



Ústav fotoniky  
a elektroniky

# OPTICKÉ SENZORY

***VLASTIMIL MATĚJEC***

***Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, v.v.i.  
Chaberská 57, 182 51 Praha 8-Kobylisy  
Tel.: 266 773 511; e-mail: matejec@ufe.cz***

# OBSAH

- **ÚVOD**
  - Optické senzory základní pojmy, uspořádání
  - Optické zdroje, detektory
  - Optické detekční prvky – vlnovody-vedení světla, planární vlnovody, optická vlákna
- **VLNOVODNÉ SENZORY**
  - Senzory využívající evanescentní vlnu
  - Senzory reflexní
  - Senzory využívající luminiscence



# OBSAH

- **SPECIÁLNÍ VLNOVODNÉ SENZORY**
  - Senzory s optickými mřížkami
  - Senzory s mikrostrukturními vlákny
  - Senzory s povrchovými plazmony (SPR)
  - Senzory s optickými mikrorezonátory na principu vidů šeptající galerie WGM - „Whispering Gallery Mode“
- **OPTICKÉ MIKROSENZORY**
  - Kónicky zúžená vlákna (Tapery)
  - Luminiscenční nanočástice (PEBBLE-Probes Embedded in Biologically Localized Environment)
- **ZÁVĚRY** – Nové směry



# Literatura

- M.Pospíšilová, I. Kašík, V.Matějec:  
Vláknová optika pro biologii a medicínu,  
skripta ČVUT, 2011
- SENZORY, 2007,  
<http://www.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/senzory.pdf>
- Odkazy při přednáškách
- Průsvitky z přednášek  
<http://www.ufe.cz/sites/default/files/matejec/>



# ÚVOD

## Senzor

***Senzor* je přístroj, který reaguje na vnější fyzikální nebo chemický podnět (změna teploty, tlaku, přítomnosti chemikálie, její koncentrace) a převádí ho na fyzikální signál (světlo, elektřina), který je detekován pozorovatelem nebo přístrojem.**



# ***Definice - Cambridge***

## **Chemický senzor**

***Chemický Senzor*** je miniaturizovaný analytický přístroj, který poskytuje informaci o přítomnosti specifických sloučenin nebo iontů v reálných vzorcích a to on-line a v reálném čase.

***Pozn.: Definice nepožaduje vratnost***

***The Cambridge Definition of Chemical Sensors:***

by K. Cammann, G. G. Guilbault, E. A. H. Hall, R. Kellner and O. S. Wolfbeis, 1996

For a review see:

Optical Chemical Sensors. McDonagh, C.; Burke, C. S.; MacCraith, B. D.  
*Chemical Reviews* (2008), 108, 400-422.



# ***IUPAC DEFINICE***

## **Biosenzor**

***Biosenzor* je plně integrovaný přístroj schopný poskytovat specifické kvantitativní nebo semikvantitativní analytické informace s využitím biologického rozpoznávacího prvku (biopřevodníku), který je v přímém kontaktu s detekčním-převodníkovým prvkem.**

- For a review on optical biosensors see:

Optical Biosensors. Borisov, S. M.; Wolfbeis, O. S. *Chemical Reviews* (2008), 108, 423-461



# Optický senzor

***Senzor tedy umožní rozpoznat a kvantifikovat vnější podnět na základě odpovídajících změn fyzikálního signálu v detekčním místě.***

**Optický senzor využívá jako fyzikální signál světlo a to**

**od: ultrafialové oblasti ( $0,2 \mu\text{m} - 1,5 \cdot 10^{15} \text{ Hz}$ )**

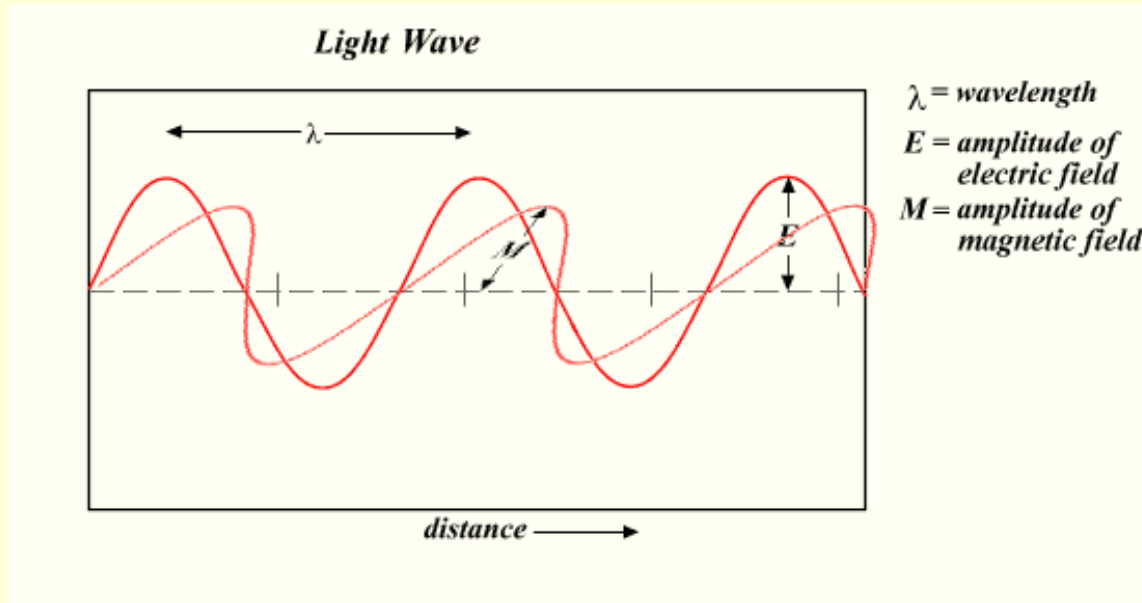
**po: střední IČ oblast ( $10 \mu\text{m} - 3 \cdot 10^{13} \text{ Hz}$ ).**

**Optický senzor využívá změn amplitudy, fáze, frekvence (vlnové délky) světla způsobených měřenou veličinou**





## Příčné elektromagnetické vlnění

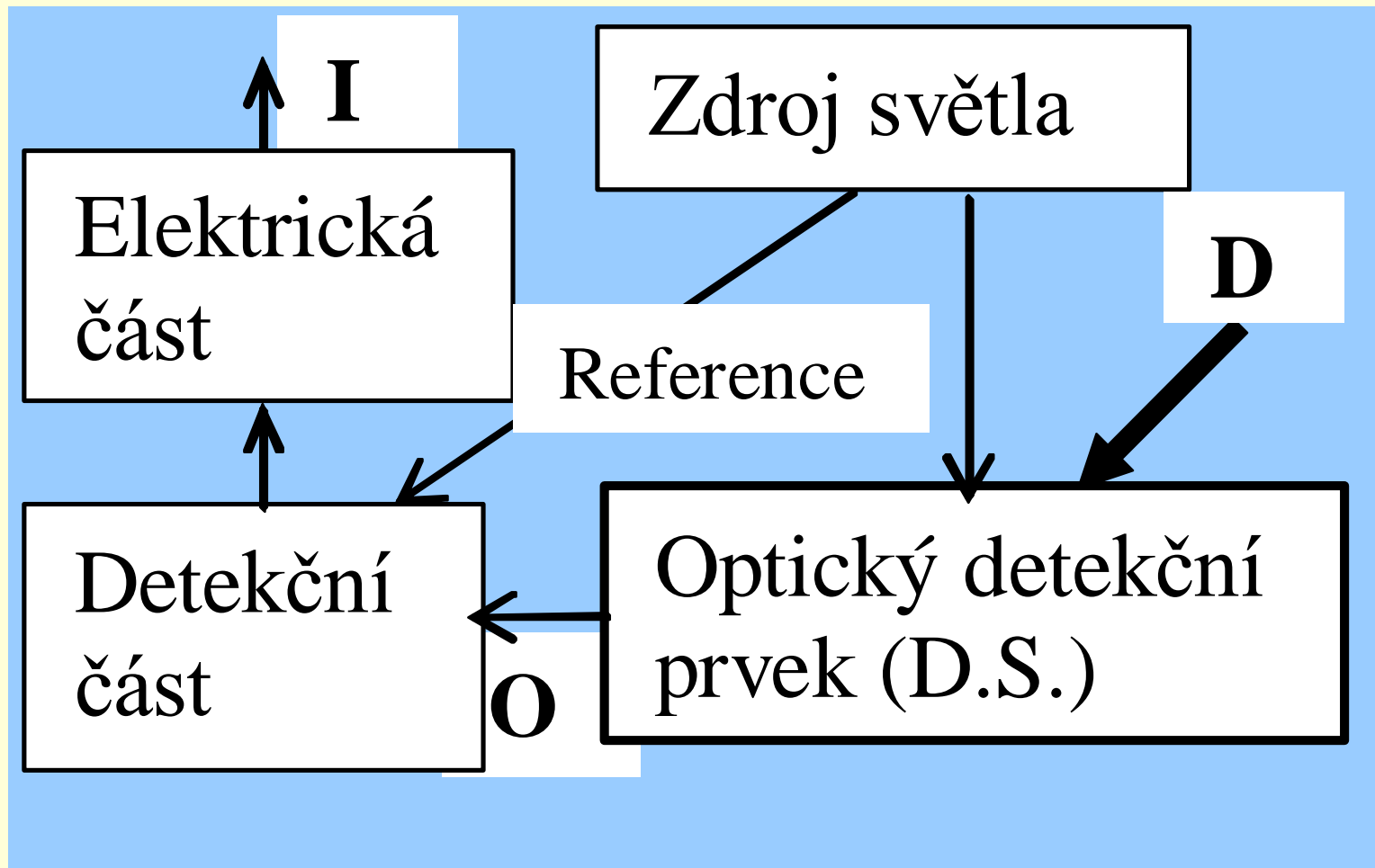


## Polarizace

V přirozeném světle vektor  $E$  kmitá náhodně ve všech směrech kolmých na směr šíření. Některé materiály umožňují vybrat jeden směr kmitání, tj. polarizovat světlo



# Uspořádání optického senzoru



D.S. – Detekční místo („Detection site“)



## ***Senzorový efekt***

V optickém senzoru detekovaná veličina D mění v detekčním místě vlastnosti světla (intenzitu, fázi, polarizaci, vlnovou délku) Q a tyto změny jsou detekovány ve výstupním elektrickém signálu senzoru I.



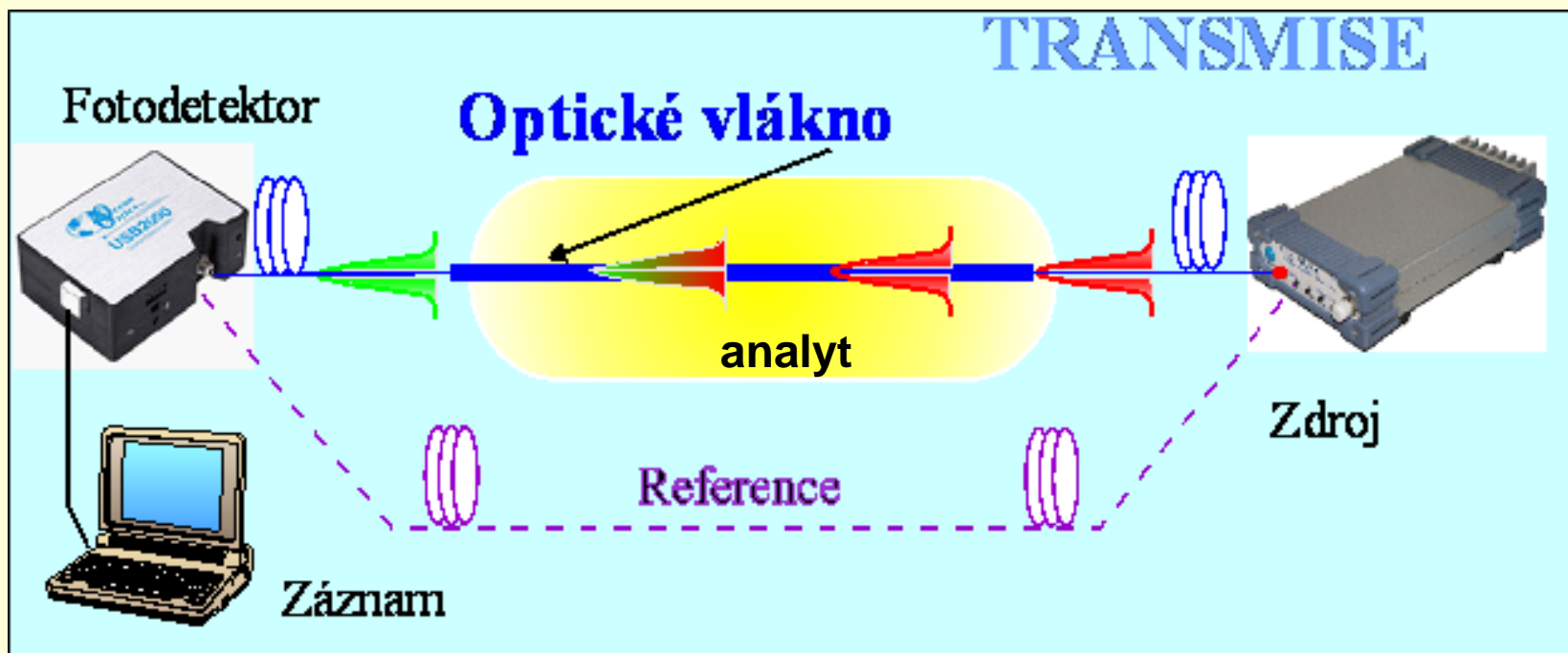
## *Optický senzor – nezbytné části*

- Zdroj světla (žárovka, LED, laser, ...)
- Detekční prvek (vlnovod, mřížka, folie , ..)
- Detektor (fotodioda, lavinová fotodioda, ..)
- Elektrická část pro napájení a zpracování optického signálu)

**Všechny tyto části musí být integrovány v jednom systému.**



# Vláknově-optický transmisní senzor



Detekční pH  
papírky



# Senzory - Základní pojmy

## Senzor přímý:

Detekovaná veličina  $\leftrightarrow$  Světelná vlna  $\Rightarrow$  Změna parametrů vlny

*Př: Detekce toluenu při 1690 nm, kde má toluen absorpční pás*

## Senzor nepřímý:

I. Detekovaná veličina  $\leftrightarrow$  Převodník  $\Rightarrow$  Změna parametrů převodníku

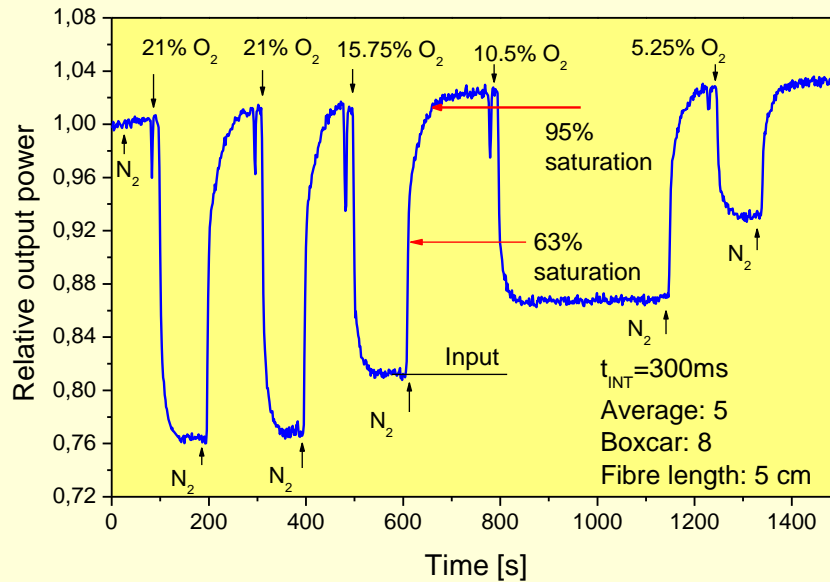
II. Převodník  $\leftrightarrow$  Světelná vlna  $\Rightarrow$  Změna parametrů vlny

*Př.: detekce pH s využitím kolorimetrických indikátorů, které mění svoji optickou absorpci působením  $H_3O^+$*



## Parametry senzoru dynamické

**Časová odezva senzoru** = čas potřebný, aby se výstup senzoru změnil z aktuálního stavu do konečného stavu v rámci určitého tolerančního rozmezí (např. 5%)



$$I = I_s \left( 1 - \exp \left( \frac{-t}{\tau} \right) \right)$$

$I_s$  ustálená hodnota

$\tau$  - časová konstanta  
(pro  $I=0.632 I_s$ )

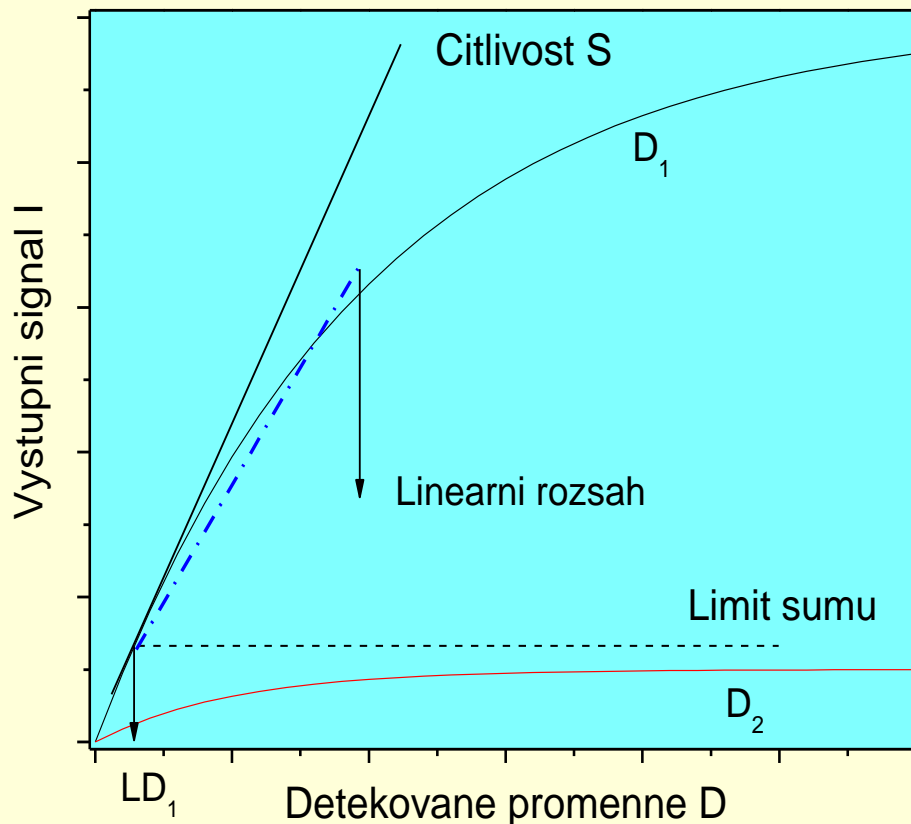
Odezvy s - min

Detekce kyslíku zhášením fluorescence  
Ru komplexu



# Parametry senzoru - Statické

## Kalibrační křivka



Proměnná  $D_1$  detekovaná v rozsahu  $LD_1 \rightarrow$

Proměnná  $D_2$  nemůže být senzorem detekována





# Citlivost (**S**) of optického senzoru

$$S_i = \left( \frac{\partial O}{\partial D_i} \right) \left( \frac{\partial I}{\partial O} \right)$$

## Selektivita k proměnné **D**

Schopnost senzoru detekovat jen veličinu **D**

**S** je vysoké pro detekovanou veličinu **D**

$I \ll$  limit šumu nebo  $S \rightarrow 0$  (pro další detekované proměnné v detekčním místě)



# Základní pojmy – Statické parametry

## **Přesnost senzoru:**

Charakterizuje odchylku od skutečné hodnoty

*Př.: Vliv interferujících látek, systematické chyby – iontové síly, složení roztoku*

## **Reprodukovatelnost**

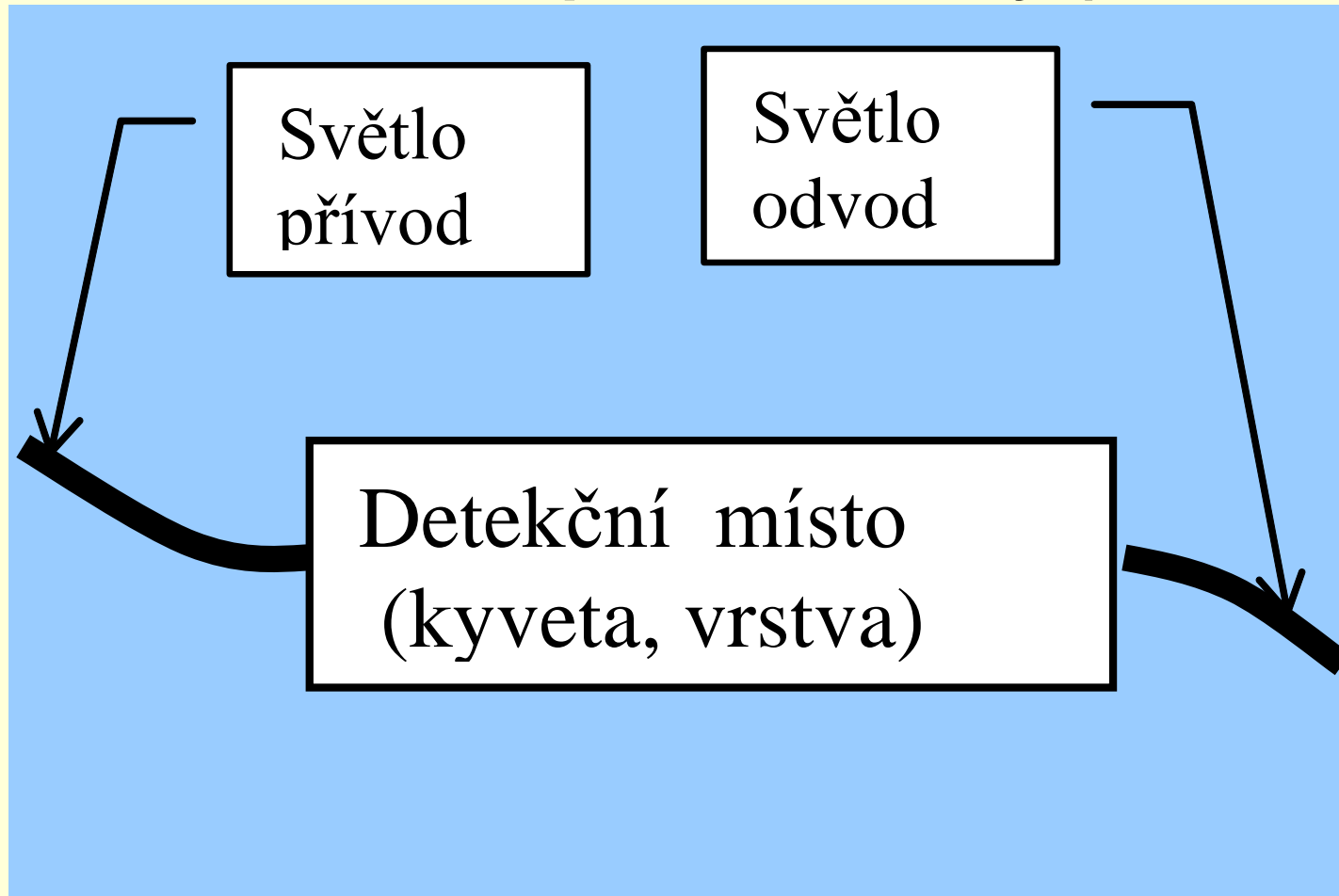
Charakterizuje rozdílnost výsledků při pokusech opakovaných za stejných podmínek

## **Limit detekce LD**

Nejmenší hodnota detekované proměnné, kterou lze ještě v šumu detekovat.



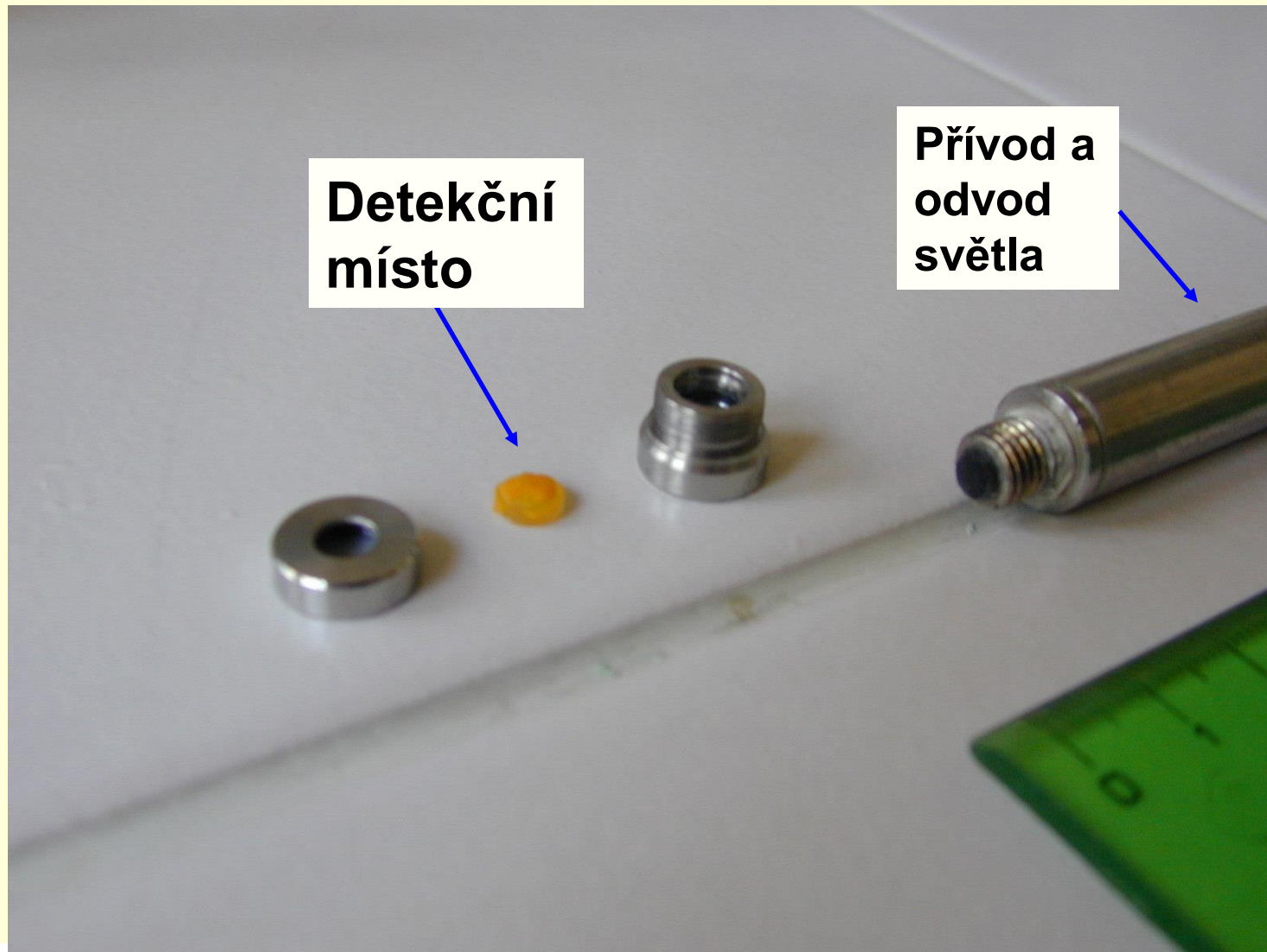
# Nevlastní vláknově-optické senzory (Extrinsic)



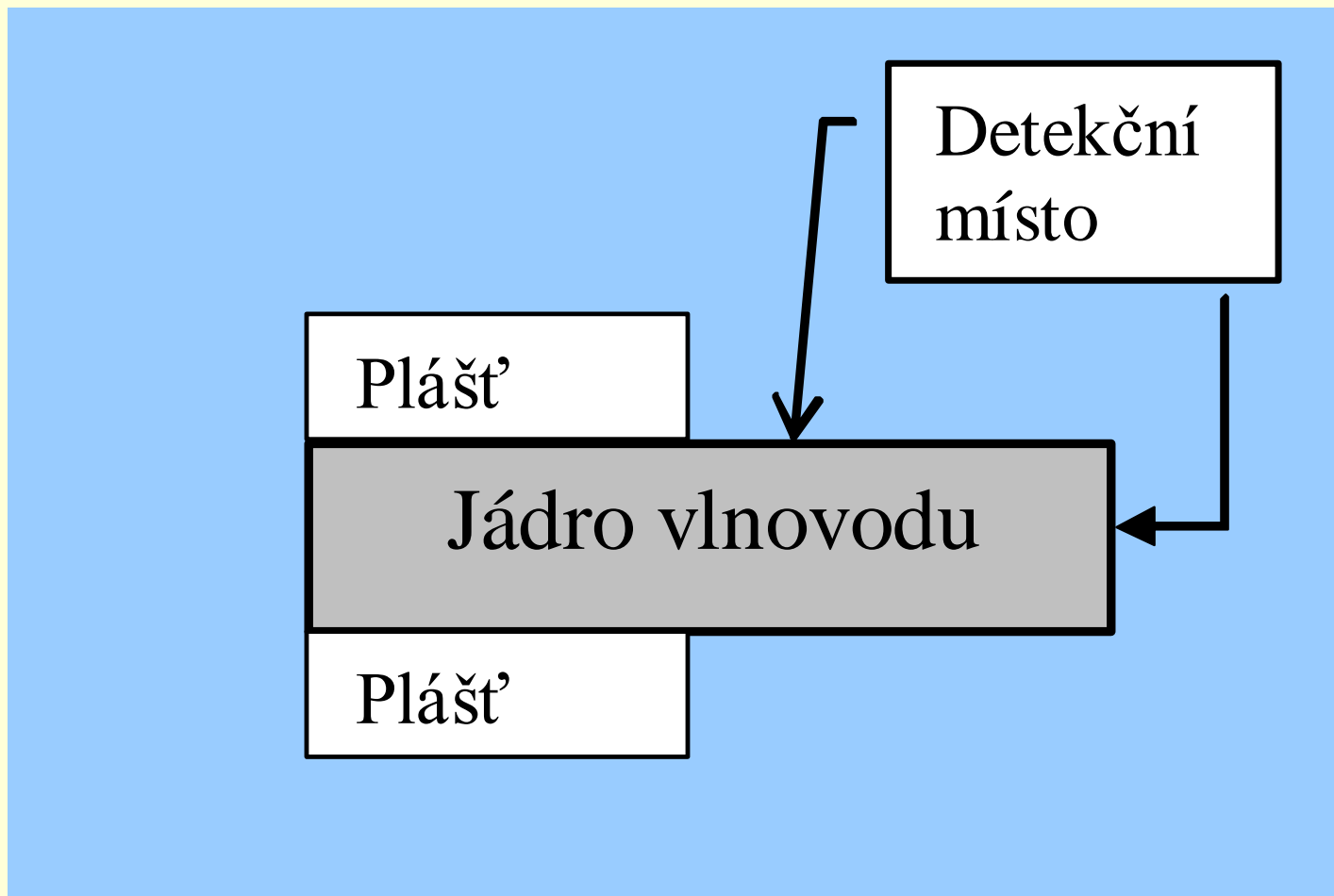
Světlo je přivedeno do detekčního místa, zde změní své vlastnosti a je odvedeno do detektoru. **Vlastní detekce je mimo vlnovod, tj. oddělena od přívodu a odvodu světla**



# Nevlastní senzor kyslíku



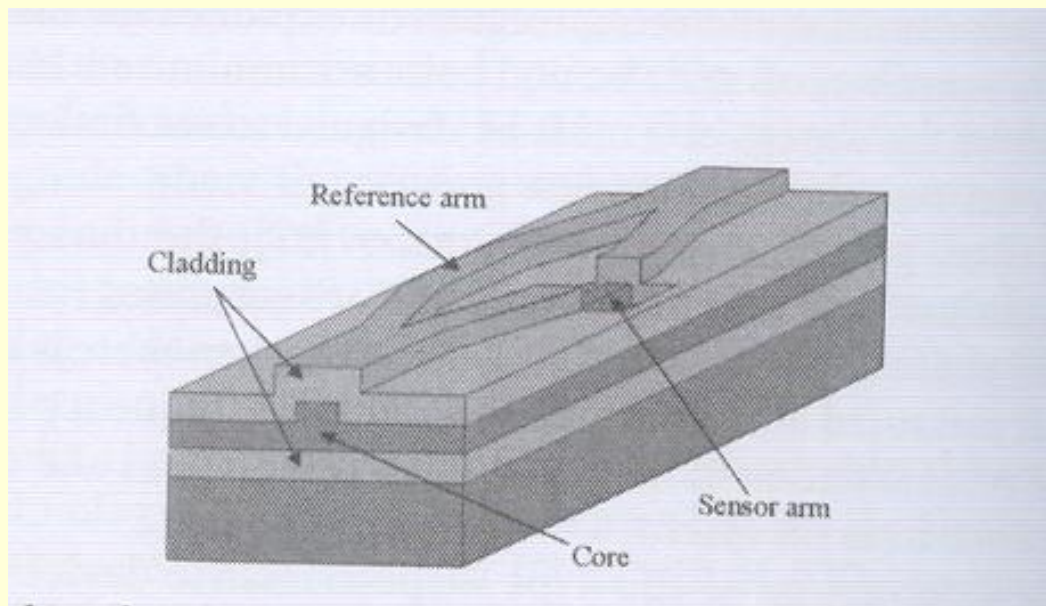
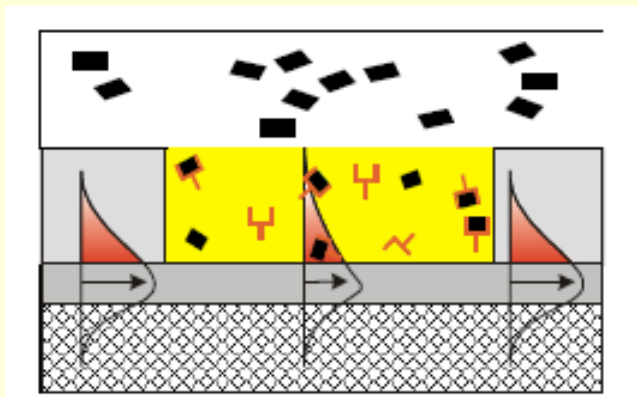
# Vlastní vlnovodné senzory (Intrinsic)



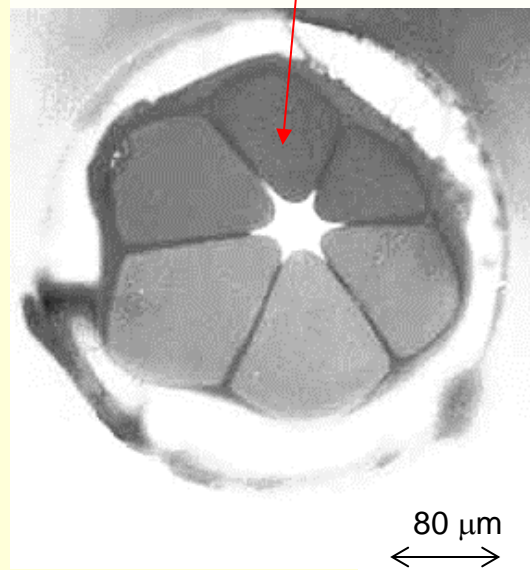
Světlo je měněno při jeho přenosu vlnovodem; **Přívod, detekce a odvod světla jsou v jednom prvku-vlnovodu**



# Vlastní senzory



Detekční místo v  
děrách vlákna



# ***DETEKOVANÉ PROMĚNNÉ***

**Fyzikální: teplota, tlak, mechanické deformace, mechanická napětí, elektrické napětí, proud, jaderné záření**

**Chemické: přítomnost molekul, koncentrace**

**Biologické: přítomnost látek, koncentrace**

- Book on optical sensors see e.g.:

Optical Sensors. Narayanaswamy R., Wolfbeis, O. S.- Editors, *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors 01, (2004)*



# ***VÝHODY OPTICKÝCH SENZORŮ***

- **Malé rozměry a váha**
- **Nízká spotřeba energie („green photonics“)**
- **Odolnost k rušení vnějšími elektrickými a magnetickými poli**
- **Vysoká citlivost v širokém rozsahu detekovaných proměnných**
- **Odolnost k nespecifickým vlivům okolí**
- **Možnost využít telekomunikační součásti**

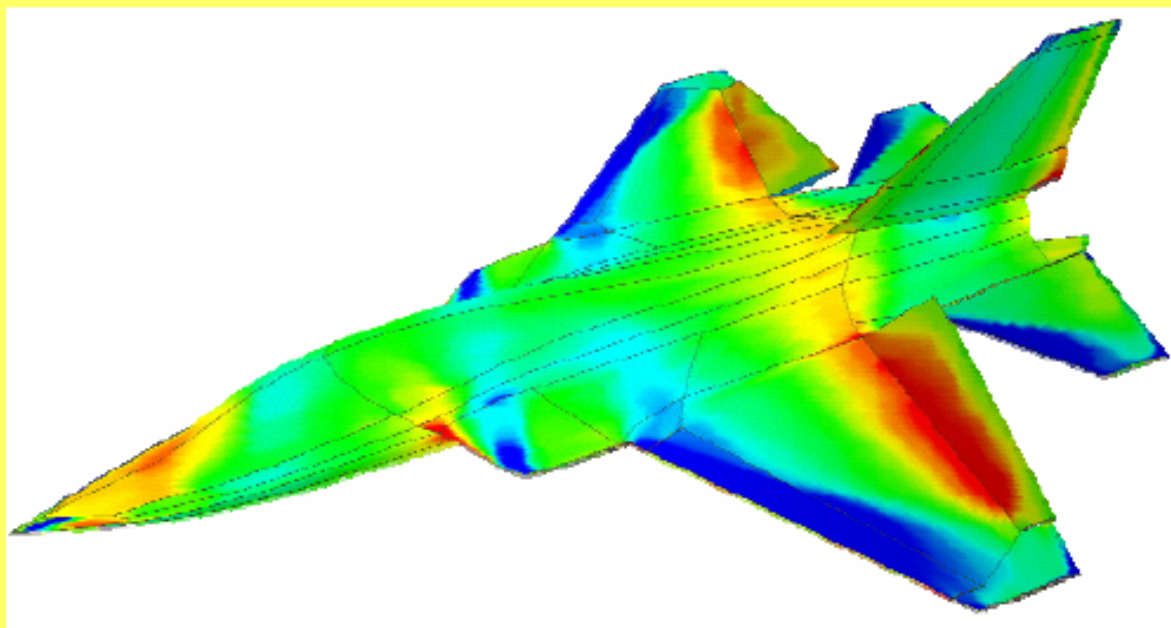




# Využití – Automobily, letadla

- \* Pressure-sensitive Paints (PSPs) and
- \* Temperature-Sensitive Paints (TSPs)

Used to "photograph"  
pressure (in fact oxygen)  
or temperature



*Book: T. Liu, J. P. Sullivan, Pressure and Temperature Sensitive Paints, 2005, Springer.*

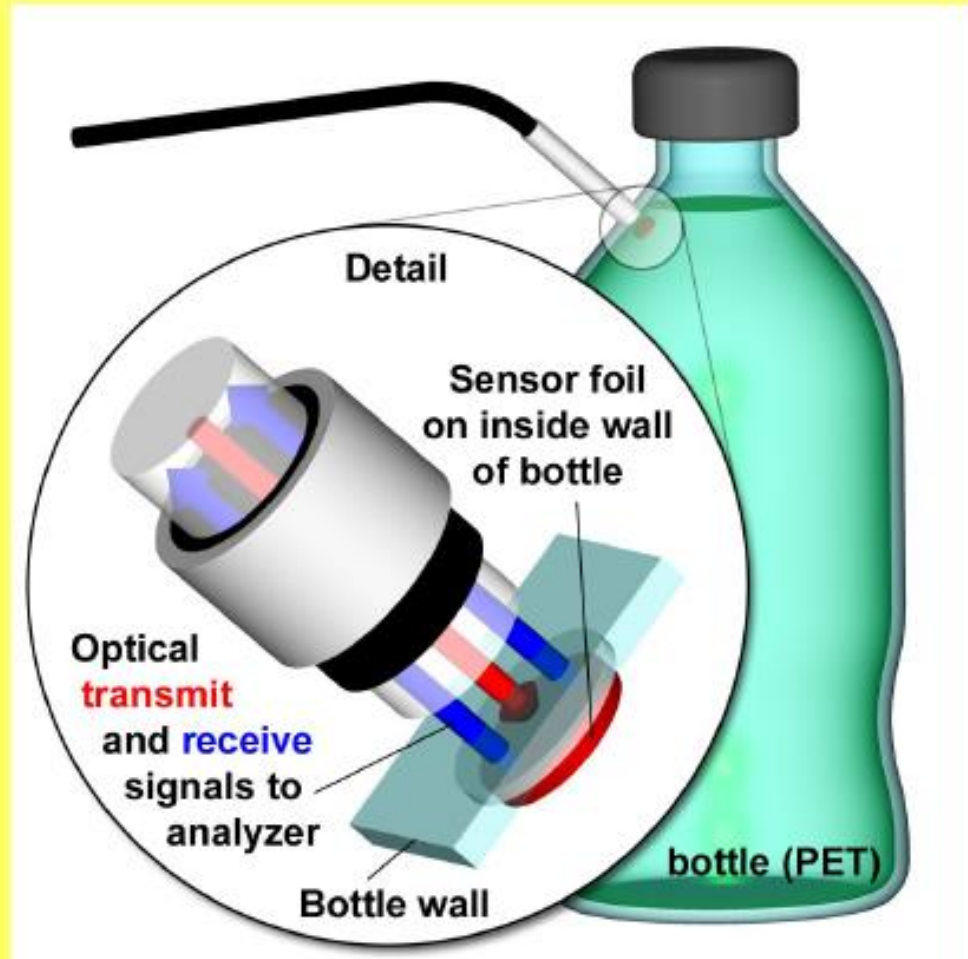


# Využití – Potravinářství, Farmacie

**PET is permeable to oxygen and CO<sub>2</sub>**

- \* CO<sub>2</sub> diffuses out
- \* O<sub>2</sub> diffuses in

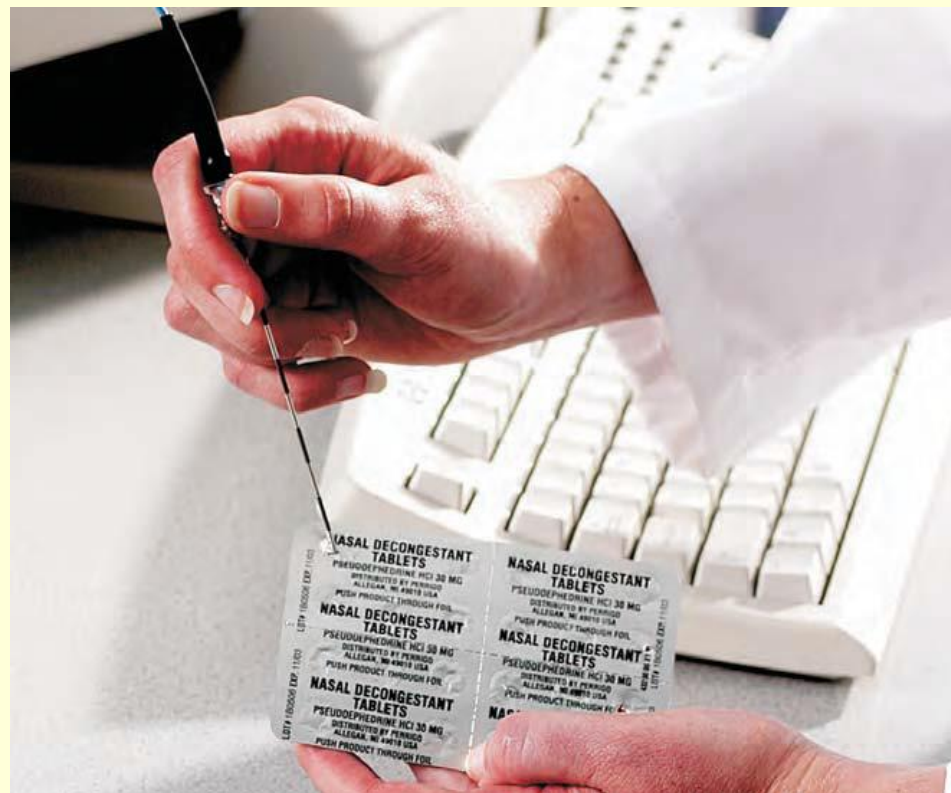
**Sensor Spots Placed Inside the Bottle**



**This is a large market that cannot be covered by electrochemical sensors**



# Využití – Farmacie

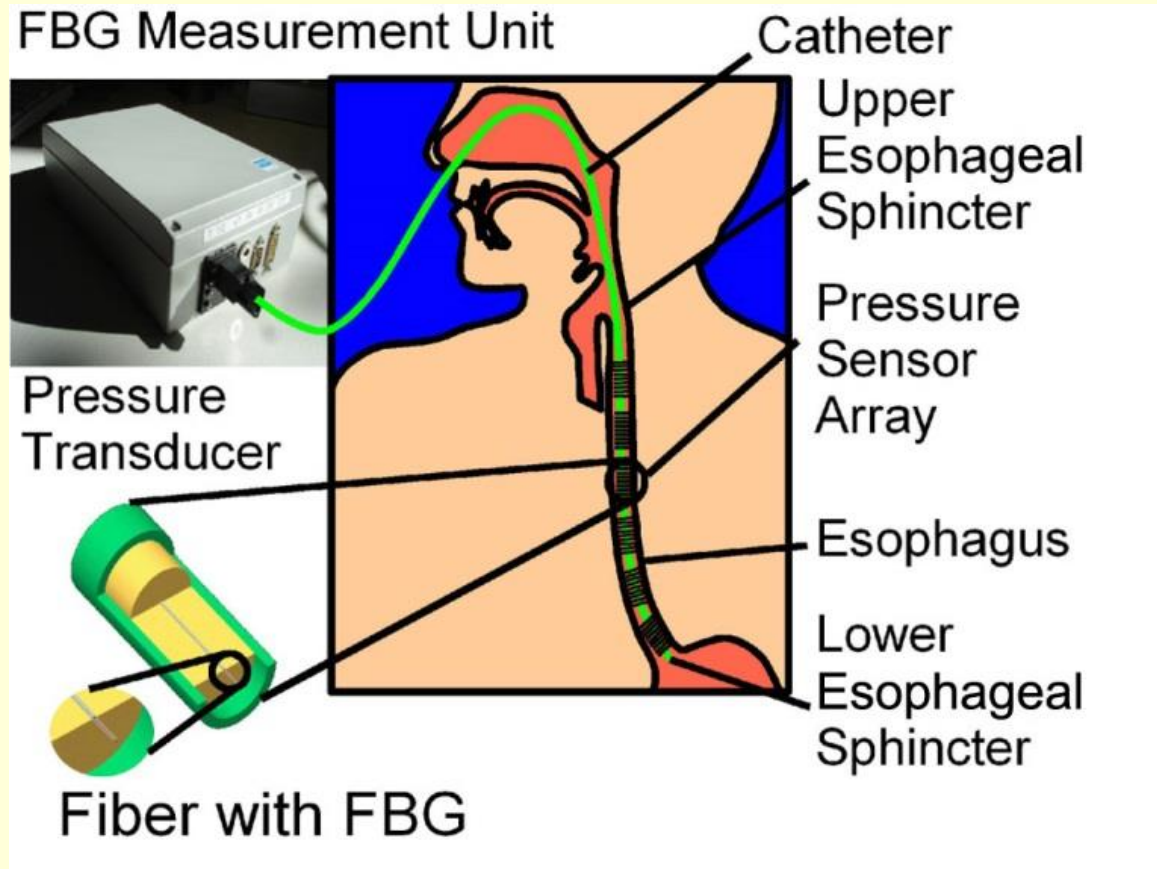


**Měření úplnosti produktu**

**Měření obsahu**



# Využití - Lékařství



Vláknově-optický sensor s Braggovskými mřížkami pro tlakové změny jícnu  
M. Becker et al., 10 July 2012, SPIE Newsroom. DOI: [10.1117/2.1201206.004243](https://doi.org/10.1117/2.1201206.004243)

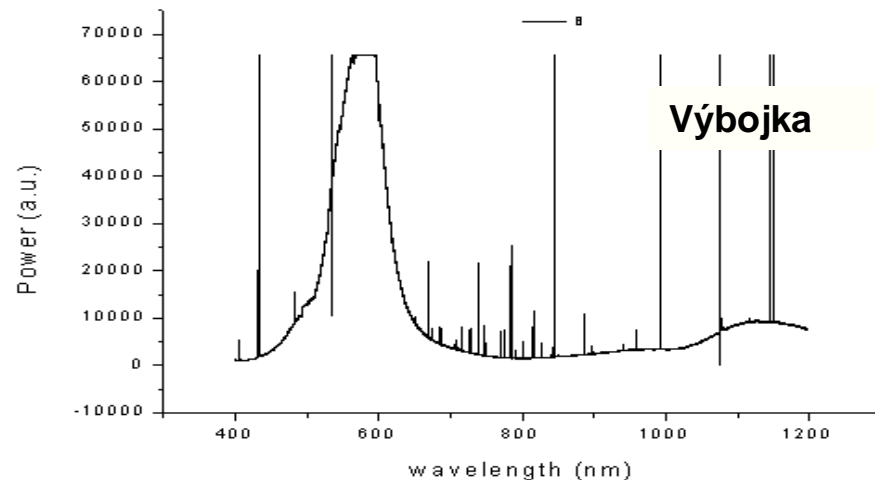
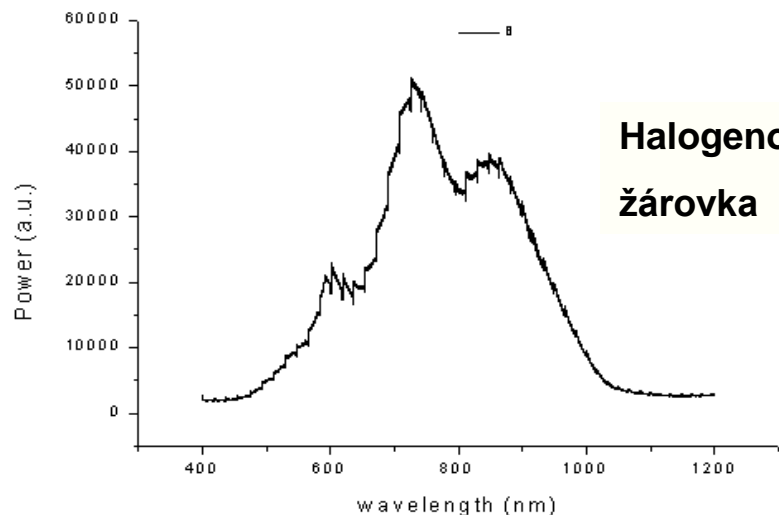


## **Zdroje světla**

- Širokopásmové žárovky, výbojky
- LED – „Light emitting diode“, LD- „Laser diode“
- Lasery zejména polovodičové
- QCL – „Quantum cascade laser“



# Žárovky a výbojky



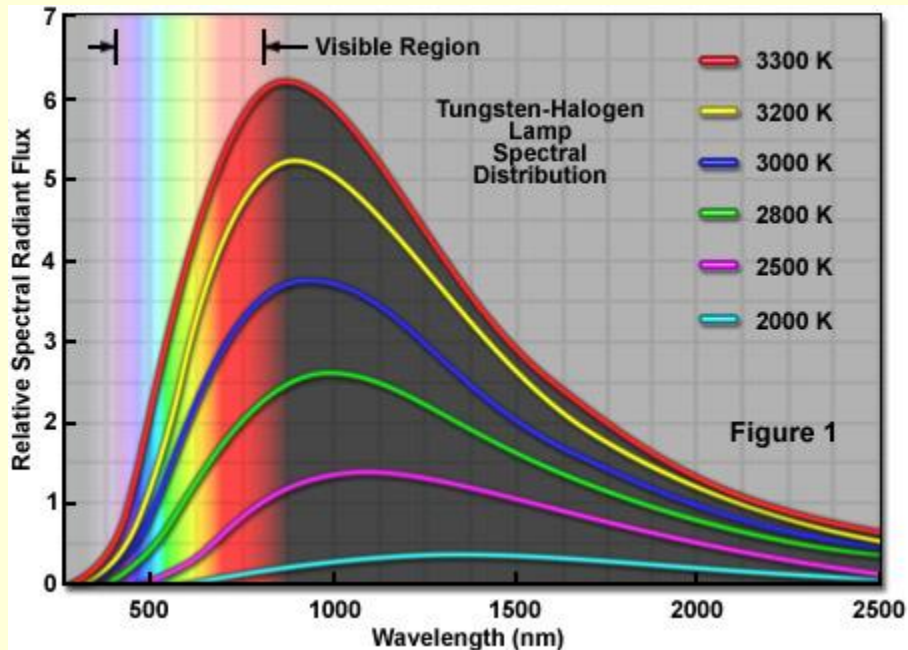
**Využívají záření elektricky zahřátého emisního prvku (W spirála) nebo výboje v el. oblouku (Hg výbojka)**

**Intenzivní, širokopásmové zdroje, finančně dostupné; nutné kombinovat se spektrometry nebo filtry**





# Žárovky a výbojky



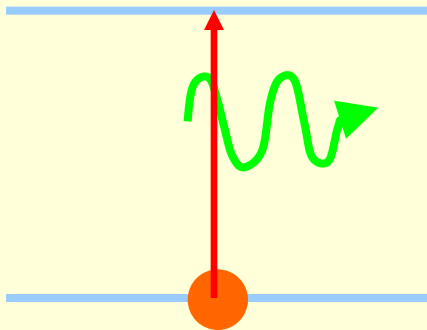
Halogenová lampa HL-2000  
360-2400 nm

Halogenová žárovka je vhodná i do blízké IČ oblasti

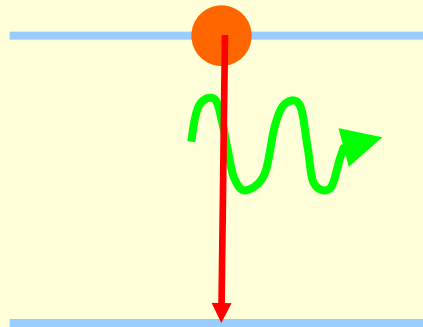


# Luminiscenční zdroje – LED

Čerpání (elektrické,  
optické)



Spontánní  
emise (LED)



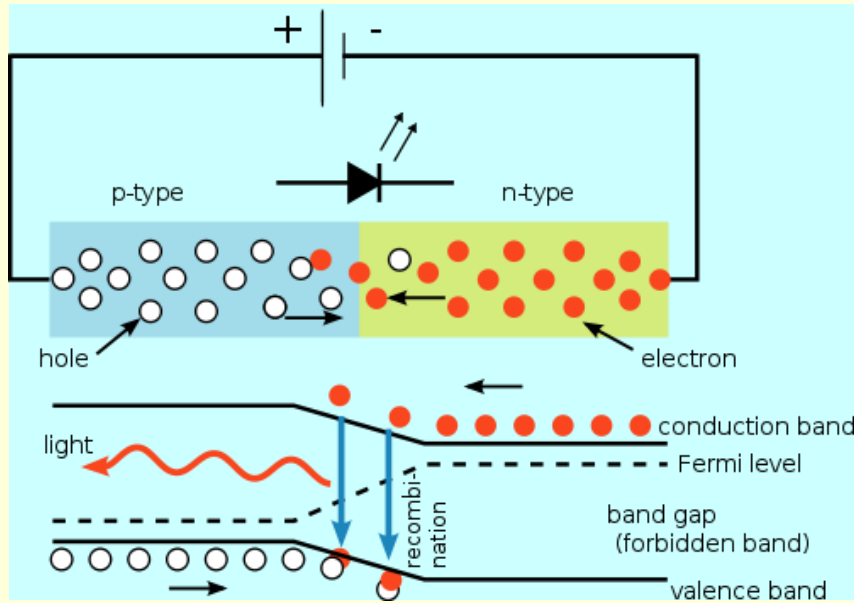
LED využívají spontánní emise fotonu vzniklé při přechodu elektronu z vyšší na nižší energetickou hladinu.

Dnes jsou LED tvořeny polovodivými materiály

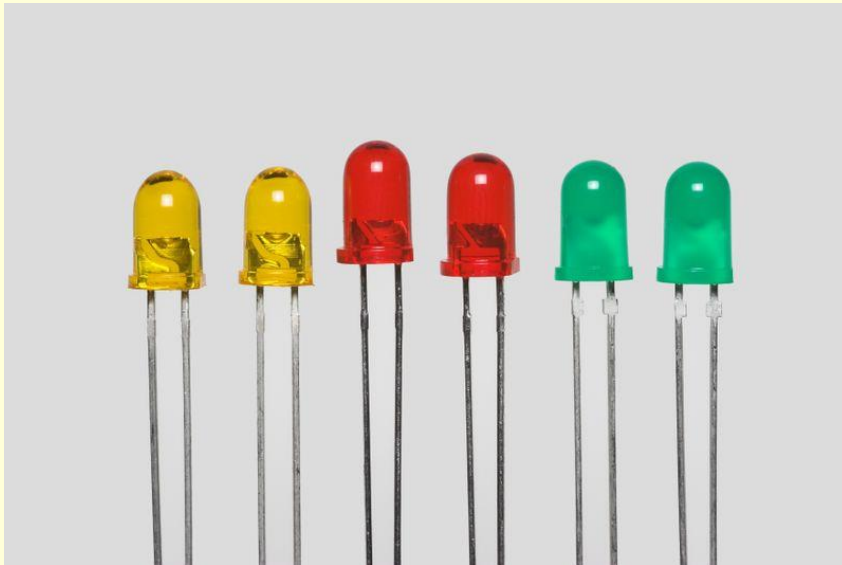




# LED



Elektroluminiscence  
elektrony jsou elektricky  
vyčerpány do  
vodivostního pásu  
polovodiče, rekombinací s  
děrami dojde k vyzáření  
fotonu



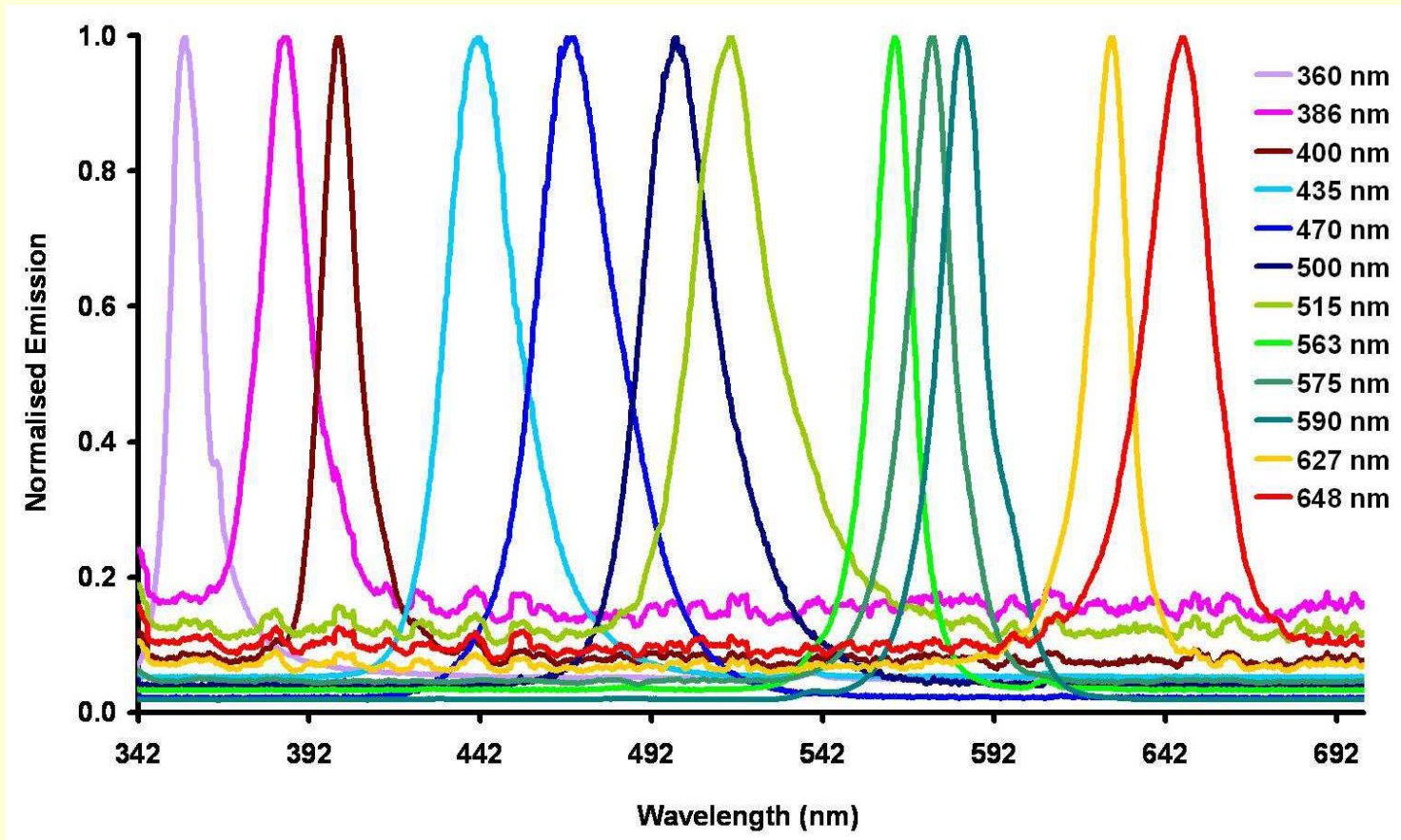
# LED-materiály

Barva	Vlnová délka [nm]	Napětí [V]	Materiál
IČ	>760	< 1,9	GaAs, AlGaAs
Červená	610 – 760	1,63-2,03	AlGaAs, GaAsP, AlGaInP, GaP
Oranžová	590-610	2,03-2,10	GaAsP, AlGaInP, GaP
Žlutá	570-590	2,10-2,18	GaAsP, AlGaInP, GaP
Zelená	500-570	1,90-4,00	InGaN/GaN, GaP, AlGaInP, AlGaP
Modrá	450-500	2,48-3,7	ZnSe, InGaN, SiC, Si
Fialová	400-450	2,76-4,00	InGaN, Červená/modrá LED + fialový luminofor
UV	<400	3,10-4,40	Diamant (215 nm), AlN (210 nm), AlGaInN (<210 nm)

**Bílé LED – kombinace modrá, zelená, červená LED nebo modrá LED s vhodným emitujícím materiálem**



# LED emise



**Pološířka emitovaného pásu ~ 30-50 nm**

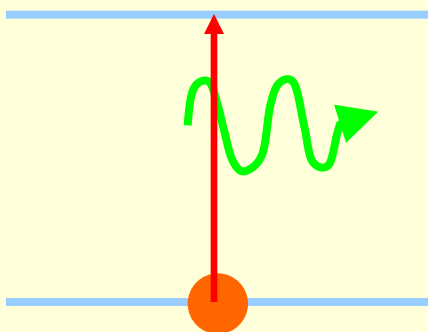
- see e.g.:

M. O'Tool, D. Diamond, Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices, *Sensors* 8, 2453-2479, 2008

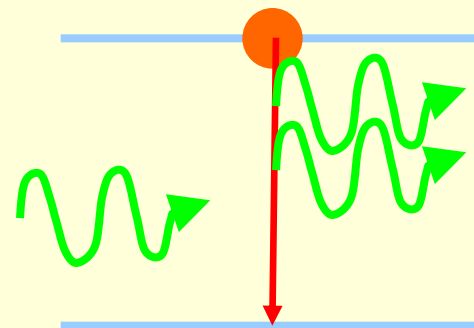


# Lasery, laserové diody - LD

Čerpání (elektrické,  
optické)



Stimulovaná  
emise (LD)



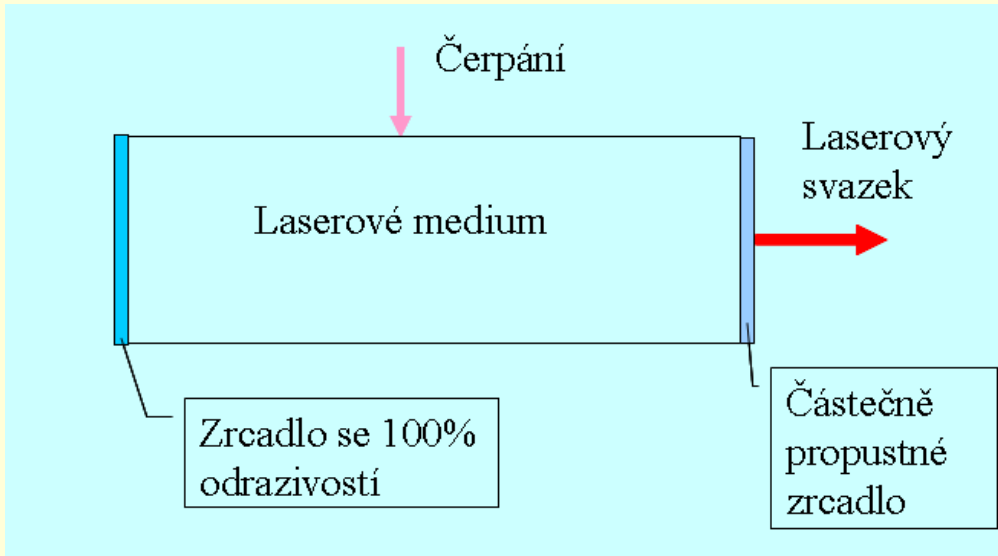
Stimulovaná emise: elektron z vyšší hladiny přejde na nižší interakcí s fotonem. Výsledkem jsou dva fotony se stejnou frekvencí, polarizací a fází – využití lasery

Podmínky pro laserovou akci:

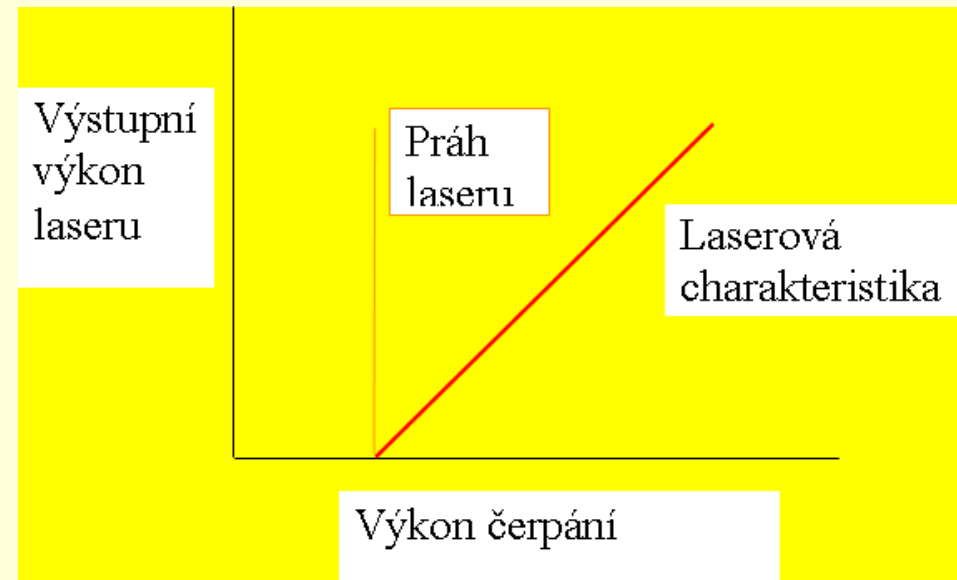
1. Inverzní populace (více elektronů ve vodivostním pásu, než ve valenčním).
2. Zdroj fotonů pro stimulovanou emisi - resonátor.



# Laserový resonátor

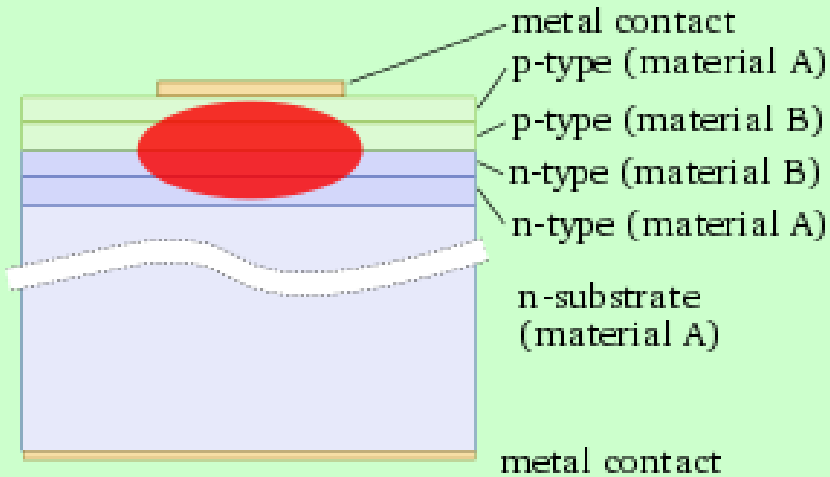


Odraz fotonů od zrcadel resonátoru poskytuje fotony pro stimulovanou emisi. Laserový výstup je možný až po pokrytí ztrát resonátoru, tj. po překročení prahu laseru.



# Polovodičové lasery - LD

DH laser



485 nm – excitation of GFP and other fluorescent dyes

760 nm – AlGaInP sensor: O<sub>2</sub>

1512 nm – InGaAsP sensor: NH<sub>3</sub>

1654 nm – InGaAsP sensor: CH<sub>4</sub>

1877 nm – GaSbAs sensor: H<sub>2</sub>O

2004 nm – GaSbAs sensor: CO<sub>2</sub>

2330 nm – GaSbAs sensor: CO

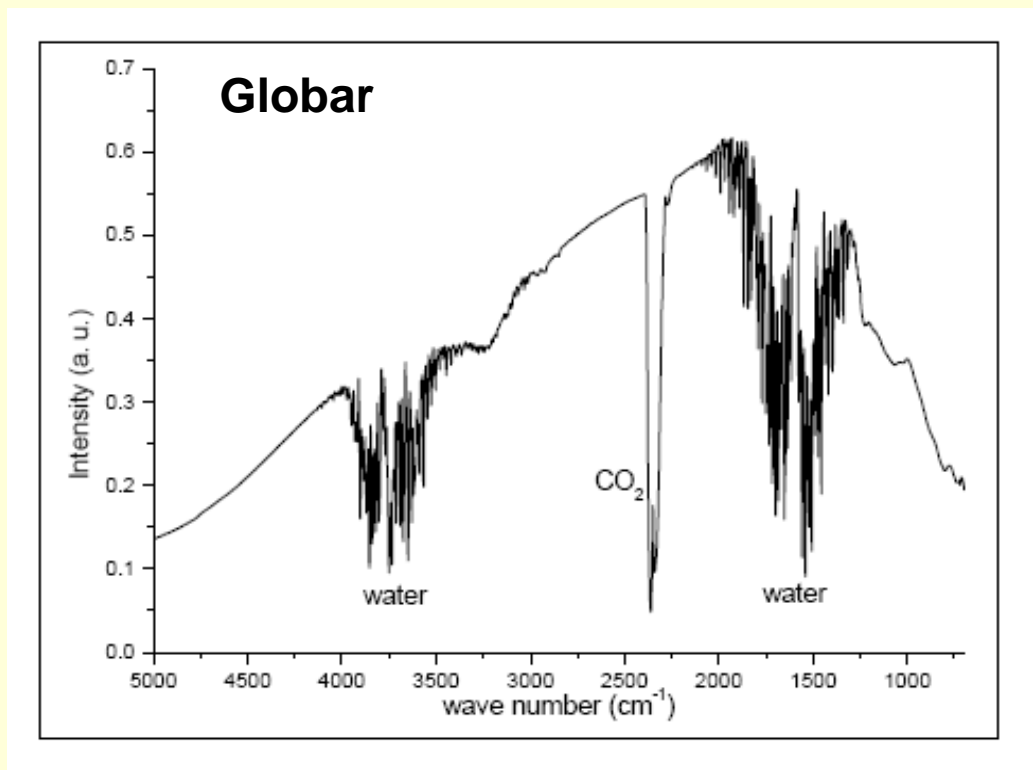
2680 nm – GaSbAs sensor: CO<sub>2</sub>

Stimulovaná emise na rozhraní p- a n- polovodiče. Podstatně užší spektrum výstupního svazku než u LED (~nm), koherentní záření

- see e.g.: [http://en.wikipedia.org/wiki/Laser\\_diode](http://en.wikipedia.org/wiki/Laser_diode)



# Zdroje pro střední IČ oblast (Globalar, vysokotlaká Hg výbojka)



**Globalar: - SIC žhavený asi na 1550 K -  
širokopásmový zdroj k němuž je nutný IČ  
spektrometr (FTIR) nebo vhodné filtry.**

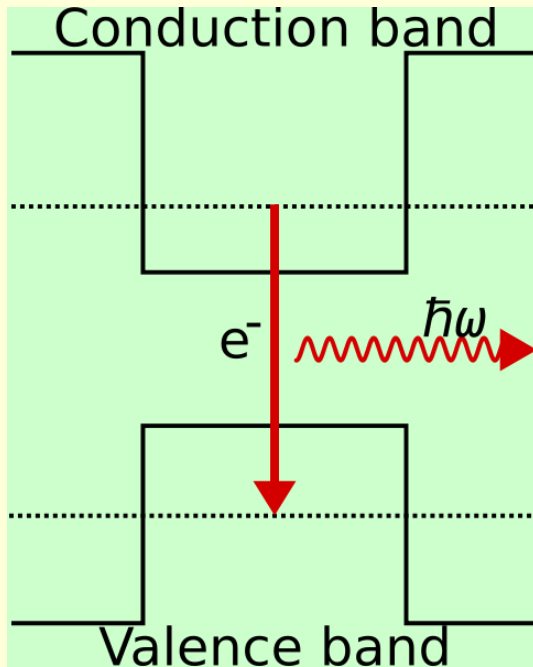


# Lasery pro střední IČ oblast

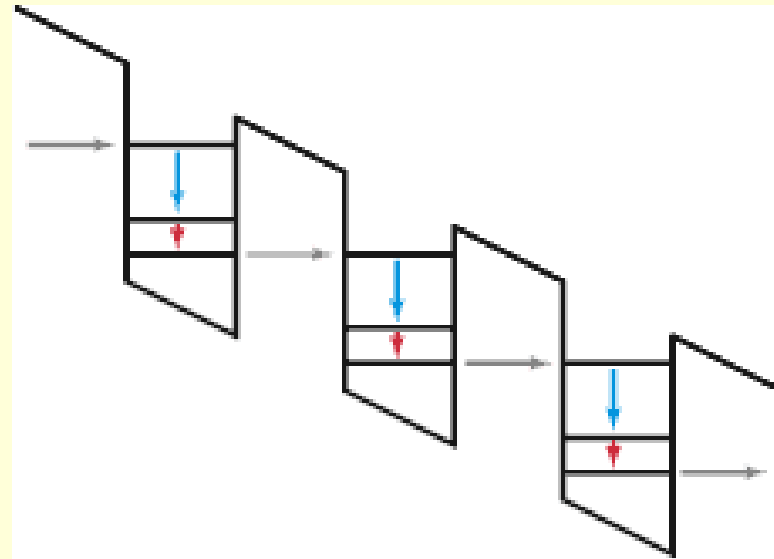
Polovodiče:  $\text{Pb}_x\text{Sn}_{1-x}\text{Te}$  ( $\text{Pb}_x\text{Eu}_{1-x}\text{Se}_y\text{Te}_{1-z}$ ). Zakázaný pás 0.5 eV., funkce pod 200 K (nutné chladiče s kapalným dusíkem). Proto se používají kvantové kaskádové lasery (QCL)

Ne objemové materiály, ale kombinace tenkých vrstev s různými energiemi (kvantové jámy), mezi nimiž mohou elektrony tunelovat

## Standardní LD



## QCL



- zářivý přechod, -- nezářivý přechod,
- tunelování elektronů





# *Kvantové kaskádové lasery*

**Široké rozmezí vlnových délek:**

**InGaAs/AlInAs 3,5-24  $\mu\text{m}$**

**Ladění, tj. vlnová délka, tloušťkou vrstvy**

**Vysoké optické výkony  $\sim 1\text{W}$**

**Výstupní paprsek je polarizovaný**

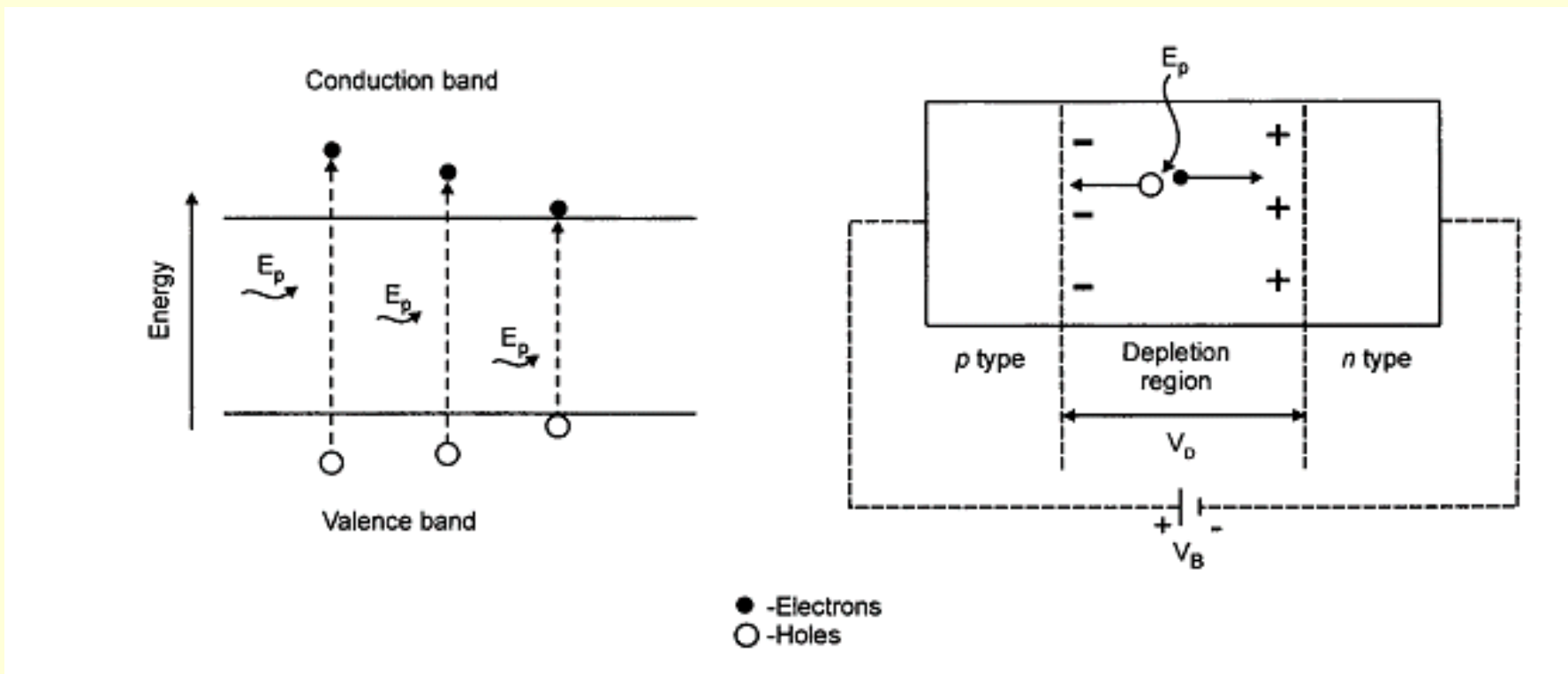
**Pracují při teplotách dosažitelných  
elektrickým chlazením**



# Detektory

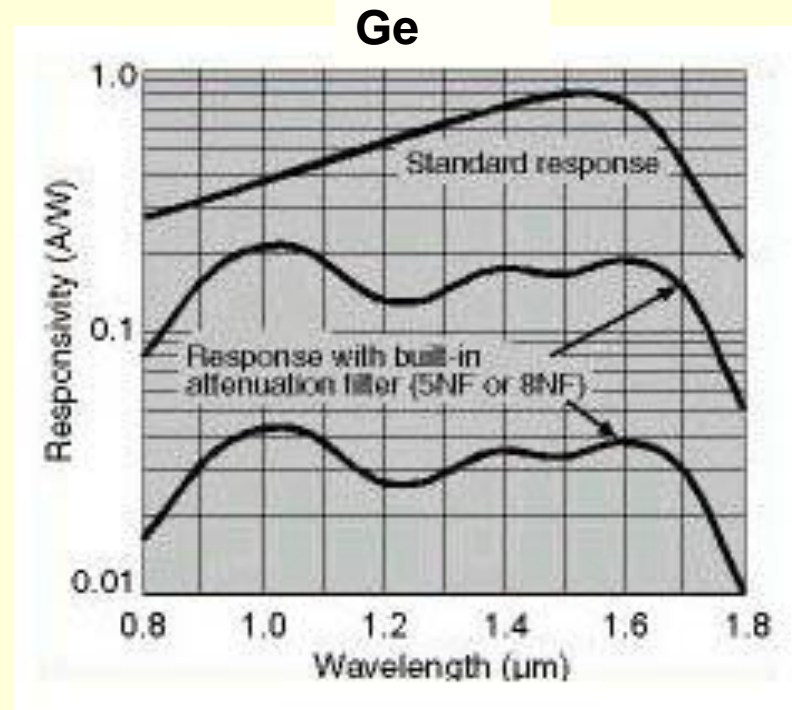
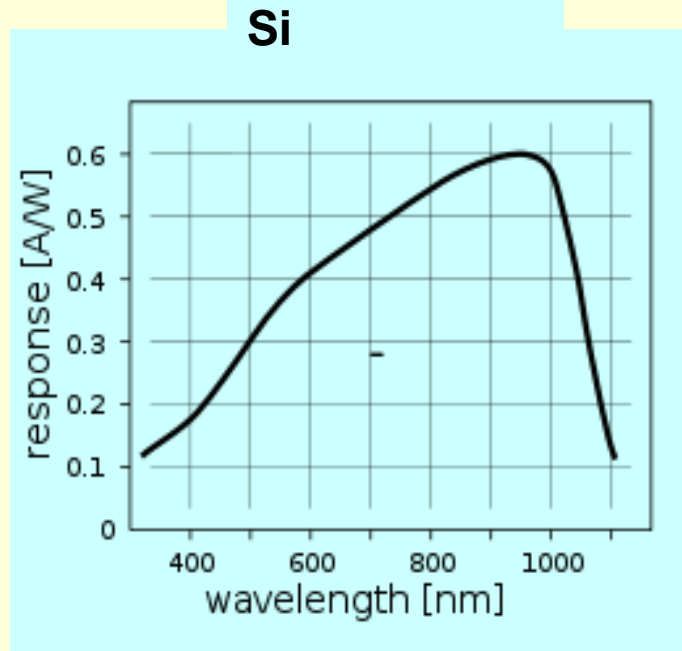
## Polovodičové fotodiody (Si, Ge, InGaAs)

Tvorba páru **elektron – díra** při ozáření polovodiče , vliv připojeného vnějšího napětí



# Detektory

Fotodiody (Si, Ge, InGaAs) – levné, mechanicky stabilní; šum

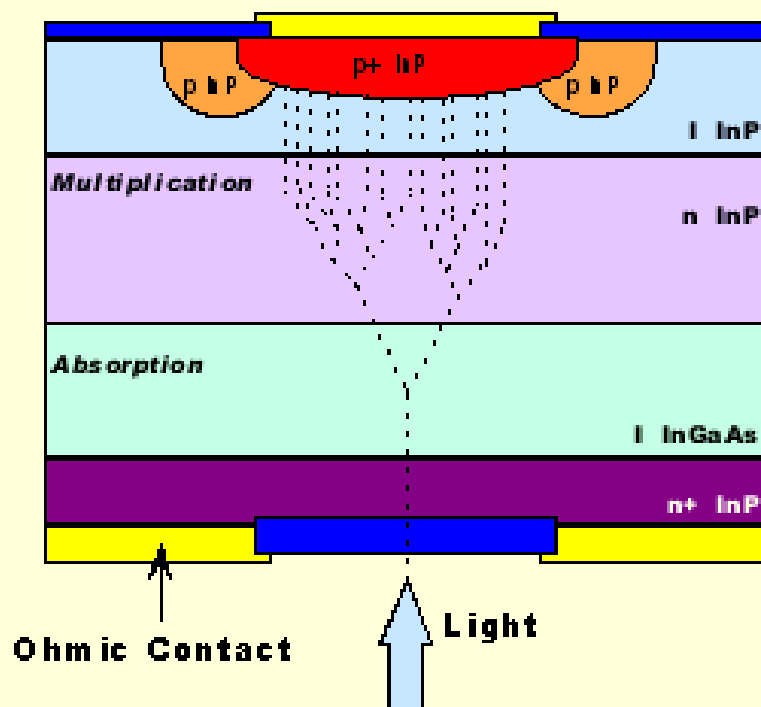


Materiál	Si	Ge	InGaAs
Rozsah $\lambda$ [nm]	190-1100	400-1700	800-2600



# Detektory

Lavinové fotodiody (polovodiče) – menší šum, citlivější než standardní fotodiody – zesílení 100-1000

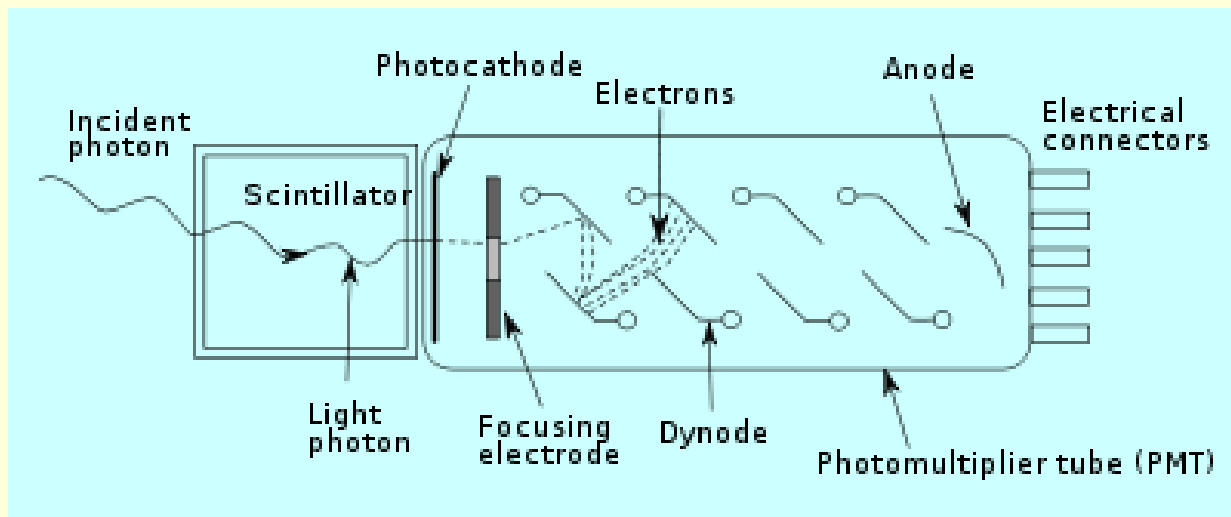


Foton způsobí tvorbu elektron-díra páru. Přiložené napětí (spád  $>10^5$  V/cm) urychluje elektrony, které působí ionizaci dalších elektronů - lavinový jev.



# Detektory

Fotonásobiče – vysoce citlivé, zesílení až  $10^6$



**Fotoelektrický jev  
a sekundární  
emise elektronů z  
dynod**



# Detektory

Blízká IČ (NIR), 0.7 - 1.0  $\mu\text{m}$ . – Si fotodetektory

Krátko-vlnná IČ (Short-wave IR) 1.0 - 3  $\mu\text{m}$ ; Ge fotodetektory do 1.8  $\mu\text{m}$  InGaAs asi do 2.6  $\mu\text{m}$ ; méně citlivé sloučeniny olova do 3  $\mu\text{m}$

Střední IČ (Mid IR), 3 - 5  $\mu\text{m}$ ; InSb HgCdTe, PbSe

Dlouhovlnná IČ (Long-wave IR): 8 – 12 nebo 7- 14  $\mu\text{m}$ ; HgCdTe a mikrobolometry (tepl. závislé odpory)

Tyto detektory využívají záření z celého spektrálního pásma, v němž jsou citlivé. Pro detekci na užším spektrálním pásmu se musí doplnit filtry, spektrometry

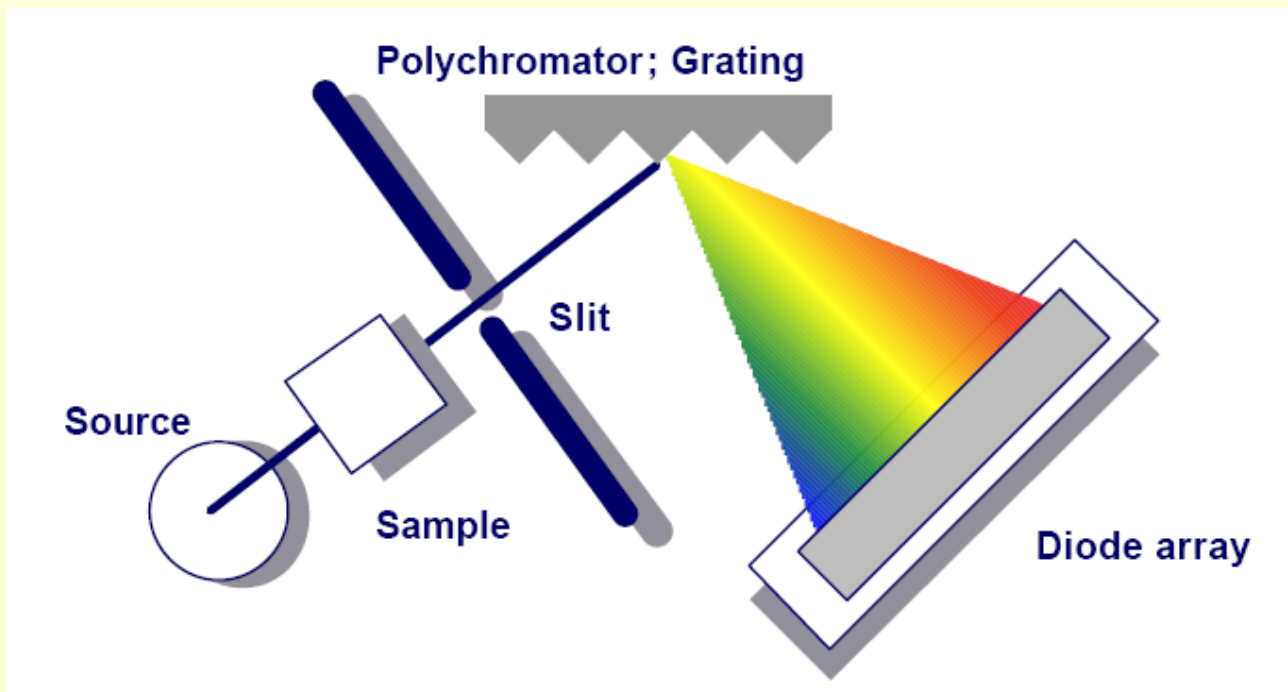
- see e.g.:

M. O'Tool, D. Diamond, Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices, *Sensors* 8, 2453-2479, 2008



# Detektory

## Spektrometry mřížkové s diodovými poli



**Pole fotodiod elektronicky  
vyhodnocované**



# Spektrometry – VIS, NIR



200-1100 nm/0,3 nm



900-2100 nm (typ 256)

**Cenově dostupné, rozměrové malé, vstup  
pro optická vlákna, výstup na PC**





# ***Detekční prvky***

Část senzoru, kde dochází k interakci světla a detekované veličiny

## Optické vlnovody

- planární vlnovody,
- optická vlákna,
- optické rezonátory (WGM mikrorezonátory)
- optická kónická vlákna - tapery

## Objemové optické prvky

- optické hranoly
- folie, sklíčka

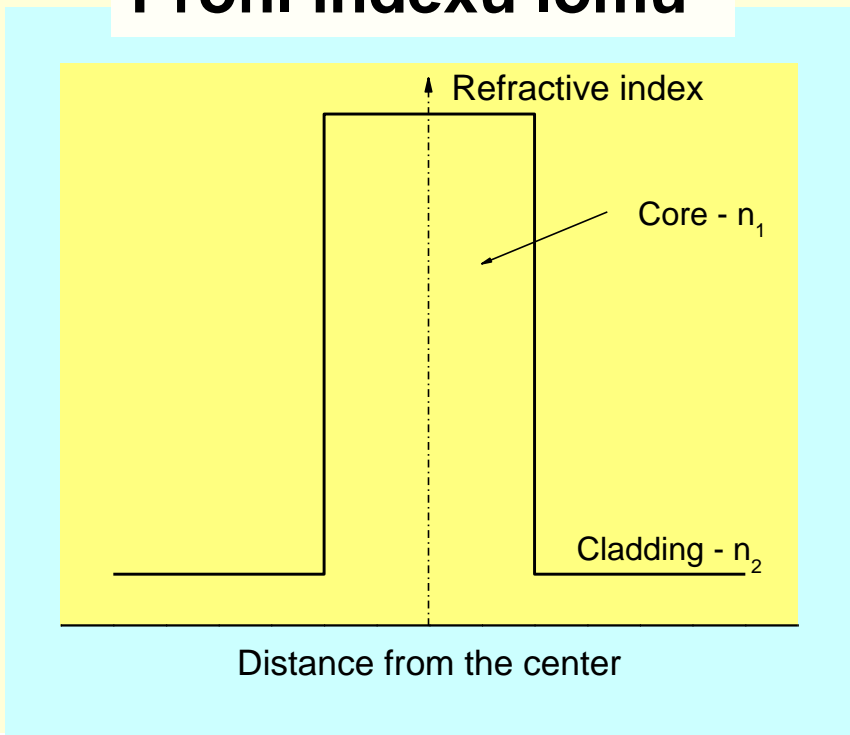


# Vlnovody

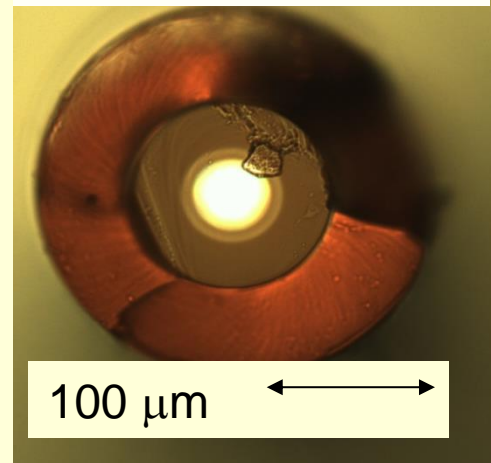
Struktury (prvky) vedoucí elektromagnetické nebo zvukové vlny na vzdálenosti  $L(\text{cm-km}) \gg$  příčné rozměry ( $\mu\text{m}$ ).

Optické vlnovody sestávají z oblasti s vyšším indexem lomu – **jádro (core)** obklopené materiálem s nižším indexem lomu – **optický plášť (cladding)**. **Světlo je z více než 99% vedeno v jádře vlnovodu.**

Profil indexu lomu



Řez vláknem mikroskop



# Optický vlnovod - Fyzika

- Světlo ve vlnovodu se vede ve formě **optických vidů**
- Přesný popis šíření světla ve vlnovodu se získá řešením **Maxwellových rovnic elmg. pole** pro materiál bez zdrojů náboje. Určují vektory **E, B**.

## Předpoklady

- Dielektrický nemagnetický materiál, harmonické časové změny pole (sin, cos), spojitost elektrického a magnetického pole na rohyhraní jádro/plášť; malé rozdíly indexu lomu mezi jádrem a pláštěm

Viz: A.W. Snyder, J.D. Love, Optical waveguide theory, Chapman and Hall, 1987



# Skalární vlnová rovnice (SWE) (válcový vlnovod – optické vlákno)

$$\left( \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2}{\partial \varphi^2} + k_{rn}^2 \right) \begin{pmatrix} E_z \\ H_z \end{pmatrix} = 0$$

$$k_{rn}^2 = n(r, \varphi)^2 k^2 - \beta^2$$

$r, \varphi$  - válcové souřadnice,  $n(r, \varphi)$  – profil indexu lomu (refractive-index profile),  $k=2\pi / \lambda$  - vlnový vektor,  $\lambda$  - vlnová délka,  $\beta$  - fázový parameter-konstanta šíření

**V důsledku malých rozměrů vlnovodů jsou dovolené jen některé hodnoty  $\beta$  (vlastní hodnoty) pro něž  $E_z$  (energie) je soustředěno v jádře**

$$\beta = F(n, \text{rozměrů}, \lambda)$$

$$k n_2 < \beta < k n_1$$

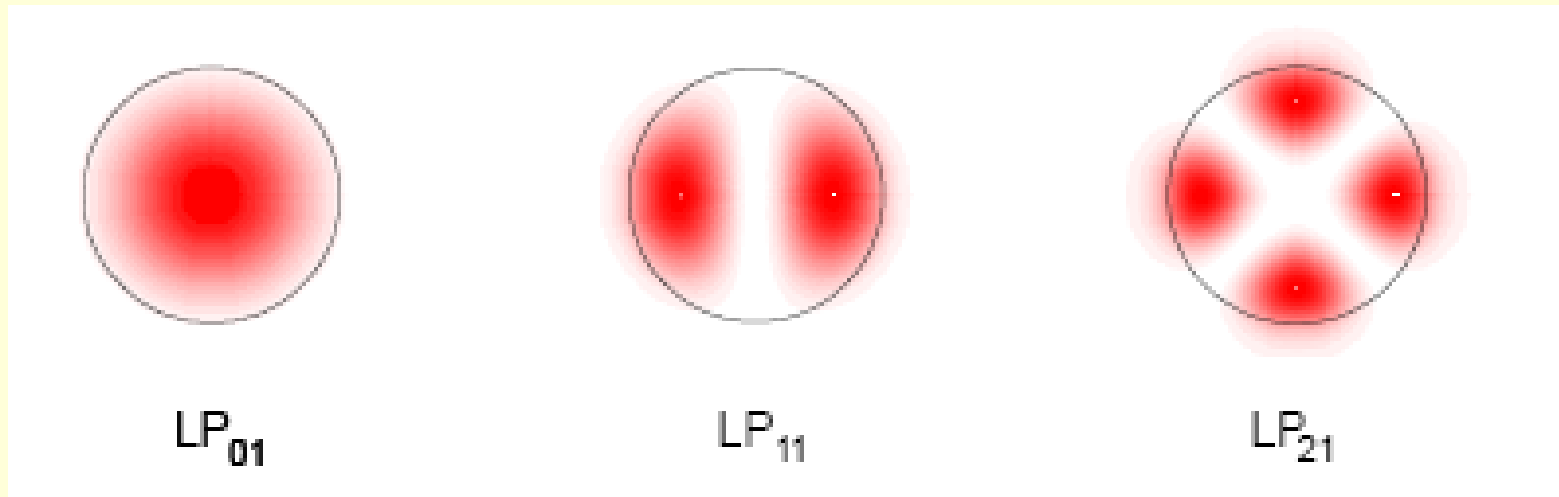


# Řešení SWE

$$E_z, (H_z) = F(r, \varphi, \beta)$$

*vlastní funkce („eigenfunctions“) – vedené optické vidy („mode“), tj. způsoby šíření světla, pro vlastní hodnoty („eigenvalues“)  $\beta$ .*

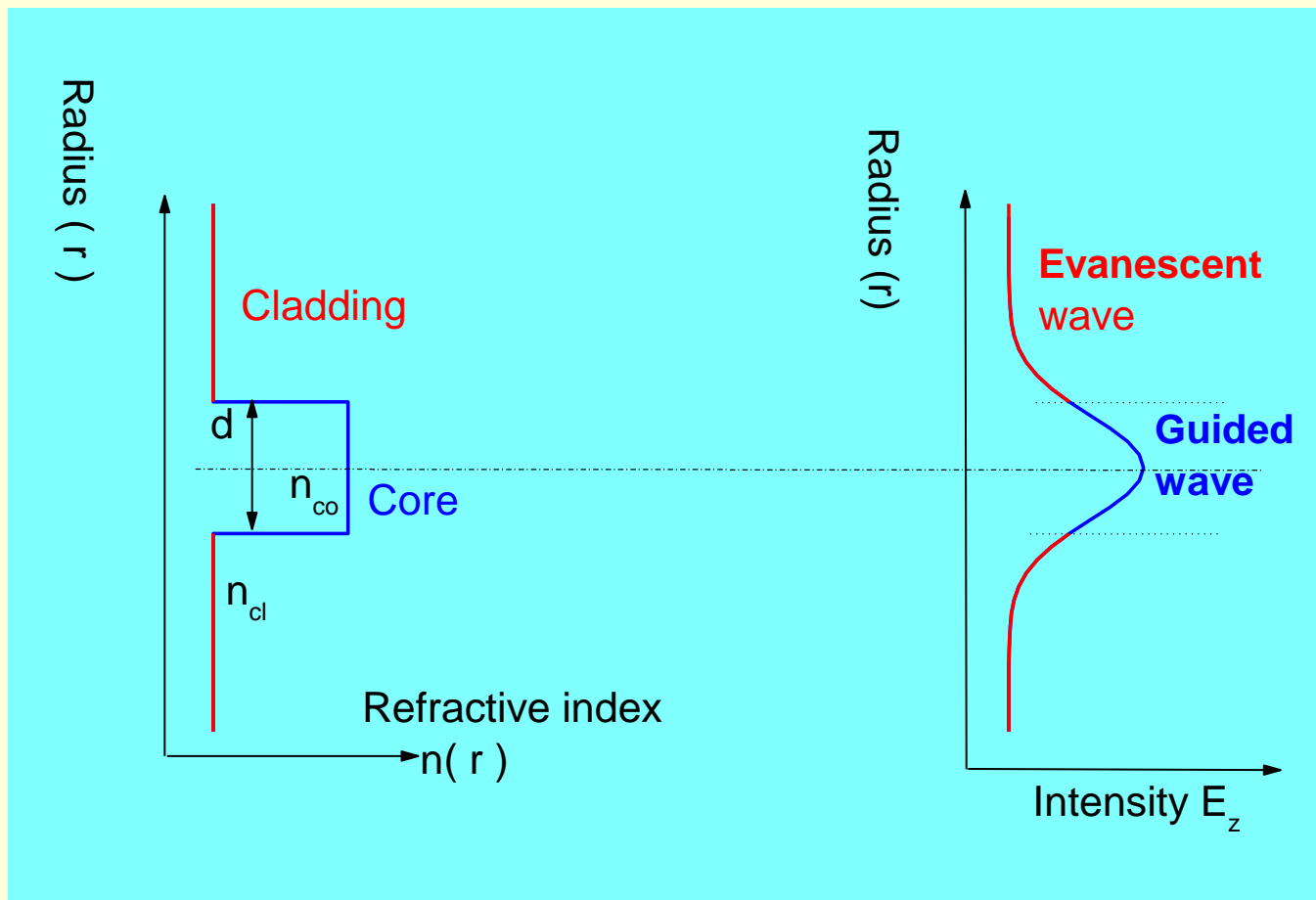
## Příklady vidů optického vlákna



**Optický vid zasahuje i mimo jádro**



# Základní vid – Gaussova křivka



Optický vid=vedená vlna + evanescentní vlna

Exponenciální pokles amplitudy vlny od hranice jádro/plášť (evanesc. Vlna) . **Více než 99% výkonu vedeno v jádře**



# Vlastnosti vedených vidů

- Konečný počet ( $N_g$ )

optických vidů = vedená vlna + evanescentní vlna

s konstantami šíření  $\beta$

Vlastní funkce jsou vyjádřeny goniometrickými a exponenciálními funkcemi u planárních vlnovodů a Besselovými funkcemi u vláknových vlnovodů.

- See e.g. :

A.W. Snyder, J.D. Love, „Optical waveguide theory“, Chapman and Hall, 1987



# Optické vidy

$$N_g \approx \frac{V^2}{2} = \frac{k^2 a^2}{2} NA^2 = \frac{\left(\frac{2\pi}{\lambda}\right)^2 a^2}{2} (n_1^2 - n_2^2)$$

$a$  – poloměr jádra,  $NA$  - numerická apertura (definuje limitní úhel pro excitaci vedených vidů),

$V$  - normalizovaná frekvence

*e.g.  $a=50 \mu m$ ,  $NA=0.21$ ,  $\lambda=1 \mu m$ ,  $N_g \approx 2200$ .*

$N_g > 1$  – Mnohavidové vlnovody

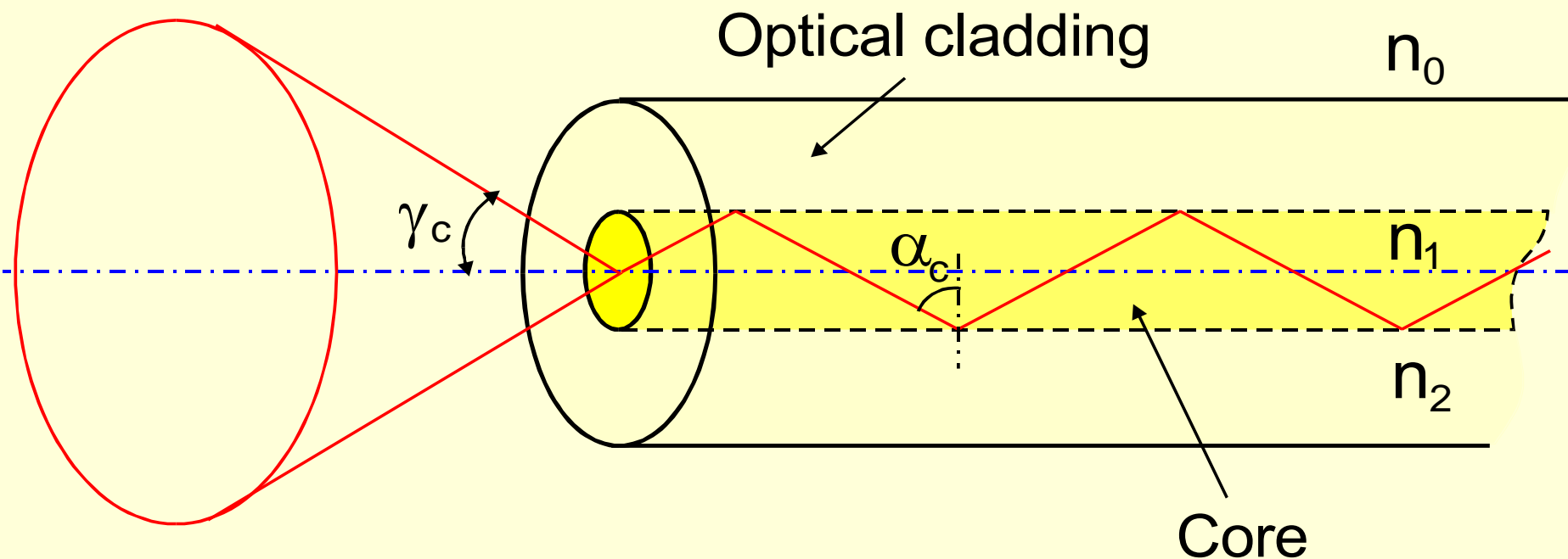
$N_g = 1$  – Jednovidové vlnovody





# Numerická apertura

maximální úhel pod kterým světlo navázané do jádra vlnovodu je vedeno v jádře.



$$NA = n_0 \sin \gamma_c = \sqrt{n_1^2 - n_2^2}$$

Typické hodnoty NA: 0.10 – 0.5

# Paprsková optika

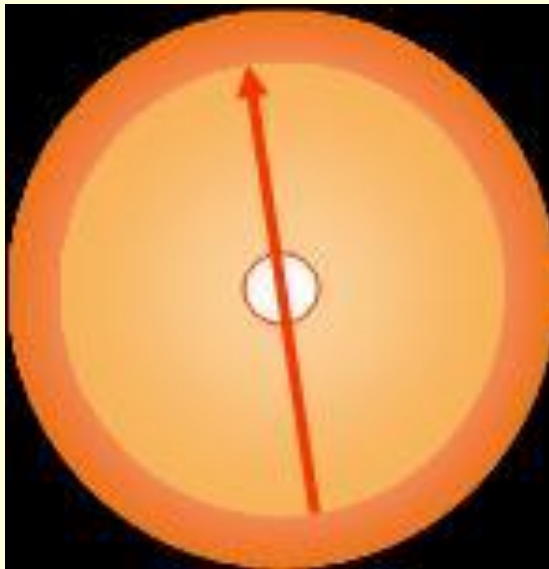
- Pro  $N_g \gg 1$  and  $a \gg 1$   $E_z$  (*optický vid*) může být aproximován rovinnou vlnou, jejíž šíření je reprezentováno optickým paprskem (mód je reprezentován paprskem).
- V paprskové optice je vedení světla v optickém vlnovodu popsáno **úplným odrazem světla** (total reflection of light) na rozhraní jádro/plášť.



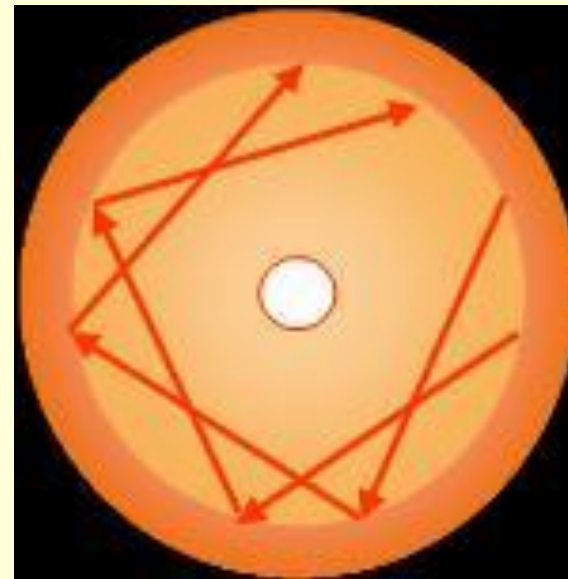
# Typy optických paprsků

- Dva typy paprsků – osově (meridional) a kosé (skew); Kosé neprocházejí středem vlnovodu

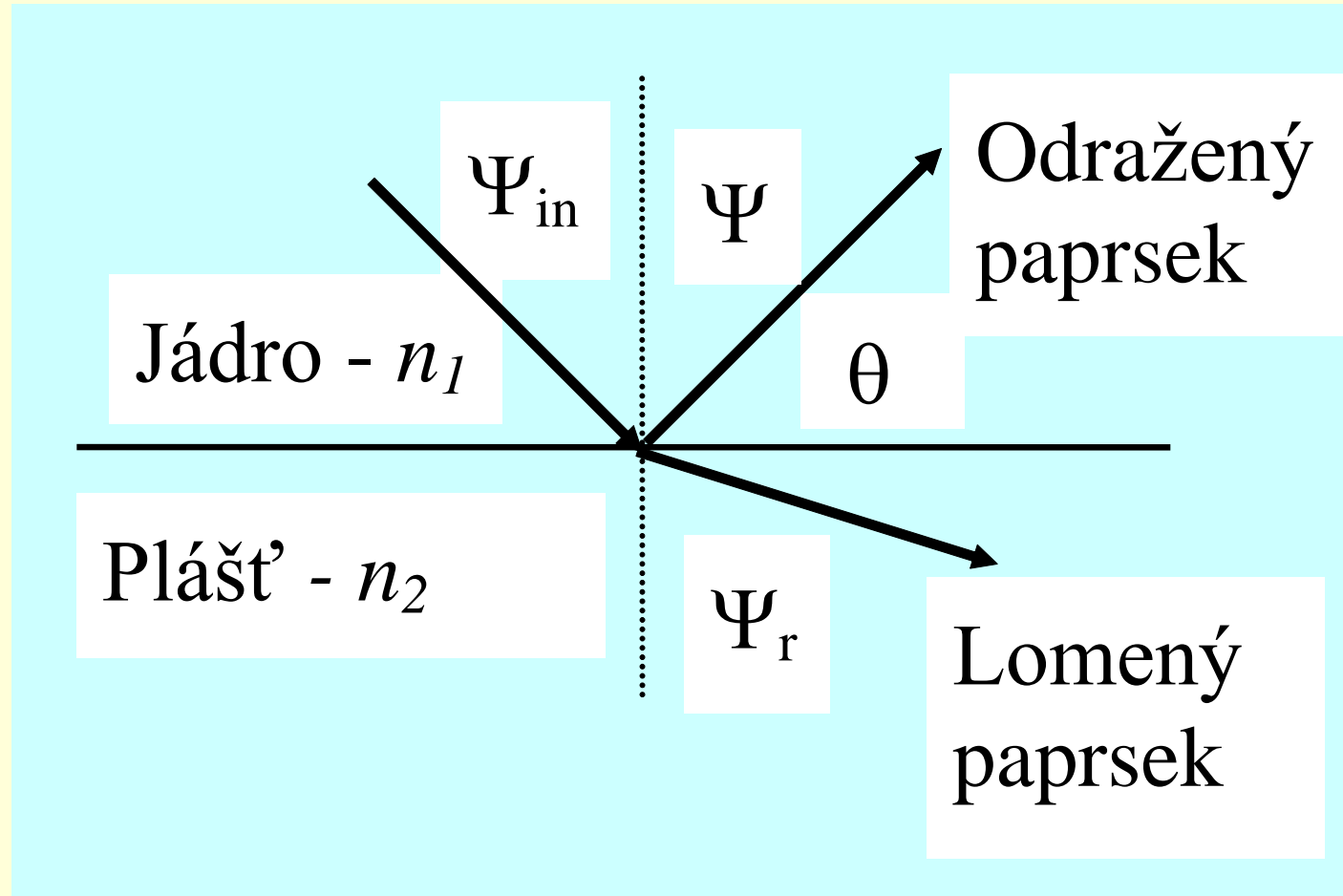
Meridional



Skew



# Odraz (lom) světla



$\theta = 90 - \Psi$  – osový úhel („angle of incidence“)



# Rovnice paprskové optiky

- Snellovy zákony
- Odraz:  $\Psi_{in} = \Psi_r$
- Lom:  $n_1 \sin \Psi_{in} = n_2 \sin \Psi_r$

- Úplný odraz –  $n_2 < n_1$

$$\Psi_r = 90^\circ \Rightarrow \Psi_{in} = \Psi_c$$

$$n_1 \sin \Psi_c = n_2$$

Paprsky s  $\Psi_{in}$  mezi  $90^\circ$  a  $\Psi_c$  jsou vedeny v jádře úplným (totálním odrazem)

$$\beta_i = n_1 \cos \theta_i$$

- Rozdělení optického výkonu mezi odražený a lomený paprsek určuje **odrazivost R** (energetický koeficient odrazu, reflexní koeficient).



# Odrazivost R na rozhraní: Fresnelovy vztahy

$$\Gamma^{(TE)} = \frac{\sqrt{1 - \sin^2 \Psi} - \sqrt{1 - \sin^2 \Psi} \frac{\varepsilon_1 \mu_1}{\varepsilon_2 \mu_2} \sqrt{\frac{\varepsilon_2 \mu_1}{\varepsilon_1 \mu_2}}}{\sqrt{1 - \sin^2 \Psi} + \sqrt{1 - \sin^2 \Psi} \frac{\varepsilon_1 \mu_1}{\varepsilon_2 \mu_2} \sqrt{\frac{\varepsilon_2 \mu_1}{\varepsilon_1 \mu_2}}}$$

$$\Gamma^{(TM)} = \frac{\sqrt{1 - \sin^2 \Psi} - \sqrt{1 - \sin^2 \Psi} \frac{\varepsilon_1 \mu_1}{\varepsilon_2 \mu_2} \sqrt{\frac{\varepsilon_1 \mu_2}{\varepsilon_2 \mu_1}}}{\sqrt{1 - \sin^2 \Psi} + \sqrt{1 - \sin^2 \Psi} \frac{\varepsilon_1 \mu_1}{\varepsilon_2 \mu_2} \sqrt{\frac{\varepsilon_1 \mu_2}{\varepsilon_2 \mu_1}}}$$

$\mu_1 = \mu_2$  , - magnetická permeabilita (stejná u látek skelných),  
 $\varepsilon$  - elektrická permitivita

$$n^2 = \varepsilon \mu$$

$\Gamma$  je intenzitní koeficient odrazu (komplexní číslo). Platí

$$R = |\Gamma|^2$$

Odrazivost závisí na polarizaci světla: (TE- polarizace má vektor elektrické intenzity kolmý k rovině dopadu)

U nepolarizovaného světla:

$$R = \frac{1}{2} (R^{TE} + R^{TM})$$



# Odraz na rozhraní, vliv ztrát materiálu

Pro prostředí s optickými ztrátami s zavádí index lomu jako komplexní číslo

$$n = n_r + i n_i$$

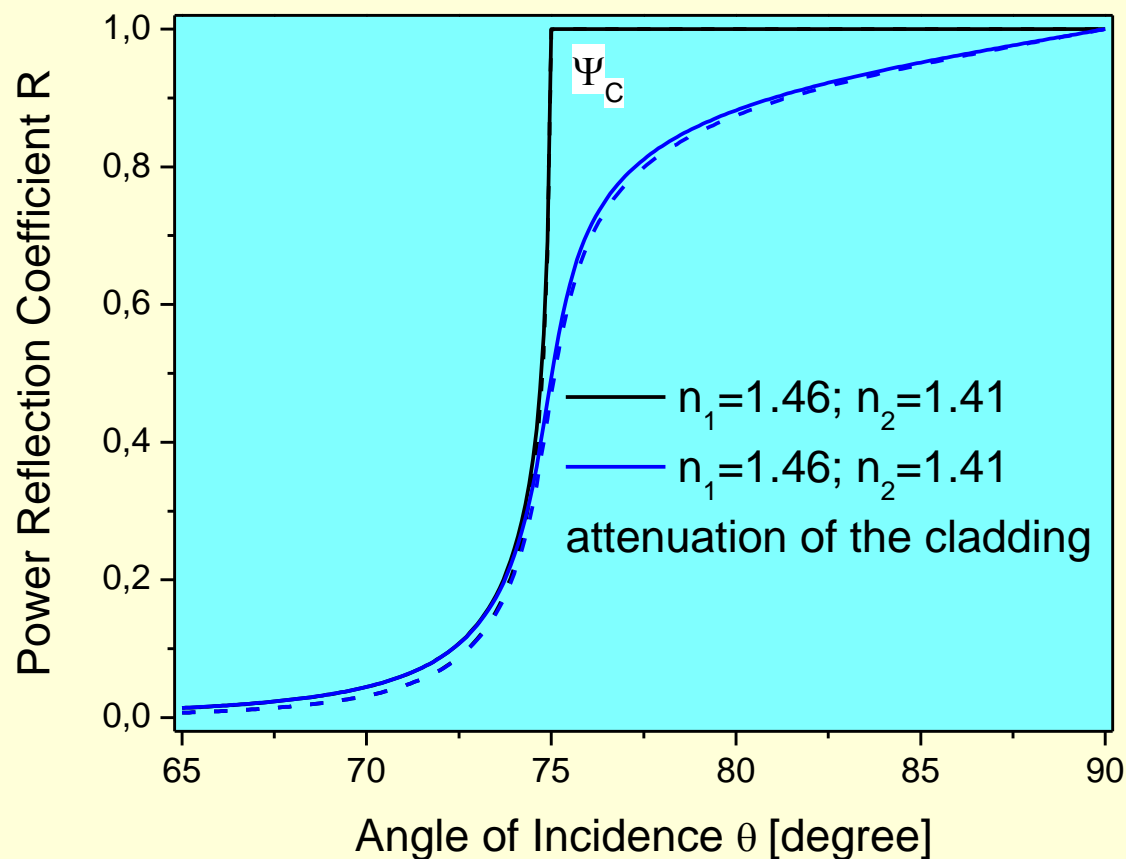
$n_r$  je reálná část indexu lomu

$n_i$  je imaginární část indexu lomu související s optickými ztrátami  $\varepsilon$  vztahem

$$\varepsilon = \frac{4\pi}{\lambda} n_i$$

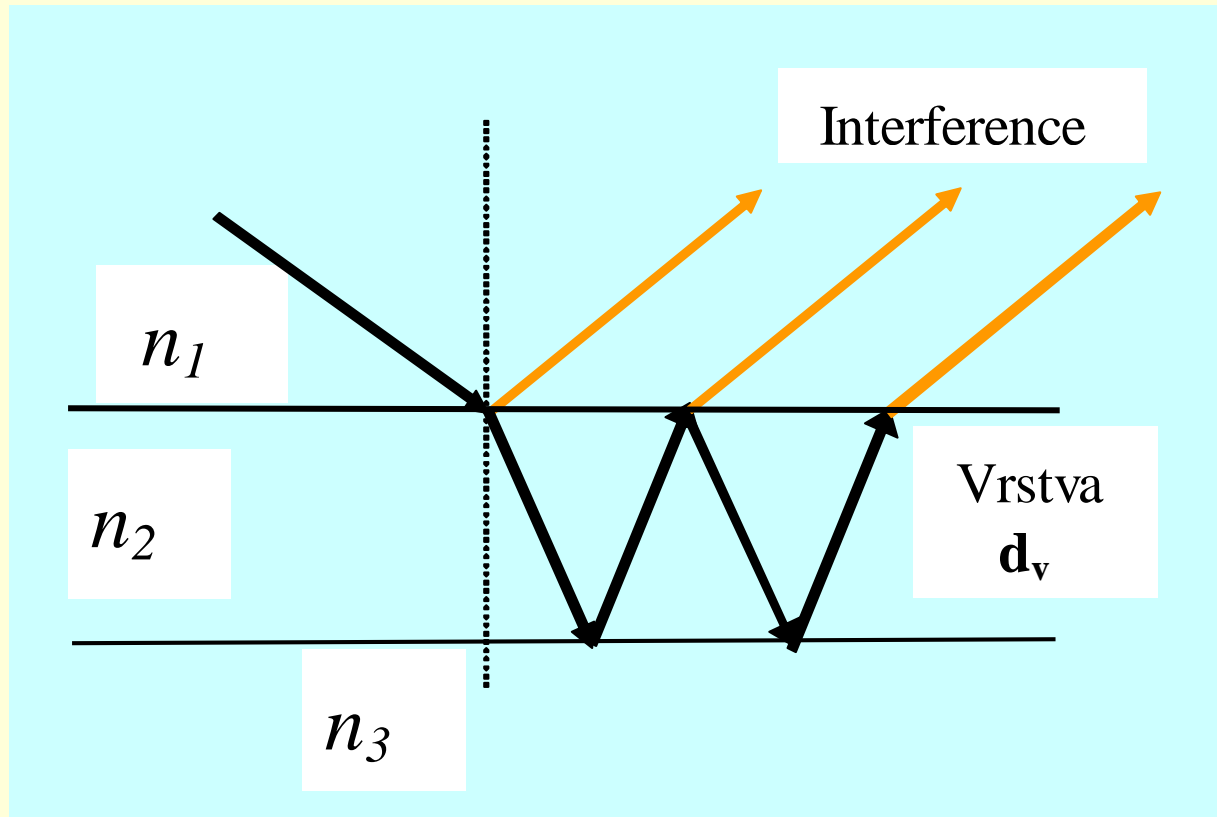


# Odrazivost R na rozhraní TE a TM polarizace





# Odraz světla na vrstvě

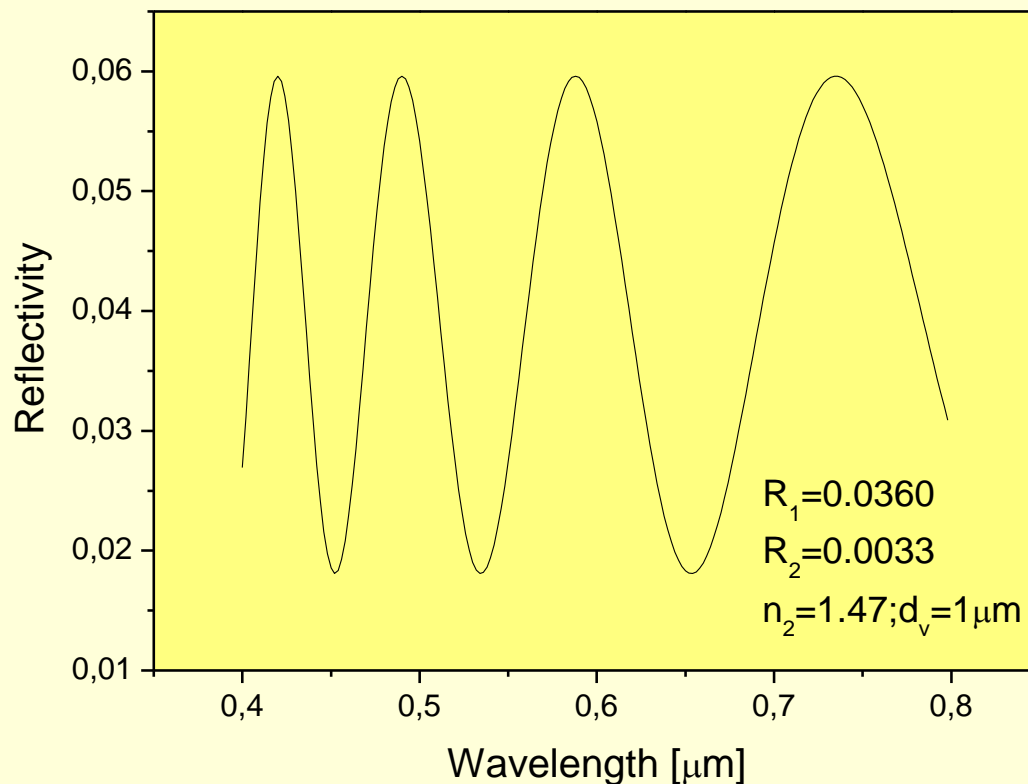


**Odrazivost na vrstvě je výsledkem interference světla**

**Vrstva – tloušťka  $\sim \lambda$ ; Rozhraní – tloušťka  $\gg \lambda$**



# Odraz světla na vrstvě

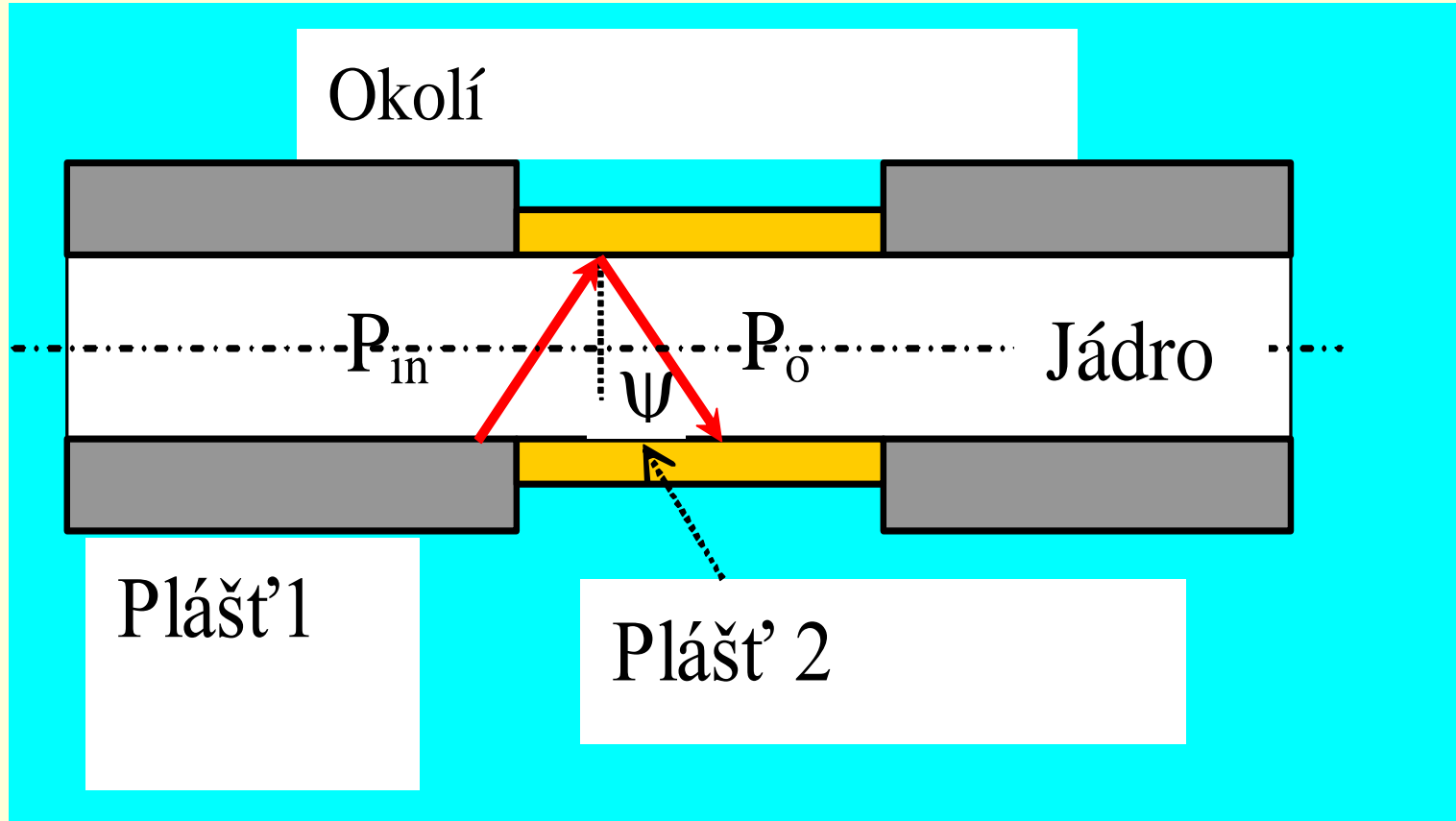


## Modulace odrazivosti na vrstvě (org. látka na vodě)

Viz např. A.Thelen, “Design of optical interference coatings”, Ed. McGraw-Hill, 1989, p.5-17.



# Vedení světla ve vlnovodu – odrazy na rozhraní



$$P_o = P_{in} R$$

$$P = P_{vst} R^N$$

$R$  – Odrazivost  $R \leq 1$ ,  $N$  – počet odrazů;  $N \sim L/d$



# Výkon přenesený optickým paprskem

$$P_{iout} = P_{i0} R(\Psi_i, n, \varepsilon)^{N_i}$$

$P_{iout}$  je optický výkon přenesený paprskem  $i$

$P_{i0}$  je optický výkon navázaný do paprsku  $i$

$N_i$  je počet odrazů paprsku  $i$  na rozhraní

$n$  representuje indexy lomu na rozhraní jádro plášť, tj.  $n_1$  a  $n_2$

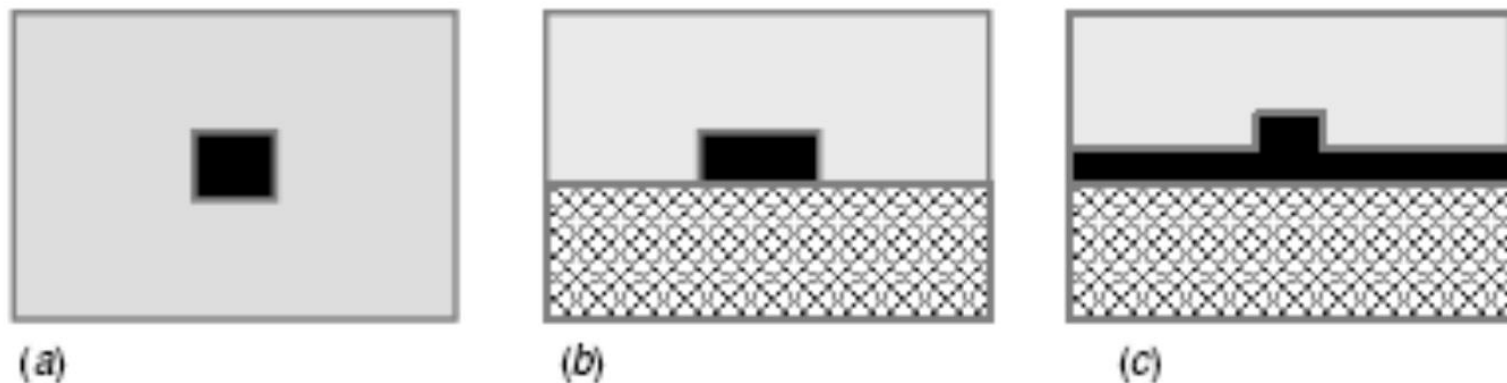
$\varepsilon$  je objemový absorpční koeficient v plášti

$$P_{iout} \approx P_{i0} \exp(-\gamma(\Psi_i, n, d)\varepsilon L)$$

$L$  je délka vlnovodu,  $\gamma$  - podíl světla přeneseného paprskem  $i$  v plášti vlnovodu  $< 1$ ,  $d$  - rozměry vlnovodu



# Planární vlnovody

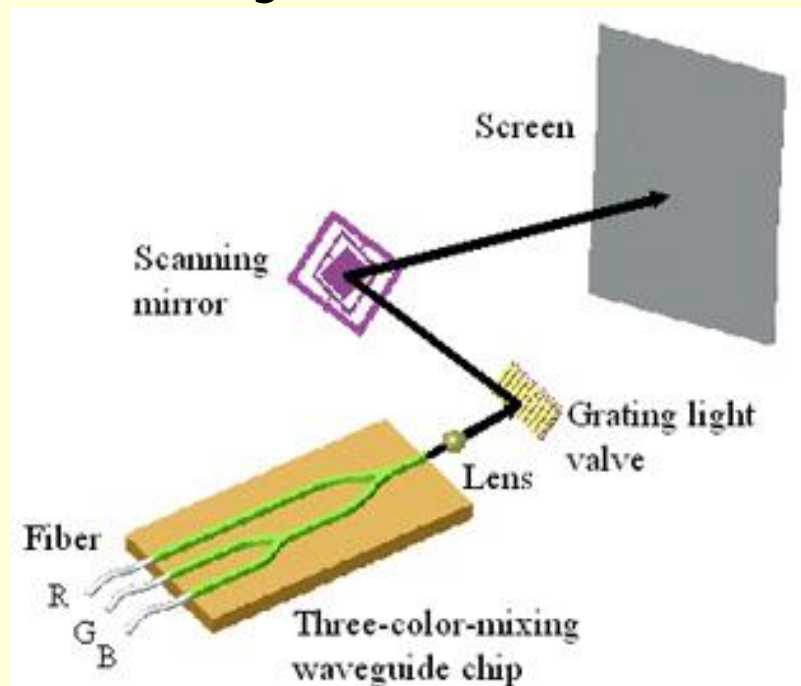
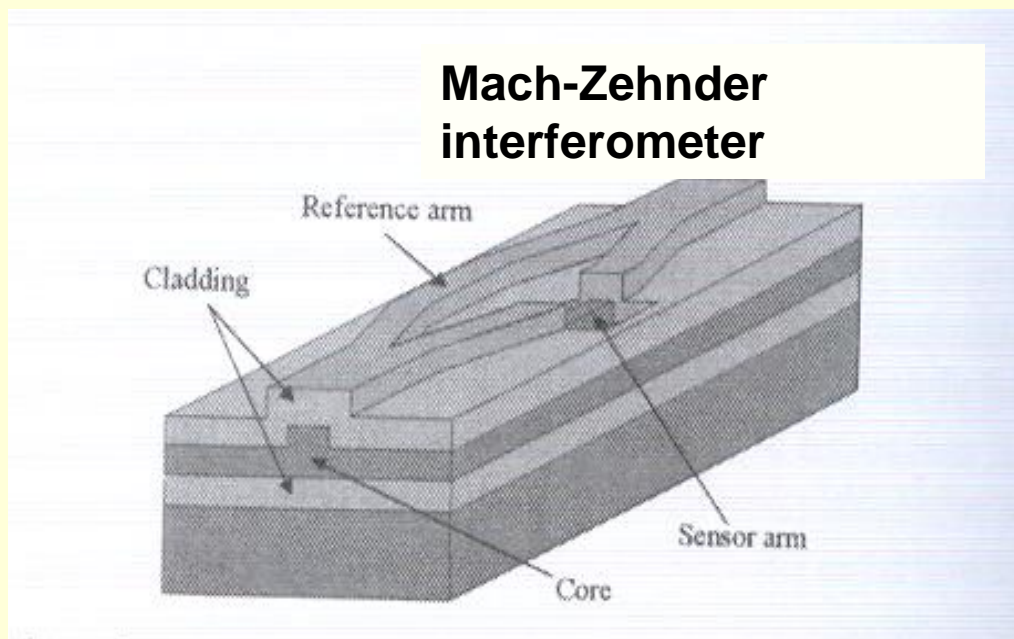


**a) Vnořený (embedded); b) kanálkový (raised strip); c) kanálkový (strip)**

Připravovány iontovou výměnou ve skle (VŠCHT Praha), metodami přípravy polovodičových struktur z plynné fáze, nanášením tenkých vrstev z roztoku s vytvářením mikrostruktur litografickými metodami



# Planární vlnovody

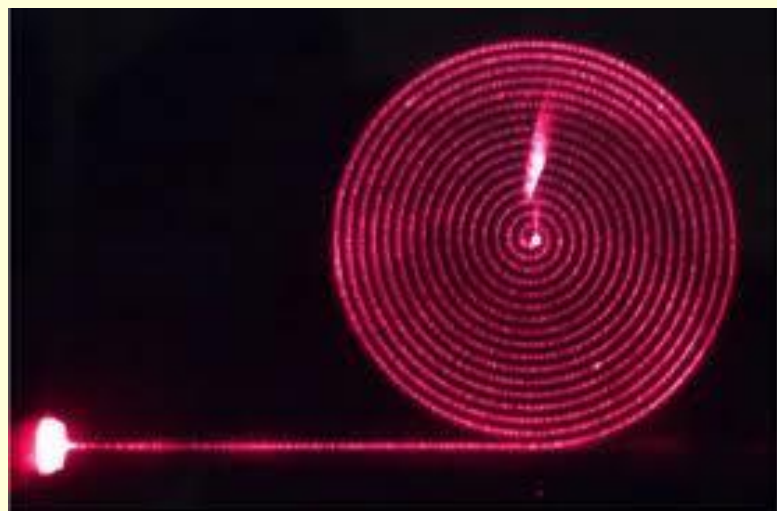


Kombinace svazků

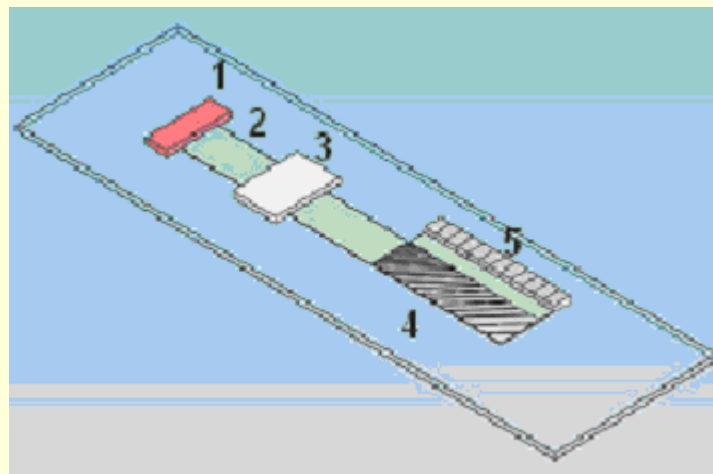
Útlum ~ dB/cm, mechanicky stabilní, ale dražší,  
komplikovanější navázání a vyvázání optického signálu



# Planární vlnovody



## Spirální planární vlnovod

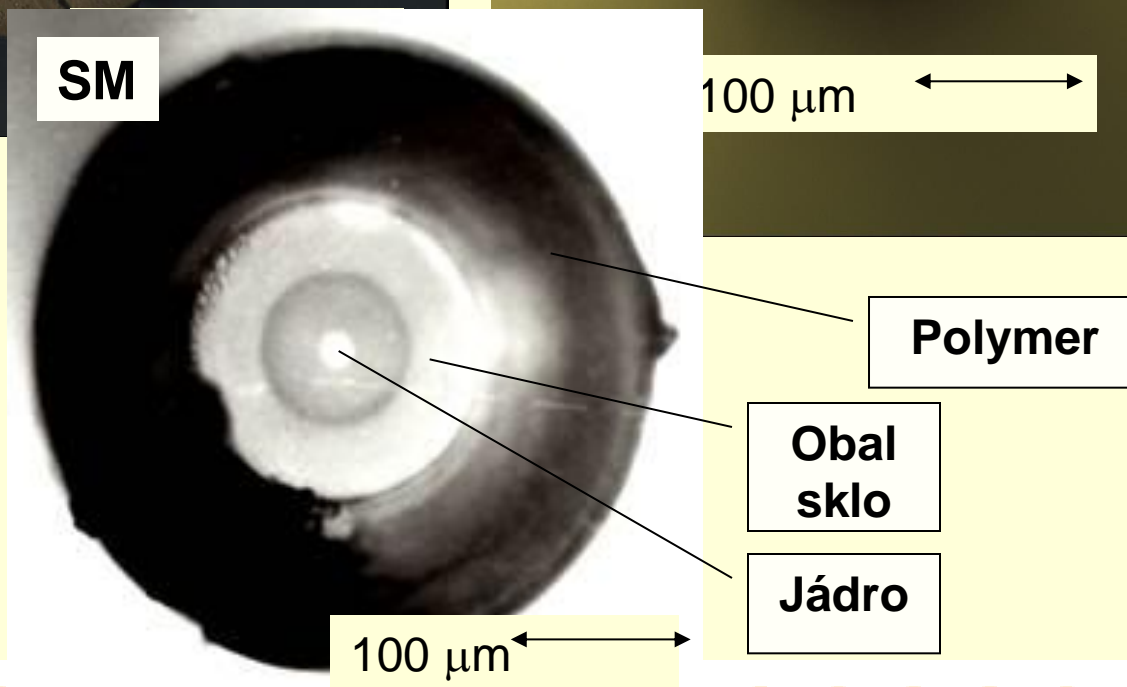
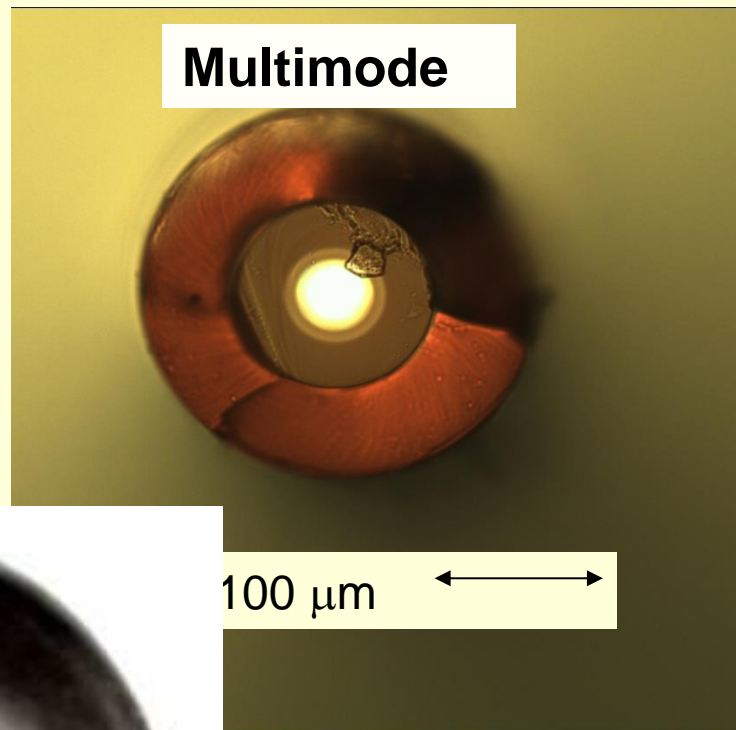
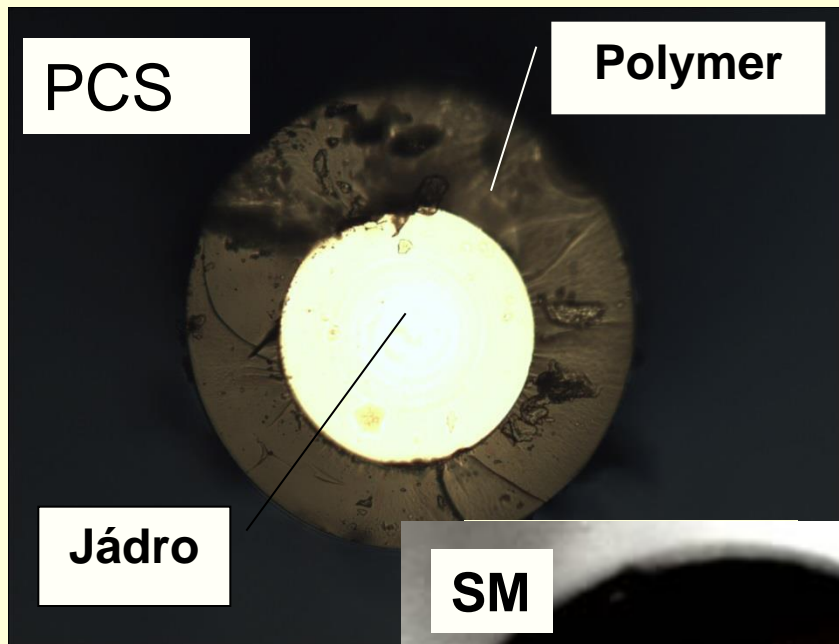


Optical integration- (1) LED; (2) planar waveguide; (3) detection site; (4) spectrometer; (5) optical grating

- For a review on IO-sensors see e.g.:  
 Integrated optical sensors for chemical domain, Lambeck P.V.,  
*Measurement Science Technol.* (2006), 17, R93-R116



# Optická vlákna



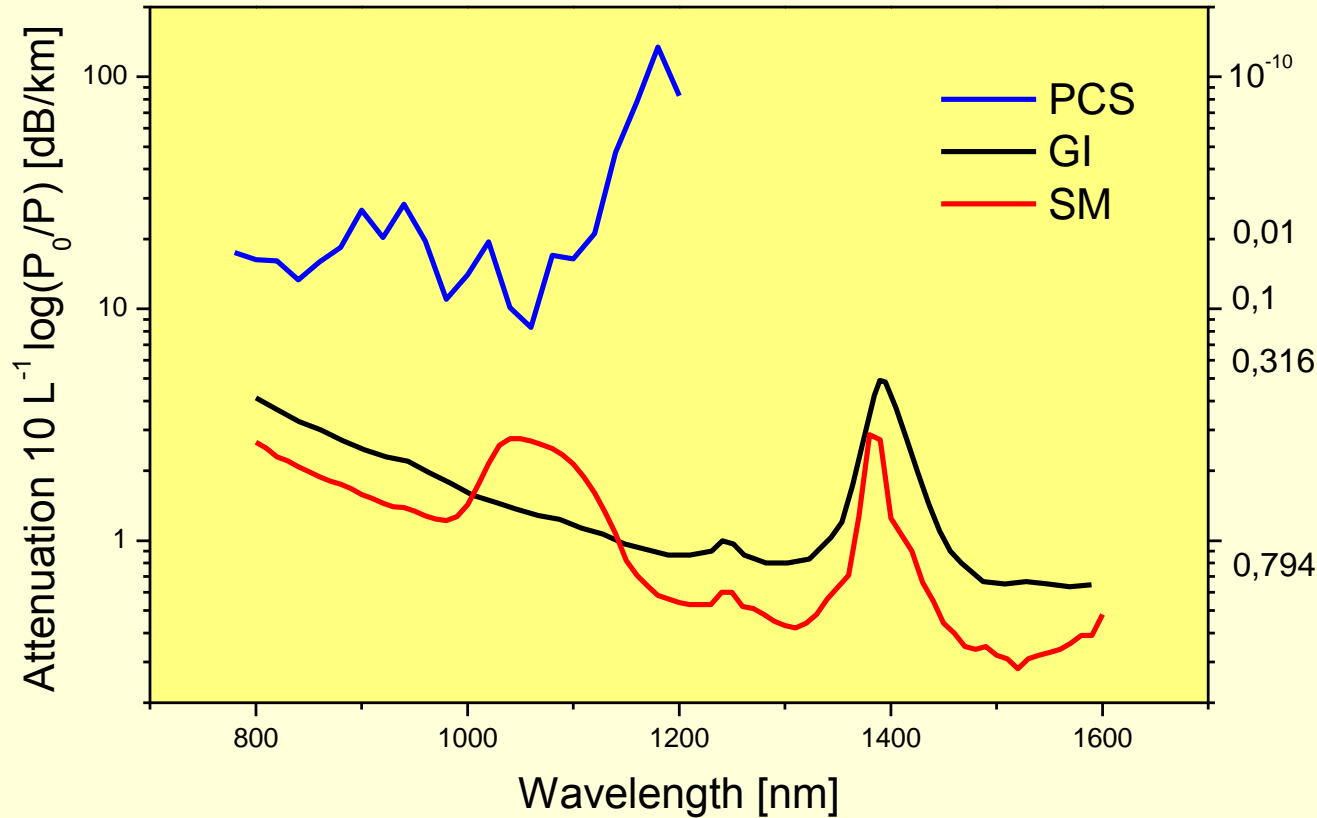
PCS –  
Polymer Clad  
Silica

SM – Single  
Mode





# Útlum vláken

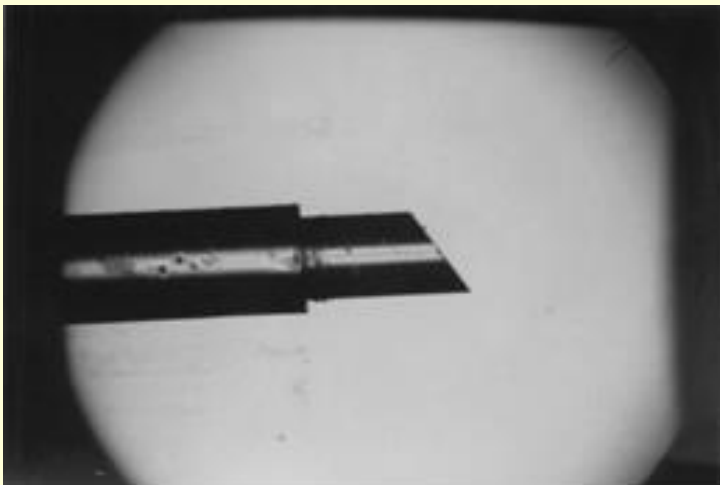


V senzorech obvykle používána PCS vlákna nebo polymerní vlákna se strukturou podobnou PCS vláknům  
- laciná, polymer lze jednoduše sejmout a odkrýt tak jádro,

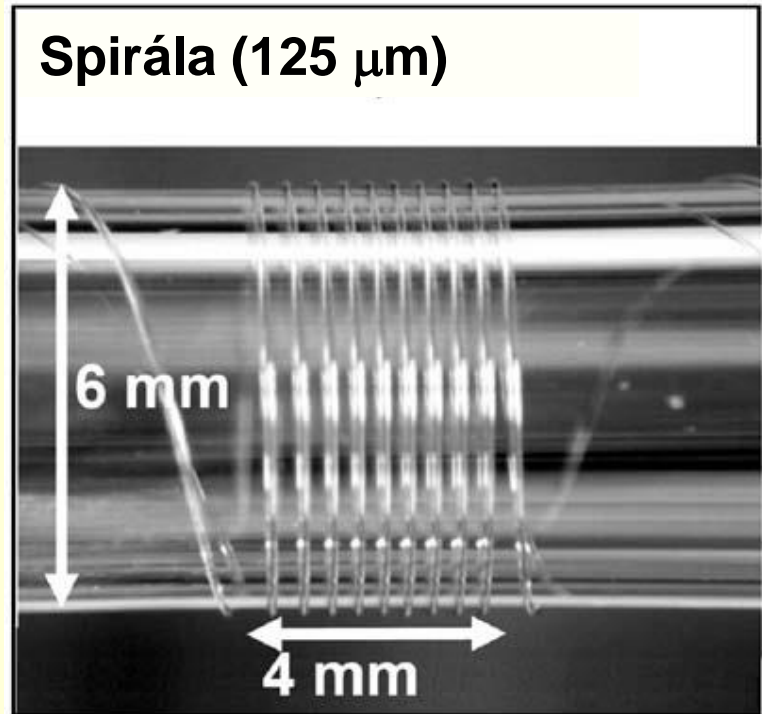


# Optická vlákna zbroušená a navinutá

Šikmé vlákno



Spirála (125  $\mu\text{m}$ )



- For a review on fiber-optic sensors see e.g.:  
**Fiber-Optic Sensors, D. A. Jackson; J. D. C. Jones, *Journal of Modern Optics*, 1362-3044, Volume 33, Issue 12, 1986, Pages 1469 – 1503**

# Optická vlákna pro senzory - materiál

- **200 – 2000 nm**
  - vlákna křemenná nebo dopovaného křemene ( $n_1 = 1,46-1,48$ ); telekomunikační vlákna PCS, (SM a mnohavidová vlákna jen ve speciálních případech)
  - Vlákna z optických skel (např. Schott F2,  $n_1 = 1,5$ )
  - Vlákna polymerní (PMMA,  $n_1 = 1,6$ ) větší flexibilita než u vláken skleněných, nižší cena, menší chemická odolnost, vyšší útlum než u PCS
- **2000 – 10000 nm**
  - Vlákna chalkogenidová (AsS, AsSe) , fluoridová (fluoridy Zr, Al, La, Ga), ale zejména z halogenidů stříbra (AgCl, AgBr) – větší útlum, vyšší cena



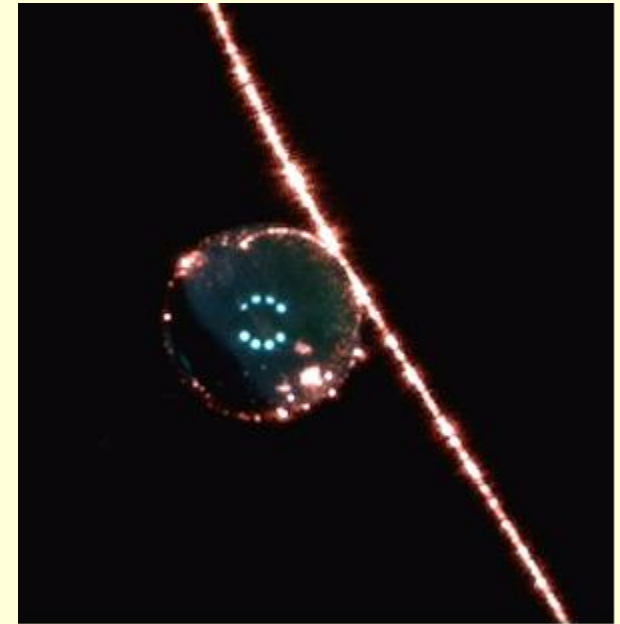
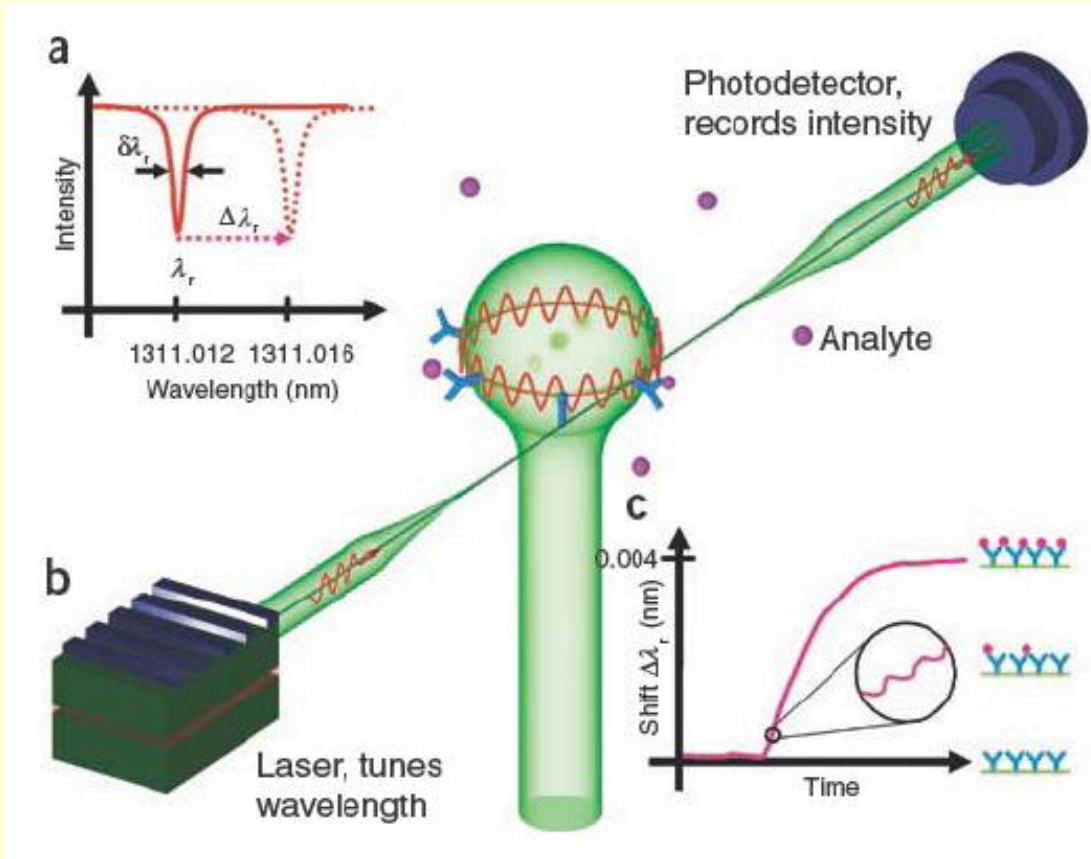
# Optická vlákna

- Dostupná lépe než planární vlnovody – vlákna telekomunikační, tj. PCS, jednovidová i mnohavidová vlákna, vlákna polymerní
- Útlumy jsou nižší než u planárních vlnovodů (dB/km pro vlákna oproti dB/cm).
- Do vláken se jednodušeji navazuje světlo.
- Obvykle i ceny jsou nižší
- Mechanická stabilita vláken může být nižší než u planárních vlnovodů v důsledků malých průměrů



# SPECIALNI DETEKČNÍ PRVKY

## WGM mikroresonátory

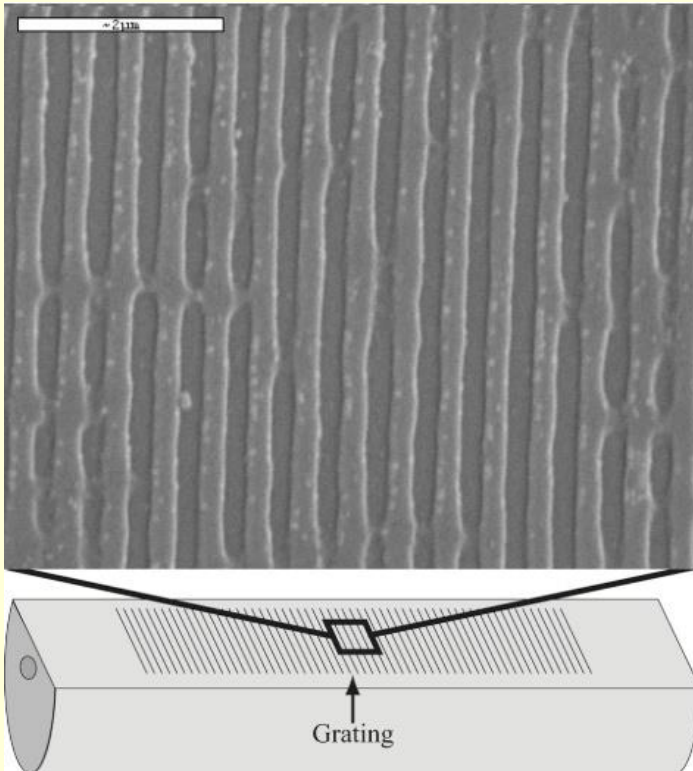


WGM – whispering gallery mode (mody šeptající galerie)

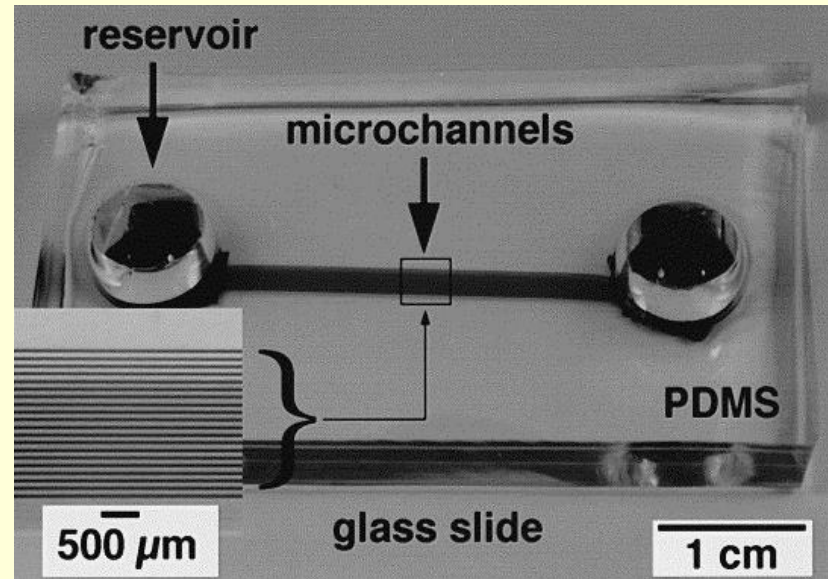


# SPECIALNI DETEKČNÍ PRVKY

## Optické mřížky



**Braggovská mřížka  
v D vláknu**

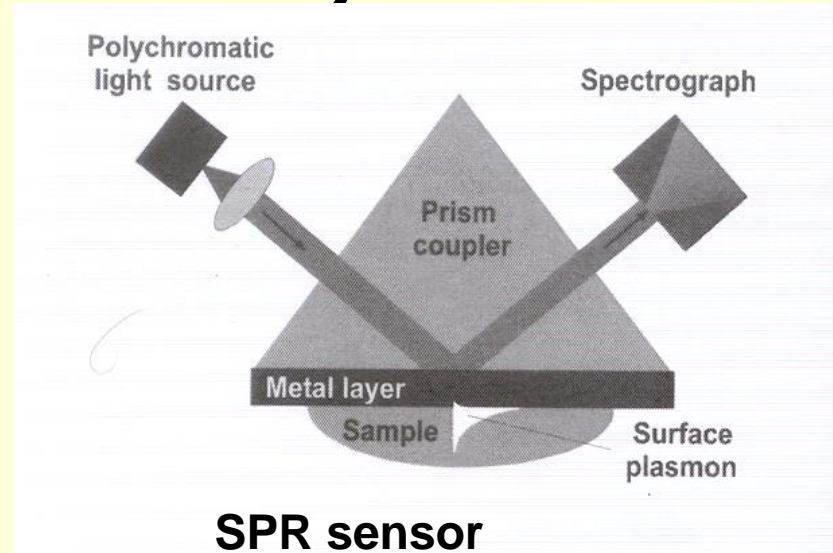


**Difrakční mřížka tvořená  
mikrokanálky v PDMS**

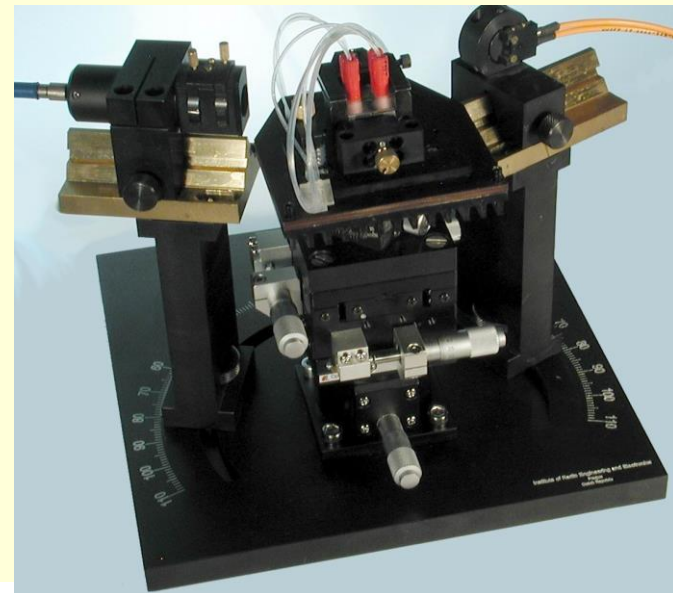


# OBJEMOVÉ DETEKČNÍ PRVKY

## Optické hranoly



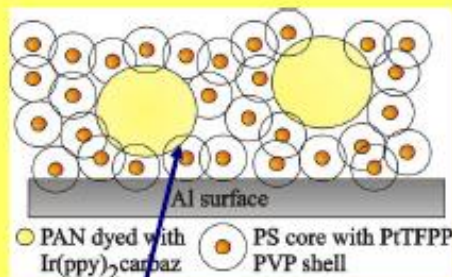
**Optická excitace  
oscilací volných  
elektronů v kovové  
vrstvě (Au, Ag, Cu, Al).**



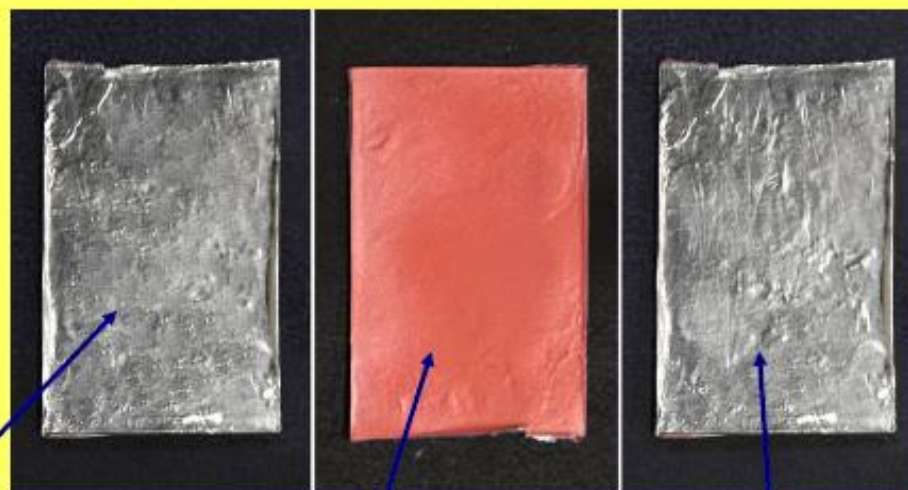


## Optické folie

**Water-based sprayable paints** for simultaneous sensing pressure and temperature on aircrafts



**Paint for pressure and T**



**blank surface**

**surface covered with red paint**

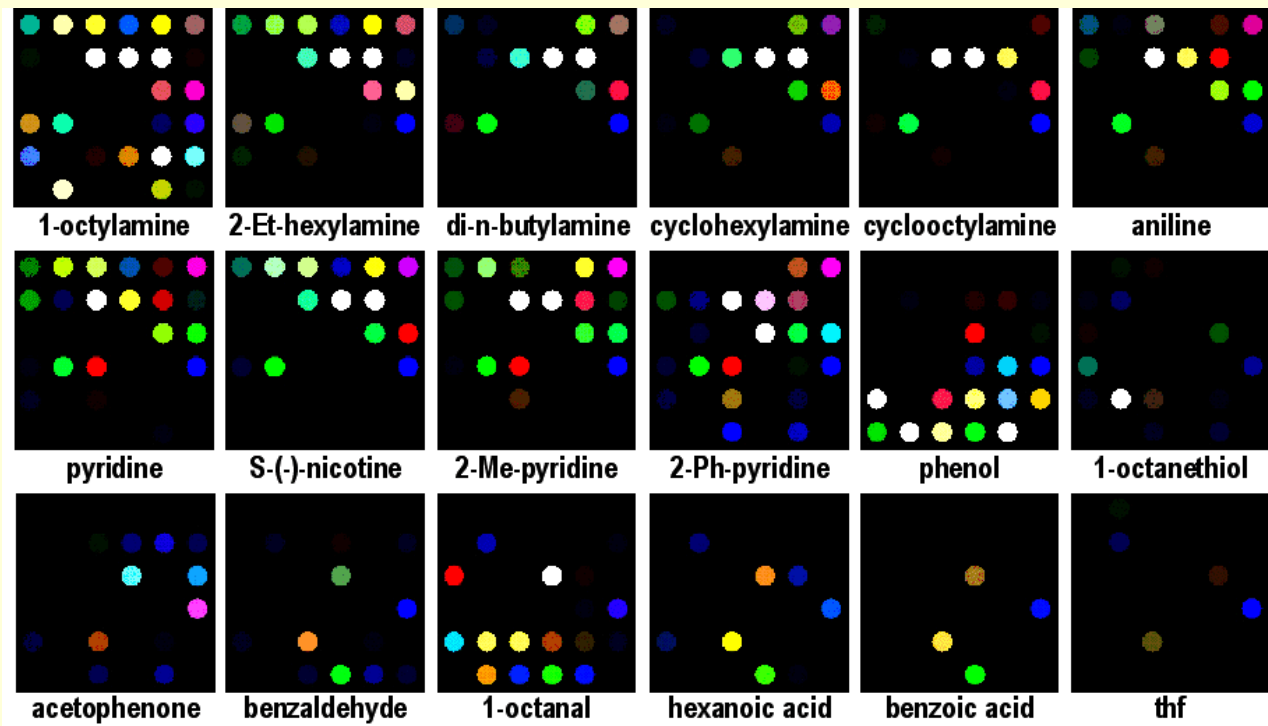
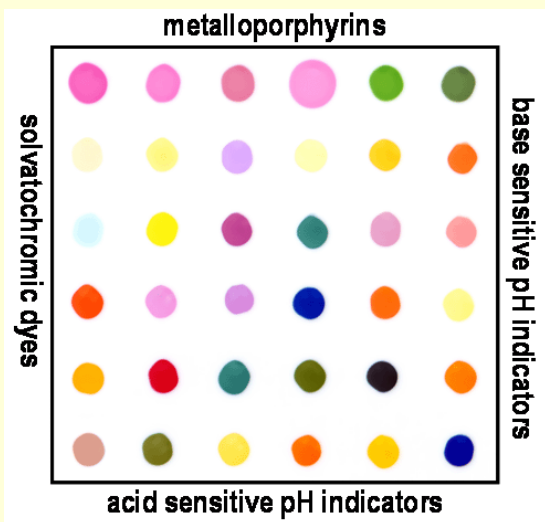
**paint removed with water**

L. H. Fischer, S. M. Borisov, I. Klimant, O. S. Wolfbeis,  
*Analyst*, (2010), in press). DOI: 10.1039/B927255K (highlight article)



# OBJEMOVÉ DETEKČNÍ PRVKY

## Mikroskopická skla Zobrazovací-“imaging“ senzory



Body („spots“)- Obvykle fluorescenční indikátory

Vyhodnocení mikroskopické, nebo pomocí svazku vláken

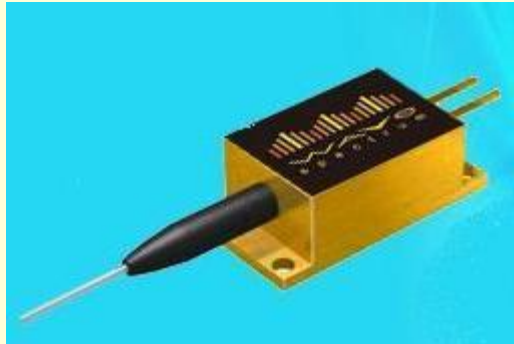


# DOPLŇKOVÉ OPTICKÉ PRVKY

Spojování: konektory, konektorovaná vlákna



Navazování světla: vlnovody, LED, LD



# Optické změny v detekčním místě senzoru – Přímé senzory



**Detekované látky („analyte“- A)**

Index lomu

Plyny –  $n \sim 1$

Voda -  $n \sim 1,33$ ; Etanol -  $n \sim 1,37$

Silikonové polymery, fluorované akryláty  $n \sim 1,4$

Křemenné sklo –  $n \sim 1,46$

Toluen -  $n \sim 1,5$

PMMA -  $n \sim 1,49$ , PVC –  $n \sim 1,54-1,56$

Optické sklo F2 –  $n \sim 1,51$

Histidin –  $n=1,7$

$$R_M = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \frac{M}{\rho}$$

$R_M$  – molární refrakce,  $M$  – molární hmotnost,  $\rho$  - hustota



# Změny indexu lomu

Detekované látky ve směsi nebo látky s porozitou  $P_v$

$$n^2 = \sum_{i=1}^{\text{latky}} x_i n_i^2 \quad n^2 = n_s^2 (1 - P_v) + P_v$$

**Změna indexu lomu – nespecifická  $\Rightarrow$  pro zvýšení specificity převodník nebo detekční membrána umožňující navázat nebo projít jen detekované látky**

See e.g. M.N. Velasco Garcia, „Optical biosensors for probing at the cellular level“, Seminars in Cell & Developmental Biology 20 (2009) 27–33



# Optické změny v detekčním místě

## Detekované látky

### Absorpční koeficient

Pro senzory, obvykle platí modifikovaný Lambertův-Beerův zákon pro absorbanci  $A$

$$A = \gamma L \sum_{i=1}^{\text{latky}} \varepsilon_i c_i$$

$\gamma$  může být pro evanescentní senzory  $< 0.01$

Vlnovodné senzory využívají UV, VIS a blízkou IČ oblast (asi do 2000 nm – křemenná skla), pro střední IČ oblast pak chalkogenidové a halogenidové materiály



# Absorpční koeficient detekované látky střední IČ oblast 1000-4000 $\text{cm}^{-1}$

Bond	Type of Compound	Frequency Range, $\text{cm}^{-1}$	Intensity
C—H	Alkanes	2850–2970	Strong
		1340–1470	Strong
C—H	Alkenes ( $\text{>C=C<H}$ )	3010–3095	Medium
		675–995	Strong
C—H	Alkynes ( $\text{—C}\equiv\text{C—H}$ )	3300	Strong
C—H	Aromatic rings	3010–3100	Medium
		690–900	Strong
O—H	Monomeric alcohols, phenols	3590–3650	Variable
	Hydrogen-bonded alcohols, phenols	3200–3600	Variable, sometimes broad
	Monomeric carboxylic acids	3500–3650	Medium
	Hydrogen-bonded carboxylic acids	2500–2700	Broad
N—H	Amines, amides	3300–3500	Medium
C=C	Alkenes	1610–1680	Variable
C=C	Aromatic rings	1500–1600	Variable
C≡C	Alkynes	2100–2260	Variable
C—N	Amines, amides	1180–1360	Strong
C≡N	Nitriles	2210–2280	Strong
C—O	Alcohols, ethers, carboxylic acids, esters	1050–1300	Strong
C=O	Aldehydes, ketones, carboxylic acids, esters	1690–1760	Strong
NO <sub>2</sub>	Nitro compounds	1500–1570	Strong
		1300–1370	Strong

Blízká IČ: CH ~ 1600-1700 nm, NH ~ 1500 nm, OH ~ 1400 nm  
(kombinace základních IČ frekvencí 2900-3600  $\text{cm}^{-1}$  )





# Absorpční koeficient detekované látky UV oblast 200-400 nm

Chromophore	System	$\lambda_{\max}$	$\epsilon_{\max}$
Amine	—NH <sub>2</sub>	195	2,800
Ethylene	—C=C—	190	8,000
Ketone	C=O	195	1,000
		270–285	18–30
Aldehyde	—CHO	210	Strong
		280–300	11–18
Nitro	—NO <sub>2</sub>	210	Strong
Nitrite	—ONO	220–230	1,000–2,000
Azo	—N=N—	300–400	10
		285–400	3–25
Benzene		184	46,700
		202	6,900
		255	170
Naphthalene		220	112,000
		275	5,600
		312	175
Anthracene		252	199,000
		375	7,900

**Použito např. pro detekci mateřských buněk pomocí  
kónických optických vláken – taperů nebo v  
imunosenzorech**

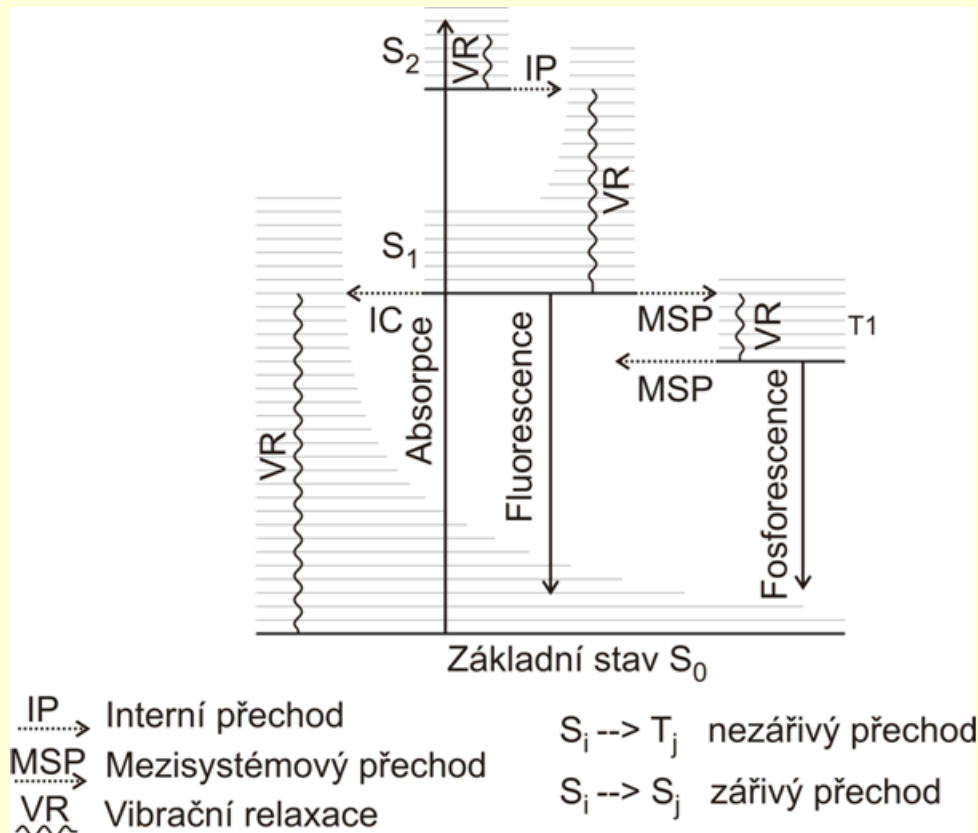
See e.g.: A. Leung et al. *Sensors and Actuators B* 125 (2007) 688–703



# Optické změny v detekčním místě

## Detekované látky

Luminiscence -  
fluorescence nebo  
fosforescence



**Fluorescenční přechod: beze změny spinu, dovolený a rychlý – doznívání (doba života  $\sim \mu\text{s} - \text{ns}$ )**

**Fosforescenční přechod: se změnou spinu, zakázaný a pomalý – doznívání  $\sim \text{s} - \text{ms}$**





# Luminiscence

$$P \approx P_0 \varepsilon(\lambda) Q c L$$

$\varepsilon(\lambda)$  – objemový absorpční koeficient  $\sim 10^5$  l/mol/cm Q –kvantová účinnost  $<1$ , c-koncentrace luminoforu

**Podle způsobu excitace: elektroluminiscence, photoluminiscence, bioluminiscence, chemoluminiscence**

Bioluminiscence excitována např. při enzymatické reakci

**luciferin + kyslík  $\rightarrow$  světlo (žlutozelené-červené),**

Katalyzátor enzym luciferáza.

Chemoluminiscence např. pro luminol-peroxid při katalýze Fe (Cu) solemi.

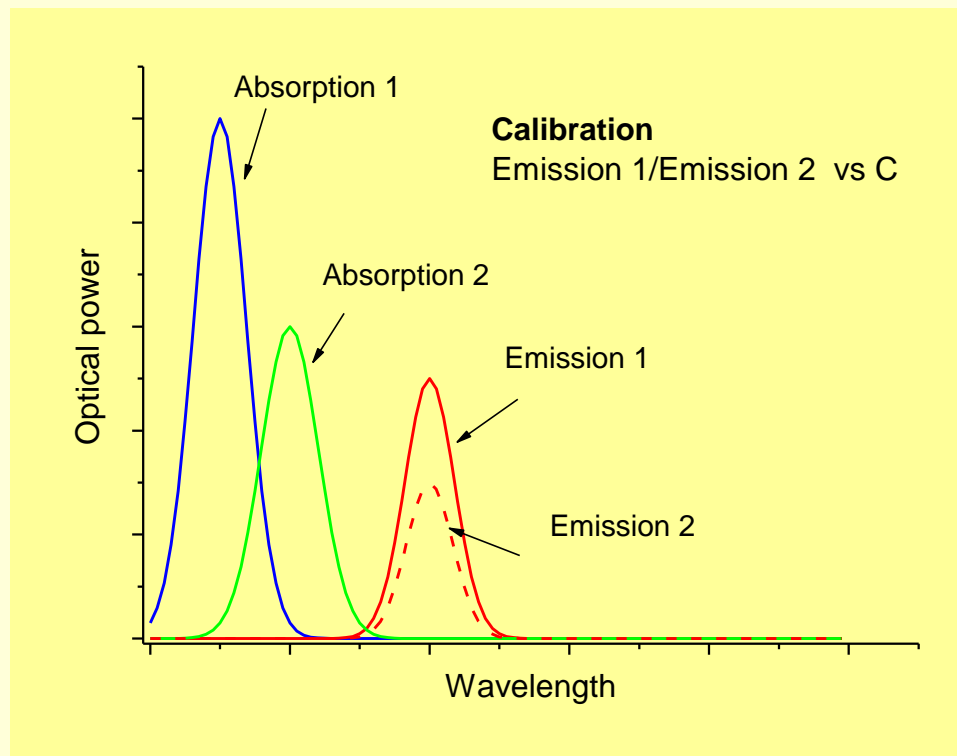
See e.g.: C.L. Morgan et al. Clinical Chemistry 42, No. 2, 1996



# Luminiscence

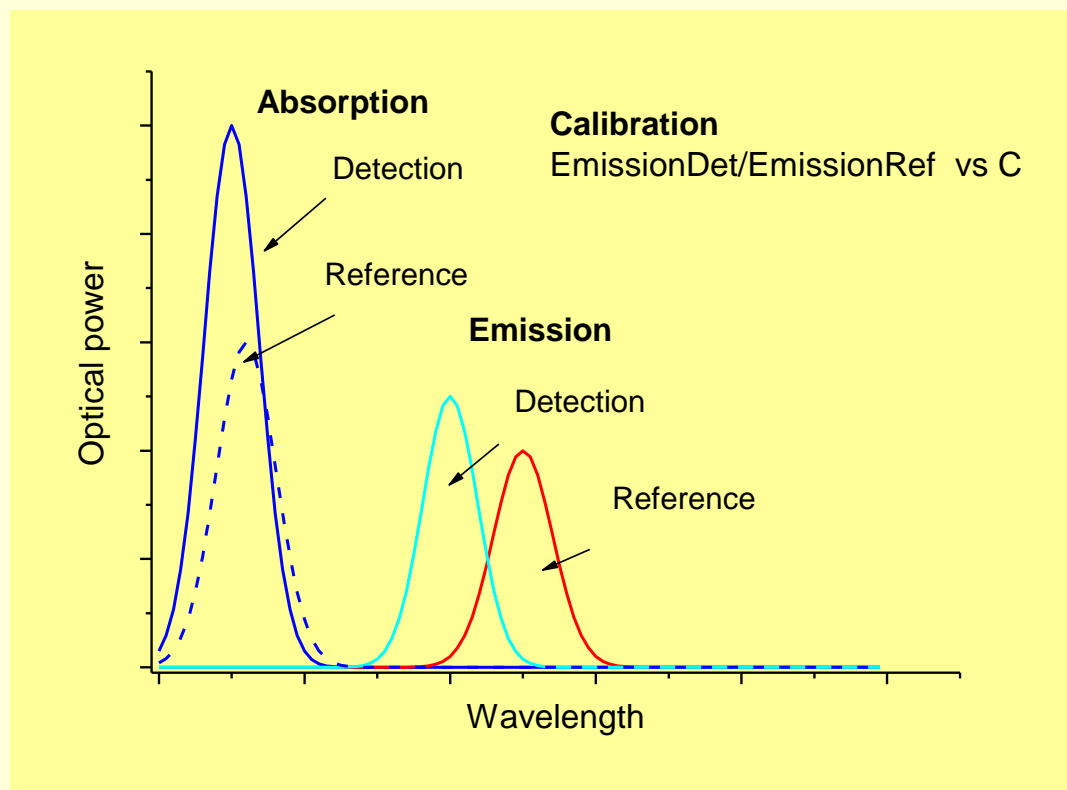
**Intenzita luminiscence  $P$  je často časově nestabilní, proto se používají referenční (poměrové) metody:**

**1. Excitace při dvou vlnových délkách, detekce emise při jedné vlnové délce (např. při pH detekci )**



# Luminiscence

2. Přídavek referenčního převodníku, jehož luminiscence se nemění s koncentrací analytu a má přítom absorpci blízko detekčnímu převodníku

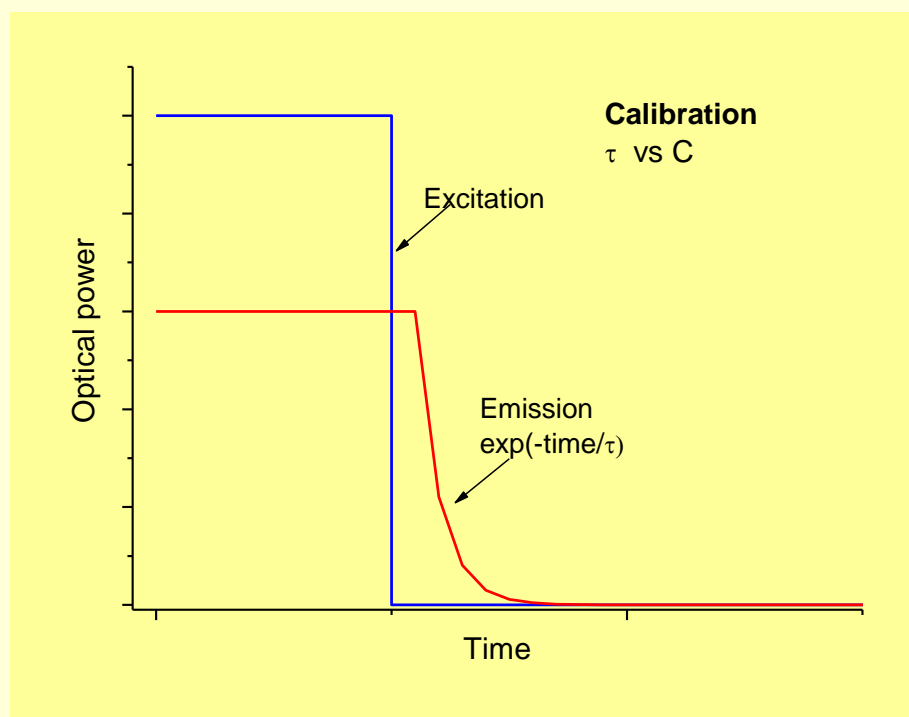


**Dual Lifetime Referenced Fluorometry for the Determination of Doxo-rubicin in Urine.**  
 F. Martínez Ferreras, O. S. Wolfbeis, H. H. Gorris, *Anal. Chim. Acta* (2012), 729, 62-66.



# Luminiscence

3. Měření doby života luminiscence  $\tau$ . Ta je na fluktuacích prakticky nezávislá. Některé látky (kyslík, oxid uhličitý) luminiscenci mohou zhášet



Sternova-Volmerova rovnice

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV} [Q]$$

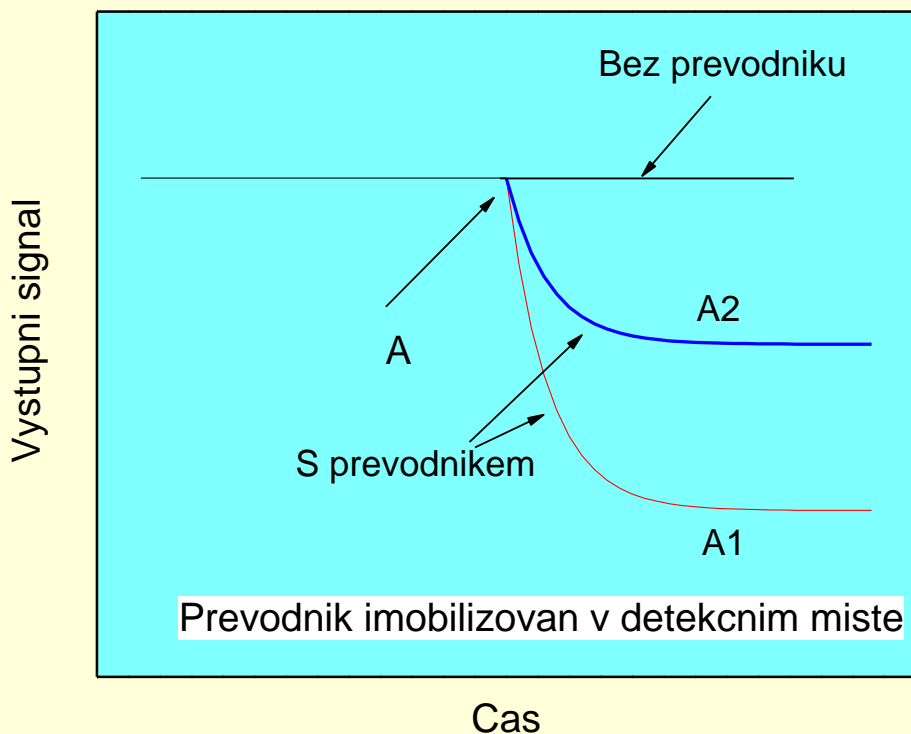
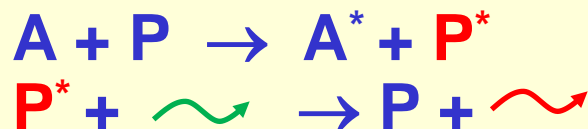
Q je koncentrace zhášející látky (Quencher)

[http://www.jh-inst.cas.cz/~fluorescence/support/Lectures/UFCH\\_fluor04.pps](http://www.jh-inst.cas.cz/~fluorescence/support/Lectures/UFCH_fluor04.pps)



# OPTICKÉ PŘEVODNÍKY

## Nepřímé senzory



Optické změny v detekčním místě jsou způsobeny (zesíleny) interakcí detekované veličiny A s optickým převodníkem P.

Změny převodníku jsou detekovány opticky.

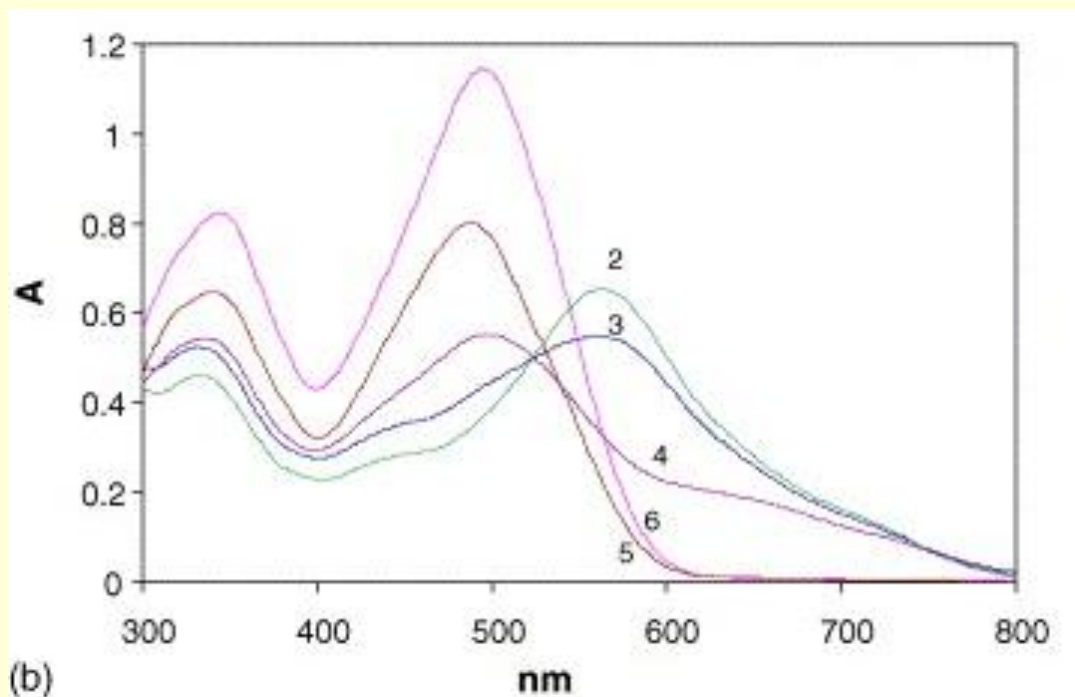
Chemické převodníky  
Biopřevodníky



# Chemické převodníky - Absorpční

Absorpční koeficient

pH indikátory:  $\text{BInd} + \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow \text{AInd} + \text{H}_2\text{O}$



*below pH 3.0*

*above pH 5.2*

**3.0**

↔

**5.2**

**Absorpční spektra „Congo red“ pro různé pH**

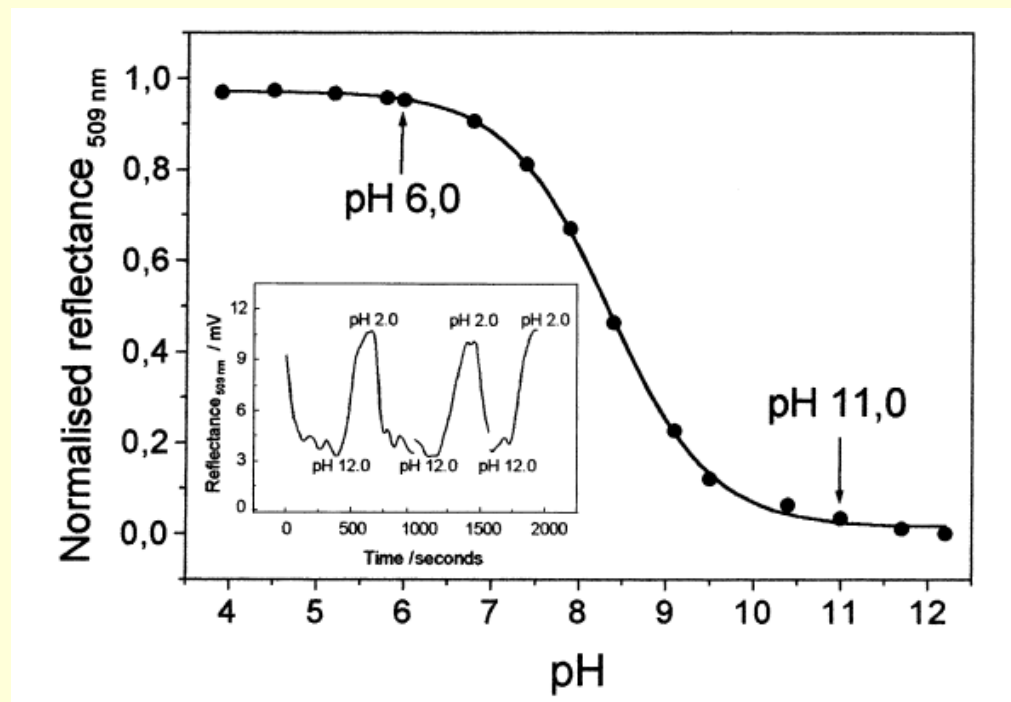
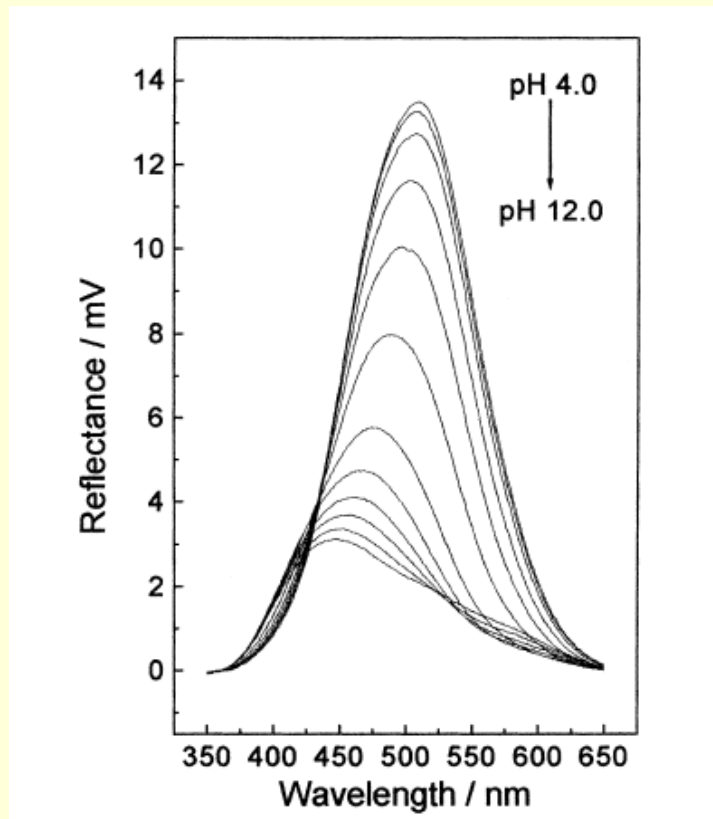
P. Hashemi et al., *Sens. Act. B115*, 49-53 (2006)



# Opto-chemické převodníky

## Absorpční koeficient

pH indikátory: polyanilin v pórézním skle



P. T. Sotomayor et al., Sens. Act B74, 157-162 (2001)



# pH indikátory - vlastnosti

Common name	Chemical name	pH range (pKa)	Color in Acid	Color in Alkaline
Bromo-phenol blue	tetrabromophenol-sulphone-phthalein	3.0-4.6 (4.1)	yellow	blue
Methyl yellow	Dimethylamino-azo-benzene	2.9-4.0 (3.3)	red	yellow
Methyl orange	Dimethylamino-benzene sodium sulphonate	3.1-4.4 (3.7)	red	orange
Congo red	Diphenyl-bis-azo-1-naphthylamino-4-sulphonic acid	3.0-5.0	blue	red
Bromo-cresol green	Tetrabromo-m-cresol-sulphone-phthalein	3.8-5.4 (4.7)	yellow	blue
Methyl red	o-Carboxybenzene-azodimethyl-aniline	4.2-6.3 (5.0)	red	yellow
Chlorophenol red	Dichloro-phenol-sulphone-phthalein	4.8-6.4 (6.1)	yellow	red
4-Nitrophenol	4-Nitrophenol	5.6-7.6 (7.1)	colorless	yellow
Bromocresol purple	Dibromo-o-cresol-sulphone-phthalein	5.2-6.8 (6.1)	yellow	purple
Bromo-thymol blue	Dibromo-thymol-sulphone-phthalein	6.0-7.6 (7.1)	yellow	blue
Phenol red	Phenol-sulphone-phthalein	6.8-8.4 (7.8)	yellow	red
Cresol red	1-Cresolsulphone-phthalein	7.2-8.8 (8.2)	yellow	red
Thymol blue	Thymol-sulphone-phthalein	8.0-9.6 (8.9)	yellow	blue
Phenolphthalein	Phenolphthalein	8.3-10.0 (9.6)	colorless	red

## Tekutina

## pH

Žaludeční šťávy

1-2

Moč

5-6,5

Sliny

7-8

Krev

7,31-7,42



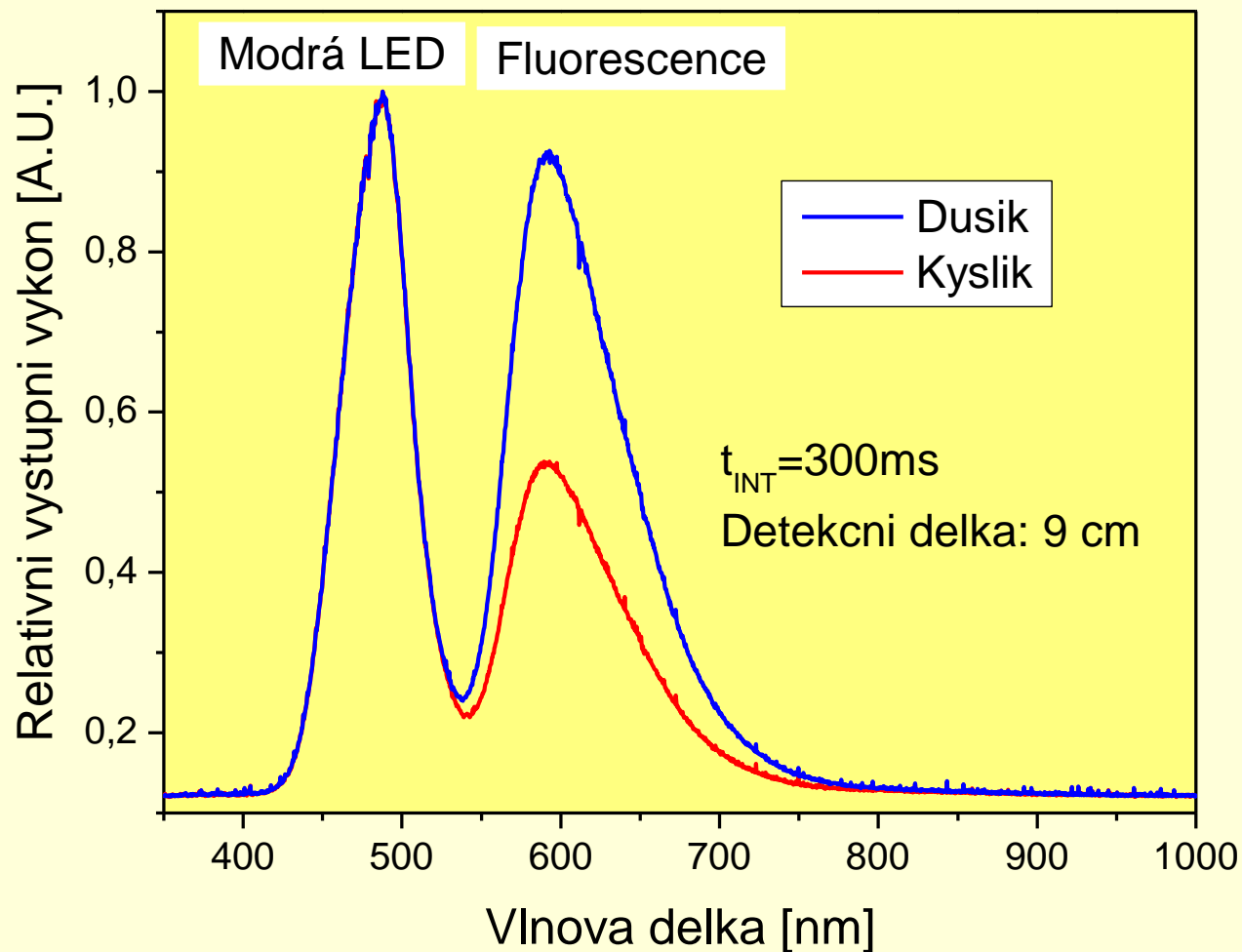
# Chemické převodníky -Luminiscence

- Ru komplexy s fluorescencí zhasenou kyslíkem
- Fluorescenční pH indikátory pro biologii a medicinu – BCECF, HPTS
- Fluorescenční značky na IgG, enzymech, DNA řetězcích



# Fluorescenční detekce kyslíku

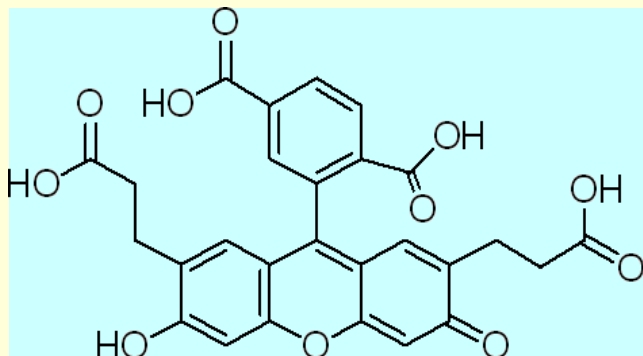
Kyslík  $\leftrightarrow$  Ru(phen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>  $\Rightarrow$  zhášení fluorescence



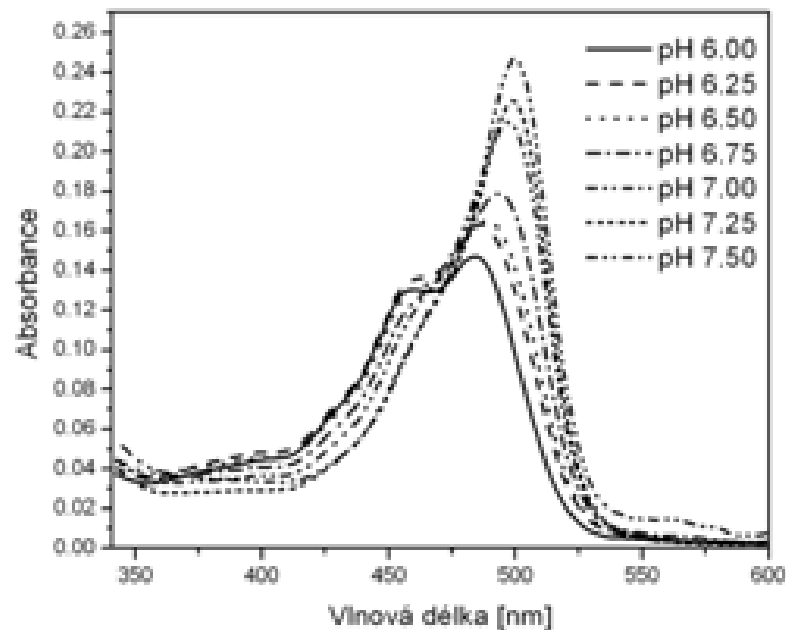
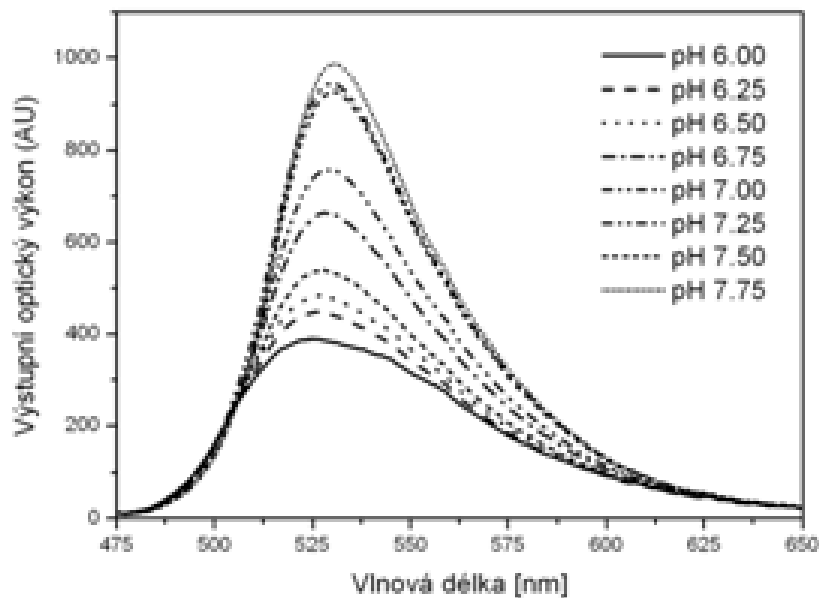
# Fluorescenční detekce pH -biosenzory

2',7'-Bis(2-carbonylethyl)-5(6)-  
carboxyfluorescein

**BCECF** (Aldrich 14560)



**Emise**



Excitace 473 nm, Emise 530 nm  
Reference 430 nm

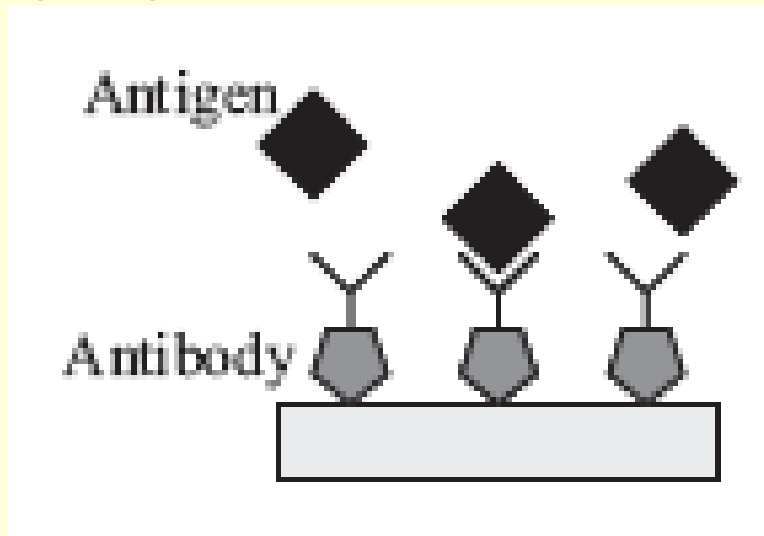


# Biopřevodníky

## Index lomu

### Imunopřevodníky = biopřevodníky

Využívají imunitní (afinitní) reakce protilátek (antibody) ke specifickému zachycení analyzovaných látek (antigen) → změna  $n$  ( $10^{-4} - 10^{-7}$ )



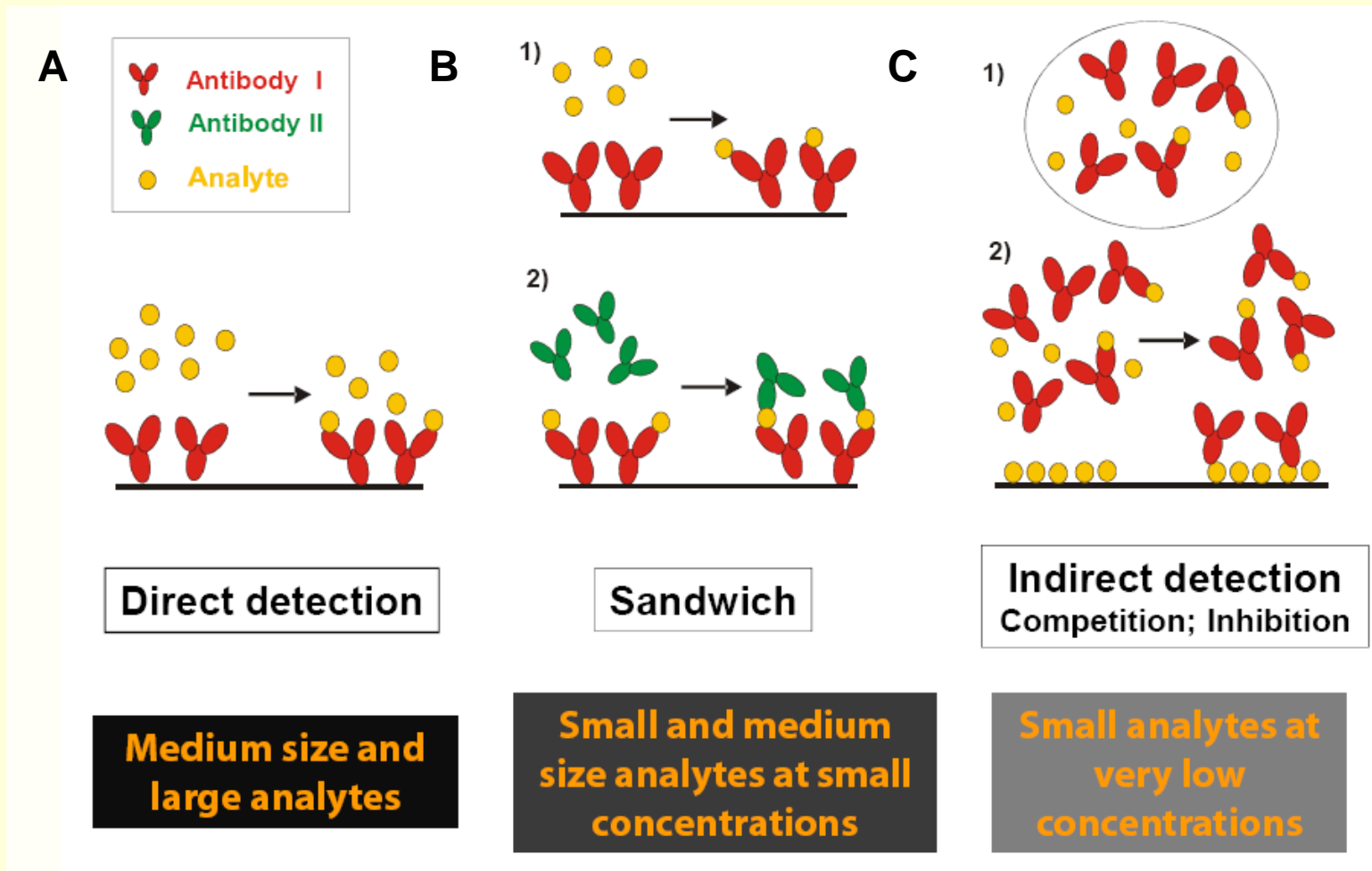
**Gamaglobuliny Ig**  
5 druhů – G,M,A,E,D

**IgG**

See e.g.: D.W.G. Morrison et al., „Clinical application of micro- and nanoscale biosensors“, Biomedical Nanostructures, Ed. K.E. Gonsalves, C.L. Laurencin, C.R. Halberstadt, L.S. Nair, 433-453, Ch. 17, 2008



# Imunopřevodníky – „label-free“ změna indexu lomu

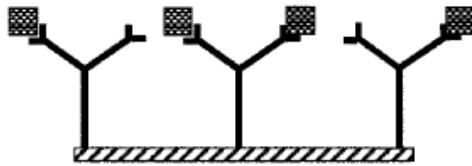


A - přímé, B – sendvičové, C – inhibiční, konkurenční

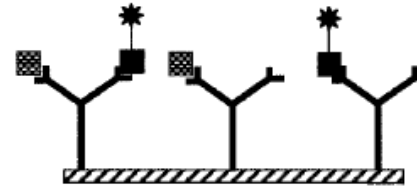


# Imunopřevodníky s fluorescenčními značkami

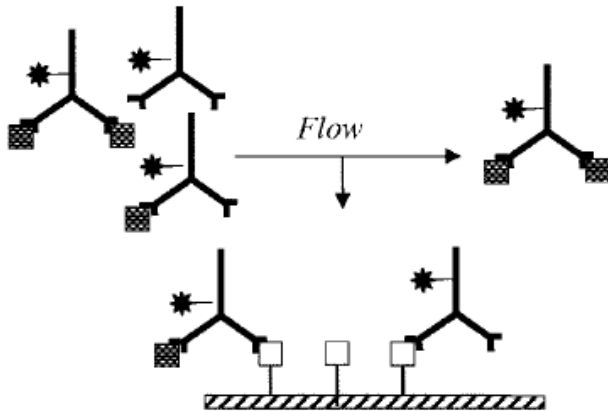
(A) DIRECT ASSAY



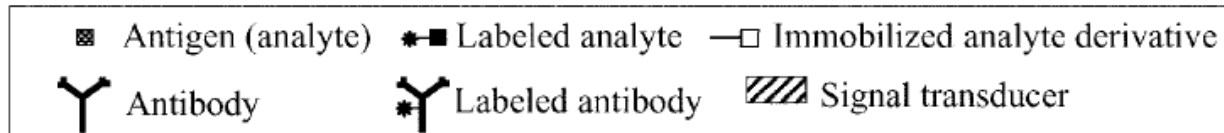
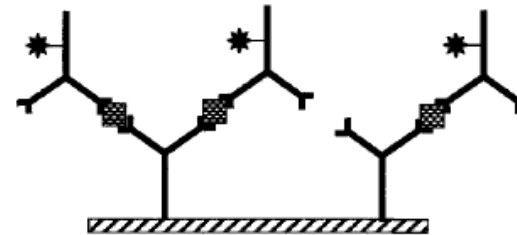
(B) COMPETITIVE ASSAY



(C) BINDING INHIBITION ASSAY



(D) SANDWICH ASSAY



**A – přímé (bez značky) , B – konkurenční,  
C – inhibiční, D - sendvičové**



# Příklady imunopřevodníků (měření fluorescence)

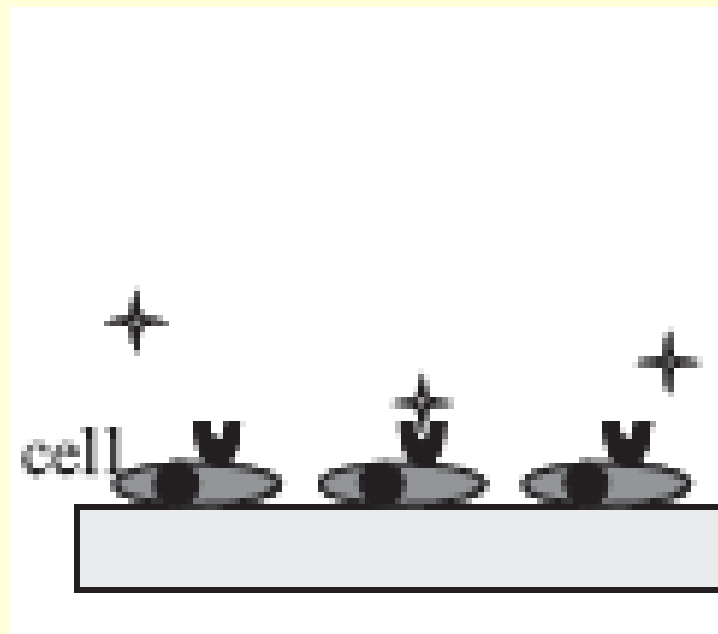
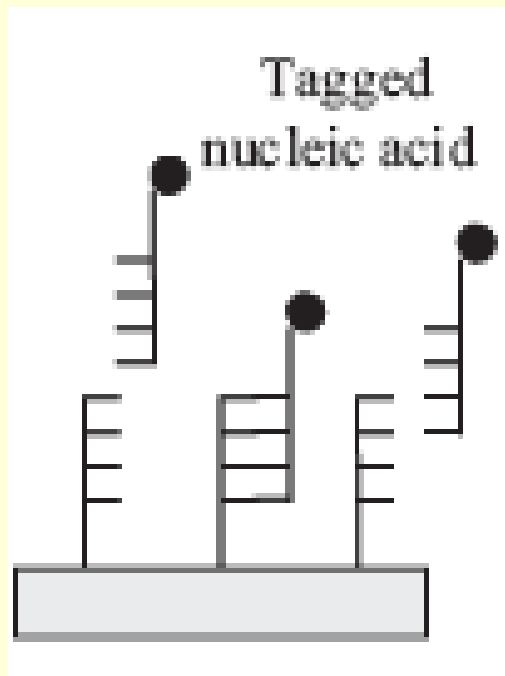
Analyt	Značka	Uspořádání
Kokain	Protilátka značená Cy5	Konkurenční
Alkaloidy koky	Antigen značený fluoresceinem	Konkurenční
Benzo(a)pyren (rakovina)	-	Přímé (325 nm)
Protein C (tromboza)	Protilátka značená Cy5	Sendvič
Dimer D (seps)	Protilátka značená Cy5	Sendvič
Salmonella spp.	Protilátka značená fluoresceinem	Sendvič
Enterotoxin B	Protilátka značená Cy5	Sendvič

Cy5 (Cy3) kyaninová barviva  $\lambda_a$  do 550 nm,  $\lambda_e \sim 570$  nm.

Fluorescein (obvykle fluorescein isokyanát) excitace  $\sim 490$  nm, emise  $\sim 520$  nm.



# DNA řetězce, buňky



**Navázání doplňkových řetězců DNA s fluorescenčními značkami – detekce poruch DNA**

**Bioluminescence geneticky modifikované Escherichia coli,**





# Biopřevodníky

Vyžadují fyziologické podmínky (pH, rozpouštědlo, teplota) jinak denaturace

K řízení pH

**PBS- „phosphate buffered saline“ pH=7,4**

( g/l – 8,01-NaCl, 0,20 KCl, 1,78 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O, 0,27 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)

V imunosensorech je dále používán

**BSA – „Bovine serum albumin“** – v imunosensorech pro zvýšení signálu



# Biopřevodníky - enzymy

Enzymy = biokatalyzátory

**Substrát (analyt)  $\xrightarrow{\text{enzym}}$  Produkt**

Substrát = glukóza, fruktoza, pesticidy,  
močovina

Produkt nebo substrát může mít vhodné optické vlastnosti nebo je nutné přidat další převodník pro jejich detekci



# Optická detekce glukosy

Kombinace enzymatického a luminiscenčního převodníku

Reakce glukosy s kyslíkem v přítomnosti enzymu glukozaoxidázy (katalyzátor)



1. Spotřeba kyslíku se detekuje pomocí fluorescence Ru komplexů
2. Vznik peroxidu vodíku lze detekovat pomocí chemiluminiscence luminolu



# Opto-chemické a biopřevodníky

Absorpční koeficient (pH detekce u biopřevodníků enzymů)

## Enzymatické převodníky a pH převodník

Cholinesteráza + methyl červeň

**Acetylcholin + voda → cholin + kyselina octová**

Detekce organofosforových látek pro vojenství a zemědělství.

Cholinesteráza zachycena na silikagelu, acetylcholin a pH indikátor v ampulce.

Nervově paralytická látka inhibuje cholinesterázu ⇒ žádná změna pH.



**Průkazník CHP71**



# Příklady enzymatických převodníků

Analyt	Enzym	Matrice	Detekován	Převodník
Glukóza	Glukosaoxidáza	Akrylamid	Kyslík	Ru(phen) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Bilirubin	Bilirubinoxidáza	Akrylamid	Kyslík	Ru(phen) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Cholesterol	Cholesteroxidáza	Grafit	Kyslík	Ru(phen) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Penicilin	Penicilináza/penicilin G amidáza	Polyvinyl alkohol	pH	Aminofluorescein
Močovina	Ureáza	Polyvinyl alkohol	pH	Aminofluorescein
Cholin	Cholinoxidáza	PVA gel	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Luminol

M.D. Marazuela et al., Anal Bioanal Chem (2002) 372 :664–682



# Detekční membrány

## Princip působení

- *Nastavují index lomu v detekčním místě*
- *Zvyšují koncentraci detekovaných chemikálií v detekčním místě (určují rozdělovací koeficient  $K_p$  analytu v objemové fázi a v detekčním místě)*

$$K_p = \frac{C_{site}}{C_{external}}$$



# Detekční membrány

$K_p \rightarrow \infty$  (pro detekovanou látku)

$K_p \rightarrow 0$  (ostatní látky ve vzorku)

*Zachycují opticko-chemické převodníky v detekčním místě (absorpční, fluorescenční indikátory), které interagují s detekovanými látkami, čímž se mění objemový absorpční koeficient a index lomu.*



# Xerogelové detekční membrány

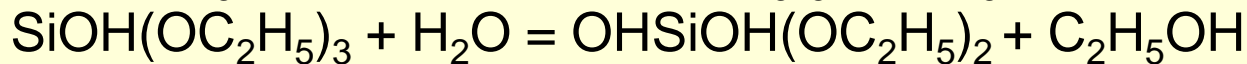
## Příprava

Sol-gel metoda vycházející z alkoxidů

**Sol** = koloidní roztok (částice, řetězce) v rozpouštědle (alkoholy, voda). **Gel** = trojrozměrná mřížka s rozpouštědlem mezi řetězci

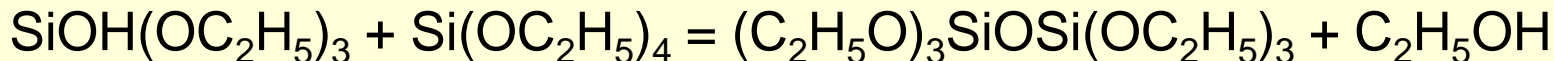
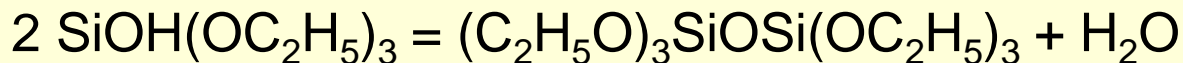
**A) Příprava solů - řetězců** z výchozích alkoxidů (tetraethoxysilan - TEOS, methyltriethoxysilan - MTES, fenyltriethoxysilanu - PTES, tetraisopropoxid titanu), rozpouštědla (alkoholy), katalyzátoru (HCl, amoniak), modifikátoru (2-methoxyethanol, cetylamoniumbromid - CTAB).

### Hydrolysa:



Tvorba 2 a více OH skupin žádoucí jen u objemových materiálů, ne u tenkých vrstev – závisí na  $R_w$  = moly vody/moly alkoxidu.

### Polykondensace

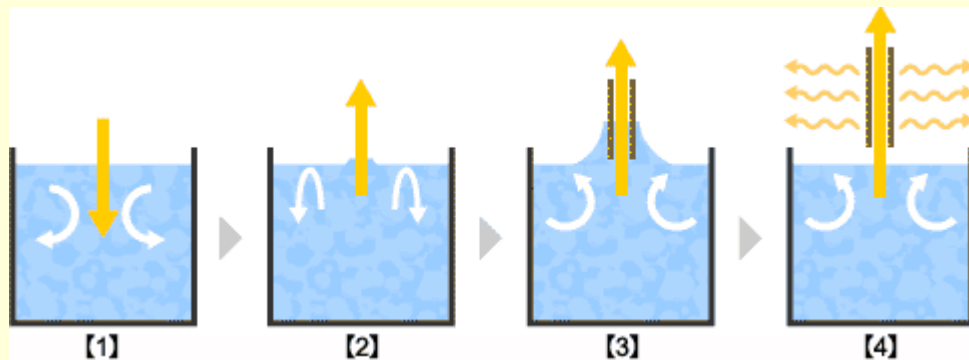




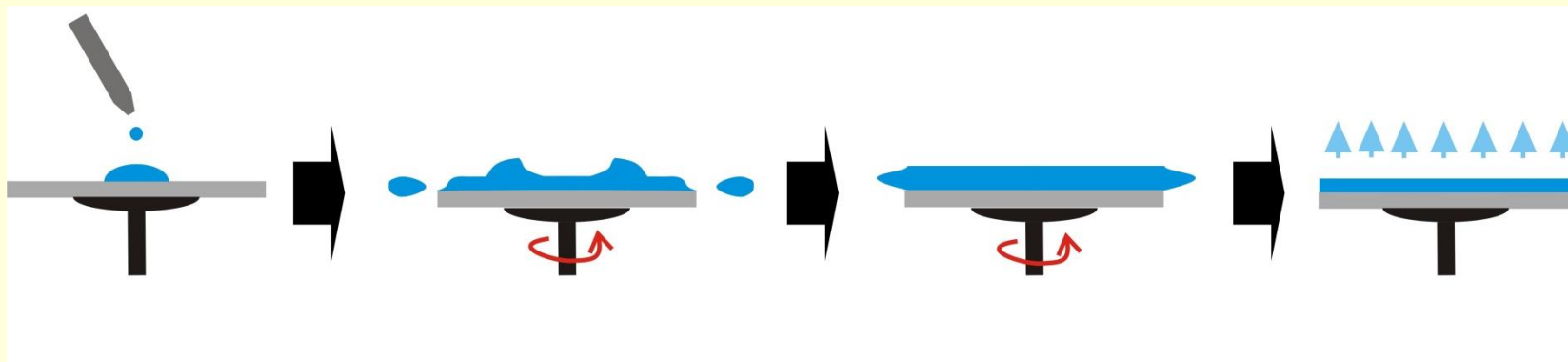
# Xerogelové detekční membrány

## B) Nanesení solů na substráty → Vrstva gelu

Dip-coating (namáčení):  $H \sim U^k$ ;  $k \sim 0.5 - 0.66$ ; Tloušťka  $H \uparrow \leftrightarrow$  Rychlost  $U \uparrow$



Spin-coating (za rotace) :  $H \sim \Omega^{-k}$  ;  $k \sim 0.5 - 1$ ; Tloušťka  $\downarrow \leftrightarrow$  Otáčky  $\uparrow$



# Xerogelové detekční membrány

**C) Sušení** gelové vrstvy za tvorby pórézní vrstvy (xerogel) – Obvykle do 100 °C. Tloušťky pod 1 μm

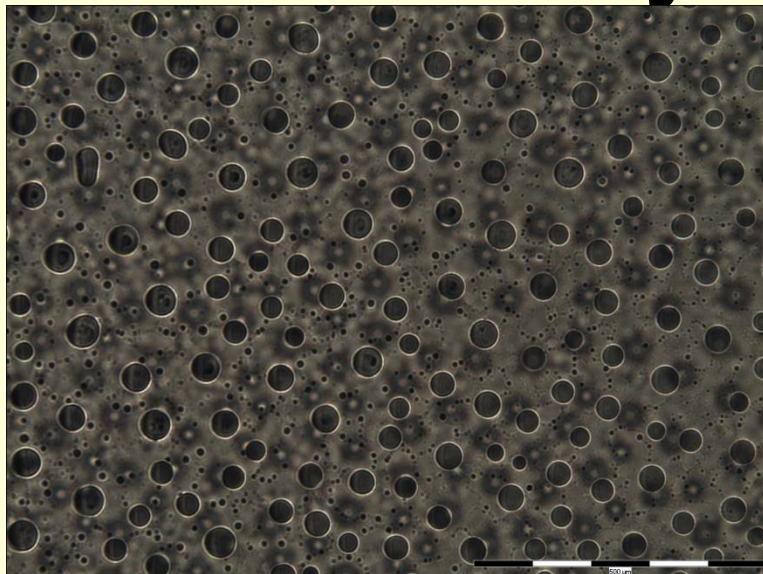
Výsledné vrstvy – mikroporézní (<2 nm)-mesoporézní (2-50 nm) s hydrofobními (lyofóbními), hydrofilními vlastnostmi

[https://cdr.lib.unc.edu/indexablecontent?id=uuid:3ead4934-c1c5-4440-a4e1-d04c1add967e&ds=DATA\\_FILE](https://cdr.lib.unc.edu/indexablecontent?id=uuid:3ead4934-c1c5-4440-a4e1-d04c1add967e&ds=DATA_FILE) (biosensors)

Handbook of sol-gel science and technology 1-3, Ed. S. Sakka, 2005

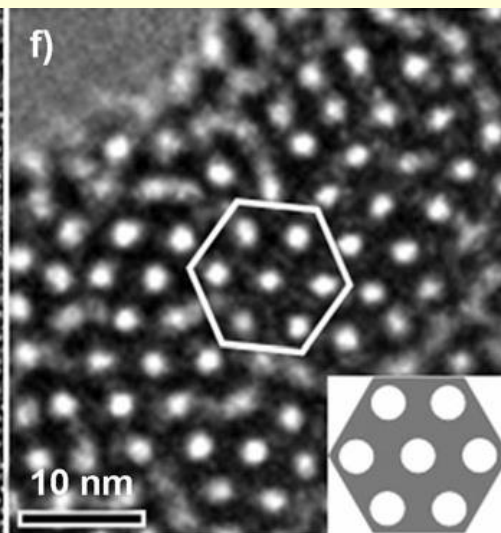
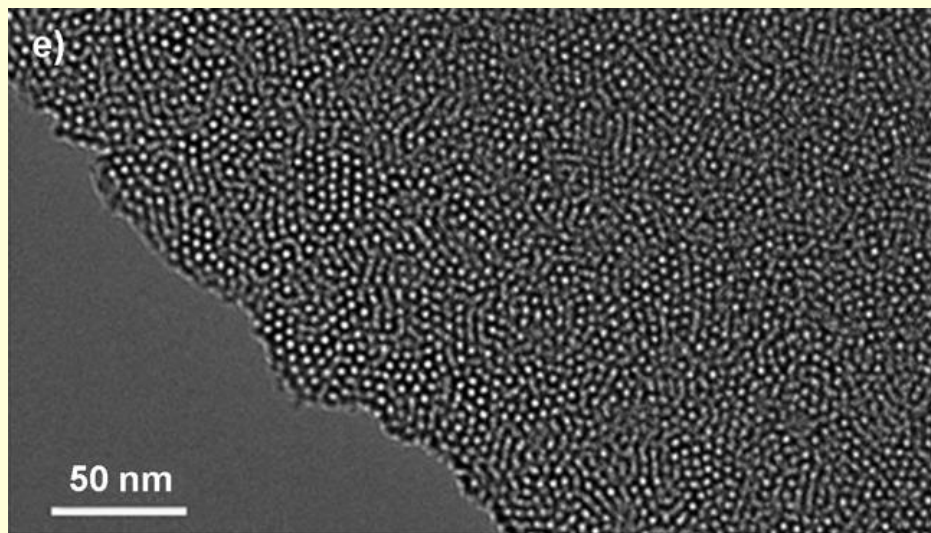


# Příklady vrstev na sklech



TEOS + PTES (1:1)

$$R_w = 5$$



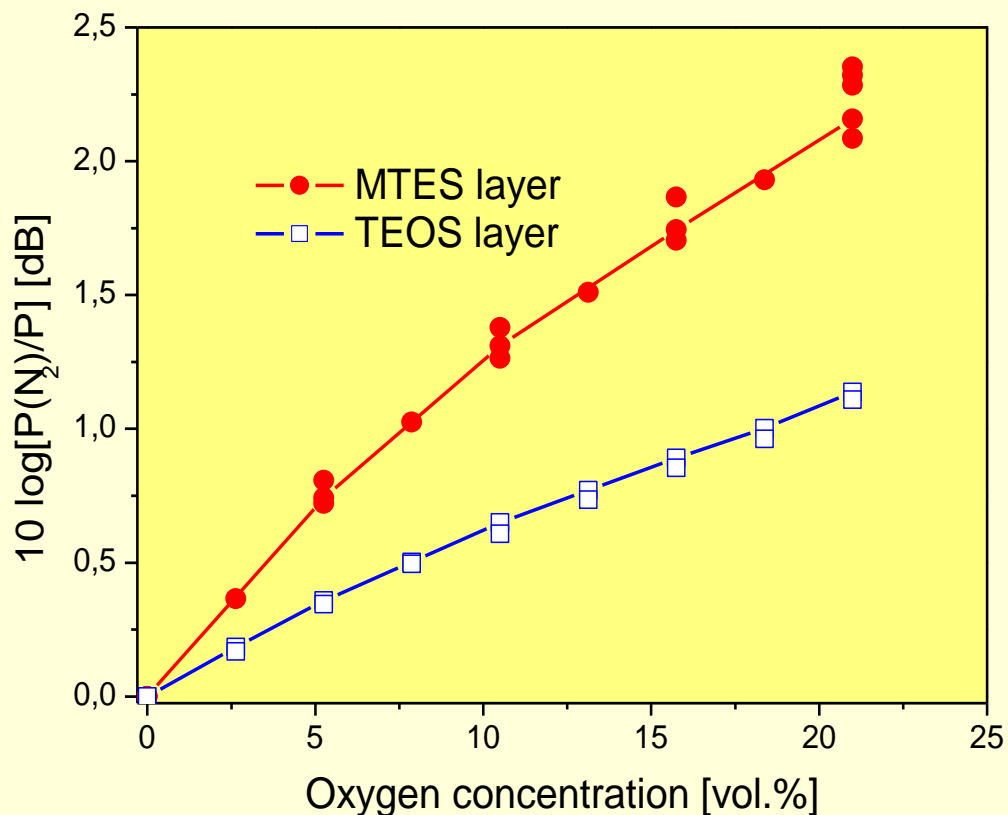
TEOS,  
CTAB,  
ethanol,  
čpavek

Z. Teng et al. *Ang. Chemie* 51, 2173-2177 (2012)



# Detekce plynného kyslíku

## Intenzita luminiscence Ru komplexu v xerogelové membráně na optickém vlákně



V. Matejec et al., Mater Sci. Eng. C28, 876-881 (2008)



# Polymerní detekční membrány

Připravovány – polymerací monomerů (teplo, UV)

Polysiloxanové polymery  
(tepelné tvrzení)

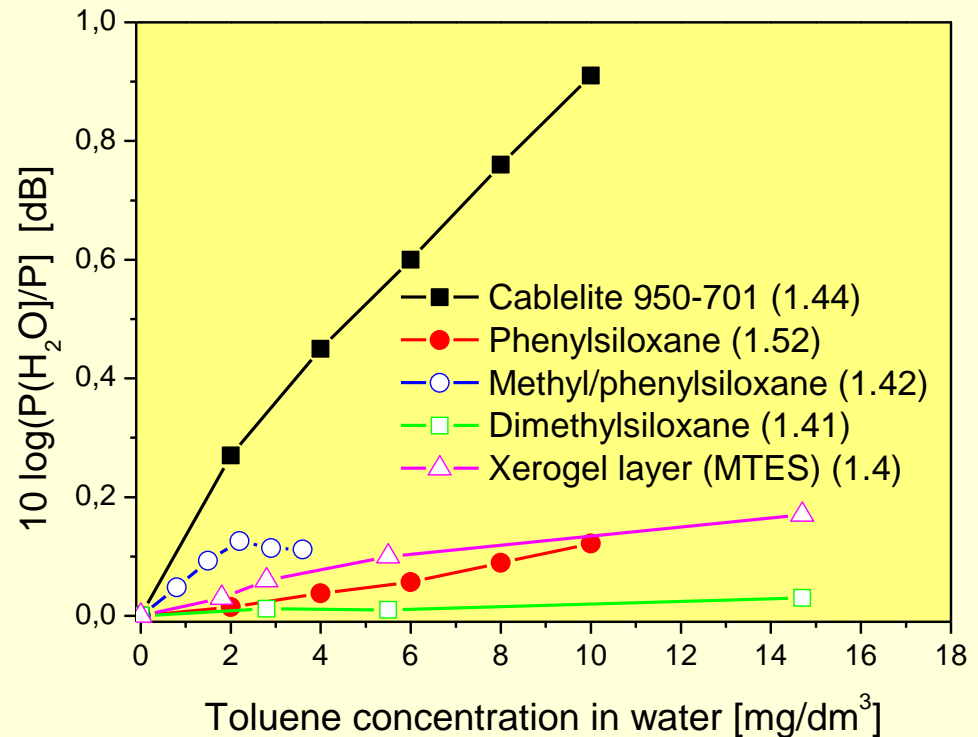
PVC (tepelné tvrzení)

Etylceluosa (tepelně)

ORMOCER®s -

Organicky modifikované  
siloxany (UV tvrzení)

Membrány na křemenu, citlivost  
k toluenu ve vodě



Membrány připravovány metodou namáčení vláken do roztoku polymeru nebo metodou za rotace planárního vlnovodu



# Membrány v biosensorech

Zejména pro immobilizaci biopřevodníků – enzymů, protilátek, nukleových kyselin (DNA, RNA)

- *různé typy polymerních membrán (PVA)*
- *gely (silikagel, xerogel)*

Omezení: nutné pH 6 – 7 při přípravě membrán, jinak může dojít ke zničení biopřevodníku (denaturace). Ethanol a methanol rovněž proteiny denatrují.

## Membrány využívají

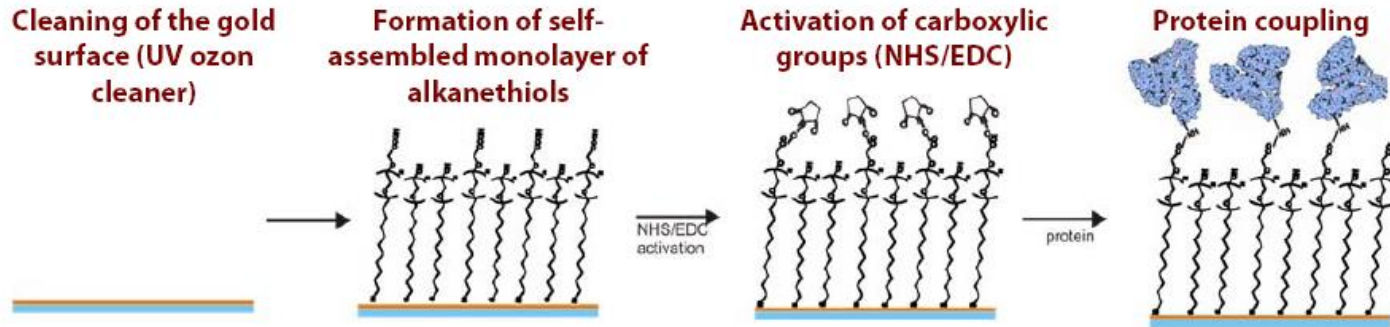
- *kovalentní navázání*
- *adsorpce (elektrostatické nebo hydrofobní interakce)*
- *afinitní interakce prostřednictvím proteinů A a G*



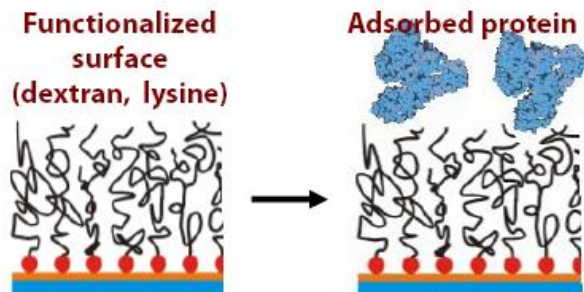


# Membrány v biosensorech (použitelné i pro kovové povrchy)

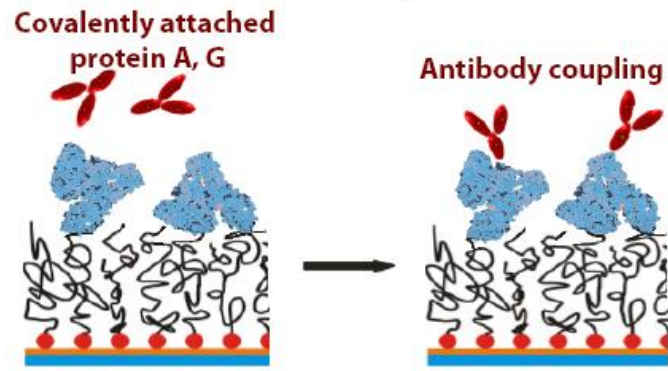
## I. Covalent attachment via self-assembled monolayer (SAM)



## II. Physical adsorption



## III. Attachment via protein A, G



NHS - *N*-hydroxysuccinimide, EDC - *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide

Protein A – povrchový protein z buněčných stěn (56 kDa), váže protilátky IgG

Protein G – povrchový protein z buněčných stěn (58 nebo 65 kDa), pro vazbu IgG

