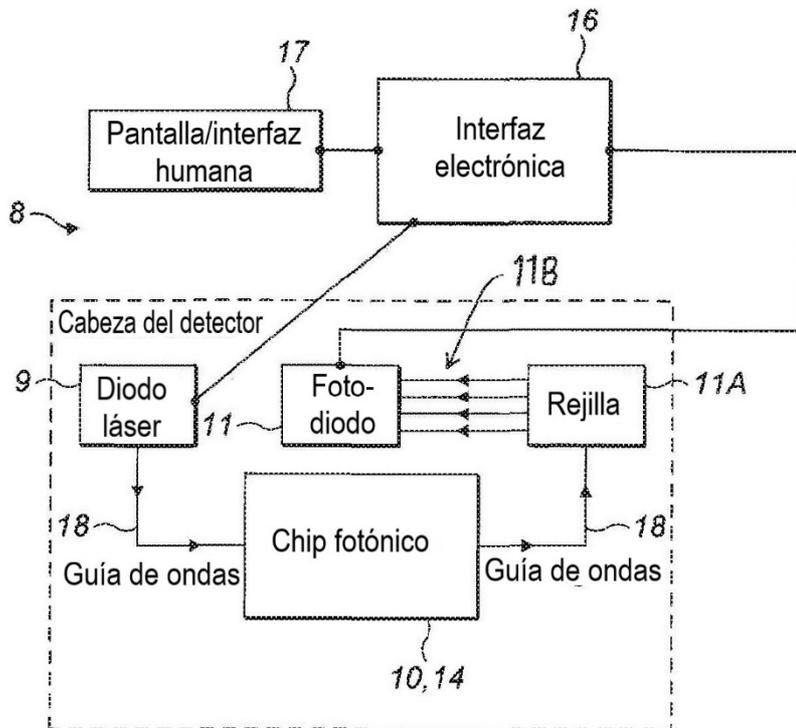


FIG. 5B

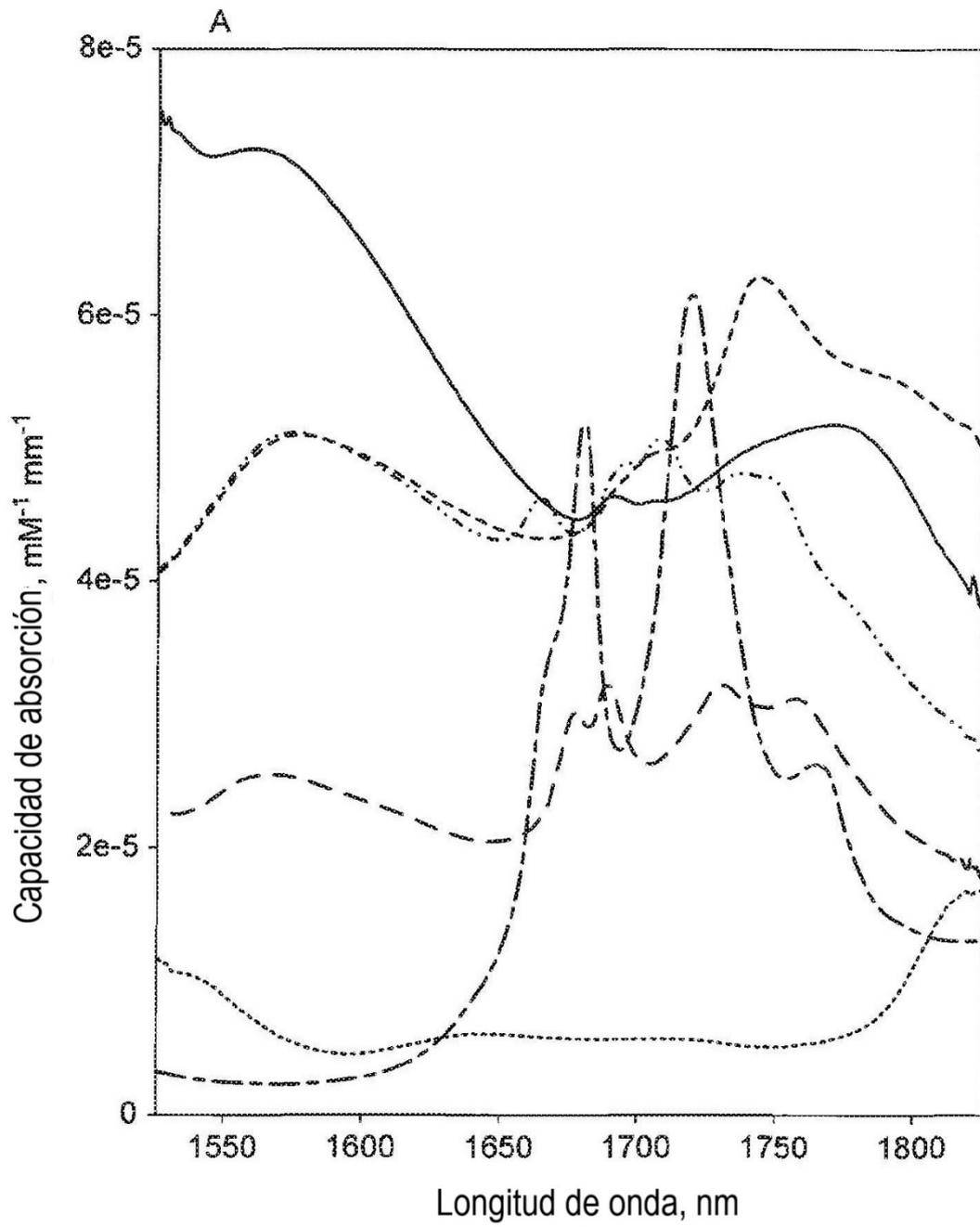


FIG. 6

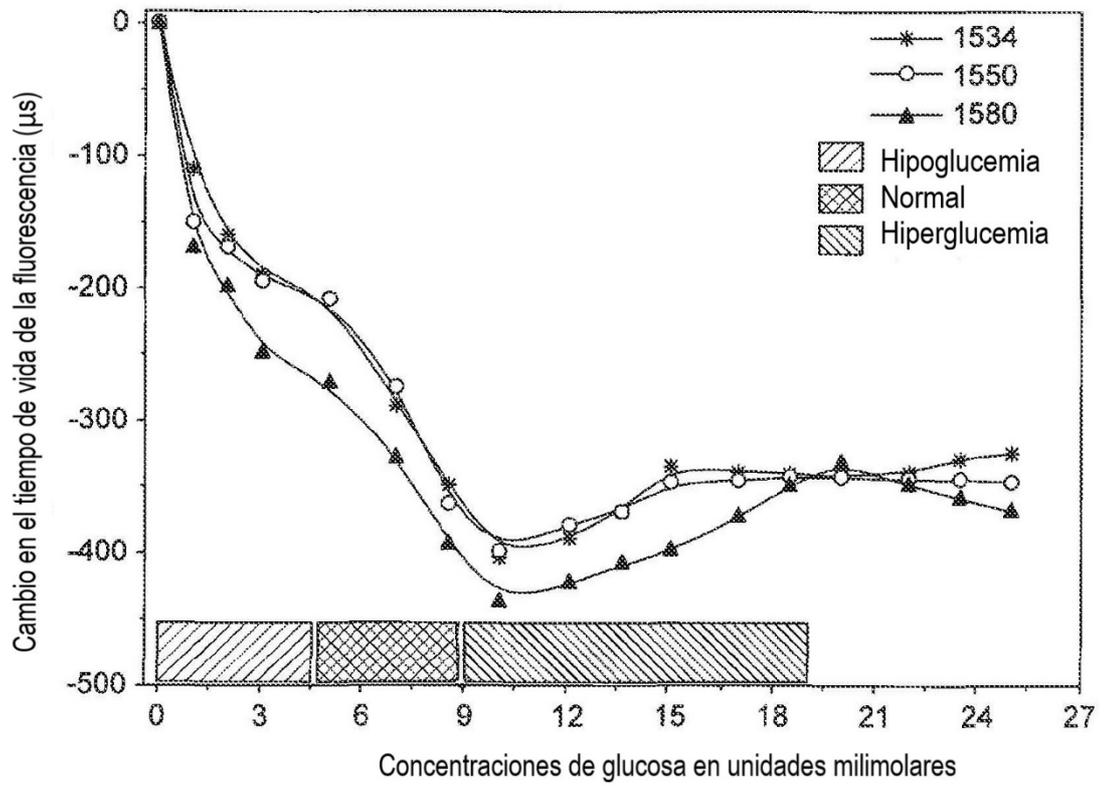


FIG. 7

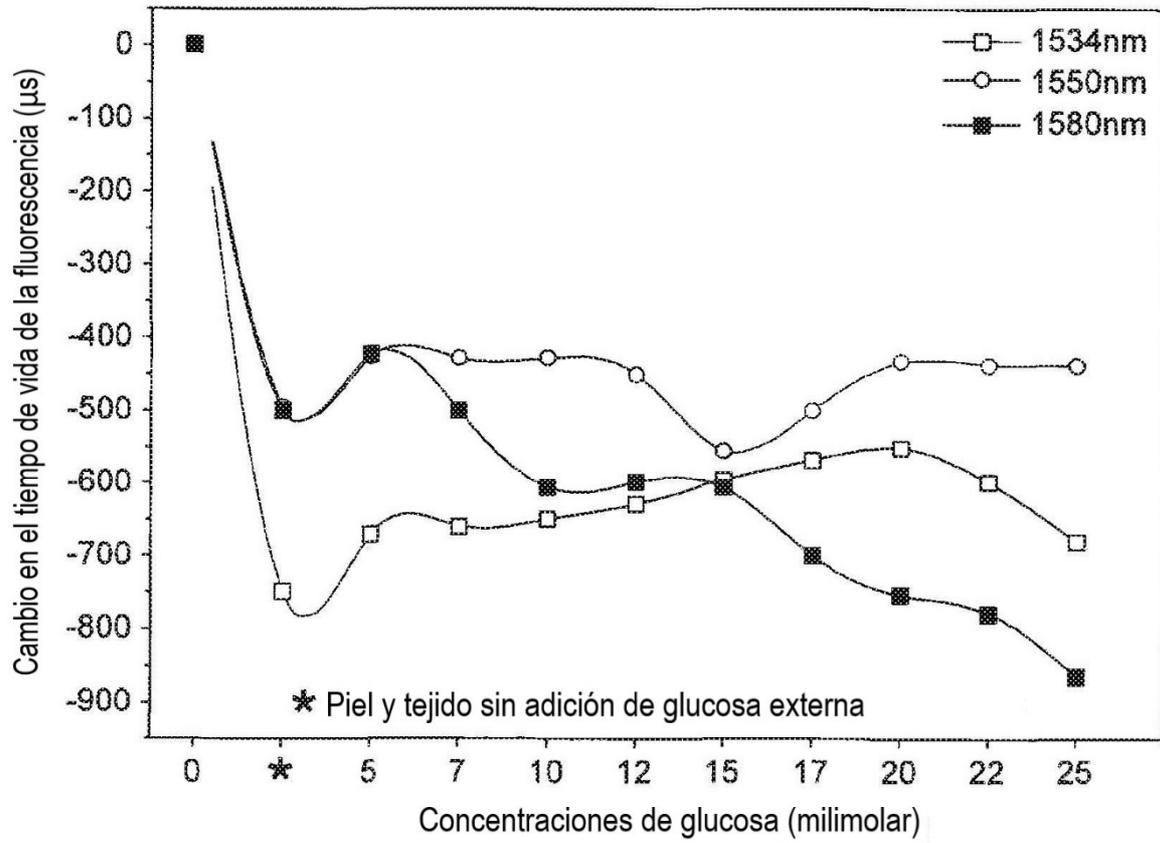


FIG. 8

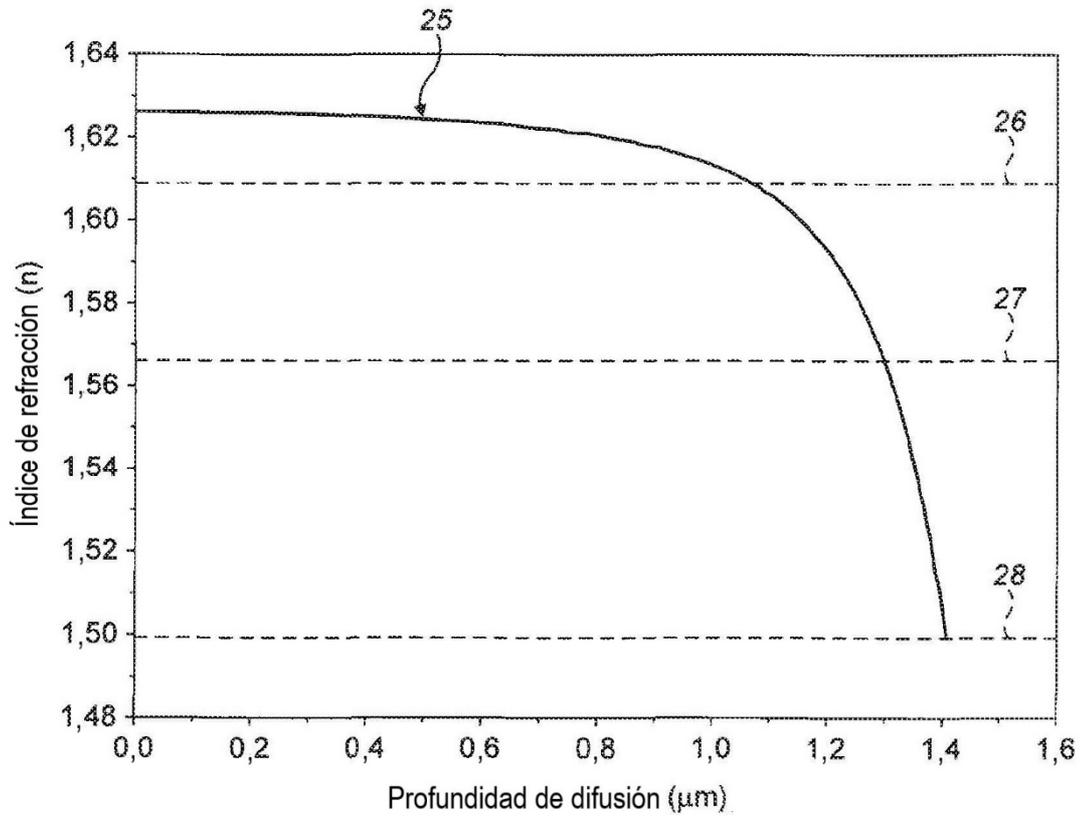


FIG. 9

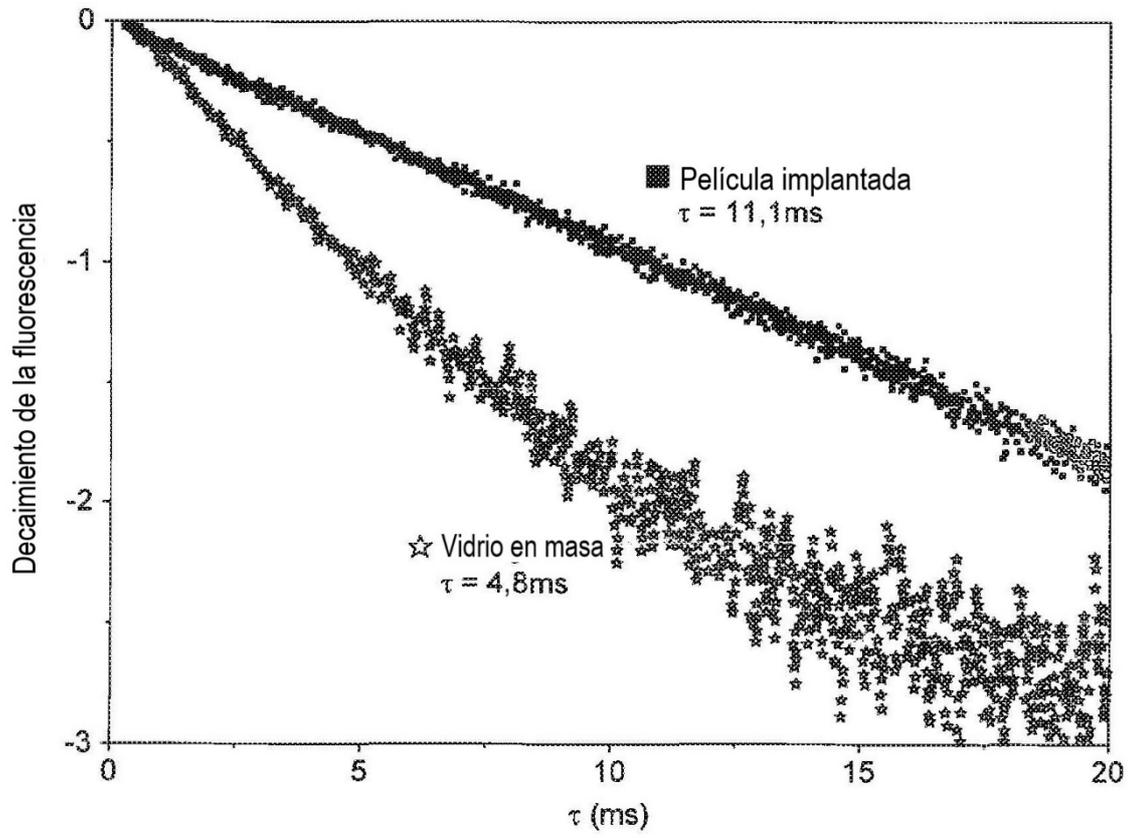


FIG. 10

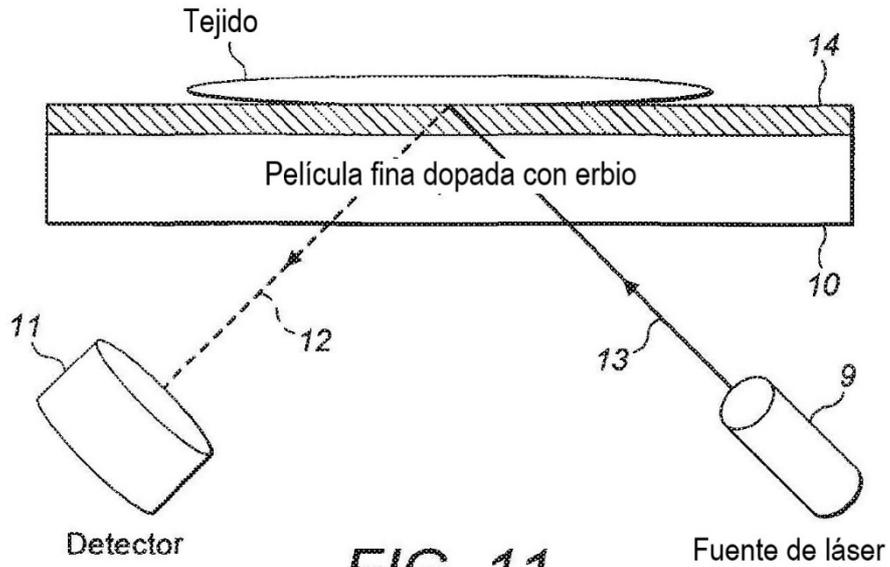


FIG. 11

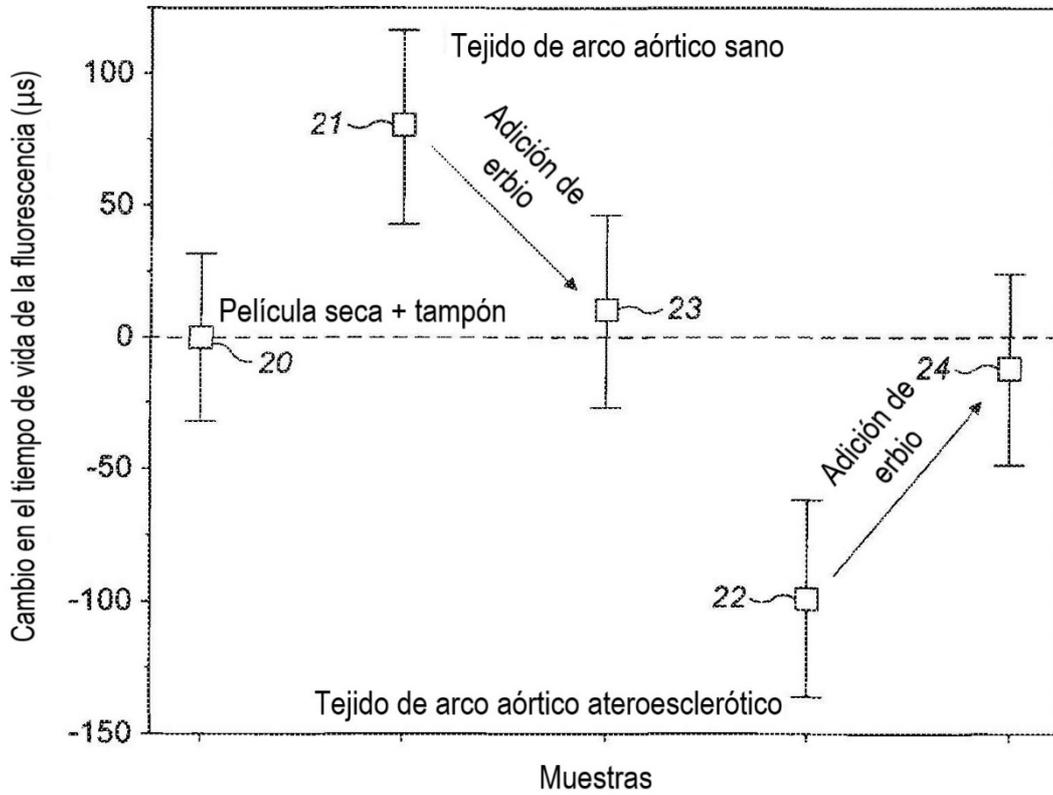


FIG. 12

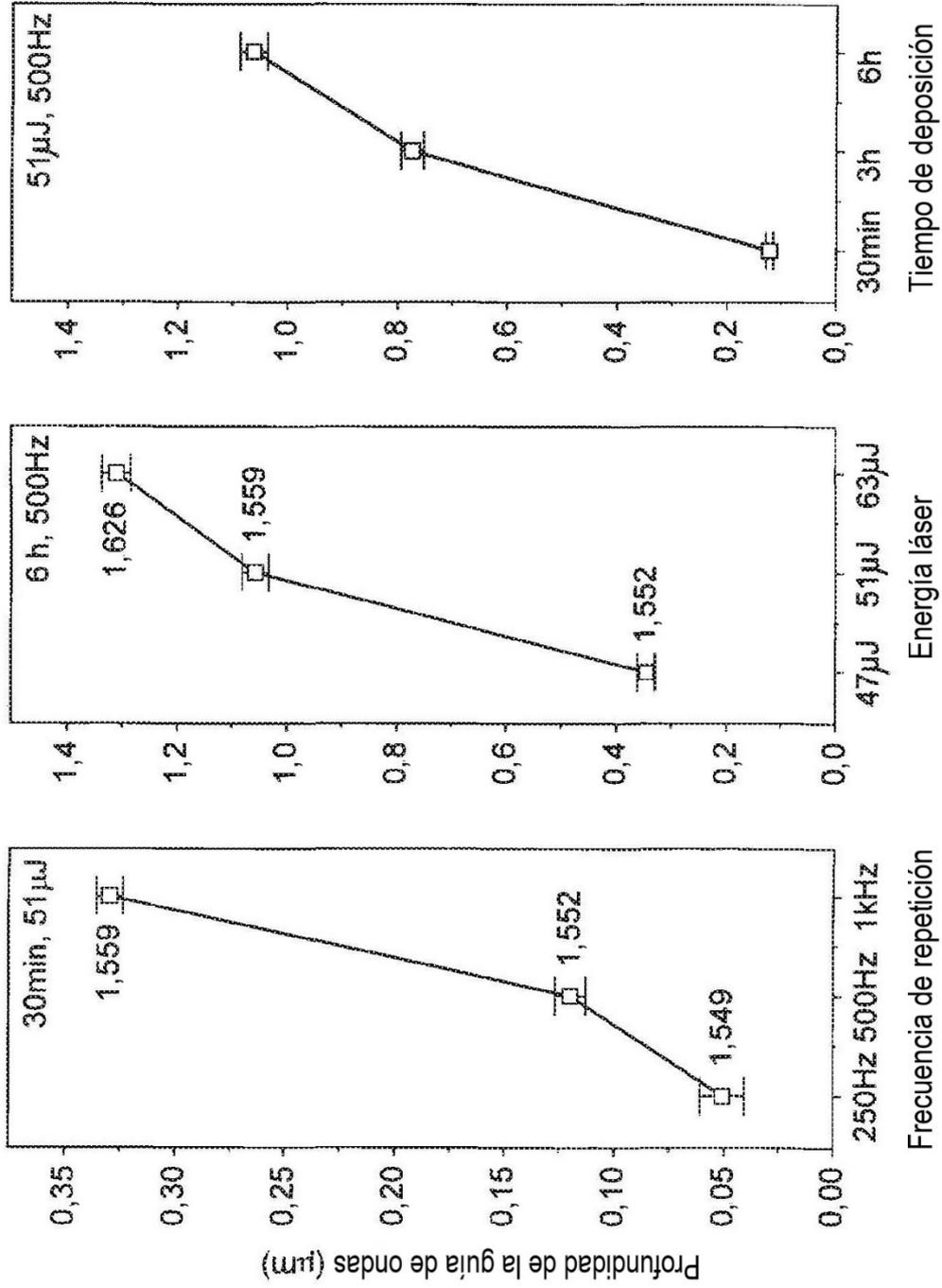


FIG. 13