



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 343 484**

51 Int. Cl.:  
**G01N 21/55** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07834916 .4**

96 Fecha de presentación : **15.11.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2087343**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.08.2009**

54 Título: **Dispositivo de detección dinámica basado en el efecto de resonancia de plasmón superficial.**

30 Prioridad: **15.11.2006 PT 10360606**

73 Titular/es: **Biosurfit, S.A.**  
**Edificio ICAT**  
**Campus da Faculdade de Ciencias**  
**1749-016 Lisboa, PT**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.08.2010**

72 Inventor/es: **Garcia da Fonseca, João**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.08.2010**

74 Agente: **Torner Lasalle, Elisabet**

**ES 2 343 484 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

Dispositivo de detección dinámica basado en el efecto de resonancia de plasmón superficial.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a sensores electroópticos basados en el efecto de resonancia de plasmón superficial (SPR, *Un plasmón superficial Resonance*), en particular a procedimientos y dispositivos usados para la detección de acontecimientos químicos y/o biológicos que comprenden los siguientes elementos: (1) un emisor (20) de radiación y un detector (30) de radiación; (2) una zona (41) de detección (DZ) que contiene una superficie (42) de detección (DS) que incorpora una capa conductora delgada construida para permitir que se produzca el efecto de SPR, para al menos un ángulo de incidencia y al menos una longitud de onda de la radiación incidente sobre la DS (42); (3) un sustrato (40) fluido que incluye canales (43) y al menos una DZ descrita en (2); (4) un mecanismo de control de fluido usado para suministrar un volumen de fluido predefinido a un depósito inicial en una DZ y desde allí a un depósito final; (5) una capa (80) de cristal líquido (LCL), colocada entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación, controlada mediante medios eléctricos, magnéticos u ópticos, y que se usa de tal manera que permite el control de las propiedades de la radiación y que conduce a una señal de SPR optimizada, mejorando de esta manera la precisión y sensibilidad del dispositivo de detección.

20 *Dispositivos de detección química/biológica*

Un dispositivo de detección química/biológica se compone de tres elementos principales: (A) elementos de reconocimiento, que pueden reconocer una sustancia química o biológica específica; (B) mecanismos de transducción, que pueden convertir los acontecimientos adversos de reconocimiento químicos/biológicos en información cuantitativa; (C) mecanismos fluidos, que pueden suministrar muestras de fluido a los elementos de reconocimiento de manera controlada.

(A) *Elemento de reconocimiento*

Los elementos de reconocimiento se basan normalmente en el principio de llave-cerradura, y comprenden regiones moleculares o combinaciones de las mismas que puede reconocer sustancias químicas o biológicas específicas, a partir de ahora denominadas el analito. Existen diferentes maneras de lograr este efecto, concretamente: enzimas, lecitinas o anticuerpos orientados o al azar. El rendimiento de este elemento de reconocimiento depende de varios parámetros, concretamente: (i) la sensibilidad (definida por el límite de detección); (ii) la especificidad (definida por el grado de sensibilidad para detectar otras sustancias presentes en el mismo medio del analito específico que va a detectarse); (iii) su estabilidad con el tiempo. En el caso de dispositivos de detección química/biológica usados para determinaciones que implican proteínas o enzimas, los elementos de reconocimiento habitualmente consisten en capas inmovilizadas que contienen anticuerpos específicos y orientados.

El elemento de reconocimiento químico/biológico puede obtenerse usando varios mecanismos diferentes, concretamente: (i) adsorción química a la superficie; (ii) encapsulación en una matriz polimérica; (iii) enlaces covalentes a un sustrato sólido. Aunque la elección del elemento de reconocimiento químico/biológico está más allá del alcance de la presente invención, la descripción presentada anteriormente sólo sirve como una revisión del marco de las posibilidades más comunes para construir este elemento de biodetección.

45 (B) *Mecanismo de transducción*

Existen varios mecanismos de transducción que pueden convertir acontecimientos químicos/biológicos en información cuantitativa para su posterior tratamiento y análisis, concretamente transductores electroquímicos, vibratorios, magnéticos y ópticos. La detección óptica del efecto de SPR es esencialmente una técnica de medición del índice de refracción cerca de una superficie eléctricamente conductora. La diferencia más significativa de la detección por SPR en comparación con refractómetros convencionales se refiere a la escala de medición y al procedimiento de detección: en las técnicas convencionales, todo el volumen de fluido contribuye a la respuesta óptica que da como resultado una medida promedio del índice de refracción; al contrario, en el caso de la detección por SPR, sólo es relevante el volumen del fluido próximo a una superficie conductora. Además, en este último caso, la medida corresponde a un promedio ponderado del índice de refracción con un peso decreciente cuando se mueve alejándose de la capa conductora en la que se produce el efecto de SPR.

60 *Efecto de SPR*

El efecto de SPR es un fenómeno óptico que resulta de la oscilación de la densidad de carga local en una interfase entre dos medios de diferentes propiedades dieléctricas. En particular, el efecto de SPR se produce en la interfase entre un medio dieléctrico y uno metálico (véase la referencia 1). En este caso, la onda de plasmón superficial es una onda electromagnética con polarización TM (el vector magnético de la onda es perpendicular a la dirección de propagación y paralelo al plano interfacial). La constante de propagación de SPR  $\beta$  puede describirse mediante la ecuación (1):

$$\beta = \lambda \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1)$$

en la que  $\lambda$  es la longitud de onda incidente,  $\epsilon_m$  es la constante dieléctrica del metal ( $\epsilon_m = \epsilon_{mr} + i\epsilon_{mi}$ ) y  $\epsilon_d$  es la constante dieléctrica del medio dieléctrico. La SPR sólo se produce si  $\epsilon_{mi} < 0$  y  $|\epsilon_{mi}| < \epsilon_d$ . En este caso, el efecto de SPR se propagará en la interfase entre los dos medios y disminuirá exponencialmente desde la interfase hacia la masa de cada medio. Por otro lado, el efecto de SPR sólo es detectable para películas metálicas con espesores en el intervalo de decenas a centenas de nanómetros (en el caso de una película de oro, el efecto de SPR normalmente se produce con espesores de entre 25 nm y 150 nm).

Debido a estos hechos y según la ecuación (1), la constante de propagación  $\beta$  de la SPR es extremadamente sensible a variaciones del índice de refracción en el medio dieléctrico cerca de la interfase. Como consecuencia, el efecto de SPR puede aprovecharse para aplicaciones de detección, por ejemplo la inmovilización de un determinado material biológico (proteína, enzima, etc.) cerca de la interfase dará como resultado una variación local (en la escala de longitud de los nanómetros) del índice de refracción (puesto que normalmente el índice de refracción de disoluciones a base de agua es de aproximadamente 1,33 y el índice de refracción de compuestos biológicos es próximo a 1,54). Este cambio en el índice de refracción induce un cambio en la constante de propagación del plasmón superficial que puede detectarse con precisión mediante medios ópticos, según se describe en las siguientes secciones.

#### *Configuraciones de SPR*

Existen tres métodos básicos para detectar el efecto de SPR:

- (i) Medir la intensidad de radiación reflejada desde la superficie de detección como una función del ángulo de incidencia de la radiación; normalmente, para una longitud de onda dada, el efecto de SPR se detecta claramente a un ángulo de incidencia específico en el que la reflexión es mínima;
- (ii) Medir la intensidad de radiación reflejada desde la superficie de detección como una función de la longitud de onda de la radiación; normalmente, para un ángulo de incidencia fijo, el efecto de SPR se detecta claramente a una longitud de onda de la radiación específica en la que la reflexión es mínima;
- (iii) Medir la fase de radiación reflejada desde la superficie de detección como una función del ángulo de incidencia o de la longitud de onda de la radiación. En este caso, el efecto de SPR se detecta claramente a un ángulo de incidencia o longitud de onda de la radiación específicos en los que la variación de fase de la radiación es máxima.

Pueden usarse diferentes configuraciones ópticas con el fin de detectar apropiadamente el efecto de SPR (véase la referencia 2), usando normalmente un sistema óptico que tanto crea un plasmón superficial (usando un elemento de iluminación, por ejemplo un láser o diodo emisor de radiación o cualquier otra fuente de radiación apropiada) y también detecta el efecto de SPR (usando un elemento de medición óptica, por ejemplo CCD, CMOS, fotodiodo, o cualquier otro elemento apropiado).

El efecto de SPR sólo se produce si la componente del vector de la onda incidente que es paralela al plano interfacial coincide con la componente de una onda de plasmón superficial. Sólo existirá esta condición específica si existe algún mecanismo de acoplamiento proporcionado normalmente por (i) un prisma; (ii) un guíaondas; (iii) una rejilla de difracción. El experto en la técnica puede entender rápidamente estas técnicas de acoplamiento mediante la lectura de bibliografía técnica, concretamente mediante la lectura de la referencia 1.

#### (C) *Mecanismo fluido*

Pueden usarse diferentes mecanismos para el control de fluido, concretamente bombas de fluido convencionales que usan bombas externas y tubos, control electrónico de presión, control acústico/piezoeléctrico, electrocinética y control centrífugo. La optimización de este elemento de dispositivo de detección química/biológica está más allá del alcance de la presente invención.

#### *Capas de cristal líquido*

Las fases de cristal líquido (LC, *liquid crystal*), o mesofases, son fases intermedias entre los líquidos y los cristales, presentando propiedades de orientación (véase la referencia 3). Un tipo específico de LC, denominado LC nemático, presenta un orden en la orientación de sus moléculas combinado con un desorden en la posición de sus moléculas. Es posible definir una dirección de orientación promedio de las moléculas de LC que se propagan a través de largas distancias, estando definida esta dirección, por ejemplo, por una determinada superficie de alineación. Además, para determinadas moléculas de LC, es posible usar un campo eléctrico externo que también induce una orientación específica. En este caso, la orientación de las moléculas de LC depende de la competencia entre las propiedades de la superficie de anclaje (inducidas por la superficie de alineación) y las fuerzas de campo eléctrico de acoplamiento (véase la referencia 4).

## ES 2 343 484 T3

Las capas de LC presentan dos propiedades relevantes:

- (1) una anisotropía óptica que da como resultado un desajuste en la propagación de la radiación a través de la capa de LC, en cuanto a la polarización de la radiación paralela o perpendicular a la orientación promedio de las moléculas de LC;
- (2) un cambio gradual de la orientación promedio de las moléculas de LC a lo largo de una capa de LC induce cambios en las propiedades de polarización de la radiación que pasa a través de la capa de LC. En particular, si las moléculas de LC presentan un paso de torsión a lo largo de la capa de LC que es mucho mayor que la longitud de onda de la radiación, entonces el sistema se comportará como un guíaondas (en el que la polarización de la radiación sigue la rotación de las moléculas de LC). Este es el principio básico de los dispositivos de LC habituales según la invención de M. Schadt (véase la referencia 5). Ahora bien, si el paso de torsión de la capa de LC es del mismo orden que la longitud de onda de la radiación, entonces se producirán rotaciones menores de la polarización de la radiación, y/o reflexiones y/o una polarización inversa de las rotaciones de la radiación, dependiendo de la razón longitud de onda/paso.

Existen diferentes tipos de capas de LC con uso potencial para sistemas ópticos. El tipo más común de capa de LC, denominada LC nemático con torsión, se basa en la orientación con torsión continua de la dirección promedio de las moléculas de LC a lo largo de la capa de LC. La capa de LC se caracteriza porque un paso de torsión depende de varios parámetros, concretamente la concentración de un dopante quiral que induce la torsión. Cuando se somete a un campo eléctrico externo, las moléculas de LC tienden a alinearse a lo largo del campo y la torsión se destruye entonces. Controlando el campo eléctrico aplicado es posible ajustar de manera apropiada el paso de torsión de la capa de LC. Para sistemas en los que existe una necesidad de mantener la calidad óptica (por ejemplo, sin difusión de la radiación) algunos tipos de capas de LC ya no son adecuados (concretamente, capas de PDL, u otras capas de LC con difusión de la radiación significativa).

### *Dispositivos de detección por SPR convencionales*

Los dispositivos de detección por SPR convencionales incluyen un sistema óptico con propiedades predefinidas y fijas, concretamente en cuanto a los ángulos de incidencia, la polarización y la longitud de onda.

La figura 1A es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR convencional según la técnica anterior, en la configuración prismática. Un emisor (20) de radiación produce un haz (101) de radiación enfocado a través de un prisma (90) en una superficie (42) de detección DS situada en una zona (41) de detección DZ. La DS incluye una capa conductora delgada en las proximidades con el fluido. La radiación (102) reflejada se dirige al detector (30) de radiación. El análisis de la señal de radiación observada en el detector (30) de radiación se usa para la medición cuantitativa de la concentración de sustancias o de acontecimientos químicos y/o biológicos que se producen en las proximidades de la DS (42). En esta configuración, el dispositivo presenta propiedades ópticas fijas y predefinidas, concretamente en cuanto a las longitudes de onda, la fase y los ángulos de incidencia de la radiación.

La figura 1B es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR convencional según la técnica anterior, en la configuración de acoplamiento con rejilla. Un emisor (20) de radiación produce un haz (101) de radiación enfocado a través de un prisma (90) en una superficie (42) de detección DS situada en una zona (41) de detección DZ. La DS incluye una capa conductora delgada que se comporta como una rejilla de difracción. La radiación (102) reflejada se dirige al detector (30) de radiación. El análisis de la señal de radiación observada en el detector (30) de radiación se usa para la medición cuantitativa de la concentración de sustancias o de acontecimientos químicos y/o biológicos que se producen en las proximidades de la DS (42). De nuevo, en esta configuración, el dispositivo presenta propiedades ópticas fijas y predefinidas, concretamente en cuanto a las longitudes de onda, la fase y los ángulos de incidencia de la radiación.

En esta configuración, el emisor (20) de radiación tiene propiedades ópticas fijas y predefinidas, concretamente en cuanto a:

- los espectros de longitud de onda, este parámetro puede predefinirse usando un láser para el emisor (20) de radiación, o usando un emisor (20) de radiación con un espectro de emisión continuo, tal como un LED o cualquier otra fuente de espectros continuos;
- el intervalo de ángulos incidentes de la radiación incidente sobre la DS (42), definido por los elementos ópticos usados, concretamente por la configuración de lentes ópticas el emisor (20) de radiación;
- la polarización de la radiación incidente, normalmente lineal o circular fija, cuando se usan láseres en el emisor (20) de radiación, o radiación no polarizada cuando se usan LED;
- la fase de la radiación incidente. Si se usa un láser para el emisor de radiación, normalmente la radiación es coherente en el cono de radiación incidente sobre la DS (42);
- el punto focal de la radiación incidente sobre la DS (42);

## ES 2 343 484 T3

- el índice de refracción del material usado como sustrato en contacto con la DS (42);
- el índice de refracción del fluido habitual usado para realizar las mediciones por SPR.

5 Estos diferentes parámetros se predefinen y se fijan en los dispositivos de detección por SPR convencionales, y este hecho presenta una limitación con respecto a su uso potencial. En particular, es un factor limitante en cuanto al intervalo de detección del índice de refracción del fluido en contacto con la DS (42). Además, las limitaciones, asociadas con el ruido de detección y la resolución angular del sensor (30) detector de radiación (es decir, la relación entre la apertura angular de la radiación incidente y el número de elementos de detección en el sensor), también son un factor limitante de la resolución y sensibilidad de los dispositivos de detección por SPR convencionales.

Estos hechos limitan tanto la sensibilidad como el intervalo de aplicación de la detección por SPR. En particular, los dispositivos de detección por SPR convencionales presentan las siguientes limitaciones:

- 15 (1) dificultad para eliminar defectos ópticos (fatiga mecánica, difusión de la radiación, cambios del índice de refracción), que dan como resultado una señal de ruido mayor de lo deseado. Este hecho es particularmente relevante cuando se detectan pequeñas sustancias biológicas;
- 20 (2) dificultad para distinguir la señal del sensor de SPR debido a la unión receptor-analito y a cambios del índice de refracción de o bien el fluido o bien el sustrato de DS (42) debido a cambios de temperatura. Este hecho limita la extrapolación de mediciones de SPR en información cuantitativa referente a la concentración de analito presente cerca de la DS (42) (véase la referencia 6);
- 25 (3) dificultad para ajustar los parámetros de detección para una máxima sensibilidad en la DS (42) para el espesor deseado correspondiente al tamaño del analito;

Con el fin de superar estas limitaciones, se coloca una capa (80) de LC entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación, controlada mediante medios eléctricos, magnéticos u ópticos, con el fin de ajustar las propiedades de la radiación y de esta manera amplificar la señal de SPR observada en el detector (30) de radiación.

30 La patente US2003103208 se refiere a un sensor de SPR con una configuración prismática, usando una capa de LC colocada entre el emisor de radiación y una capa conductora que define la DS, con el fin de rotar la polarización de la radiación en 90°. En este caso, la radiación incidente sobre la DS puede tener dos estados de polarización: (i) polarización TM (paralela a la interfase) o (ii) polarización TE (perpendicular a la interfase). La patente mencionada anteriormente sólo se aplica a sensores de SPR en la configuración prismática y a dispositivos en los que la polarización de la radiación se rota en 90°.

La patente EP1157266 se refiere a un dispositivo de detección por SPR, que menciona que sería posible usar una capa de LC que se comporta como un polarizador controlable. La patente a la que se hizo referencia se aplica a dispositivos de sensor de SPR basados en elementos ópticos reflexivos-difractivos. Además, en la patente mencionada anteriormente, no hay ninguna mención sobre la posible realización de la capa de LC a la que se hizo referencia.

Las patentes EP1068511 y US2003206290 se refieren a un dispositivo de detección por SPR en los que se usan capas de LC como diafragmas controlables mediante medios eléctricos, con el fin de seleccionar el periodo de tiempo y la colocación del haz de radiación necesario para el efecto de SPR.

Se incluyen en el presente documento las siguientes publicaciones para referencia:

- 50 1. **Homola, J.** *Et al. Sensors and Actuators* 54, 3-15 (1999);
2. **Homola, J.** *Anal Bioanal Chem* 377, 528-539 (2003);
3. P.G. de **Gennes, J. Prost**, *The Physics of Liquid Crystals* (2ª ed. Clarendon, Oxford 1993)
- 55 4. **Fonseca, JG**, Tesis Doctoral, Estrasburgo 2001
5. **Helfrich, W., Schadt, M.** patente CH19710005260
6. **G. Vertogen, W. H. de Jeu**: *Thermotropic Liquid Crystals: Fundamentals* (EPlinger-Verlag, Berlín, 1988)
- 60 7. **Hecht, E.** *Optics*, Addison Wesley Longman (1998).
8. **Gordon D. Love.** *Proc. Soc. Foto.-Opt. Instrum. Eng.* 2566: 43-47 (1995).
- 65 9. **H. Ren Et al**, *Appl. Phys. Lett.* 84, 4789 (2004).
10. **Bom, M. y Wolf, E.** *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference, and Diffraction of Light*, Pergamon Press (1989).

El artículo "Differential ellipsometric surface plasmon resonance sensors with liquid crystal polarization modulators"; APPLIED PHYSICS LETTERS; Hooper I; VOL 85, N°. 15, páginas 3017-3019 da a conocer un sensor de resonancia de plasmón superficial elipsométrico diferencial con un modulador de polarización de cristales líquido para la detección química y biológica. El sensor usa modulación de cristales líquidos para excitar de manera elipsométrica una SPR mediante luz polarizada TM en una interfase de metal/dieléctrica en la que luz linealmente polarizada que consiste tanto en polarizaciones TM como TE incide sobre el sistema de SPR de modo que la componente polariza TM experimenta un cambio de fase, mientras que la componente polarizada TE esencialmente no. Las componentes ortogonales se desplazan así en fase entre sí de modo que la luz reflejada desde el sistema de SPR llega a polarizarse de manera elíptica como una función del índice de refracción del medio dieléctrico que lo delimita. En una realización, la polarización de la luz incidente sobre un sistema de SPR se hace oscilar de manera sinusoidal, y la señal reflejada se monitoriza usando un detector sensible a la fase con la referencia fijada en la frecuencia de oscilación. La celda de cristal líquido (LC) está impulsada por bajo voltaje, tiene bajo consumo de potencia, es económica, pequeña y ligera y comprende una celda de LC nemático alineado, híbrido, quiral en la que la torsión del LC produce una rotación en el plano de polarización de la luz transmitida a través de la celda de modo que la cantidad de rotación de la polarización está controlada por el voltaje aplicado. A modo de demostración, se usa una celda de flujo de gas que tiene un canal de flujo en el sistema de SPR de Kretschmann.

### Objeto de la presente invención

Se ha llegado a la conclusión de que sería relevante ajustar de manera dinámica algunos parámetros significativos para el efecto de SPR, con el fin de optimizar el rendimiento del dispositivo de detección por SPR respectivo. En este marco, se encuentra que las capas de LC son apropiadas y ventajosas, puesto que es posible ajustar las propiedades de la radiación (radiación reflejada o radiación transmitida) controlando una capa de LC usando medios eléctricos u ópticos sencillos. Puede explorarse este ajuste de las propiedades de la radiación, cuando se acoplan a un dispositivo de detección basado en el efecto de SPR, con el fin de potenciar su rendimiento global.

La presente invención comprende un dispositivo de detección dinámica según la reivindicación 1. La DS (42) se construye de tal manera que permite que se produzca el efecto de SPR, que se usa para la detección de acontecimientos químicos y/o biológicos. El dispositivo de detección también incluye una capa (80) de LC colocada entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación, controlada por medios eléctricos u ópticos. La capa (80) de LC se controla de tal manera que permite el ajuste controlado de las propiedades de la radiación con el fin de optimizar la precisión y sensibilidad del dispositivo de detección. El sensor (10) de SPR puede detectar:

- (i) la presencia de una sustancia específica, y/o
- (ii) que se ha producido un acontecimiento químico y/o biológico específico en una de las zonas de detección del sustrato fluido,

La disposición del emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación con respecto al sustrato (40) fluido se fija de tal manera que el haz de radiación incidente sobre la DS (42) contiene al menos un ángulo incidente para el que existe un acoplamiento en la capa delgada eléctricamente conductora que da como resultado el efecto de SPR. Esta configuración se ve influida por varias propiedades y parámetros, en particular:

- La longitud de onda de la radiación incidente sobre la DS (42);
- El índice de refracción, el coeficiente de extinción y el espesor de la capa eléctricamente conductora;
- El ángulo de incidencia;
- La polarización de la radiación;
- El índice de refracción y el coeficiente de extinción del fluido presente en la DZ (41).

En este sentido, y habiendo fijado todos los parámetros, es posible observar un cambio en el patrón de radiación del sensor (10) de SPR y a partir de esta información, cuantificar el cambio en el índice de refracción en las proximidades de la DS (42). Entonces se usa esta determinación con el fin de cuantificar la inmovilización en la superficie de una determinada sustancia o la reacción de dos tipos de moléculas en las proximidades de la DS (42).

Las realizaciones de la presente invención permiten el ajuste apropiado de los diferentes parámetros mencionados anteriormente, de manera dinámica y durante el procedimiento de detección, usando una capa (80) de LC, colocada en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación. Las diferentes realizaciones descritas en las siguientes secciones corresponden a diferentes soluciones para los problemas existentes de los dispositivos de detección por SPR convencionales.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1A es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR convencional según la técnica anterior, en la configuración prismática.

## ES 2 343 484 T3

La figura 1B es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR convencional según la técnica anterior, en la configuración de acoplamiento de rejilla.

5 La figura 2A es una ilustración esquemática de la orientación promedio de las moléculas en una capa de LC nemático con torsión. En la condición de reposo, las moléculas presentan una rotación de  $90^\circ$  a lo largo de la capa de LC (izquierda) y cuando se someten a un campo eléctrico externo por encima de un determinado umbral ( $V_{th}$ ) se minimiza la torsión y las moléculas llegan a estar alineadas a lo largo del campo eléctrico (derecha).

10 La figura 2B es una ilustración esquemática del comportamiento del ángulo de torsión total de la capa de LC ilustrada en la figura 2A como una función del voltaje aplicado, para tensiones suficientemente altas, el ángulo de torsión tiende a cero.

15 La figura 3A es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR en la configuración de acoplamiento de rejilla y usando una capa de LC para controlar la polarización de la radiación incidente en la superficie de detección.

20 La figura 3B es una ilustración esquemática del dispositivo descrito en la figura 3A, tras la adquisición de dos señales (S1 y S2) con diferentes polarizaciones, siendo posible minimizar el ruido de adquisición dividiendo las dos señales y obtener una señal final (SSPR) con una relación señal a ruido optimizada.

La figura 4A es una ilustración esquemática del comportamiento del efecto de SPR en cuanto a la intensidad de radiación (línea discontinua) y la fase relativa de la radiación (línea continua) ambas como una función del ángulo de incidencia sobre la superficie de detección.

25 La figura 4B es una ilustración esquemática de la orientación promedio de las moléculas en una capa de LC nemático uniforme. En la condición de reposo, la orientación promedio de las moléculas es uniforme y está alineada a lo largo de la dirección de la superficie de alineación (izquierda), y cuando se someten a un campo eléctrico aplicado externamente por encima de un determinado umbral ( $V_{th}$ ) las moléculas llegan a estar alineadas con el campo eléctrico.

30 La figura 4C es una ilustración esquemática del comportamiento de la diferencia de fase total (desfase entre las direcciones de polarización ordinaria y extraordinaria de la radiación con respecto a la dirección de orientación promedio de LC) de la capa de LC descrita en la figura 4B como una función del voltaje aplicado. Para voltajes suficientemente altos, la diferencia de fase tiende a cero.

35 La figura 5A es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR en la configuración de acoplamiento de rejilla, en el que se usa una capa de LC para controlar el desfase de la radiación incidente sobre la superficie de detección.

40 La figura 5B es una ilustración esquemática de la evolución del desfase de la radiación como una función del ángulo de incidencia sobre la superficie de detección para el dispositivo de detección descrito en la figura 5A.

La figura 5C es una ilustración esquemática de la señal de SPR detectada por el detector de radiación de un sensor de SPR convencional (línea discontinua) y el sensor para el dispositivo descrito en la figura 5A (línea continua)

45 La figura 5D es una ilustración esquemática de la evolución de la distancia entre los dos ángulos en el que se produce el mínimo de intensidad de la señal óptica de SPR ( $W$ ), como una función del desfase de la radiación para el dispositivo de detección descrito en la figura 5A, y en el la que la capa (80) de LC induce un desfase perpendicular a la dirección de incidencia.

50 La figura 6 es una ilustración esquemática del subsistema óptico de emisión de radiación para un dispositivo de detección por SPR, en el que una lente de colimación está ubicada tras el emisor, seguida por un polarizador y una capa de LC colocada en la trayectoria de la radiación colimada, y finalmente se usa una lente de enfoque para dirigir la radiación a la superficie de detección.

55 La figura 7A es una ilustración esquemática del índice de refracción resultante de la capa de LC descrita en la figura 4B como una función del voltaje aplicado.

60 La figura 7B es una ilustración esquemática de la orientación promedio de las moléculas dentro de las capas de LC. En la condición de reposo, ( $V < V_{TH}$ ) las moléculas de LC presentan una orientación promedio uniforme (izquierda). Dependiendo del voltaje aplicado (para  $V > V_{TH}$ ), es posible crear patrones espaciales de índice de refracción.

La figura 7C es una ilustración esquemática de la distancia focal equivalente de la capa de LC ilustrada en la figura 7B, como una función del voltaje aplicado.

65 La figura 7D es una ilustración esquemática del subsistema óptico de emisión de radiación para un dispositivo de detección por SPR según la presente invención, en el que se usa un grupo de dos capas de LC para que actúen como lente de enfoque de amplificación variable con distancia focal constante.

La figura 8 es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección, en el que se coloca un grupo de dos capas de LC entre la superficie de detección y el detector de radiación con el fin de controlar la señal de amplificación de la radiación.

## 5 Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención incluye un sensor (10) de SPR usado para detectar acontecimientos químicos y/o biológicos, que comprende un emisor (20) de radiación y un detector (30) de radiación usado para detectar acontecimientos que se producen en las proximidades de una DS (42) de una DZ (41) de un sustrato (40) fluido, que comprende canales (43), y al menos una DZ (41). La DZ (41) contiene una DS (42), que incluye una capa delgada eléctricamente conductora, construida de tal manera que permite que se produzca el efecto de SPR. El sensor (10) de SPR incluye una capa (80) de LC, ubicada en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación, y controlada mediante medios eléctricos u ópticos, lo que permite el ajuste apropiado de las propiedades de la radiación, para optimizar la señal óptica de SPR. El ajuste apropiado de las propiedades de la radiación usando la capa (80) de LC conduce a una precisión y sensibilidad aumentadas del dispositivo de detección por SPR.

La presente invención comprende un sensor (10) de SPR que puede detectar acontecimientos químicos y/o biológicos que se producen en las proximidades de una DS (42), que comprende un sustrato (40) fluido y un sistema óptico, en el que el sistema óptico comprende un emisor (20) de radiación y un detector (30) de radiación y una capa de LC ubicada entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación. La capa (80) de LC puede ajustar las propiedades de la radiación. El sensor (10) de SPR puede detectar:

- (i) la presencia de una sustancia específica, y/o
- (ii) que se ha producido un acontecimiento químico y/o biológico específico en una de las zonas de detección.

Las realizaciones de la presente invención permiten el ajuste apropiado de los diferentes parámetros mencionados anteriormente, de manera dinámica y durante el procedimiento de detección, usando una capa (80) de LC, ubicada en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación. Las diferentes realizaciones descritas en lo que sigue corresponden a diferentes soluciones para los problemas existentes de los dispositivos de detección por SPR convencionales.

### Primer ejemplo

El efecto de SPR se produce en la componente de la polarización de la radiación que es paralela a la interfase (polarización TM) entre una capa delgada eléctricamente conductora y una capa dieléctrica. Los sensores de SPR convencionales normalmente maximizan la intensidad de la radiación incidente en esta polarización con el fin de maximizar la señal de SPR. La ausencia de una señal de referencia se considera problemático para la detección. En particular, la falta de señal de referencia da como resultado un alto ruido de señal (mayor de lo deseado), debido a diferentes fuentes, concretamente la falta de estabilidad y uniformidad de la fuente de radiación y del sustrato usados para la detección. Una manera sencilla de eliminar este problema consiste en rotar, de manera controlada y sistemática, la polarización de la radiación incidente. Puesto que el ruido es, en un primer análisis, independiente de la polarización de la radiación, entonces puede eliminarse una parte significativa del ruido de adquisición, adquiriendo dos señales de diferentes polarizaciones. Por ejemplo, adquiriendo dos señales con polarizaciones TE y TM y dividiendo (TM/TE) o restando (TM-TE) las dos señales, es posible aislar sólo la contribución del efecto de SPR. Este procedimiento puede realizarse usando una capa (80) de LC con propiedades bien conocidas.

La figura 2A es una ilustración esquemática de la orientación promedio de las moléculas en una capa de LC nemático con torsión. En la condición de reposo, ( $V < V_{th}$ ) la orientación promedio de las moléculas (83) de LC presenta una rotación de  $90^\circ$  a lo largo de la capa de LC (izquierda). Para tensiones aplicadas suficientemente altas ( $V > V_{th}$ ) las moléculas (83) de LC tienden a alinearse a lo largo del campo eléctrico y se minimiza gradualmente la torsión.

La figura 2B es una ilustración esquemática del comportamiento del ángulo de torsión total de la capa de LC descrita en la figura 2A, como una función del voltaje aplicado. Si el paso de torsión es suficientemente grande en comparación con la longitud de onda de la radiación electromagnética, entonces la capa (80) de LC se comporta como un guíaondas, de modo que la polarización de la radiación incidente se rota a lo largo de la rotación de LC.

Usando, por ejemplo, una capa (80) de LC con un paso de torsión de ocho veces su espesor, la capa (80) de LC mostrará entonces dos estados normales dependiendo del voltaje aplicado:

- (i) cuando el voltaje aplicado es suficientemente bajo (por ejemplo, para una orientación plana, el voltaje aplicado está por debajo del umbral de Frederiks, véase la referencia 3) entonces la capa (80) de LC induce una rotación de  $90^\circ$  de la polarización de la radiación incidente. La radiación incidente puede seleccionarse entonces y alinearse con el fin de tener una rotación de  $90^\circ$  de su polarización cuando pasa a través de la capa (80) de LC y entonces ser incidente sobre la DS (42) con las polarizaciones TM o TE mientras mantiene su intensidad relativa;

## ES 2 343 484 T3

- (ii) cuando se somete a un voltaje suficientemente alto, la rotación de las moléculas (83) de LC se destruye ya que tienden a alinearse con el campo eléctrico aplicado. En este caso, la radiación incidente sobre la DS (42) sólo tendrá una componente de polarización (por ejemplo, TM).

5 La presente descripción incluye un dispositivo que comprende:

- (i) un sustrato (40) fluido que incluye al menos una DZ (41) con una DS (42) construida de tal manera que permite que se produzca el efecto de SPR;
- 10 (ii) un grupo de emisor (20) de radiación y detector (30) de radiación dispuesto de tal manera que la radiación incidente sobre la DS (42) incluye un intervalo de ángulos en los que se produce el efecto de SPR;
- (iii) una capa (80) de LC ubicada en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación construida de tal manera que se comporta como un guíaondas, de modo que la polarización de radiación que pasa a través de la capa (80) de LC también rota, permitiendo que el sensor de SPR 10 obtenga la siguiente secuencia de acontecimientos.
- (1) *Control de la tensión de referencia.* El controlador (84) de LC aplica un voltaje suficientemente bajo sobre la capa (80) de LC de modo que las moléculas (83) de LC imponen una rotación de la polarización de radiación incidente sobre la DS (42).
- 20 (2) *Adquisición de la señal de referencia.* La primera señal S1 la adquiere el detector (30) de radiación correspondiente a una condición en la que las dos componentes de la polarización (TE y TM) están presentes en la radiación incidente sobre la DS (42). La adquisición de la señal S1 debe producirse tras un determinado tiempo desde la tensión de referencia aplicada (normalmente del orden de ms) con el fin de tener todas las moléculas de LC fuera del régimen de orientación transitoria.
- 25 (3) *Control de la medición de tensión.* El controlador (84) de LC aplica un voltaje suficientemente alto sobre la capa (80) de LC de modo que las moléculas (83) de LC se alinean con el campo eléctrico aplicado, destruyendo la torsión natural. Debido a esta alineación, no hay una rotación de la polarización de radiación incidente sobre la DS (42).
- 30 (4) *Adquisición de la medición de señal.* La segunda señal S2 la adquiere el detector (30) de radiación que corresponde a una condición en la que sólo está presente una componente de la polarización (por ejemplo, TM) en la radiación incidente sobre la DS (42). La adquisición de la señal S2 debe producirse tras un determinado tiempo desde la tensión de referencia aplicada (normalmente del orden de ms) con el fin de tener todas las moléculas de LC fuera del régimen de orientación transitoria.
- 35 (5) *Procesamiento de señal.* Finalmente, se extrae la señal de SPR de las dos señales ópticas usando la relación:
- 40

$$S_{SPR} = \frac{S_2}{2S_1 - S_2} \quad (2)$$

45

La figura 3A es una ilustración esquemática de un dispositivo (10) de detección por SPR en la configuración de acoplamiento de rejilla y usando una capa (80) de LC para controlar la polarización de la radiación incidente en la DS (42). El emisor (20) de radiación irradia un haz (101) de luz incidente sobre la capa (80) de LC que presenta en su estado inicial una torsión total de 45° de la orientación promedio de las moléculas (83) de LC. La capa (80) de LC presenta un paso de torsión grande en comparación con la longitud de onda de la radiación que se comporta como un guíaondas. La capa (80) de LC se conecta al controlador (84) que puede aplicar tensiones eléctricas y de esta manera realizar un ajuste fino de la torsión total de la polarización de la radiación (101) incidente sobre la DS (42). El análisis de las señales detectada en el detector (30) de radiación correspondientes a los diferentes voltajes aplicados, permite la determinación de señales de referencia en tiempo real, eliminado de esta manera una parte significativa del ruido de adquisición de la señal de SPR. Tras pasar por la capa (80) de LC, el haz de radiación se transmite sobre un sustrato (44) transparente e incide sobre la DS (42) que incluye una capa delgada eléctricamente conductora que se comporta como una rejilla de difracción. La DS (42) está en contacto directo con un fluido. La señal (102) reflejada incide entonces sobre el detector (30) de radiación. A partir del análisis de las señales ópticas en el detector (30) de radiación es posible determinar cuantitativamente la concentración del analito en las proximidades de la DS (42).

50

55

60

La figura 3B es una ilustración esquemática del dispositivo descrito en la figura 3A. Una señal S1 inicial, correspondiente a una polarización lineal de la radiación (101) incidente a 45° (con respecto a la dirección de polarización TM) contiene un ruido óptico significativo que impide una medición precisa. Mediante la aplicación de los voltajes eléctricos apropiados a la capa (80) de LC es posible obtener una segunda señal S2 óptica, correspondiente a la dirección de polarización TM de la radiación (101) incidente (0°). Esta segunda señal contiene todavía un nivel de ruido significativo. Dividiendo apropiadamente ambas señales, se determina la señal de SPR y se elimina casi todo el ruido, puesto que el ruido es principalmente independiente de la polarización.

65

## ES 2 343 484 T3

Debe observarse que esta particularización sólo permite la medición apropiada del efecto de SPR si el retardo entre las dos señales S1 y S2 es pequeño en comparación con la dinámica del ruido de adquisición, puesto que este enfoque sólo es valioso para ruido independiente de la polarización.

5 La radiación (101) incidente sobre la capa (80) de LC debe colimarse preferiblemente con el fin de tener una rotación uniforme y constante de la polarización de la radiación. En este caso, los elementos ópticos usados para enfocar la radiación incidente sobre la DS (42) deben colocarse entre la capa (80) de LC y el sustrato (40) fluido que contiene la DS (42). Alternativamente, el experto en la técnica puede colocar la capa (80) de LC en una región en la que la radiación no está colimada, siempre que se tenga en cuenta la dependencia de la rotación de la polarización  
10 como una función del ángulo incidente. Este ejemplo puede extenderse fácilmente a otras situaciones similares en las que la rotación de la capa de LC es menor o mayor que 45°, o si la polarización de la radiación incidente es diferente. Como regla general, la señal de SPR S\_SPR se obtiene de la relación:

$$15 \quad S_{SPR} = \frac{a_1 S_2}{b_1 S_1 - c_1 S_2} \quad (3)$$

20 en la que a1, b1 y c1 son parámetros que dependen del ángulo de rotación inicial de las moléculas (83) de LC, con respecto a la torsión inicial total de la capa (80) de LC, su espesor y los voltajes eléctricos aplicados.

25 Pueden considerarse otros métodos para controlar la capa (80) de LC, siempre que todavía sea posible controlar el grado de rotación de las moléculas (83) de LC. Por ejemplo, es posible un actuador magnético, y en este caso debe considerarse que normalmente las moléculas de LC tienden a alinearse de manera perpendicular a la dirección del campo magnético aplicado. También puede considerarse una variación en la que el controlador (84) de LC mantiene constante la amplitud de voltaje eléctrico y sólo se varía la frecuencia de la señal eléctrica. En este caso, el experto en la técnica debe seleccionar el intervalo de frecuencia apropiado en el que la respuesta de las moléculas de LC depende  
30 enormemente de la frecuencia de la señal eléctrica aplicada.

### Segundo ejemplo

35 Los dispositivos de detección por SPR convencionales basados en la detección de la intensidad de la radiación reflejada se basan en la medición de niveles de intensidad de la radiación de la radiación reflejada como una función del ángulo de incidencia. En este caso, el efecto de SPR se identifica claramente mediante una fuerte disminución de la intensidad de la radiación reflejada para un ángulo de incidencia específico. Así que la detección por SPR se basa en la determinación de la evolución temporal del mínimo de radiación reflejada. En un enfoque alternativo, es posible medir la variación de la fase relativa de la radiación reflejada, puesto que esta última muestra una transición mucho  
40 más brusca en el efecto de SPR que la transición observada en la intensidad de la radiación, tal como se ilustra en la figura 4A.

45 La figura 4A es una ilustración esquemática del comportamiento del efecto de SPR en cuanto a la intensidad de la radiación (línea discontinua) y la fase relativa de la radiación (línea continua) ambas como una función del ángulo incidente sobre la DS (42). La fase relativa muestra una transición mucho más aguda en el acoplamiento de SPR que la intensidad de radiación. Puede explorarse este hecho con el fin de construir dispositivos de detección por SPR con mejor resolución.

50 Aunque existen ventajas intrínsecas en la configuración de medición de fase, su implementación en los dispositivos de detección por SPR convencionales es particularmente difícil. Por otro lado, es posible usar una capa (80) de LC, construida de tal manera que permite el ajuste apropiado del desfase de la radiación, según las figuras 4B y 4C.

55 La figura 4B es una ilustración esquemática de la orientación promedio de las moléculas (83) de LC en una capa (80) de LC nemático uniforme. Debido a la naturaleza anisotrópica de las moléculas de LC, se observa la desfase entre las componentes de polarización TE y TM de la radiación. En la condición de reposo, ( $V < V_{th}$ ) la orientación promedio de las moléculas es uniforme y paralela a la superficie, y cuando se someten campos eléctricos externos suficientemente altos ( $V > V_{th}$ ) las moléculas (83) de LC tienden a alinearse a lo largo del campo eléctrico.

60 La figura 4C es una ilustración esquemática del comportamiento de la diferencia de fase total (desfase entre las direcciones de polarización ordinaria y extraordinaria de la radiación con respecto a la dirección de orientación promedio de LC) de la capa (80) de LC descrita en la figura 4B como una función del voltaje aplicado. Para voltajes suficientemente bajos ( $V < V_{th}$ ) y debido a la anisotropía óptica, el desfase total de las moléculas de LC lo fija y define el espesor de la capa (80) de LC total y la orientación promedio de las moléculas (83) de LC. Para voltajes suficientemente altos  
65 ( $V > V_{th}$ ) la diferencia de fase tiende a cero y está definida por la relación (4).

Conociendo las propiedades de la capa (80) de LC es posible entonces determinar con precisión el desfase  $\delta$  inducido mediante la relación:

$$\delta = n_o \int_{-d/2}^{d/2} \left[ \frac{n_e}{\sqrt{n_o^2 \sin^2 \theta(z) + n_e^2 \cos^2 \theta(z)}} - 1 \right] dz \quad (4)$$

en la que  $n_o$  y  $n_e$  son los índices de refracción ordinario y extraordinario del LC y  $\theta(z)$  es la orientación promedio de las moléculas (83) de LC a lo largo de la capa (80) de LC.

En este ejemplo, se ha considerado un sensor (10) de SPR con longitud de onda fija y un intervalo de ángulos de incidencia, y que tiene una capa (80) de LC colocada en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación. El sensor (10) de SPR permite la detección de intensidades de radiación como una función del ángulo de incidencia, construyéndose y colocándose la capa (80) de LC de tal manera que permite el ajuste de la diferencia de fase óptica entre las componentes TM y TE de la polarización de la radiación a través de medios ópticos o eléctricos.

La figura 5A es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección por SPR en una configuración de acoplamiento de rejilla. El emisor (20) de radiación irradia un haz de luz que pasa a través de una capa (80) de LC que presenta en su condición de reposo una variación de fase entre las componentes TM y TE de la polarización de la radiación, dada por  $\delta = \Delta n * D$ , en la que  $\Delta n$  es la birrefringencia del LC y  $D$  el espesor total de la capa (80) de LC. La capa (80) de LC se conecta a un controlador (84) de LC que permite controlar los voltajes eléctricos aplicados a la capa (80) de LC. La amplitud de los voltajes eléctricos aplicados permite el ajuste fino de la diferencia de fase entre las componentes TM y TE de la polarización de la radiación que incide sobre la DS (42). La señal óptica procedente de la DS (42) pasa a través de un polarizador (31) y llega al detector (30) de radiación. El análisis de la señal óptica en el detector (30) de radiación permite la determinación cuantitativa de la concentración de analito en las proximidades de la DS (42).

En este caso, se considera favorable que la radiación incidente sobre la DS (42) contenga ambas componentes de polarización distintas de cero (TM y TE). La componente TE no cambia en cuanto a la intensidad o fase de la radiación, independientemente del ángulo de incidencia (además de los cambios clásicos expresados por las relaciones de Fresnel y que resultan del índice de refracción y los coeficientes de extinción, véase la referencia 7) y depende sólo de los ángulos incidentes y de los índices de refracción del sustrato y el fluido. Al contrario, la componente de polarización TM cambia bruscamente a un ángulo de incidencia específico debido al efecto de SPR. Por ejemplo, la fase de la componente de polarización TM de la radiación muestra una transición abrupta, normalmente a unos 180° en un intervalo de ángulos de incidencia inferiores a 10°. La figura 5B es una ilustración esquemática de la evolución del desfase de la radiación como una función del ángulo incidente sobre la DS (42) para la superficie de detección del dispositivo descrito en la figura 5A. La fase  $\varphi_{TE}$  de la componente de polarización TE de la DS (42) no muestra cambios significativos. La fase  $\varphi_{TM}$  de la componente de polarización TM cambia abruptamente cerca de un ángulo de incidencia específico en el que se produce el efecto de SPR. Inicialmente la diferencia de fase total entre las componentes de polarización TE y TM es normalmente alta. Usando una capa (80) de LC, que induce una diferencia de fase adicional  $\varphi_{LC}$  como una función del voltaje aplicado, es posible entonces ajustar apropiadamente la diferencia de fase entre las dos componentes de polarización TE y TM de la radiación (101) incidente sobre la DS (42), con el fin de tener una diferencia de fase de cero en el ángulo de incidencia en el que se produce el efecto de SPR.

El polarizador (31) de detección se coloca en una dirección perpendicular a la dirección de polarización de la radiación (102) incidente y entre la DS (42) y el detector (30) de radiación. De esta manera, cuando el desfase entre las dos componentes de polarización es cero, se observa una extinción total de la luz tras el polarizador de detección y, por otro lado, se observa un máximo de la intensidad de radiación tras el polarizador (31) de detector para un desfase de 90° (cuarto de onda). Este hecho proviene del efecto inducido por el polarizador (31) lineal, puesto que la intensidad de radiación que pasa a través del polarizador sigue la relación (5):

$$I = I_0 \cos^2 \alpha \quad (5)$$

en la que  $I_0$  es la intensidad de la radiación incidente sobre el polarizador y  $\alpha$  es el ángulo entre la polarización lineal de la radiación (102) incidente y la dirección principal del polarizador.

Debido al cambio brusco en la fase relativa de la componente TM, pueden observarse dos extinciones de la luz para dos ángulos de incidencia correspondientes a un desfase nulo o de 180°. Entre estas dos extinciones de radiación hay un máximo local de la intensidad de radiación que corresponde a un desfase de 90°, según la figura 5C.

## ES 2 343 484 T3

La figura 5C es una ilustración esquemática de la señal de SPR detectada por el detector de radiación para un dispositivo de detección por SPR convencional (línea discontinua) y para el dispositivo descrito en la figura 5A (línea continua), en el que el polarizador (31) de detección se coloca aproximadamente paralelo al ángulo de SPR. Debido al cambio brusco de la fase relativa de la componente TM de la radiación procedente de la DS (42), tras pasar a través del polarizador (31) de detección la señal presenta una transición de intensidad brusca. Se observan dos mínimos de la intensidad de radiación separados por una distancia  $W$  angular, con un máximo local entre ellos. Los ángulos de mínima intensidad corresponden a polarizaciones lineales perpendiculares a la dirección principal del polarizador (31) de detección. Se encuentra que la distancia  $W$  se minimiza cuando el desfase ( $\Delta\varphi = \varphi_{TE} + \varphi_{LC} - \varphi_{TM}$ ) es nulo para el ángulo de incidencia en el que se produce el efecto de SPR.

Mediante la aplicación de un voltaje eléctrico a la capa (80) de LC con el fin de variar la diferencia de fase entre las componentes TM y TE de la polarización de la radiación, es posible entonces ajustar la posición angular de las dos extinciones de luz. La distancia  $W$  angular entre estas extinciones aumenta cuando se mueve alejándose de y disminuye cuando se mueve aproximándose al ángulo de incidencia en el que se produce el efecto de SPR. Por tanto, es posible para controlar el voltaje aplicado sobre la capa (80) de LC con el fin de minimizar esta distancia  $W$  angular y determinar de esta manera la distancia angular mínima que corresponde al ángulo en el que se produce el efecto de SPR.

Es posible entonces detectar simultáneamente el cambio de diferencia de fase de la radiación incidente y también el ángulo en el que se produce la SPR. Es factible el control apropiado del desfase total inducido por la capa (80) de LC puesto que la orientación promedio de las moléculas (83) de LC depende del voltaje aplicado. Combinando estos dos efectos (el desfase inducido por la capa de LC y el polarizador de detección) es posible entonces obtener una señal de SPR con mucho mejor contraste en comparación con los sensores de SPR convencionales.

El resultado de esta segunda realización sólo se lograría en un sensor de SPR convencional usando un cuarto de onda fijo u otro elemento que introdujera un desfase fijo entre las componentes de polarización TM y TE de la radiación incidente sobre la DS (42), pero no obstante, no puede ajustar dinámicamente el desfase entre ambas componentes de polarización.

Este ejemplo puede extenderse para sensores (10) de SPR con diferentes configuraciones, concretamente en la configuración prismática y en la configuración de acoplamiento de difracción. También es posible obtener el mismo resultado cuando se usan otros medios para controlar la capa (80) de LC siempre que sea posible ajustar apropiadamente la orientación promedio de las moléculas (83) de LC.

También es posible usar una configuración alternativa, en la que el polarizador (31) se alinea de manera perpendicular con respecto a la dirección de polarización lineal para el ángulo de incidencia en el que se produce el efecto de SPR. En este caso se observa una señal similar a la presentada en la figura 5C, pero con dos máximos locales separados por la distancia  $W$  angular y teniendo un mínimo en el ángulo de incidencia en el que se produce el efecto de SPR.

Otra configuración alternativa consiste en usar una capa (80) de LC con un gradiente de desfase  $\varphi_{LC}$  en una dirección perpendicular a la dirección de variación de los ángulos incidentes. En este caso, la señal óptica adquirida por el detector (30) de radiación es bidimensional, mostrando cada línea el mismo comportamiento descrito en la figura 5C.

La figura 5D es una ilustración esquemática de la evolución del ángulo para el mínimo de intensidad de la señal óptica de SPR como una función del desfase de la radiación para el dispositivo de detección descrito en la figura 5A, y en el que la capa (80) de LC induce un desfase en la dirección perpendicular con respecto a la variación de los ángulos incidentes. En este caso, la detección se realiza usando un detector (30) de radiación bidimensional de tipo matriz, en el que se observa en cada línea un comportamiento similar al descrito en la figura 5C. El cambio gradual del desfase permite la determinación en tiempo real de la línea que corresponde a la distancia  $W$  mínima entre los dos mínimos locales de la intensidad de radiación.

El experto en la técnica puede encontrar varias ventajas cuando adopte este método, puesto que el ajuste apropiado de los voltajes aplicados a la capa (80) de LC pueden aplicarse entre las adquisiciones de señal, al contrario que con las demás configuraciones presentada previamente.

Todas las configuraciones previas han considerado una capa (80) de LC colocada entre el emisor (20) de radiación y la DS (42). Habitualmente, esto se considera preferible debido a su sencillez, puesto que permite el uso de un haz de radiación colimado y entonces la colocación de elementos de enfoque tras la capa (80) de LC.

La figura 6 es una ilustración esquemática del subsistema óptico de emisión de radiación para un dispositivo de detección por SPR en el que se usa una lente (22) de colimación tras el emisor (20) de radiación, y un polarizador (23) emisor colocado entre la lente y la capa (80) de LC en la trayectoria de la radiación colimada. El polarizador (23) emisor se usa con el fin de optimizar la polarización lineal del haz de radiación incidente. Tras pasar a través de la capa (80) de LC, la radiación se enfoca sobre la DS (42) por medio de una lente (24) de enfoque.

La configuración descrita en la figura 6 es una de las posibles configuraciones para el subsistema emisor, pero podrían usarse otras posibles combinaciones con el fin de obtener los mismos resultados descritos previamente. Por

ejemplo, el polarizador (23) emisor podría eliminarse cuando se usa un láser como el elemento (21) de emisión, puesto que un láser normalmente emite luz polarizada. La lente (22) de colimación también puede eliminarse si el procesamiento de los datos tiene en cuenta el efecto del ángulo incidente variable sobre el polarizador (23) y sobre la capa (80) de LC. La eliminación de esta lente de colimación puede introducir ruido adicional, aunque el experto en la técnica puede tener en cuenta de manera apropiada este último efecto sobre los algoritmos de procesamiento de señal.

También es posible considerar una configuración alternativa en la que la capa (80) de LC se coloca en el camino óptico entre la DS (42) y el detector (30) de radiación. En este último caso, habrá de nuevo el efecto del ángulo incidente variable sobre la capa (80) de LC y sobre el polarizador (31) de detección de modo que debe considerarse este efecto de manera apropiada.

### Tercer ejemplo

Los dispositivos de detección por SPR convencionales normalmente usan un haz de radiación incidente sobre la DS (42) en un intervalo fijo de ángulos incidentes. Este hecho también puede ser un factor limitante en cuanto a la sensibilidad y el intervalo de detección del dispositivo de detección por SPR. Entonces sería interesante usar un dispositivo de detección por SPR que tenga la posibilidad de controlar, de manera fácil, el límite de sensibilidad y/o el intervalo de detección actuando sobre el intervalo de ángulos incidentes de la radiación incidente sobre la DS (42).

La presente invención consiste en usar dos capas (85) y (86) de LC, controladas por un controlador (84) de LC y colocadas entre el emisor (20) de radiación y la DS (42) con el fin de ajustar de manera apropiada los ángulos de incidencia del haz de radiación incidente sobre la DS (42). Una capa de LC puede comportarse como una lente debido al efecto de la variación local del índice de refracción, concretamente como una función de un voltaje aplicado externo (véase la referencia 8).

La figura 7A es una ilustración esquemática del índice de refracción resultante de la capa (80) de LC descrita en la figura 4B como una función del voltaje aplicado. El índice de refracción promedio de la capa (80) de LC cambia entre el índice de refracción ordinario  $n_o$  para bajos voltajes aplicados ( $V < V_{TH}$ ) y el índice de refracción extraordinario  $n_e$  para voltajes aplicados suficientemente altos.

La figura 7B es una ilustración esquemática de una capa de LC que se comporta como una lente óptica. En la condición de reposo, ( $V < V_{TH}$ ), la orientación promedio de las moléculas (83) de LC es uniforme y paralela a los sustratos de LC superior e inferior. Para voltajes eléctricos suficientemente altos, las moléculas de LC tienden a alinearse a lo largo del campo eléctrico y presentan así un patrón espacial. Es posible construir una capa (80) de LC que, para un voltaje aplicado fijo, en su centro presenta una mayor alineación de sus moléculas con respecto al campo eléctrico aplicado en comparación con regiones más externas de la capa (80) de LC. El cambio gradual de la orientación promedio de las moléculas (83) de LC da como resultado un patrón espacial del índice de refracción eficaz de la capa (80) de LC y comportándose así este último como una lente óptica.

La figura 7C es una ilustración esquemática de la distancia focal equivalente de una capa (80) de LC ilustrada en la figura 7B, como una función del voltaje aplicado. La distancia focal equivalente de la capa (80) de LC disminuye cuando aumenta el voltaje aplicado. Dentro de determinados límites, la distancia focal equivalente muestra una dependencia lineal con el voltaje eléctrico aplicado.

Existen varias posibles configuraciones que aprovechan este efecto y permiten el uso de capas de LC como lentes ópticas (véanse las referencias 8 y 9). Dadas las características del sensor (10) de SPR, se considera favorable tener una distancia focal constante y fija para la radiación incidente sobre la DS (42). La distancia focal resultante de la asociación de dos lentes delgadas viene dada por la relación (6):

$$f = \frac{f_2(d - f_1)}{d - (f_1 + f_2)} \quad (6)$$

en la que  $d$  es la distancia entre las dos lentes,  $f_1$  y  $f_2$  son las distancias focales de la lente 1 y la lente 2, respectivamente (véase la referencia 7). El intervalo total de ángulos incidentes está definido por  $\Delta\alpha$ .

La figura 7D es una ilustración esquemática del subsistema óptico de emisión de radiación para un dispositivo de detección por SPR según la presente invención, caracterizado porque se usan dos capas (85) y (86) de LC, con el fin de hacer que funcione como una lente de enfoque de amplificación variable con distancia focal constante. El emisor (20) de radiación irradia un haz de radiación colimado sobre una primera capa (85) de LC caracterizada por una distancia focal  $f_1$  equivalente. Una segunda capa (86) de LC, colocada a una distancia  $d$  de la primera capa (85) de LC y se caracteriza por una distancia focal  $f_2$ . El grupo de estas dos capas de LC se construye y coloca de tal manera que presenta una distancia focal  $f$  constante y un intervalo controlable de ángulos incidentes  $\Delta\theta$ , simplemente ajustando los voltajes eléctricos aplicados sobre las capas (85) y (86) de LC.

El grupo de capas (85) y (86) de LC muestra una distancia focal  $f$  equivalente constante y obedece la relación (6). El intervalo total de ángulos incidentes  $\Delta\theta$  puede controlarse a través de los voltajes eléctricos aplicados sobre las capas (85) y (86) de LC y sigue la relación (7):

$$\Delta\theta \approx \arctan\left(\frac{h_1 d^2 - f_1(d + f_2)}{2 f_2(d - f_1)}\right) \quad (7)$$

Esta relación (7) sólo es válida si las capas (85) y (86) de LC fueran mucho más delgadas que la distancia  $d$ . Este es el caso típico, puesto que las capas de LC comunes tienen un espesor de entre  $1 \mu\text{m}$  y  $100 \mu\text{m}$  y  $d$  es normalmente de entre  $1 \text{ mm}$  y  $10 \text{ mm}$ . La relación exacta para el intervalo de ángulos incidentes  $\Delta\theta$  también puede determinarse cuando la distancia  $d$  es del mismo orden que el espesor de la capa de LC, pero en este último caso se vuelve difícil mantener la condición de distancia focal constante. El control sobre la lente focal equivalente de una capa de LC puede obtenerse aplicando un voltaje eléctrico externo, con una frecuencia de señal típica de entre  $1 \text{ KHz}$  y  $100 \text{ KHz}$ , y amplitudes de voltaje de entre  $0 \text{ V}$  y  $50 \text{ V}$ . El índice de refracción eficaz de la capa de LC puede cambiar con el voltaje aplicado, dependiendo de varios parámetros, concretamente: la estructura de la capa de LC, su espesor, la relación entre las constantes elástica, óptica y dieléctrica de las moléculas de LC, la fuerza de anclaje entre las moléculas de LC y los sustratos de LC, entre otros. En un enfoque simplificado, y dentro de determinados límites, es posible observar una dependencia lineal de la distancia focal equivalente de una capa de LC cuando se varía el voltaje aplicado.

Consideremos, por ejemplo, dos capas (85) y (86) de LC, construidas de tal manera que cada capa puede variar linealmente su distancia focal equivalente entre  $1 \text{ mm}$  y  $10 \text{ mm}$ , dependiendo del voltaje aplicado. Por ejemplo, tener  $10 \text{ V}$  de voltajes aplicados induce una distancia focal equivalente de  $10 \text{ mm}$  y  $20 \text{ V}$  produce  $1 \text{ mm}$  de distancia focal). Las dos capas de LC se colocan a una distancia de  $10 \text{ mm}$ , y el haz de radiación colimado tiene  $5 \text{ mm}$  de diámetro cuando llega a la primera capa (85) de LC. En este ejemplo, la radiación incidente sobre la DS (42) tendrá una distancia total focal de  $20 \text{ mm}$ . Ahora, manteniendo esta distancia focal total en  $20 \text{ mm}$  y según las ecuaciones (6) y (7), es posible variar el intervalo total de ángulos incidentes desde  $\Delta\theta 48^\circ$  (con  $V_1=20,000 \text{ V}$  y  $V_2=14,215 \text{ V}$ ) hasta  $1,8^\circ$  (con  $V_1=12,222 \text{ V}$  y  $V_2=19,091 \text{ V}$ ).

El uso práctico de este ejemplo de la presente invención puede requerir del experto en la técnica un cuidado especial en la medida y el control de aberraciones ópticas y distorsiones inducidas por el grupo de capas de LC que se comporta como una lente de amplificación variable con distancia focal constante. Esta determinación y control pueden obtenerse con precisión (véase la referencia 10) con el fin de minimizar el ruido asociado con la detección basada en el efecto de SPR.

La presente invención puede extenderse a otras configuraciones de dispositivos de detección basados en el efecto de SPR, concretamente en los casos de la configuración prismática o la configuración de acoplamiento de rejilla. También pueden considerarse ventajosos otros medios para controlar la orientación promedio de las moléculas (83) de LC de las capas (85) y (86) de LC, en los que la amplitud del voltaje aplicado se mantiene constante y sólo se varía la frecuencia de la señal. En este caso, el experto en la técnica puede elegir un intervalo de frecuencia adecuado en el que la respuesta de las moléculas (83) de LC depende enormemente de la frecuencia de la señal.

Otra configuración alternativa de esta realización consiste en usar dos capas (85) y (86) de LC colocadas en el camino óptico entre la DS (42) y el detector (30) de radiación. Esta última configuración puede considerarse ventajosa puesto que todos los elementos con alta calidad óptica se colocan en las proximidades del emisor (20) de radiación, y así puede optimizar el efecto de SPR sobre la DS (42). Este último caso puede implicar simplemente el uso de una lente (32) de detección adicional, colocada entre la DS (42) y las capas (85) y (86) de LC, con el fin de tener un haz colimado antes de la primera capa (85) de LC.

La figura 8 es una ilustración esquemática de un dispositivo de detección en el que un grupo de dos capas de LC se coloca entre la superficie (42) de detección y el detector (30) de radiación con el fin de controlar la señal de amplificación de la radiación. La radiación (101) incidente se refleja en la DS (42) y la radiación (102) reflejada se transmite a través de lente (32) de detección y entonces pasa a través de las capas (85) y (86) de LC y llega al detector (30) de radiación. Las capas (85) y (86) de LC están controladas por el controlador (84) de LC. Mediante el ajuste de manera apropiada de los voltajes aplicados sobre las capas (85) y (86) de LC es posible controlar el ángulo divergente de la radiación (102) reflejada. Este control permite el ajuste del intervalo de detección y el límite de sensibilidad del sensor (10) de SPR.

En este caso, el grupo de capas (85) y (86) de LC permiten el control de la amplificación de la señal óptica alrededor del ángulo en el que se produce el efecto de SPR. Por ejemplo, es posible definir un contraste aceptable mínimo de la señal óptica de SPR y entonces ajustar gradualmente la amplificación del grupo de capas (85) y (86) de LC con el fin de maximizar la resolución del dispositivo de detección, manteniendo una relación señal a ruido bastante constante.

## ES 2 343 484 T3

Estos ejemplos demuestran algunas posibles realizaciones diferentes de la presente invención con el fin de construir y usar un sensor (10) de SPR usando capas de LC que permiten la detección de acontecimientos químicos y/o biológicos, con un mejor rendimiento en comparación con los dispositivos de detección por SPR convencionales.

### 5 Resumen de las abreviaturas

	Sensor de SPR 10
	Emisor de radiación 20
10	Elemento de emisión 21
	Lente de colimación 22
15	Polarizador emisor 23
	Lente de enfoque 24
	Detector de radiación 30
20	Polarizador de detección 31
	Lente de detección 32
25	Canales fluidos 40
	Zona de detección (DZ) 41
	Superficie de detección (DS) 42
30	Canales 43
	Sustrato 44
35	Capa de cristal líquido (LC) 80
	Sustrato de LC inferior 81
	Sustrato de LC superior 82
40	Controlador de LC 83
	Moléculas de LC 84
45	Primera capa de lente de LC 85
	Segunda capa de lente de LC 86
	Prisma 90
50	Radiación incidente 101
	Radiación saliente 102

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de detección dinámica basado en el efecto de resonancia de plasmón superficial, que comprende:

5 (i) un emisor (20) de radiación y un detector (30) de radiación;

10 (ii) un sustrato (40) fluido, que contiene canales (43) y al menos una zona (41) de detección, en la que una superficie (42) de detección DS está construida de tal manera que permite que se produzca el efecto de resonancia de plasmón superficial, mediante lo cual dicho sustrato está colocado en la trayectoria de la radiación entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación X;

15 (iii) una capa (80) de cristal líquido, colocada entre el emisor (20) de radiación y el detector (30) de radiación, que puede presentar al menos dos estados de orientación, con el fin de inducir diferentes modificaciones de la radiación (101) incidente sobre la superficie (42) de detección DS o de la radiación (102) saliente desde la superficie de detección;

20 (iv) medios de control para controlar la orientación promedio de las moléculas (83) de cristal líquido de la capa (80) de cristal líquido con el fin de ajustar de manera dinámica las propiedades de la radiación con el fin de optimizar la detección de la señal de resonancia de plasmón superficial;

25 en el que los medios de control controlan la capa (80) de cristal líquido para que se comporte como una lente convergente o divergente, permitiendo el control y el ajuste de la distancia focal equivalente de la capa (80) de cristal líquido por medio de un campo aplicado externo, y en el que el dispositivo permite la determinación de acontecimientos químicos y/o biológicos a través del efecto de resonancia de plasmón superficial que se produce en las proximidades de la superficie (42) de detección de la zona (41) de detección.

30 2. Dispositivo de detección según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la capa (80) de cristal líquido se comporta como una lente convergente o divergente a través de uno de los siguientes mecanismos:

(i) un cambio uniforme y gradual del espesor de la capa (80) de cristal líquido;

35 (ii) un cambio uniforme y gradual de la orientación de las moléculas (83) de cristal líquido en las proximidades de los límites de la capa (80) de cristal líquido;

(iii) un cambio uniforme y gradual de la fuerza de anclaje de las moléculas (83) de cristal líquido en las proximidades de los límites de la capa (80) de cristal líquido.

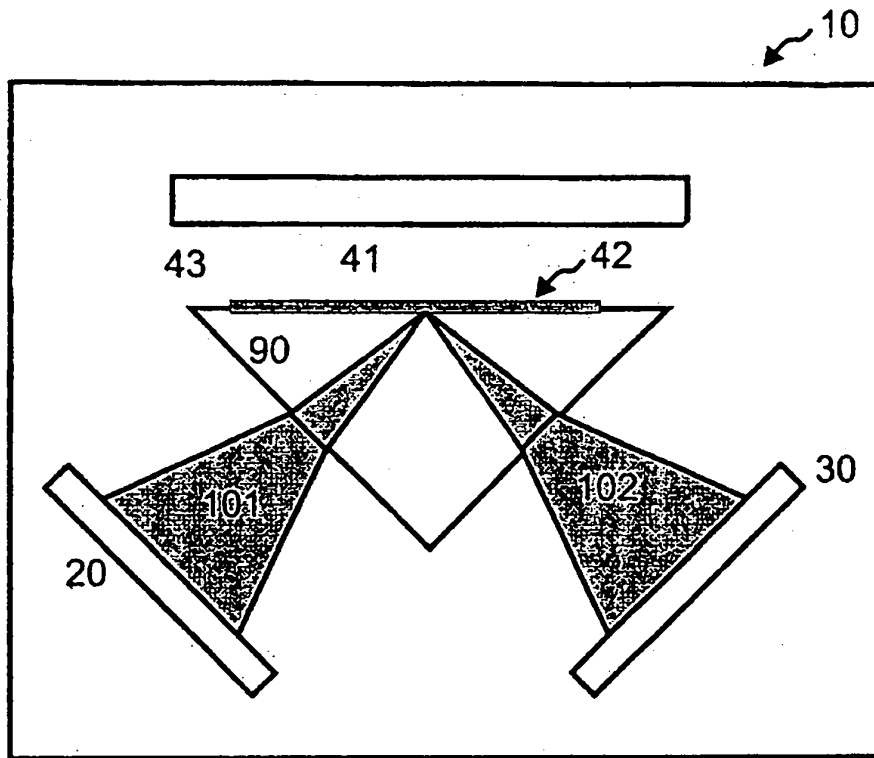


Fig. 1ª

(Técnica anterior)

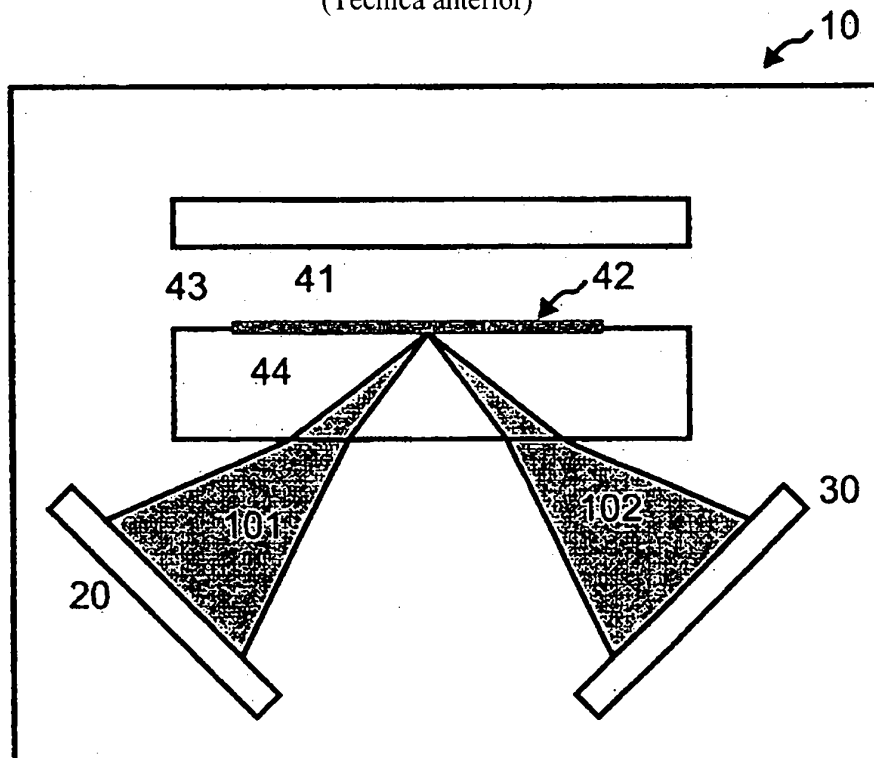


Fig. 1B

(Técnica anterior)

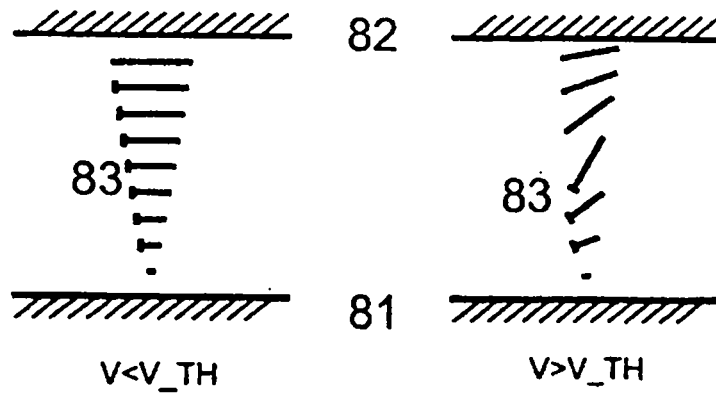


FIG. 2A

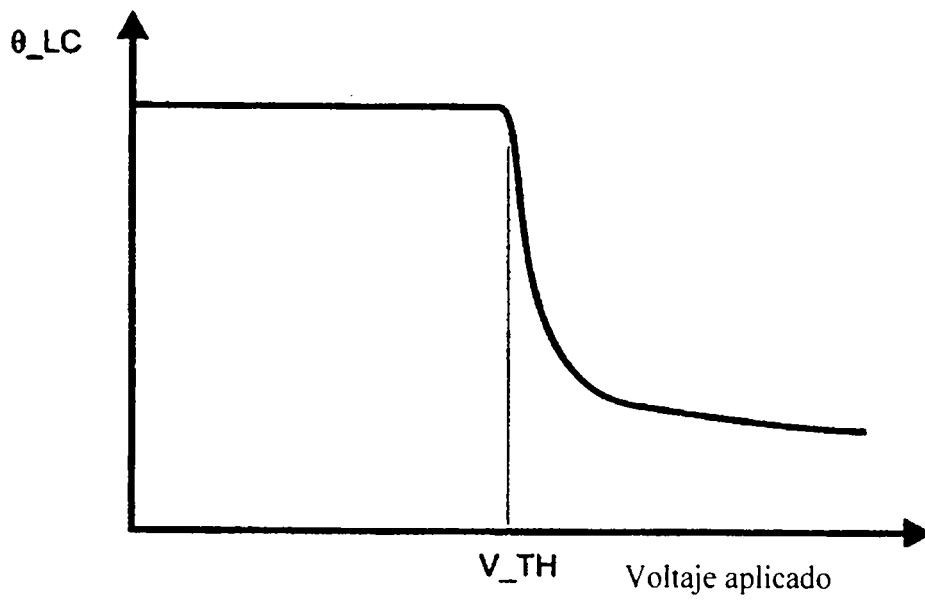


FIG. 2B

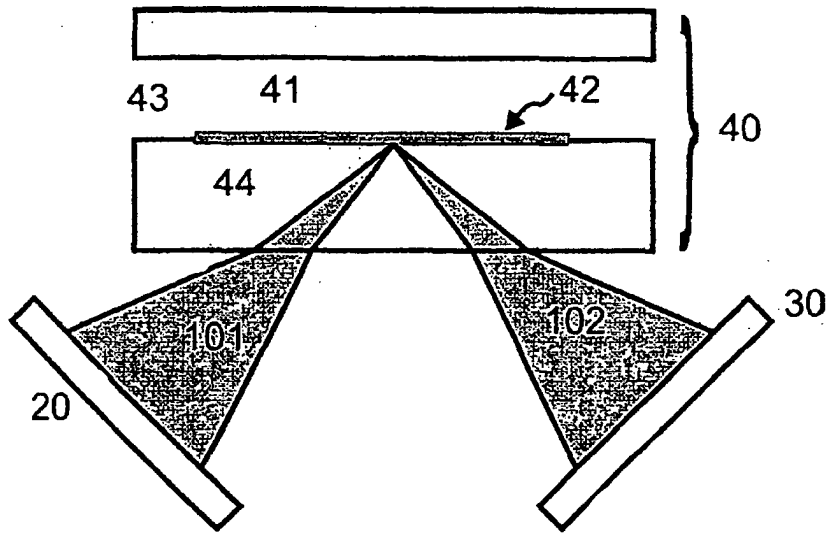


Fig. 3A

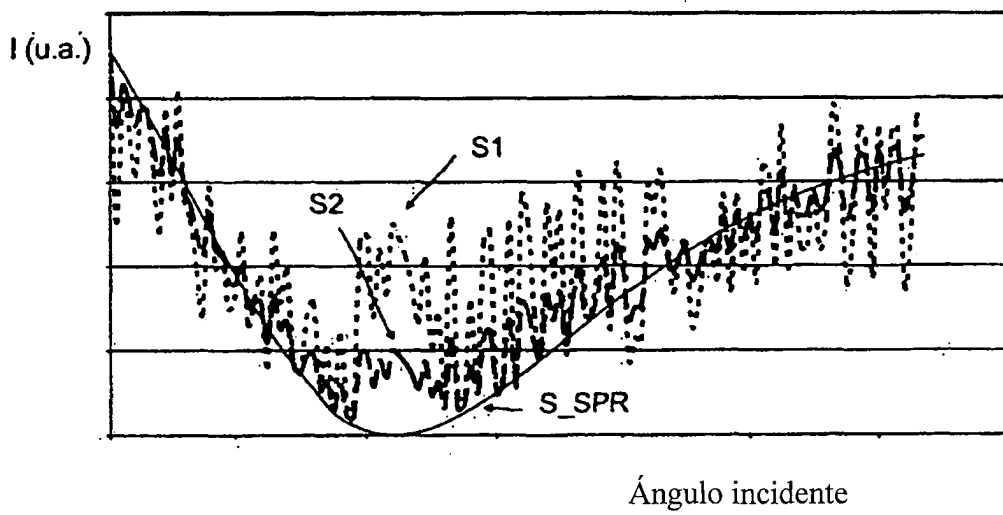


Fig. 3B

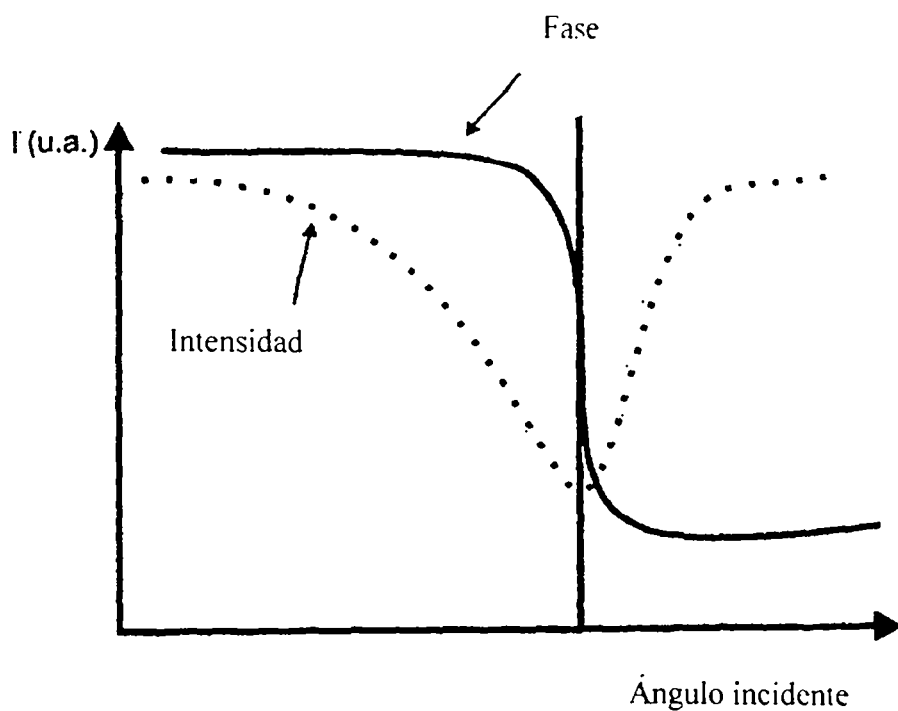


FIG 4A.

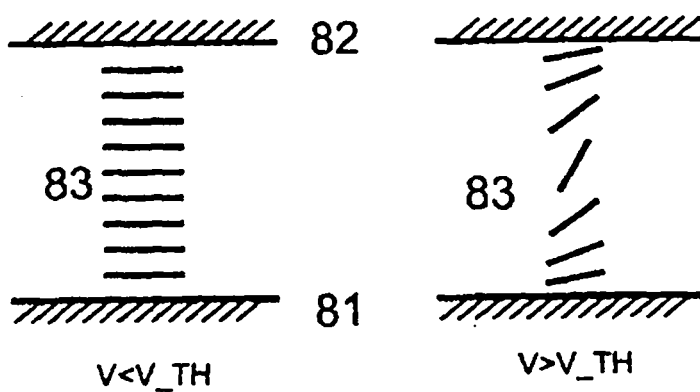


FIG 4B

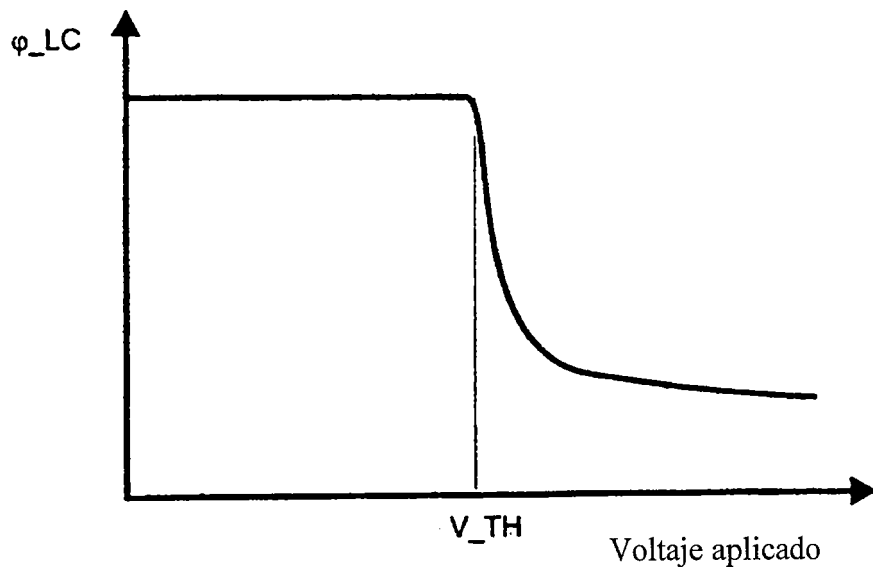


Fig. 4C

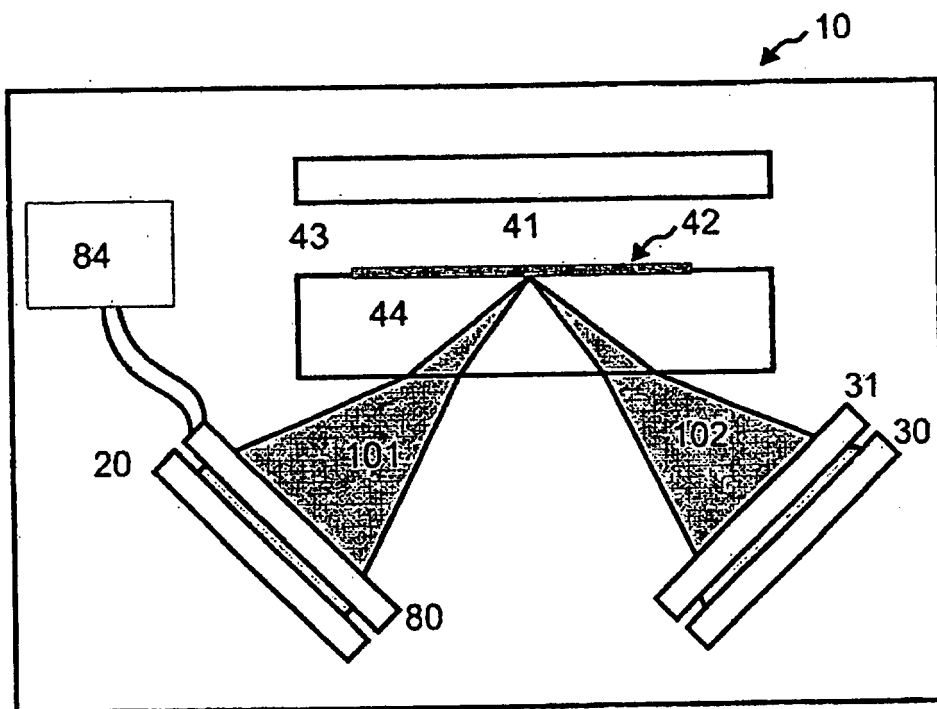


Fig. 5A

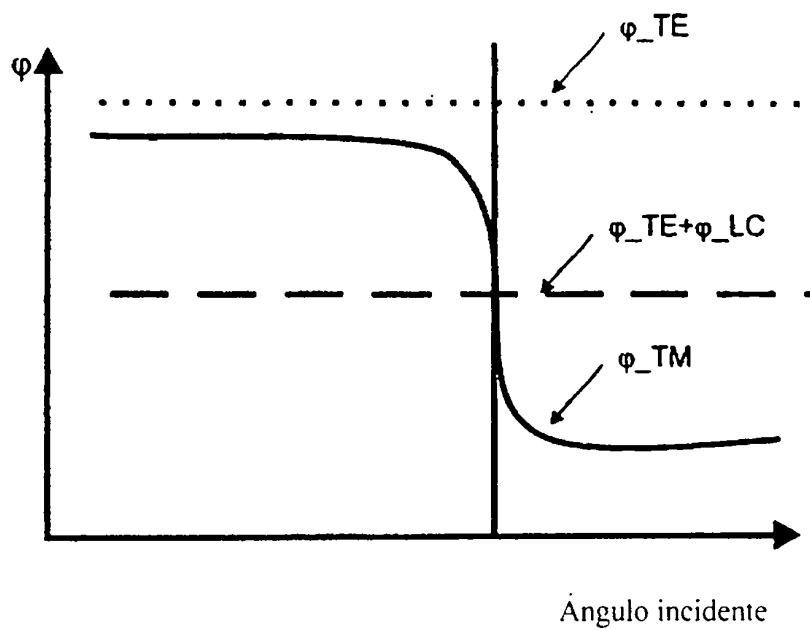


Fig. 5B

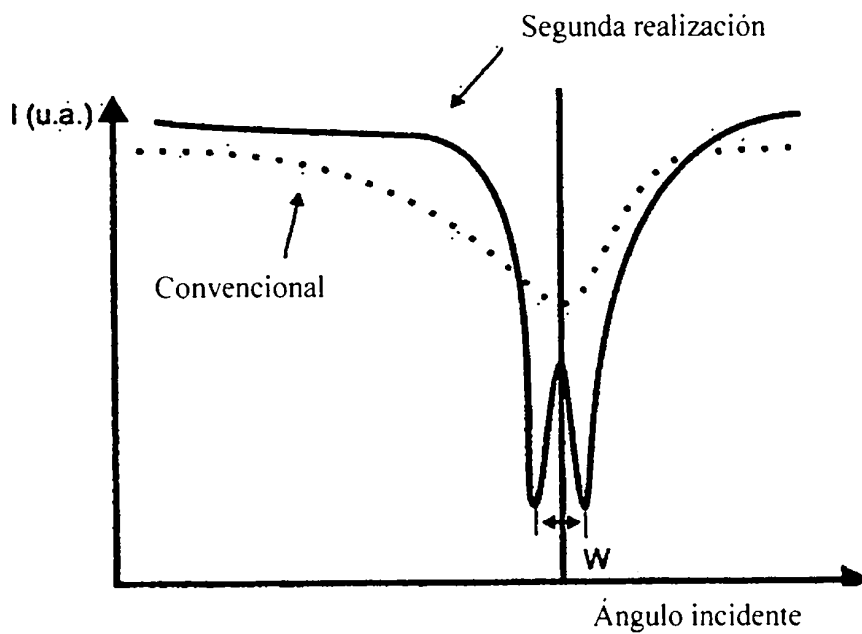


Fig. 5C

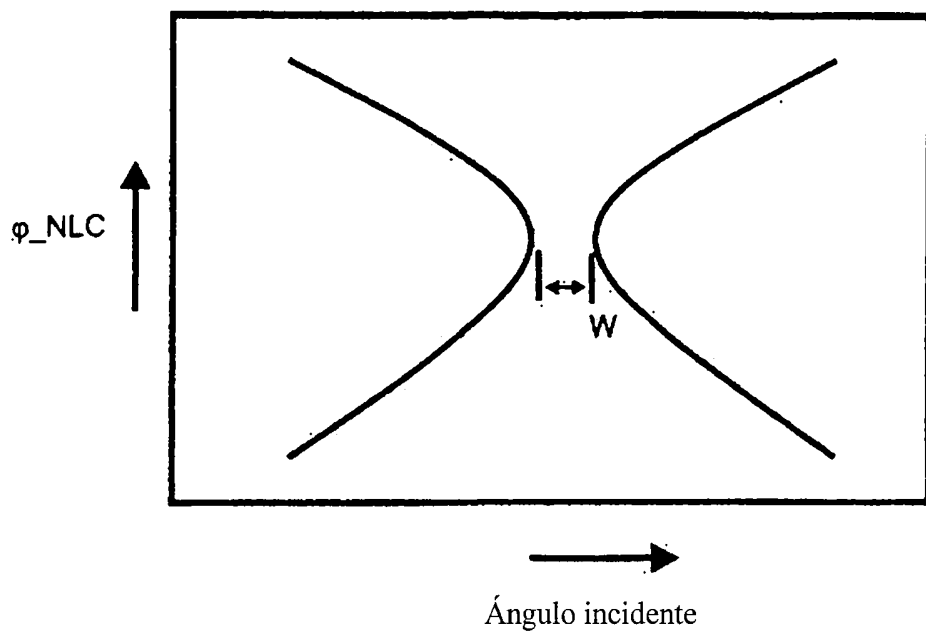


Fig. 5D

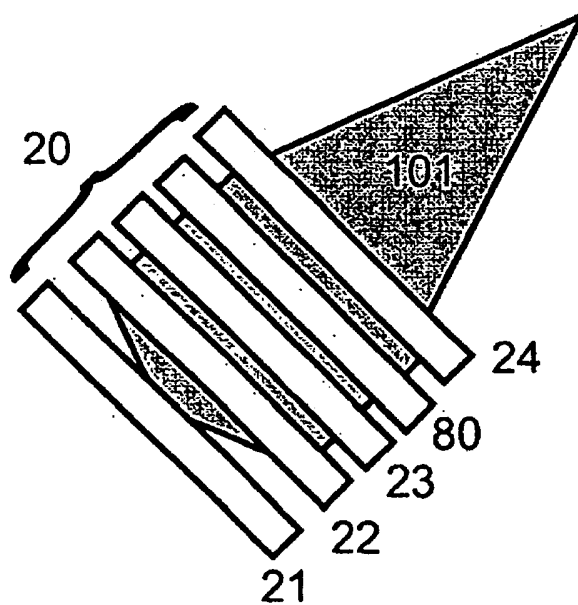


Fig. 6

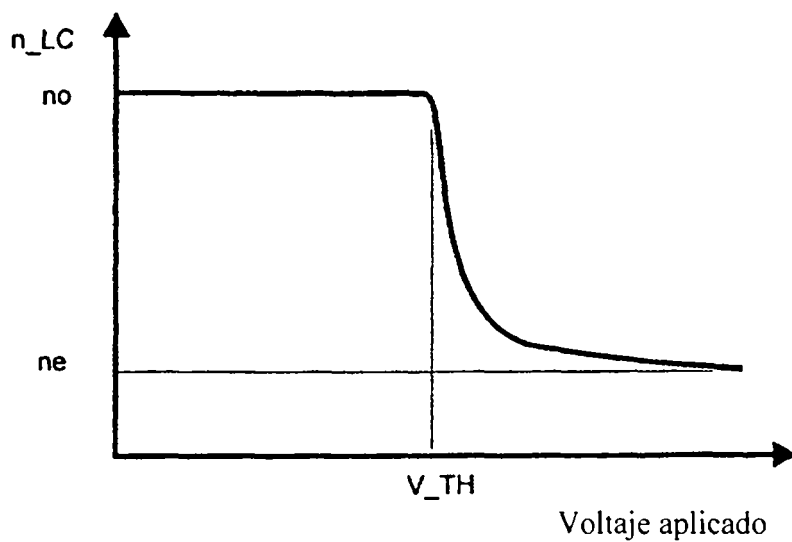


Fig. 7A

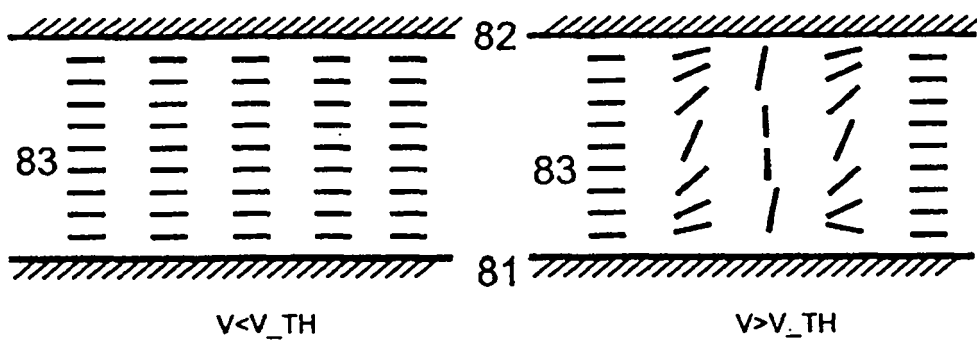


Fig. 7B

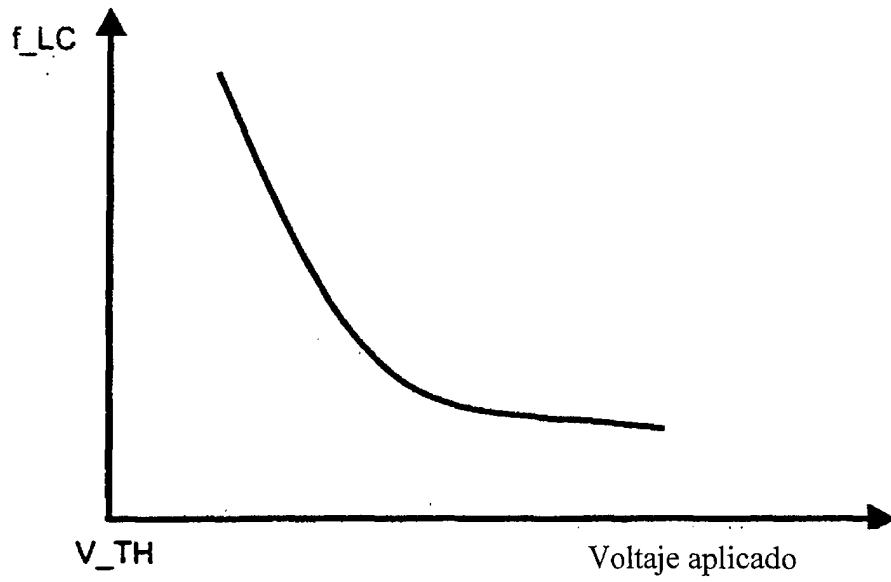


Fig. 7C

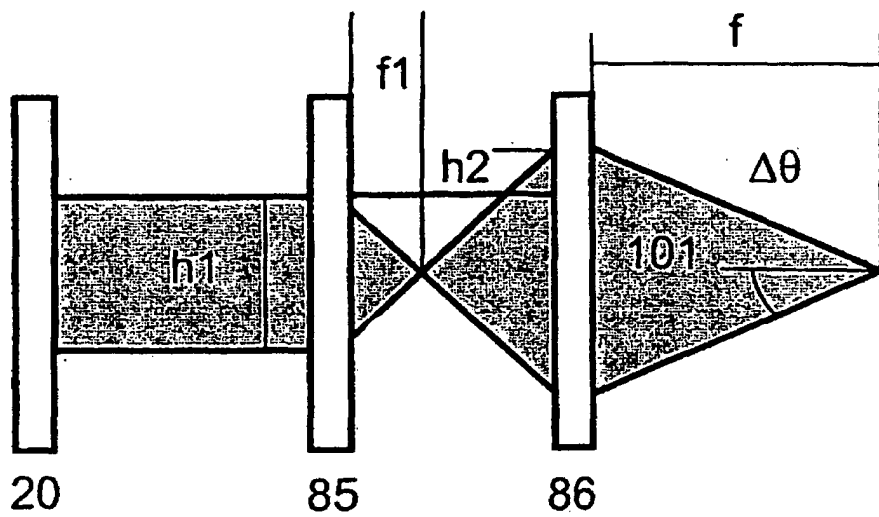


Fig. 7D

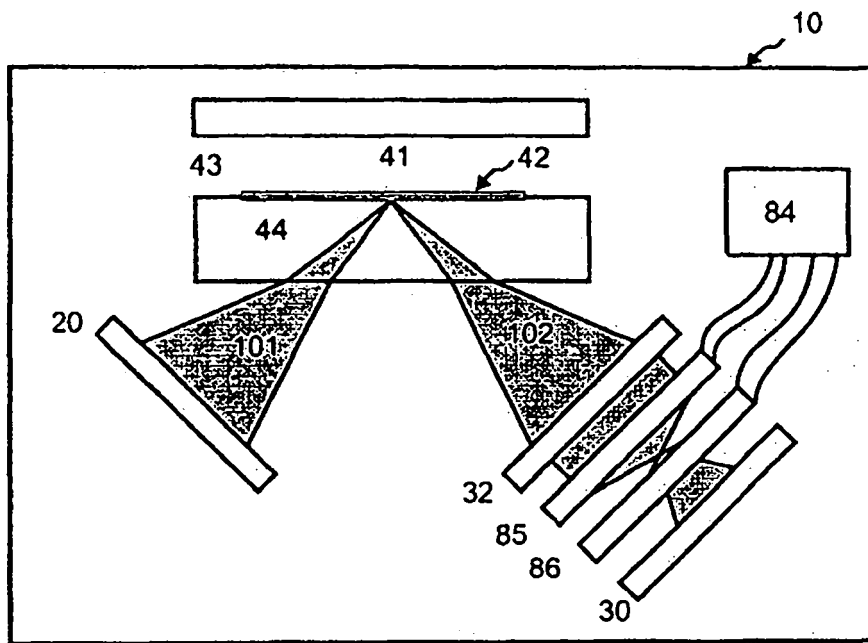


Fig. 8