Ústav fotoniky
a elektroniky

OPTICKÉ SENZORY 2

OBSAH

- **VLNOVODNÉ SENZORY**
- Senzory využívající evanescentní vlnu
  Refraktometrické + ATR
- Senzory reflexní
- Optické mřížky
- Senzory s povrchovými plazmony
- **MINIATURIZACE SENZORU**
- Tapery
- Nanočástice
- Mikrorezonátory
- **NOVÉ SMĚRY**
- Fotonické krystaly, zobrazovací senzory

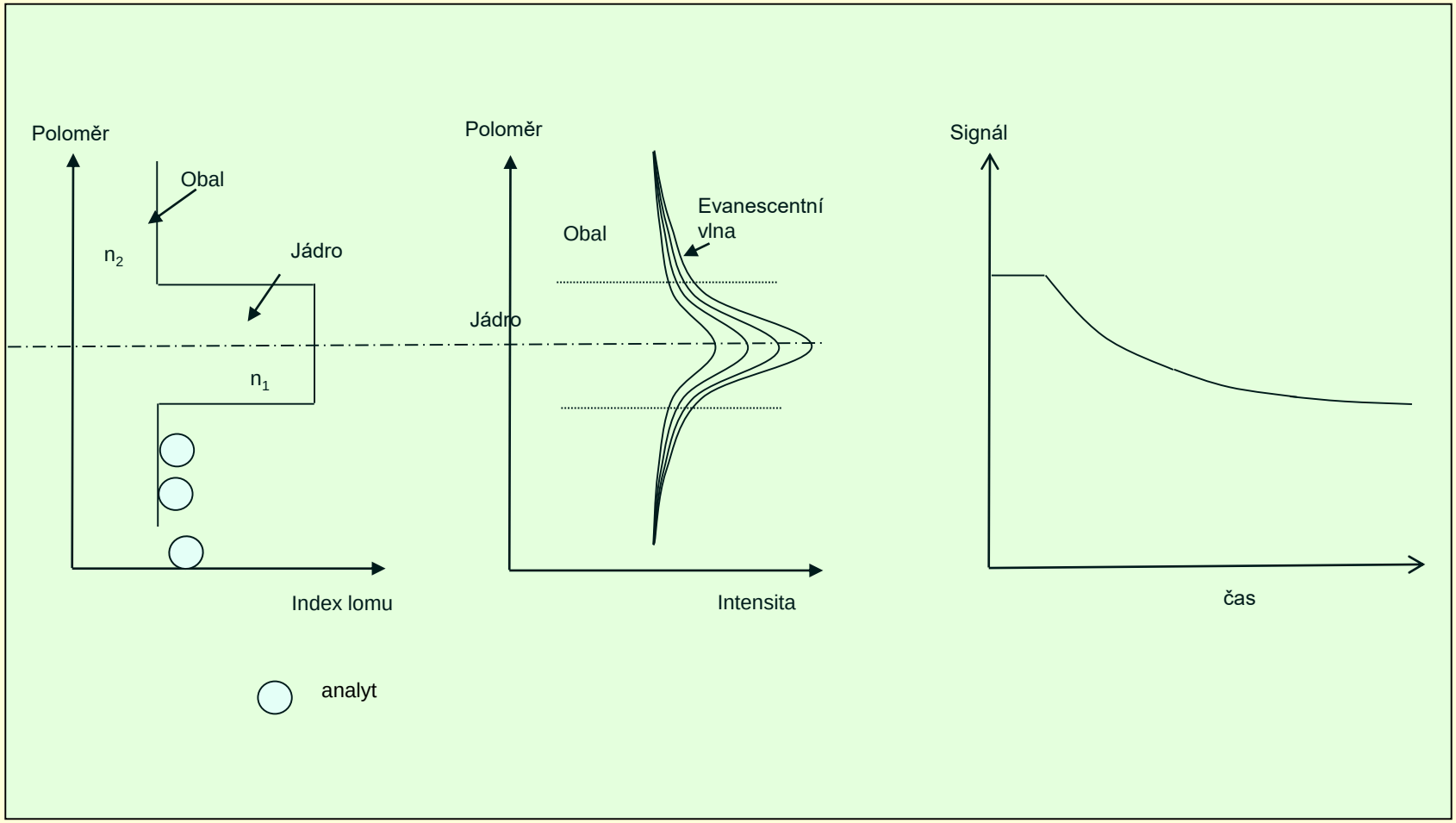
Evanescentní vlnovodné senzory

Detekční místo v plášti vlnovodu

Využívají interakci detekovaných veličin s částí optického vidu - evanescentní vlnou, která prochází optickým pláštěm vlnovodu.

Detekovaná proměnná (tlak, teplota, chemická látka, buňka) mění ***optické vlastnosti v optickém plášti*** *– absorpční koeficient, luminiscenci, index lomu - a tedy mění parametry evanescentní vlny procházející pláštěm (amplituda, fáze, polarizace). Tyto změny se přenáší do části optického vidu v jádře a jsou detekovány na konci vlnovodu.*

Princip evanescentního senzoru
Detekční místo v plášti vlnovodu



Evanescentní vlna - vlastnosti

1. Optický výkon v plášti standardních vláknových vlnovodů P_{clad} je malý $\eta \sim 0.01$ z celkového výkonu ve vlnovodu $P \rightarrow$ malá odezva na změny v plášti

$$P_{clad} = P\eta \approx P\frac{\sqrt{8}}{3}\frac{1}{V} = P\frac{\sqrt{8}}{3}\frac{\lambda}{\pi d\sqrt{n_1^2 - n_2^2}}$$

d-průměr jádra, n_1 jeho index lomu, n_2 – index lomu pláště, λ - vlnová délka

2. Evanescentní vlna proniká do vzdálenosti x=100-300 nm od rozhraní jádro/plášť v důsledku exponenciálního poklesu intenzity el. pole E se vzdáleností; analyt musí být v oblasti d_p Pro hloubku průniku d_p platí

$$E \approx e^{-\frac{x}{d_p}} \qquad d_p = \frac{\lambda}{2\pi\sqrt{n_1^2 \sin^2\Psi - n_2^2}}$$

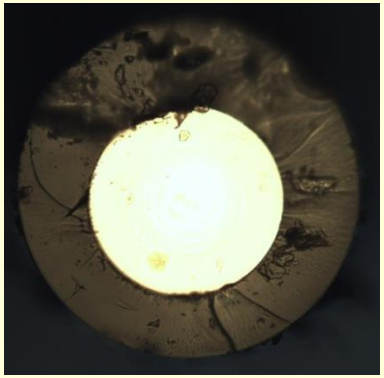
Vyšší vidy s $\Psi \rightarrow \Psi_c$ mají d_p vyšší

Evanescentní vlnovodné senzory- realizace

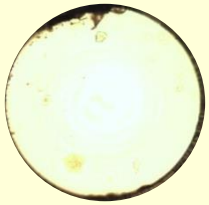
1. Výchozí vlnovod - PCS vlákno, polymerní vlákno, SM vlákno, planární vlnovod

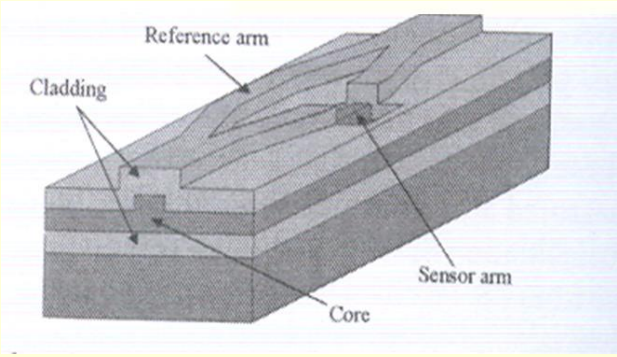
2. Zajištění přístupu do oblasti evanescentní vlny, tj. k rozhraní jádro/plášť ⇒

- odstranění pláště – jednoduše u PCS a polymerních vláken u ostatních nutno plášť odbrousit.



Botnání
Mech.
odstranění →





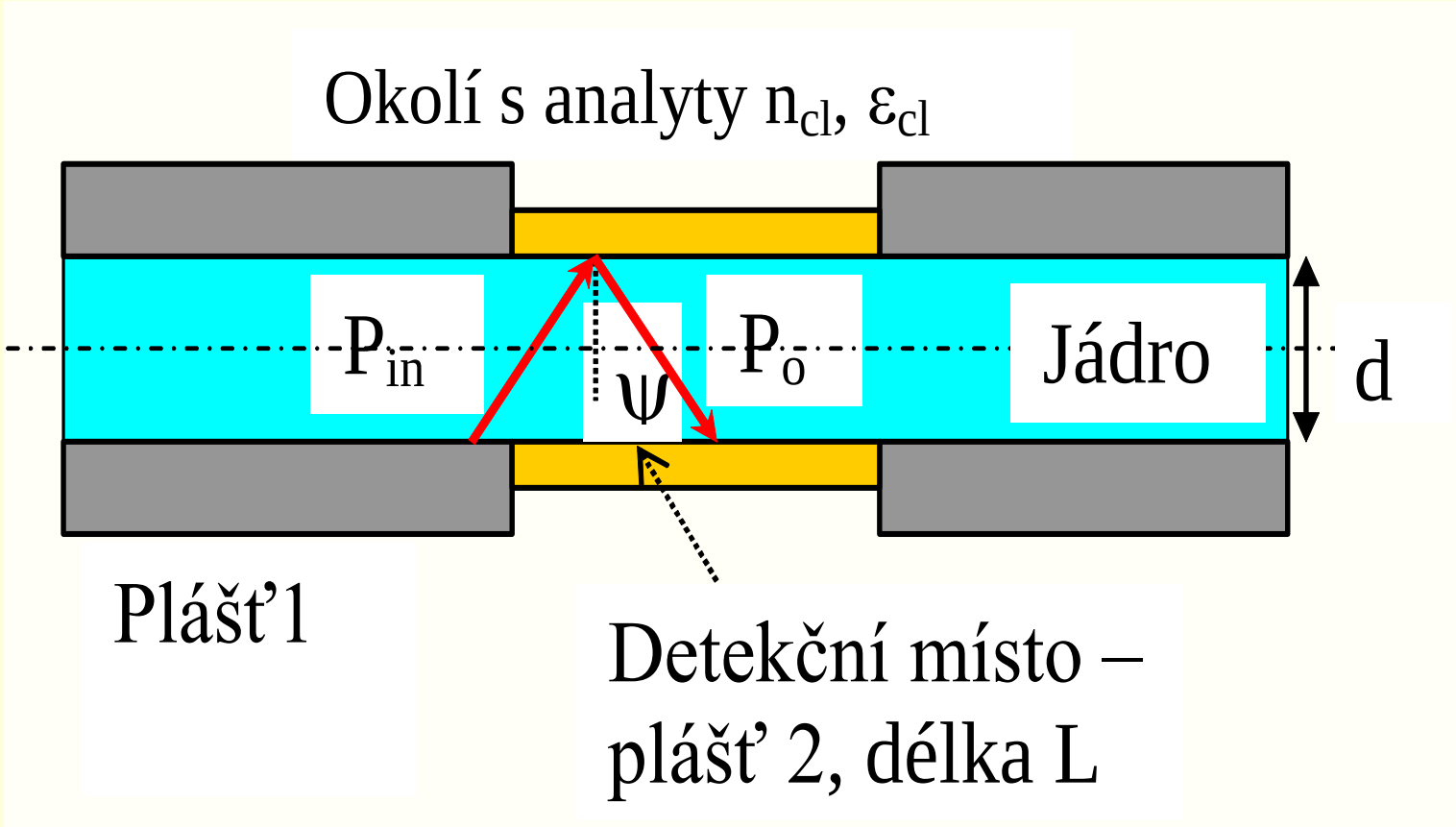
Evanescentní senzory

– refraktometrické – měří změny indexu lomu pláště

- ATR (tlumený úplný odraz) – měří změny absorpčního koeficientu

Evanescentní vlnovodné senzory -

Změna absorpčního koeficientu ε, indexu lomu n pláště 2



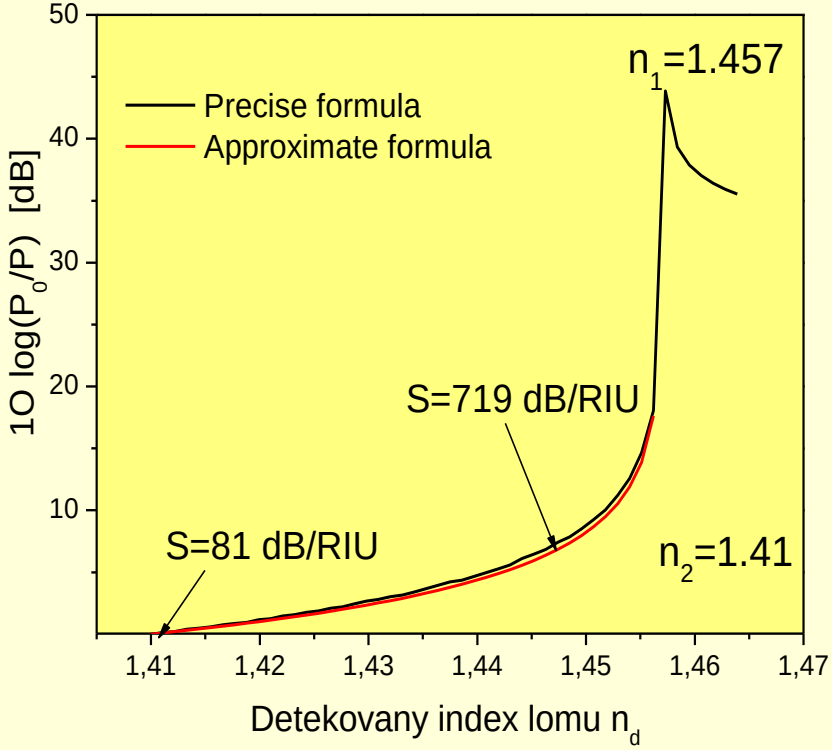
Pro každý paprsek i: $\mathbf{P_o(i) = P_{in}(i)\, R(n_{cl}, \varepsilon_{cl}, \psi)^{N(i)}}$

R-odrazivost, N~L/d-počet odrazů

Senzory refraktometrické

Výkon P_i přenesený paprskem i závisí na odrazivosti $R(n_d)$

$$P_i = P_{0i} R^{N_i} \qquad \begin{matrix} R = 1 & \Psi \geq \Psi_c \\ R = 0 & \Psi < \Psi_c \end{matrix} \qquad P \approx P_O \frac{n_1^2 - n_d^2}{n_1^2 - n_2^2} \qquad n_1 \sin \Psi_c = n_d$$

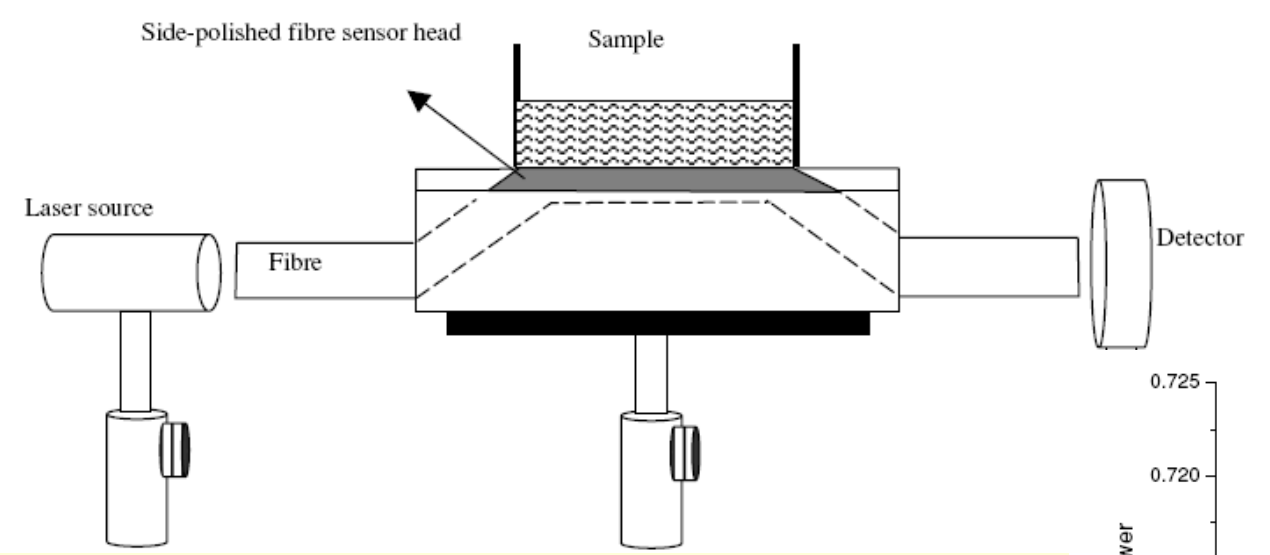


Citlivost refraktometrického senzoru je malá, pokud $n_d \ll n_1$

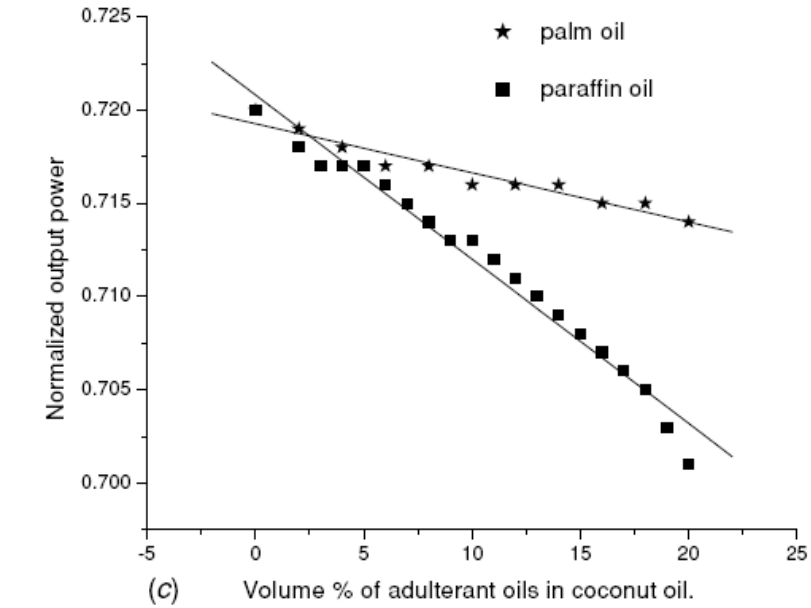
Ve vodných roztocích je limit detekce ~ 10^{-2} RIU, což není dostačující pro biosenzory

Proto se pro zvýšení citlivosti detekce používá např. navázání optickými mřížkami, interferometrické zapojení nebo SPR struktury

Senzory refraktometrické



Červená LD
Si detektor



$n_{kok} = 1.449;$
$n_{palm} \sim 1.47;\ n_{paraf} \sim 1.53$
$n_{core} \sim 1.49$

$$P = P_0 \left[1 - \frac{n_{ad}^2 - n_{kok}^2}{n_{core}^2 - n_{kok}^2} x \right]$$

Detekce nečistot (parafinový, palmový olej) v kokosovém oleji při 670 nm, odbroušené PMMA vlákno Φ 0.98 mm

M. Scheeba et al., Meas. Sci. Technol. 16, 2247-2250 (2005)

Attenuated Total Reflection – ATR
Tlumený úplný odraz tj. R=R(ε_{cl})

$$P_i = P_{0i} R^{N_i} \quad \approx P_i = P_{0i} \exp(-\gamma_i \ \mathrm{L})$$

Pro jeden vedený paprsek

$$\gamma_i \approx \varepsilon_{cl} \frac{\lambda}{\pi d \sqrt{n_1^2 - n_2^2}} \frac{\left(\frac{\theta_i}{\theta_{ci}}\right)^2}{\sqrt{1 - \left(\frac{\theta_i}{\theta_{ci}}\right)^2}}$$

Pro všechny vedené paprsky

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = \frac{k\lambda}{\pi d \sqrt{n_1^2 - n_2^2}} \varepsilon L \approx \langle 0.001 - 0.01 \rangle \varepsilon L$$

$\theta = \pi/2 - \Psi$ – doplňkový úhel k úhlu odrazu Ψ, k~1, ε - absorpční koeficient měřený v kyvetě, A -absorbance

Zvýšení odezvy(↑)=↓P_i =↑L nebo ↑γ

Metody pro zvýšení odezvy evanescentních vlnovodných senzorů

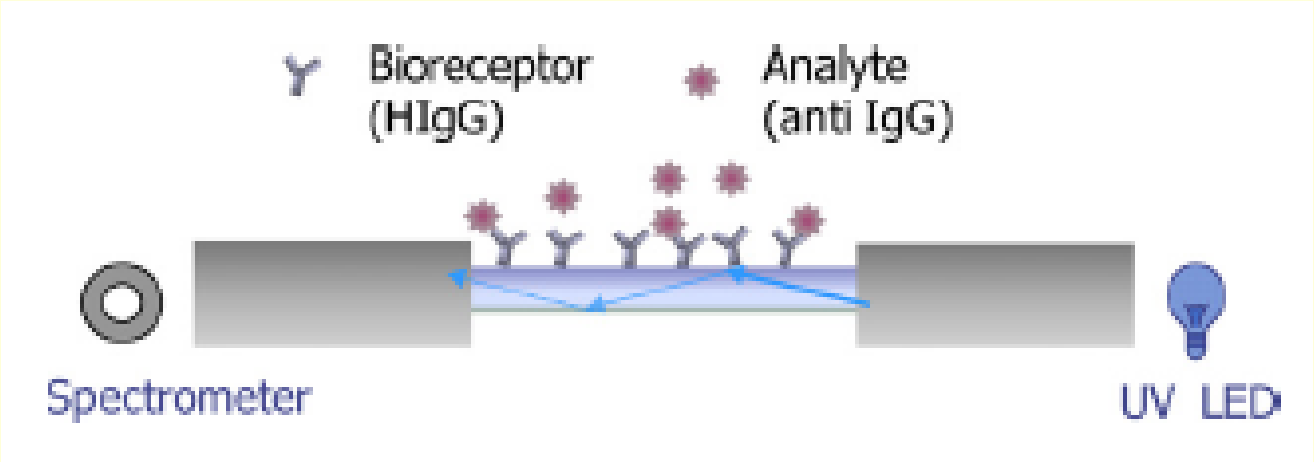
- Použití převodníku s vysokým objemovým absorpčním (luminiscenčním) koeficientem $\gamma \sim \varepsilon_{cl}$ - ATR
- Zmenšení průměru jádra vlnovodu $\gamma \sim 1/d$ - ATR
- Zvětšení vlnové délky detekce $\gamma \sim \lambda$ – ATR
- Řízení úhlu dopadu na rozhraní jádro/plášť tak, aby $\theta \rightarrow \theta_c$, tj. excitace vyšších vidů s $\Psi \rightarrow \Psi_c$ a tedy s $\beta \approx n_{cl}$
- Prodloužení vlnovodu L
- Index lomu jádra $n_1 \rightarrow$ indexu lomu vzorku n_2

Způsoby pro zvýšení citlivosti

$$\gamma \approx \varepsilon_{cl}$$

- Použití opticko-chemického převodníku s vysokým objemovým absorpčním (luminiscenčním) koeficientem ε_{cl} (používáno i u planárních vlnovodů)
- pH převodníky
- Ru komplexy pro detekci kyslíku
- enzymatické převodníky pro detekci glukosy, močoviny
- imunopřevodníky

Imunopřevodník na PCS vlákně absorpční stanovení-změna ε_{bulk} v UV



$$A \approx \frac{\sqrt{8}}{3} \frac{\lambda}{\pi\, d\, NA} \varepsilon_{bulk} cL = 0{,}001 \varepsilon_{bulk} cL$$

ε_{bulk} **– absorpční koef. c – koncentrace, L – délka detekční části**

Zdroj UV LED 280 nm – detekce změn absorbance-elektronického spektra proteinů (HIgG, anti IgG) v UV oblasti při 280 nm.

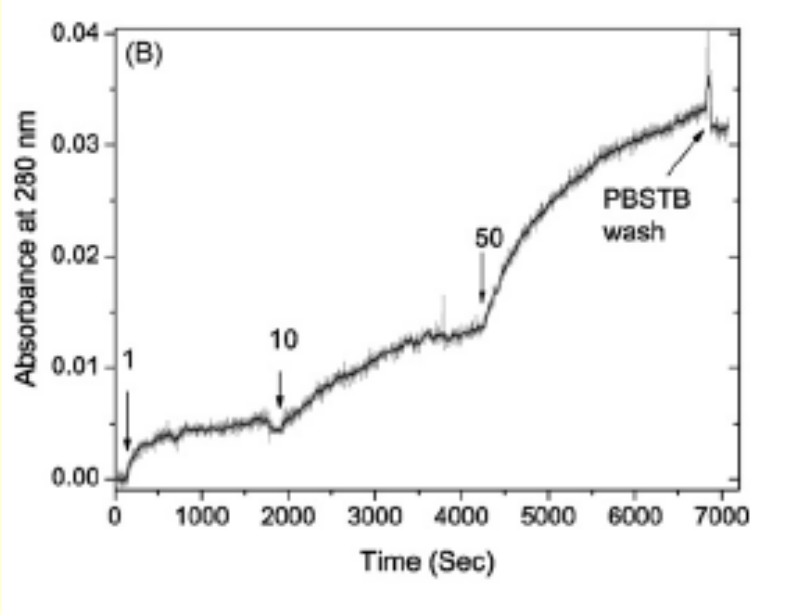
PCS vlákno, NA=0,37, d=200 µm, L~5 cm

Viz: V.V.R. Sai et al., Sens.Actuators B143 (2010) 724-730

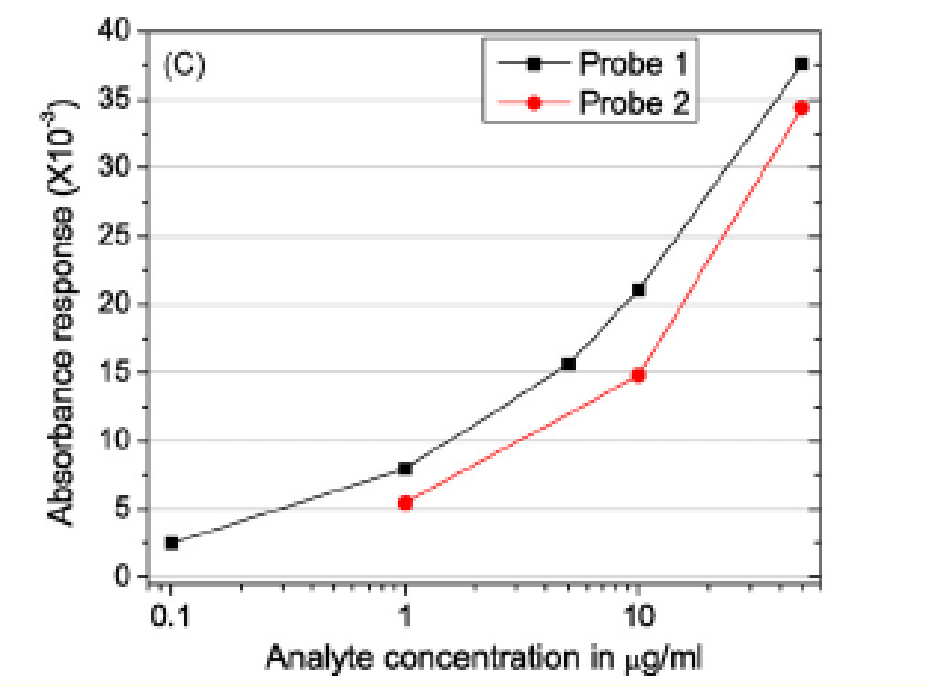
Imunopřevodník na PCS vlákně

A. Hydrolysa a dehydratace-tvorba OH skupin na povrchu vlákna – 2h
B. Aminosilanizace (5 min)
C. Reakce s glutaraldehydem (30 min)
D. Inkubace HIgG v pufru (PBS) na vlákně (12 h)

Časová odezva k anti IgG 280 nm



Kalibrační křivky při 280 nm

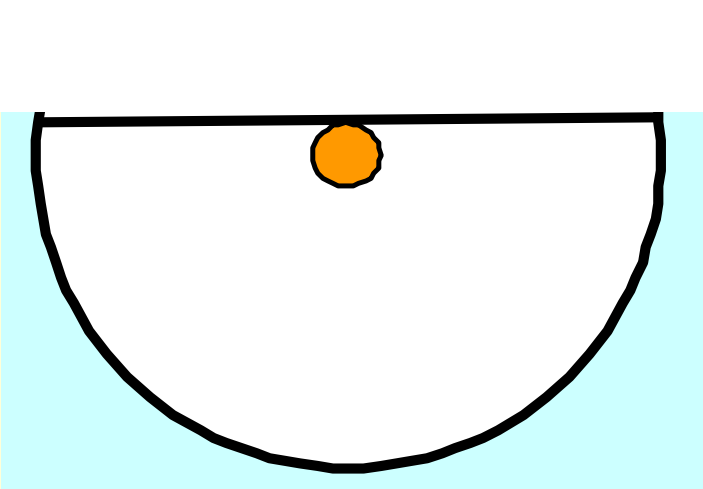


LD ≈ 0,1µg/ml

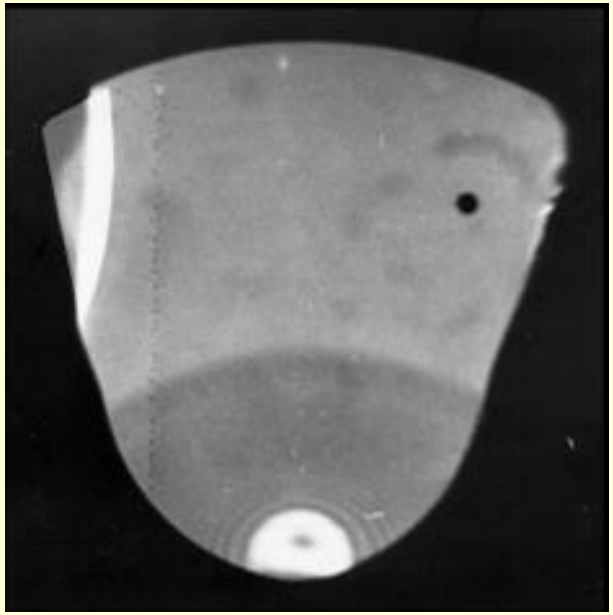
$$\gamma \approx \frac{1}{d}$$

Zmenšení průměru jádra vlnovodu

D-vlákna, UK



Sektorová vlákna, UFE



Odbroušení preformy do D tvaru a tažení SM vlákna

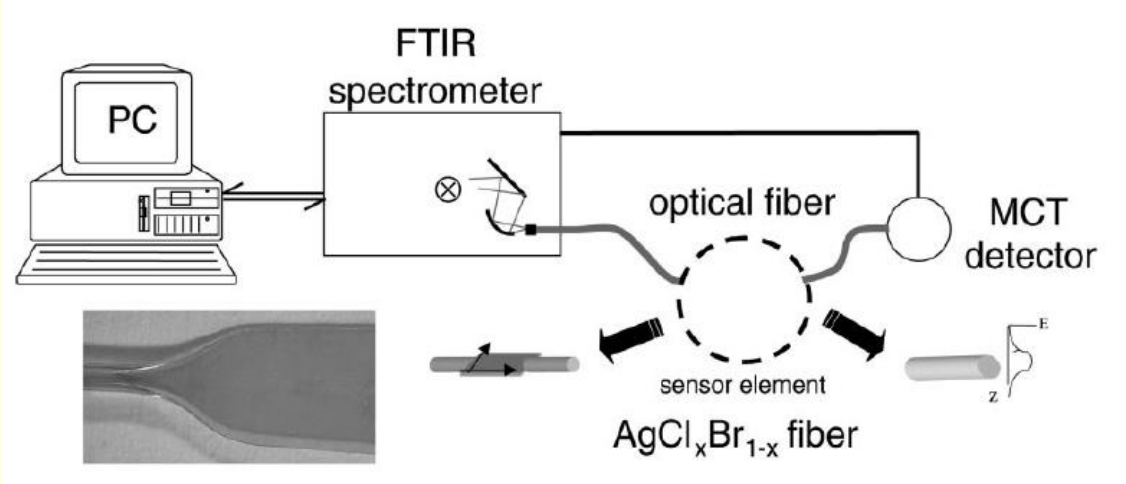
Tažení z preformy obroušené do sektorového tvaru

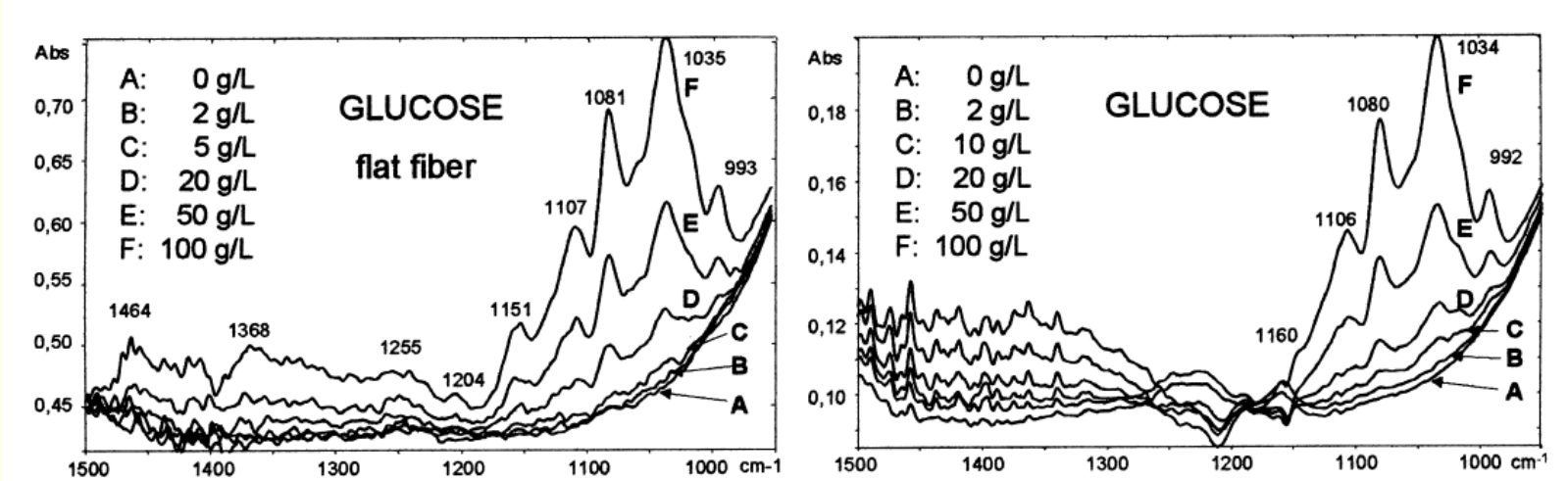
Průměry jader 10-30 μm, dobré mech. vlastnosti, opt. mřížky, senzory povrchových plazmonů

G. Stewart, W. Jin, B. Culshaw, Sens. Act. B 38, 42-47, 1997 – D -vlákno

V. Matejec et al., Sens. Actuators B 38-39 (1997) 334-338 – s- vlákno

Přímý ATR IR senzor na D-vláknu





AgCl$_x$Br$_{1-x}$ D- vlákno, zploštělé stlačením kruhového vlákna ze 700 na 150 µm - **4x větší ATR odezva** pro ploché vlákno

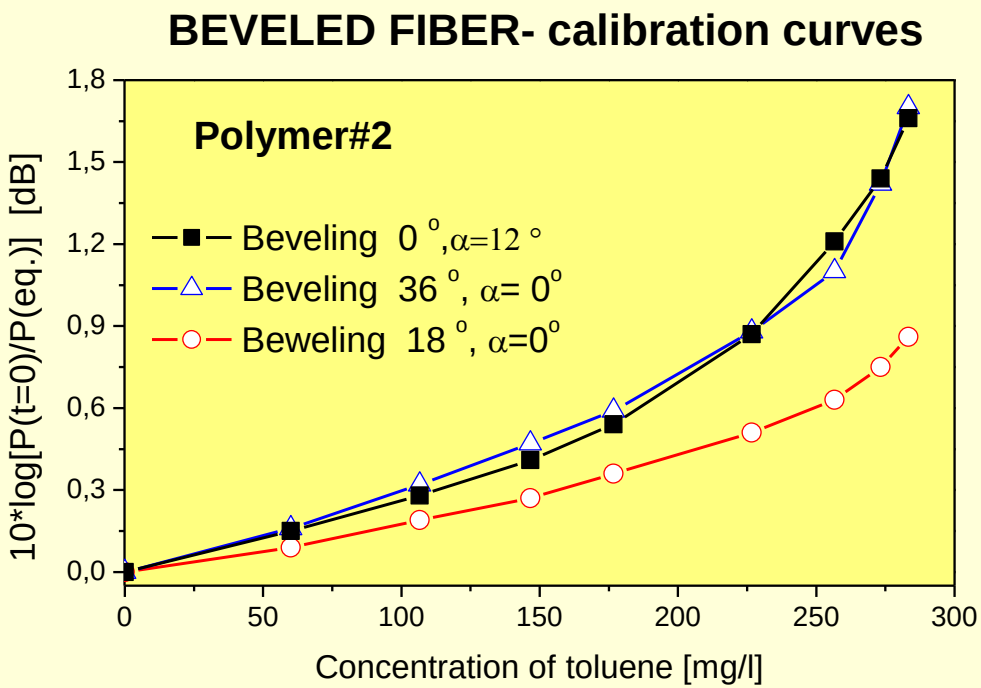
U. Bindig et al. ,Sens. Actuators B 74 (2001) 37-46

Nastavení úhlu odrazu na rozhraní jádro/plášť

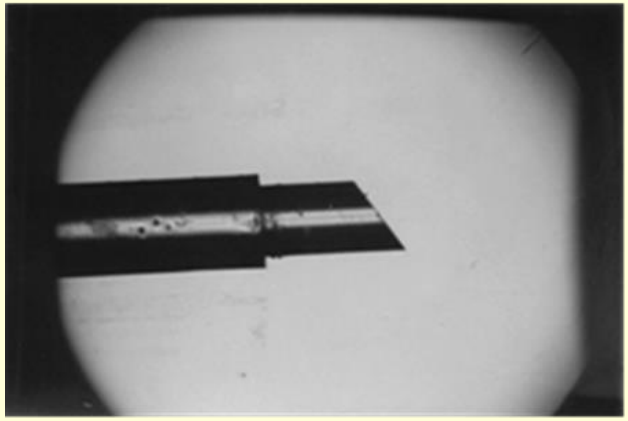
$$\gamma \approx \frac{1}{\sqrt{1-\left(\frac{\theta}{\theta_c}\right)^2}}$$

- Excitace PCS vláken odkloněným kolimovaným svazkem – vlákna se šikmým koncem (beveled)
- Ohnutá PCS vlákna (U vlákna)

PCS vlákno – odezva k toluenu rozpuštěnému ve vodě



Šikmé vlákno



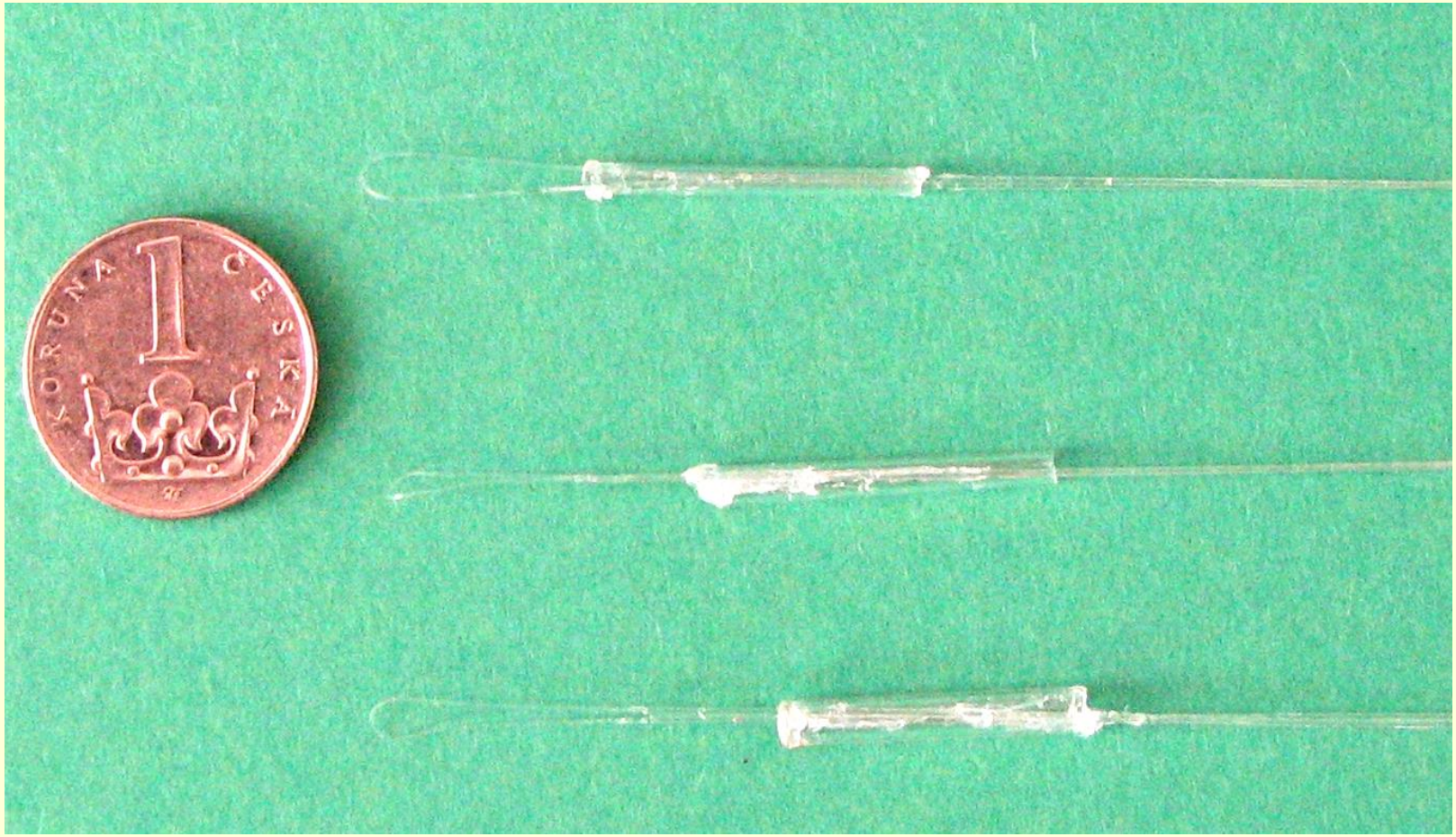
Detekční membrána z UV tvrditelného silikonu
n=1.423, L= 5cm
LD~15 mg/l

Zdroj: červený laser
Detektor: Si fotodioda

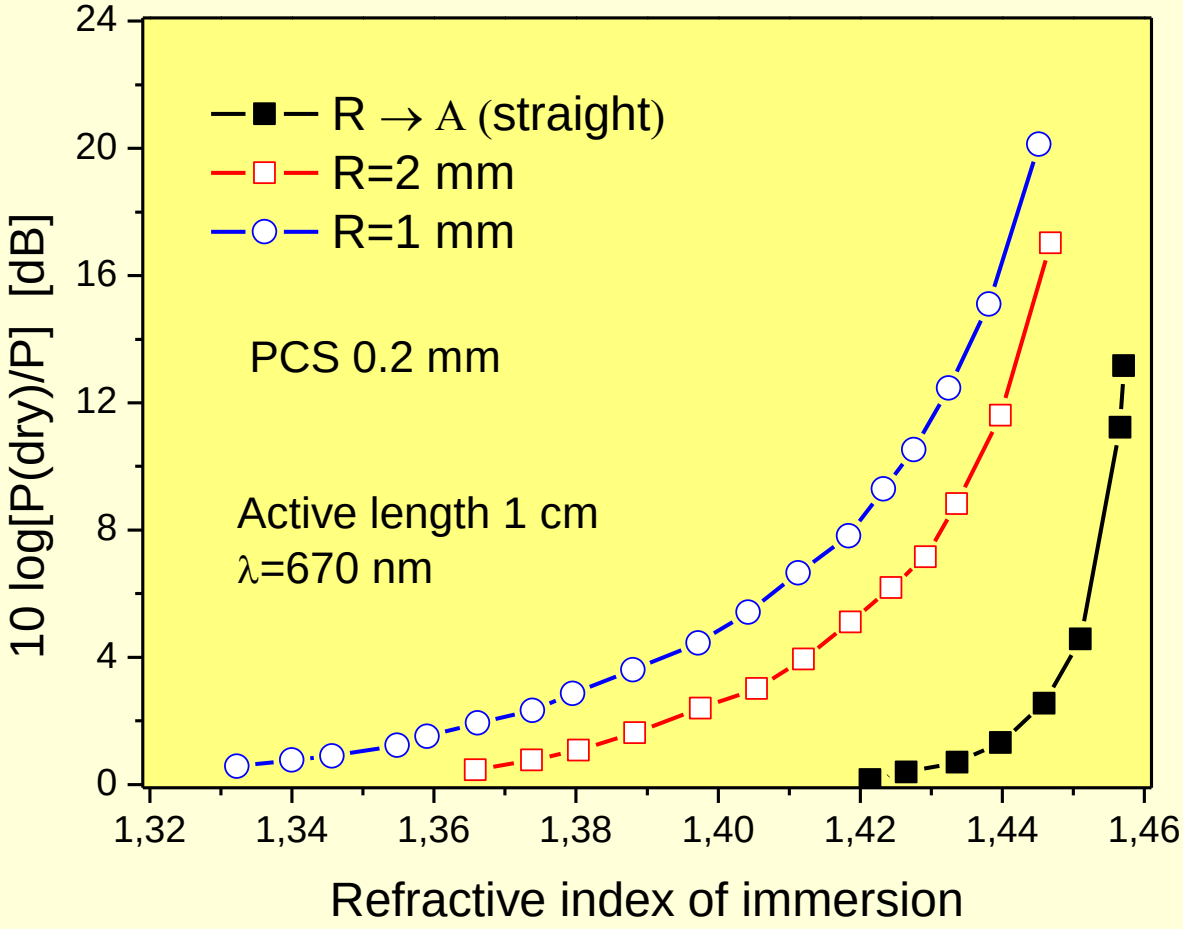
Vlákno s rovným koncem osvíceno šikmě ≈ vlákno s šikmým koncem 36 °

V. Matějec et al., Mat. Sci. Eng. C21, 217-221 (2002)

Ohnutá vlákna (U-vlákna)
Zmenšení úhlu odrazu na rozhraní



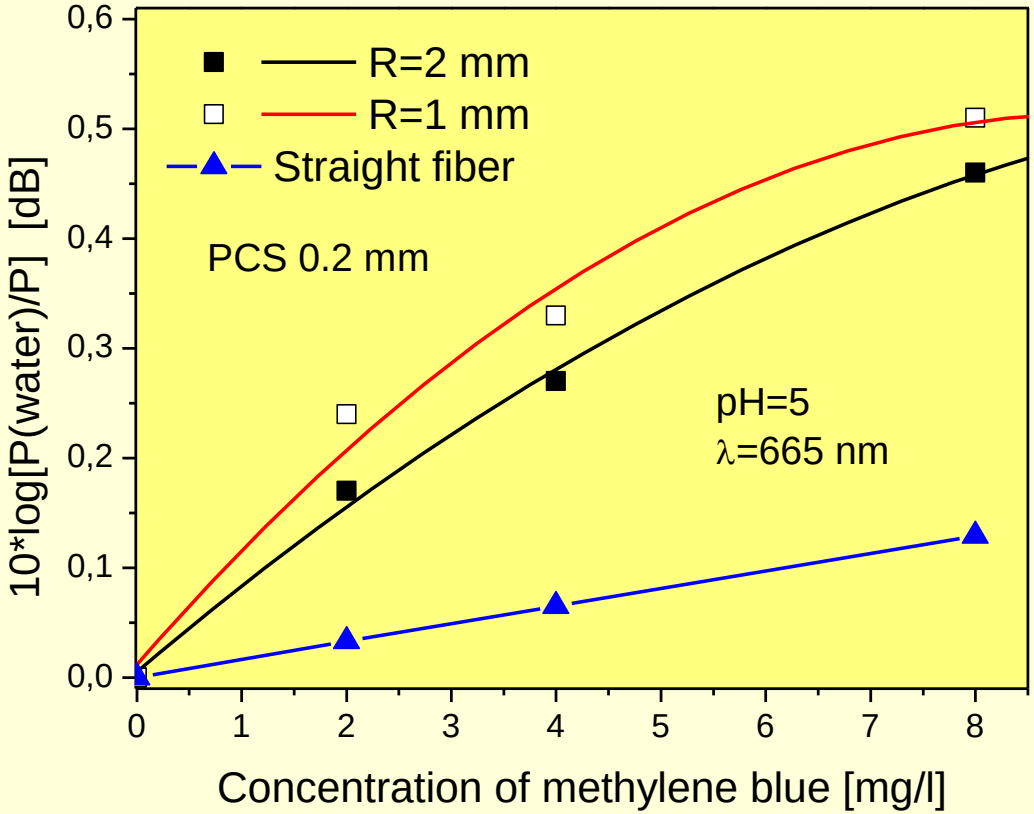
Citlivost ke změnám indexu lomu pláště refraktometrické senzory



Zdroj: červená LED
Detektor: Si fotodioda

R=1 mm, LD ~ 0,001 RIU ve vodných roztocích

Citlivost ke změnám absorpčního koeficientu pláště - ATR

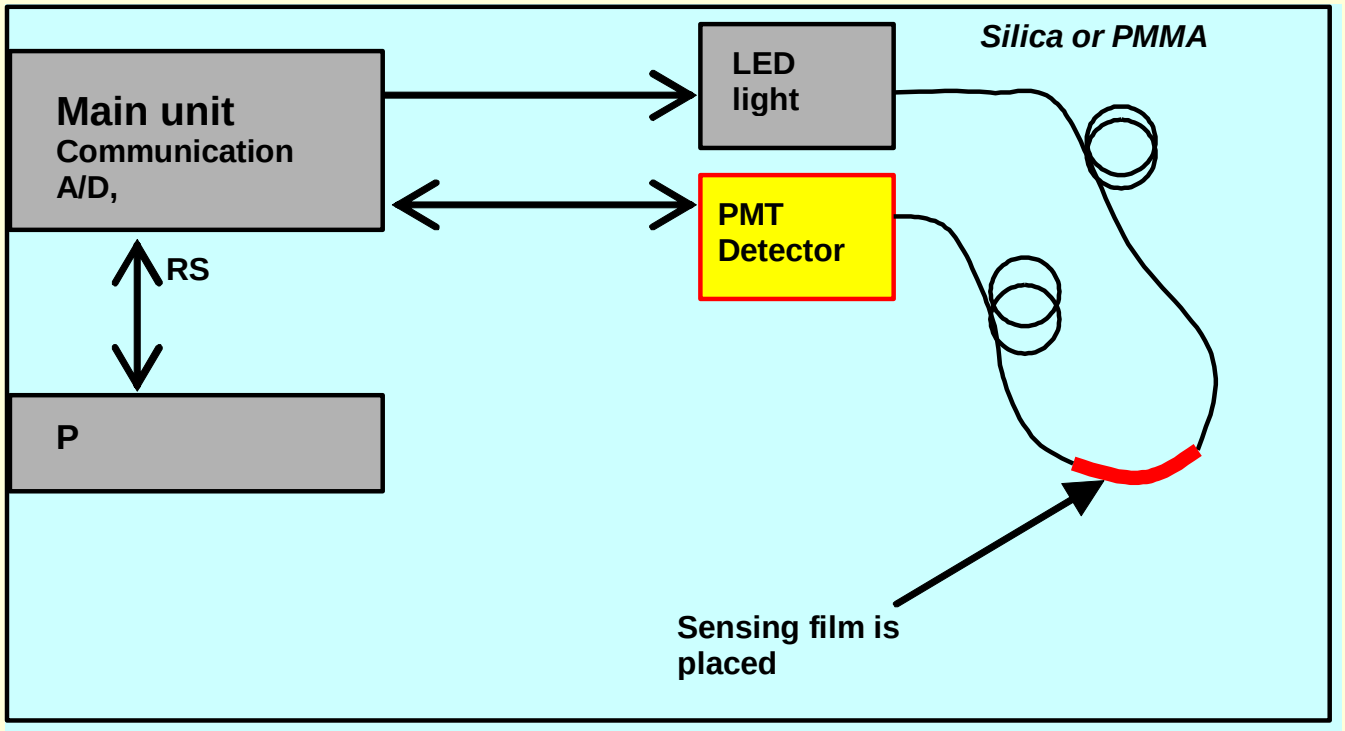


Zdroj: halogenová lampa
Detektor: spektrometr

Vodný roztok metylenové modři: LD~0,1 mg/l pro R=1 mm

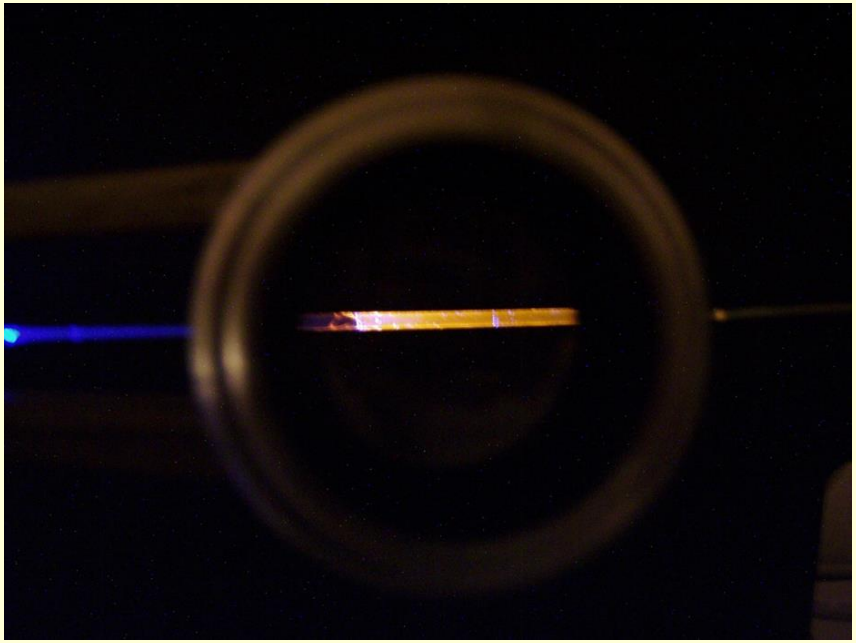
V. Matejec et al., Sens. Lett. 7, 900-904 (2009)

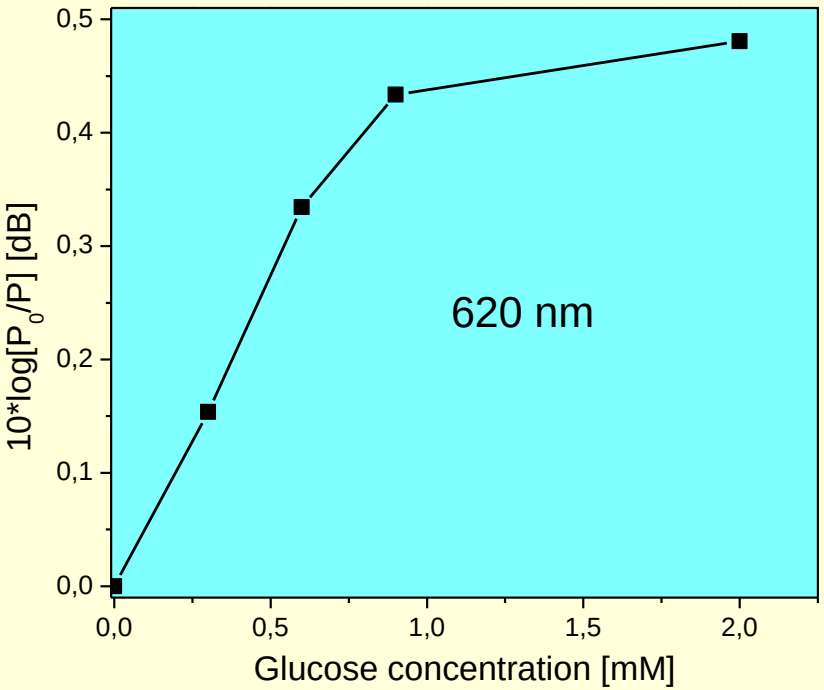
Vlastní senzor kyslíku a glukozy



Ohnuté polymerní vlákno (1 mm), detekční mebrána ze spec. polymeru ORMOCER® (n~1.5) s Ru komplexem a glukosaoxidazou. Detekce je založena na monitorování spotřeby kyslíku v enzymatickém rozkladu glukosy pomocí zhášení luminescence Ru komplexu. Ta se naváže do evanescentních vln.

Senzor kyslíku a glukozy
Plastové vlákno pokryté glukozaoxidasou a Ru komplexem





Excitace 470 nm modrá LED

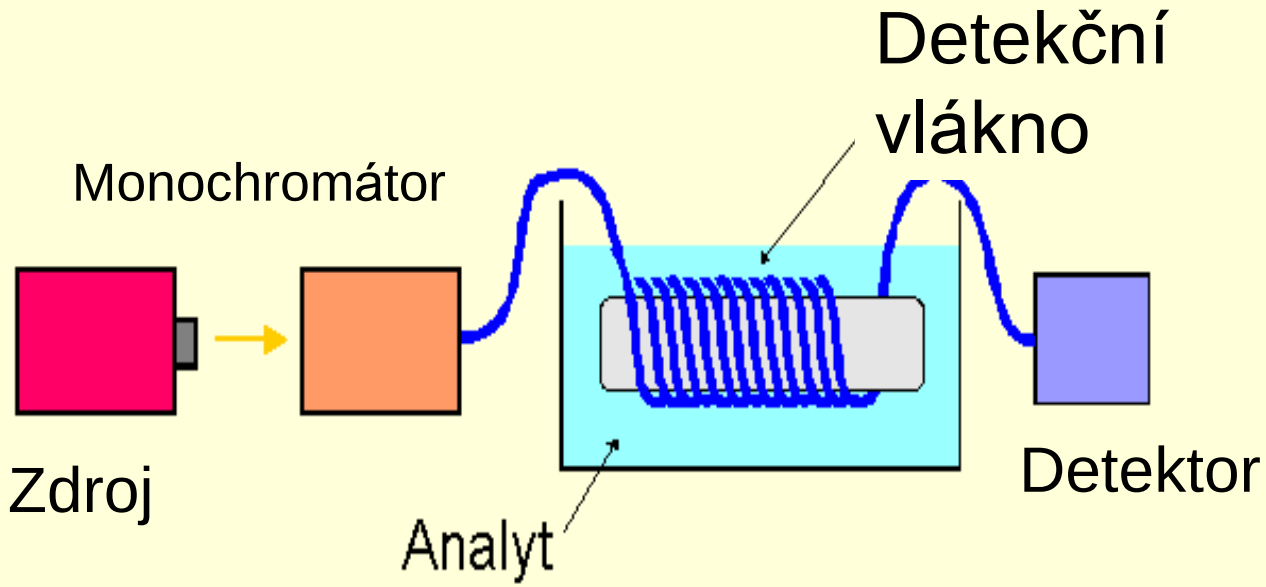
Luminiscence 620 nm

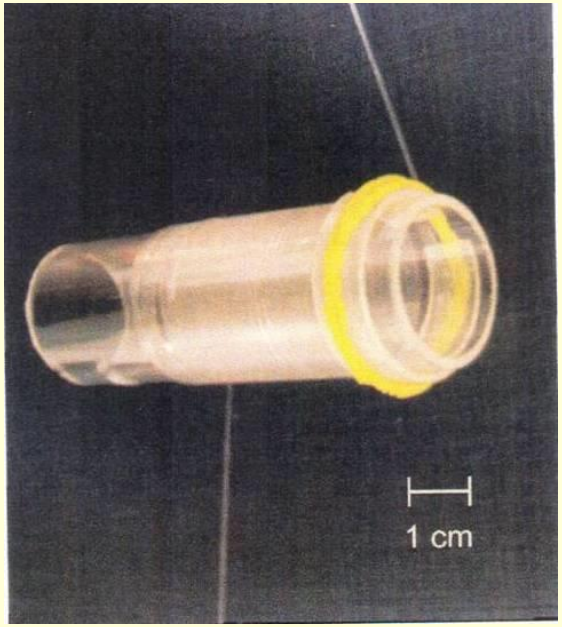
Detekční rozsah 0,2-1 mM

Způsoby pro zvýšení citlivosti

- **Zvýšení délky vlnovodu L – navinutím (vlákno)**

Rovněž vliv ohybu vlákna

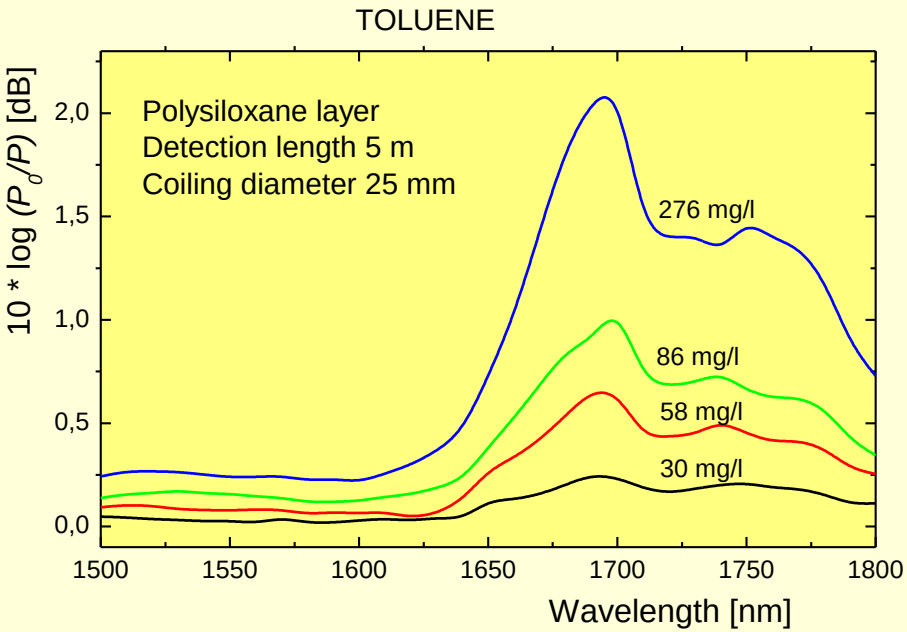




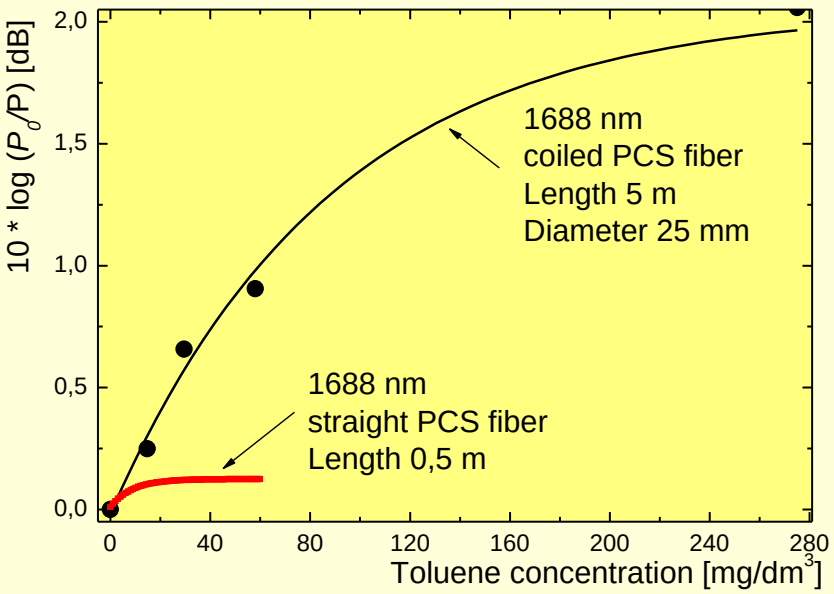
10 m PCS vlákna

Zdroj: halogenová lampa
Detektor: chlazená Ge fotodioda

Navinuté a rovné PCS vlákno
ATR detekce toluenu ve vodě



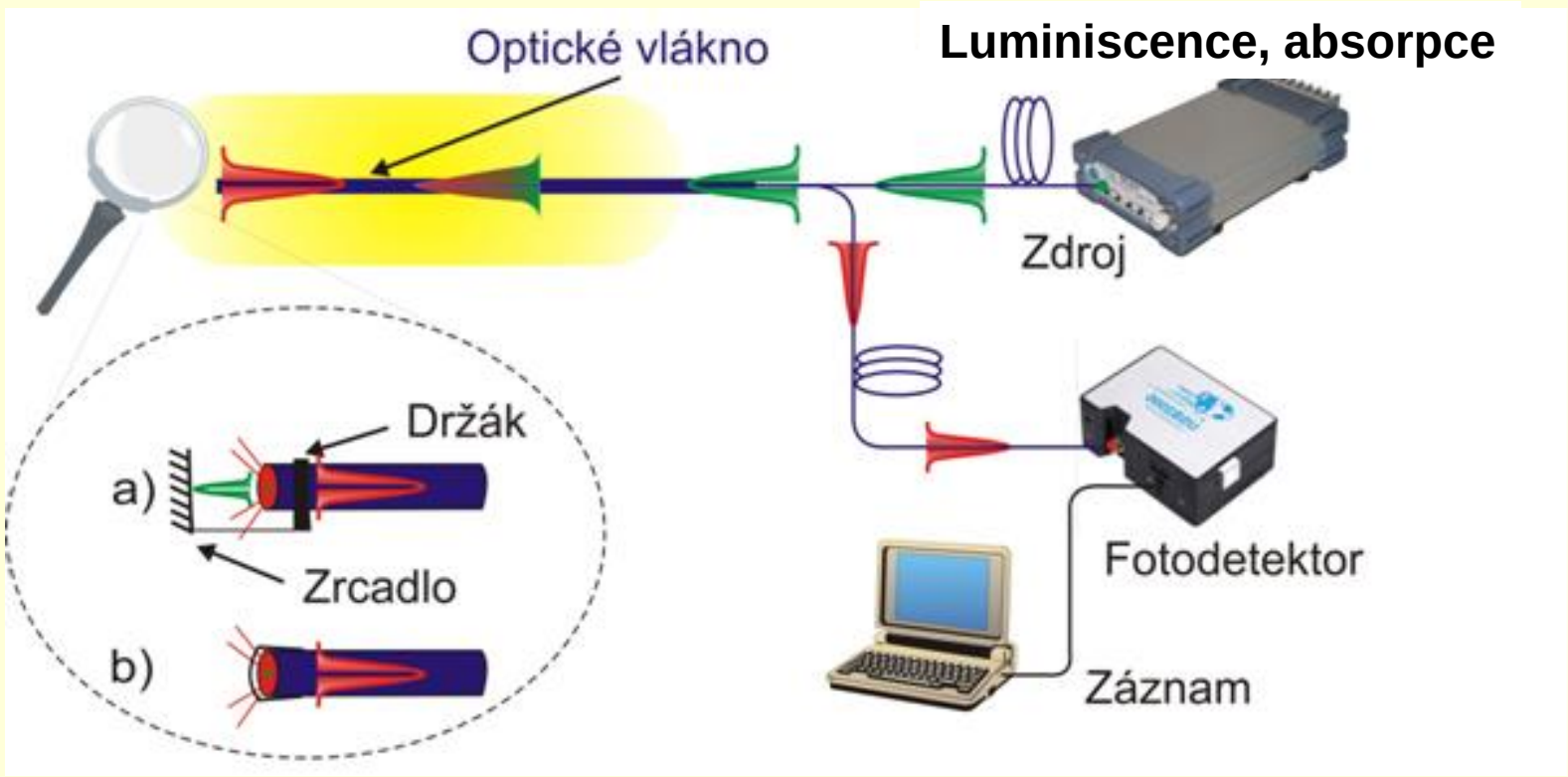
Abs. pás C-H vibrací 1650 – 1850 nm



Membrána- nepolární dimethylsiloxanový polymer

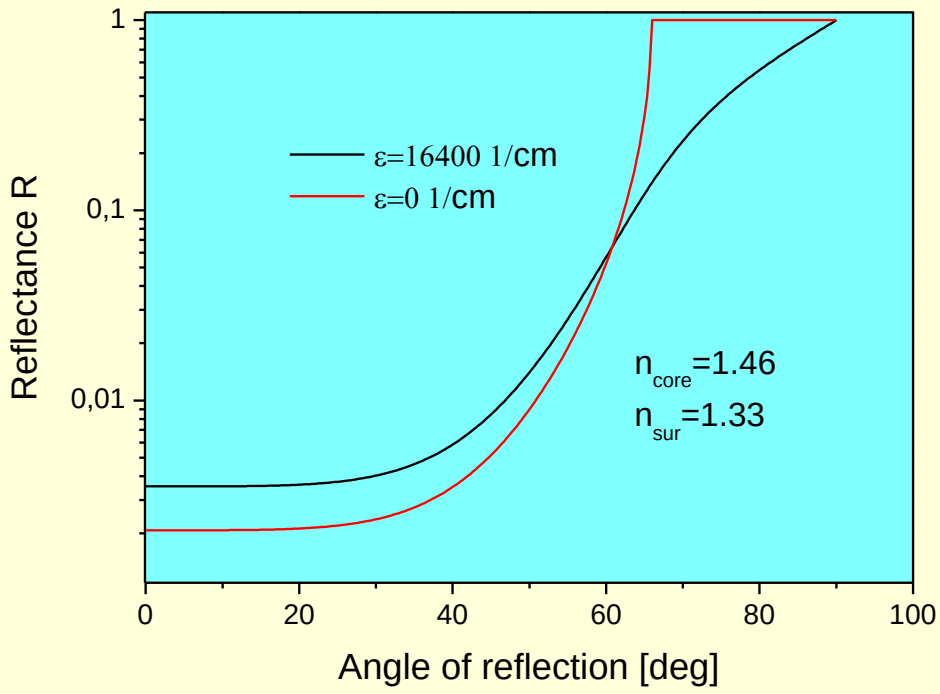
LD ~ 4 mg/l pro L=5 m

Reflexní optický senzor
Detekční místo na konci vlnovodu-vlákna



Reflexní senzor - omezení

Nízká odrazivost (%) – potřebné zesílit zrcadly nebo zbroušením konce vlákna (změna úhlu dopadu)



Kolmý dopad Ψ = 0 deg

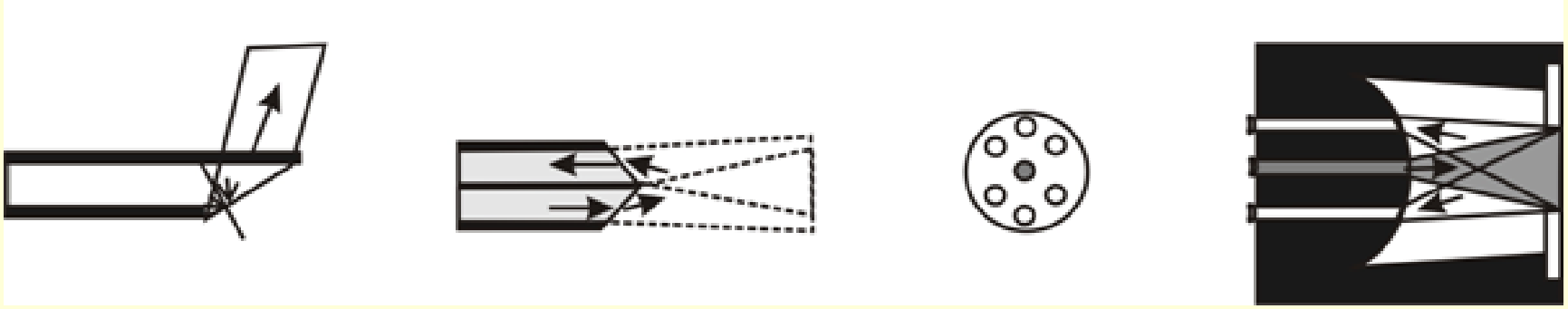
$$R = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2$$

Pro konec křemenného vlákna ve vodě a kolmý odraz R=0.002

Reflexní senzor
zvýšení odezvy

<u>Nízká odrazivost pro malé úhly reflexe</u> – použití vláken se šikmým koncem a zrcadel na konci vlákna

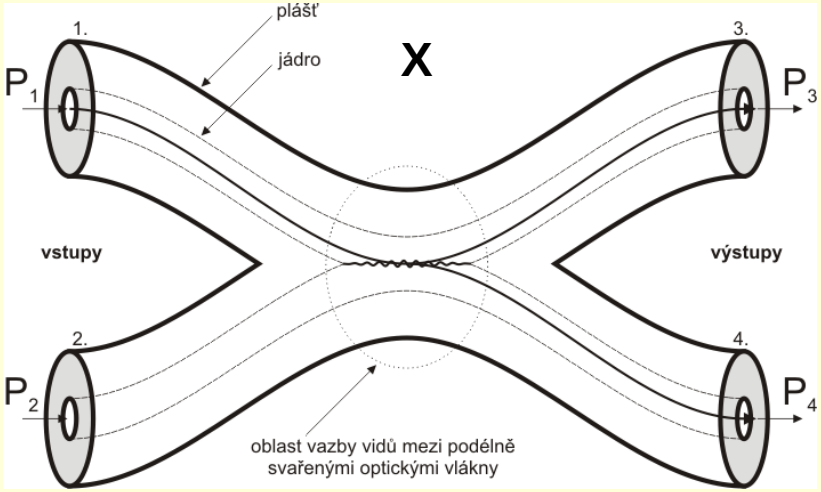
<u>Malá plocha odrazu = nízká intenzita odraženého záření</u>- použití svazku vláken místo jednoho

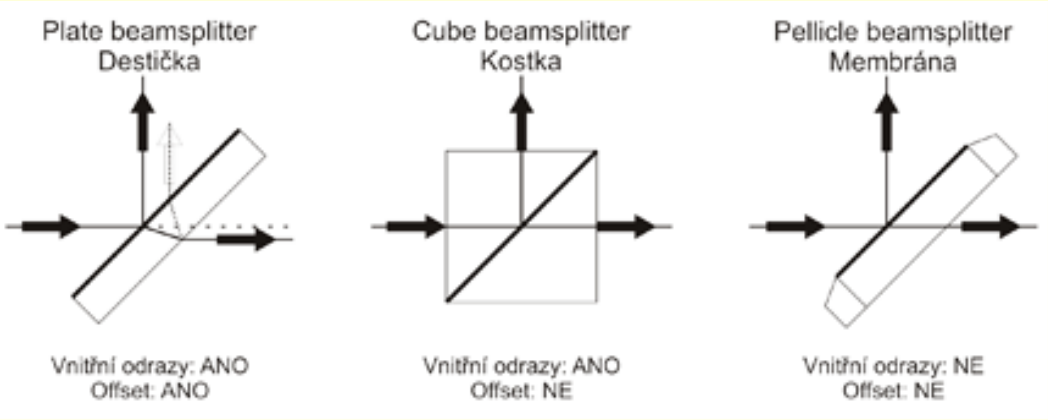


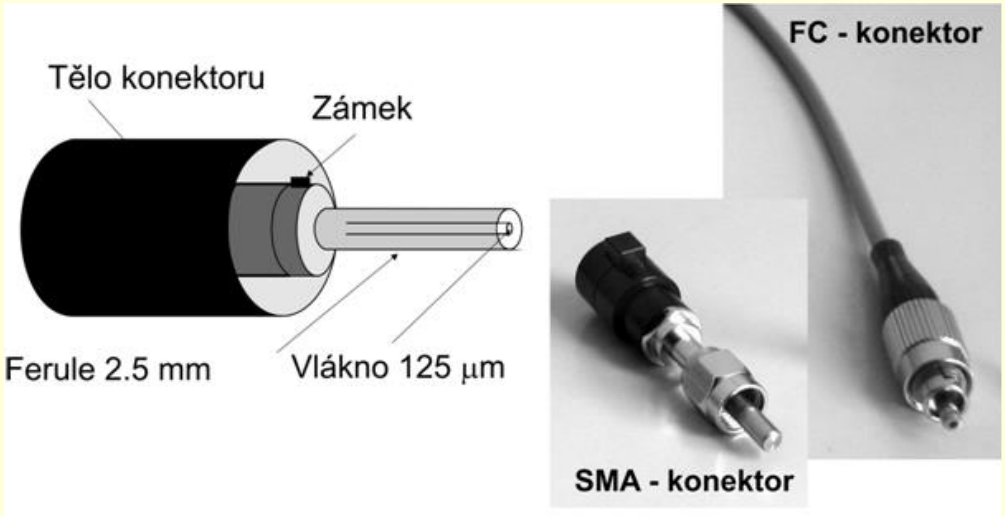
Viz: U. Utziger et al., „Fiber-optic probes for biomedical optical spectroscopy“, J. Biomedical Optics 8(1) (2003) 121–147

Reflexní senzor - instrumentace

Vláknové děliče (X, Y), děliče svazků, konektory

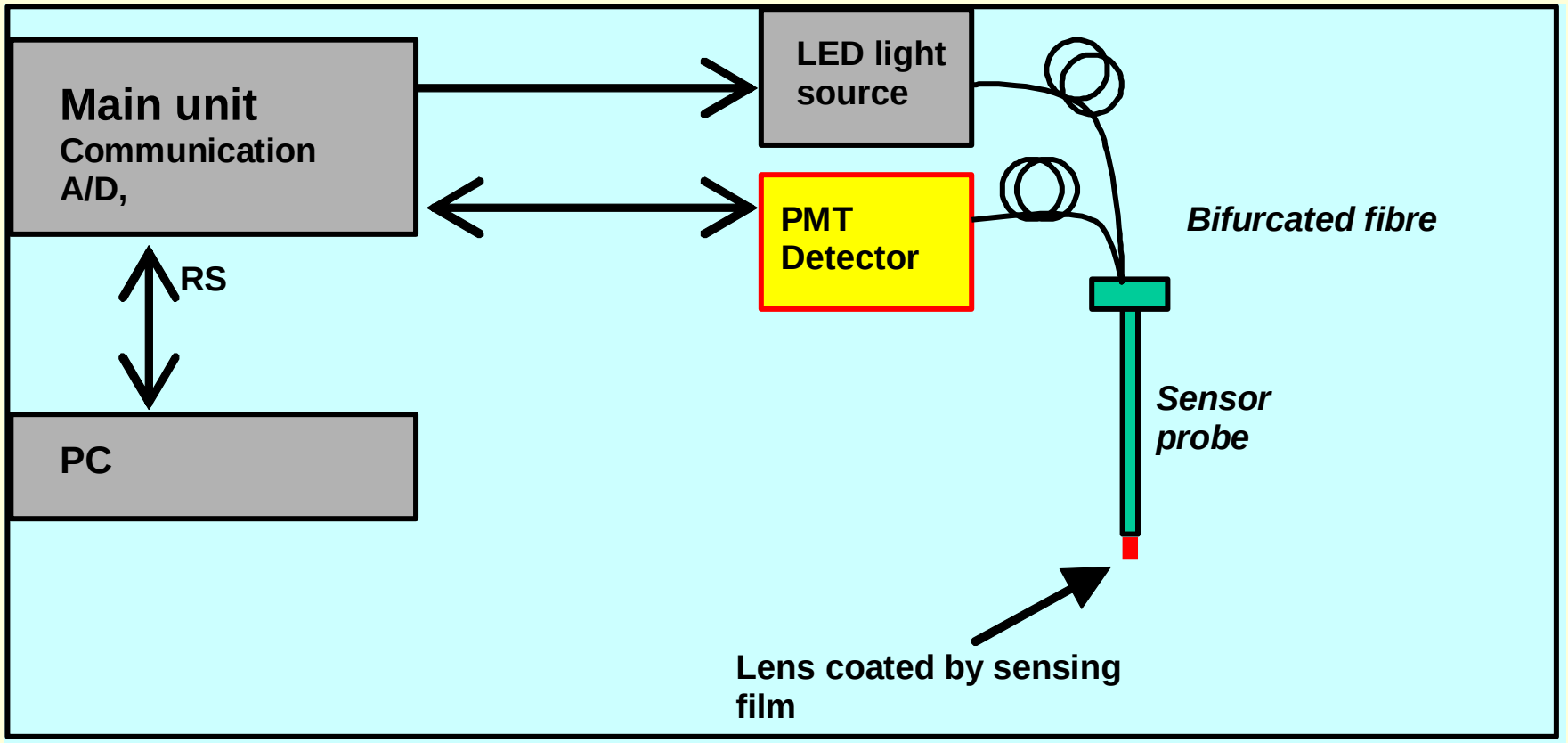






Komerčně dostupné

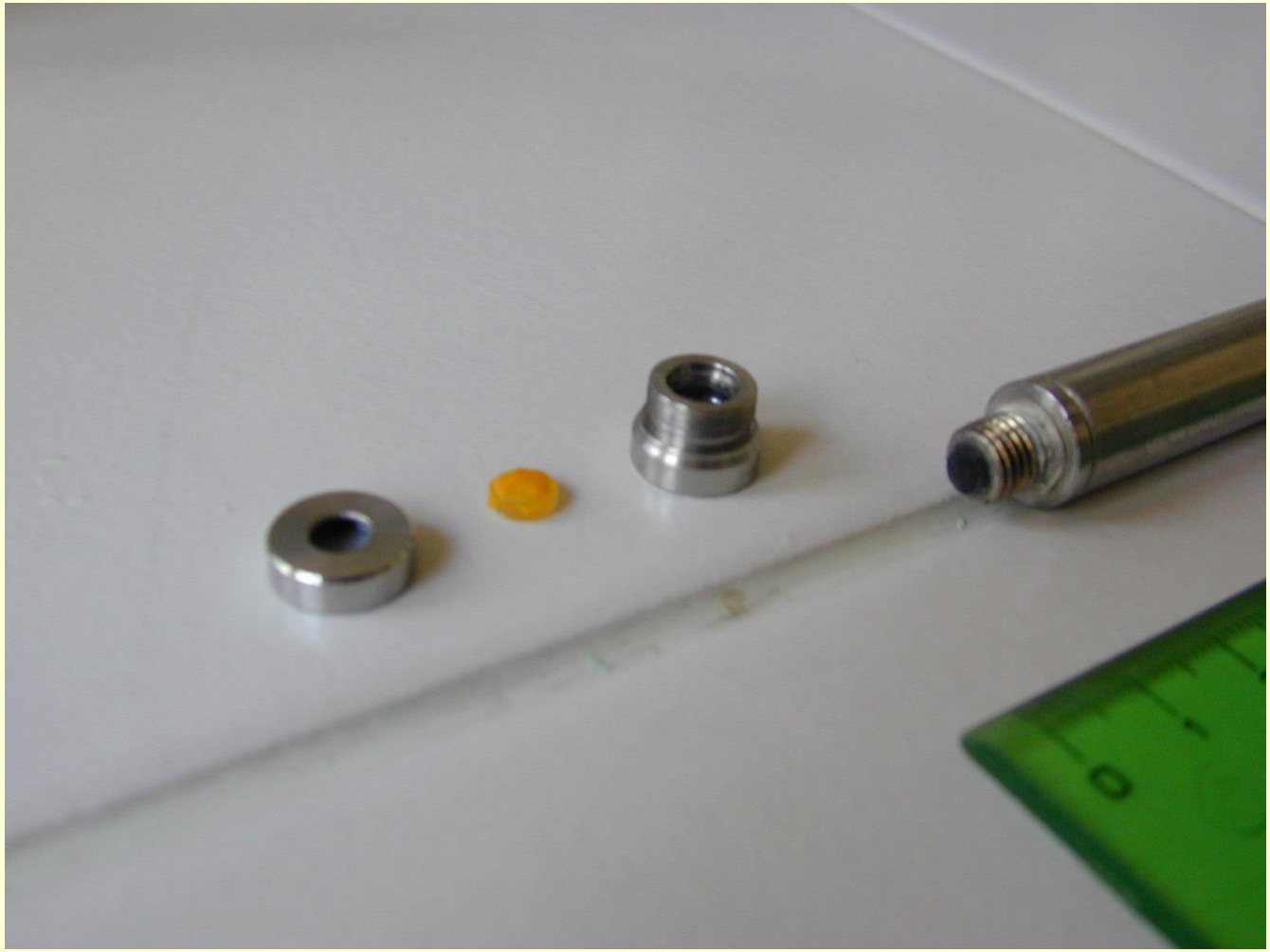
Reflexní fluorescenční senzor kyslíku a glukozy



Kyslík – zhášení fluorescence Ru komplexu (470 nm excitace, 620 nm emise)

Glukoza – detekce kyslíku v enzymatické reakci

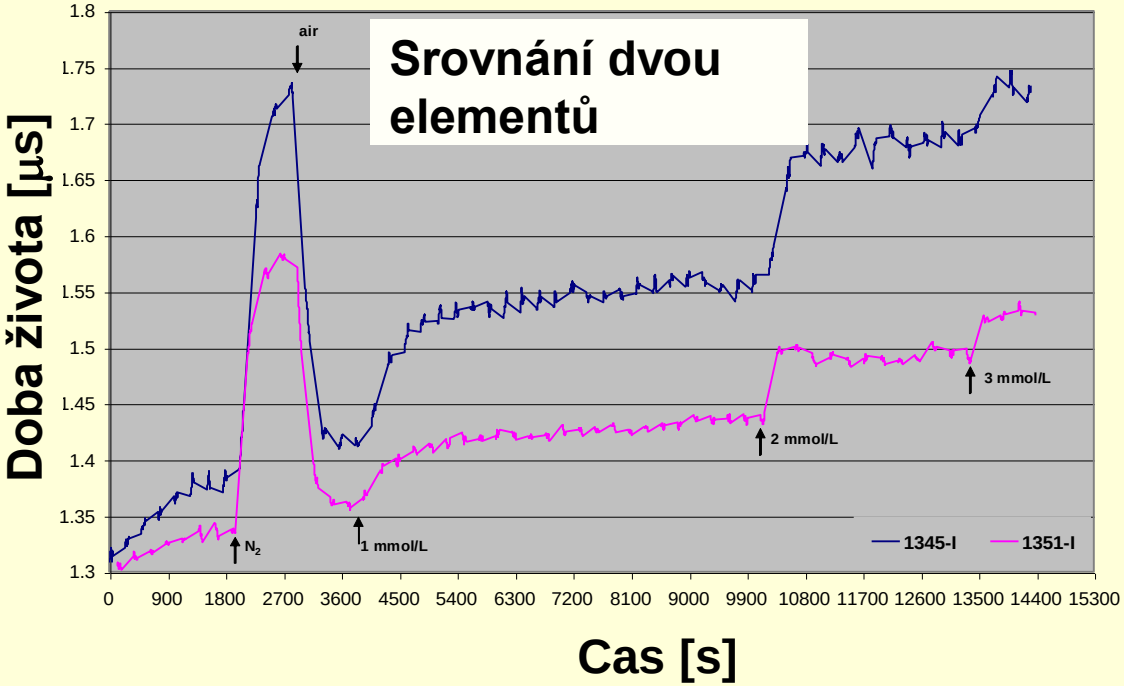
Senzorová hlava a detekční místo



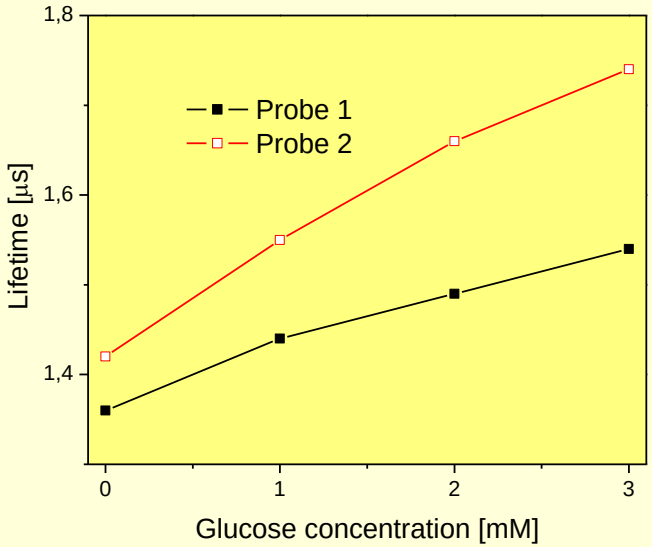
Měření doby života fluorescence Ru komplexu zhášené O_2

Časová odezva ke kyslíku a glukoze
Dvě detekční membrány

Časová odezva



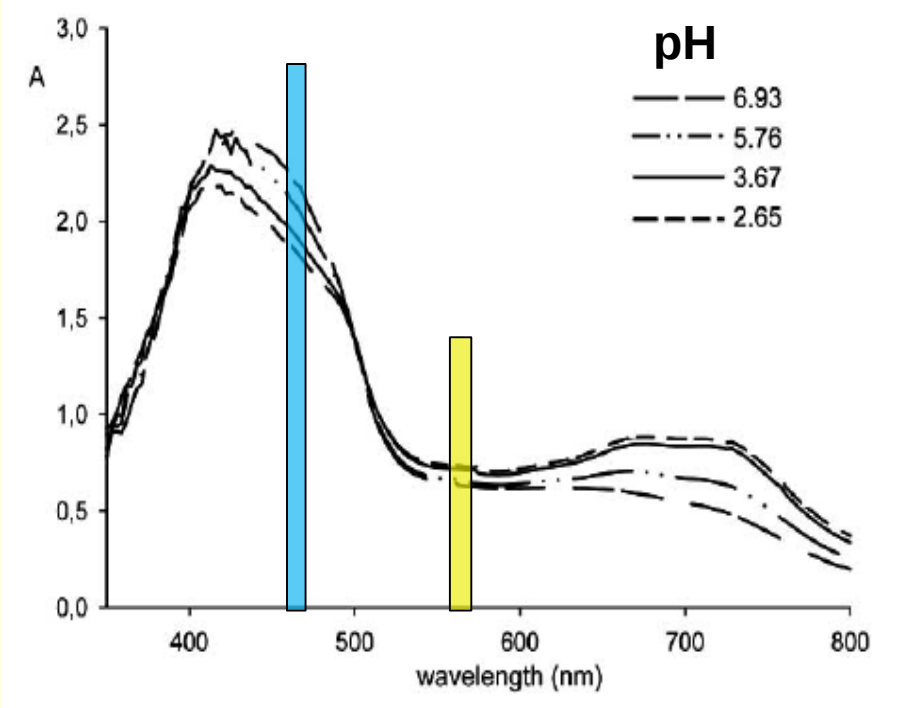
Kalibrace



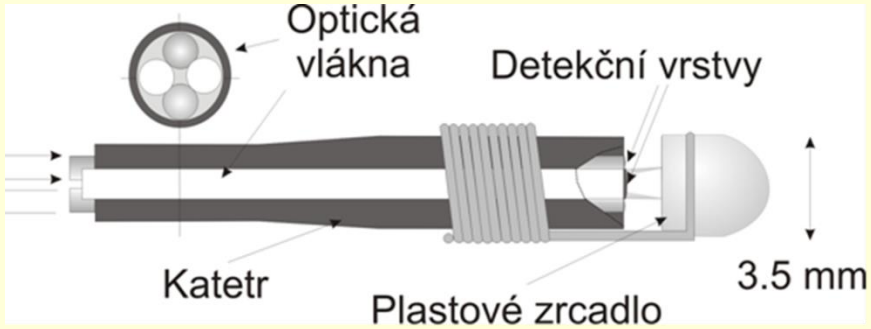
Měření doby života luminiscence Ru komplexu z časové změny intenzity luminiscence

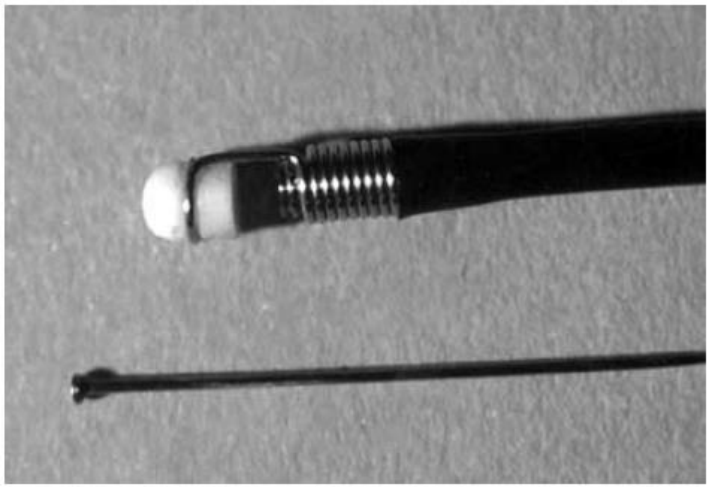
Reflexní senzor bilirubinu v žaludku

Spektrální odezva



Kalibrace





Poměr absorbancí A – 470 (měření) a 565 nm (reference)

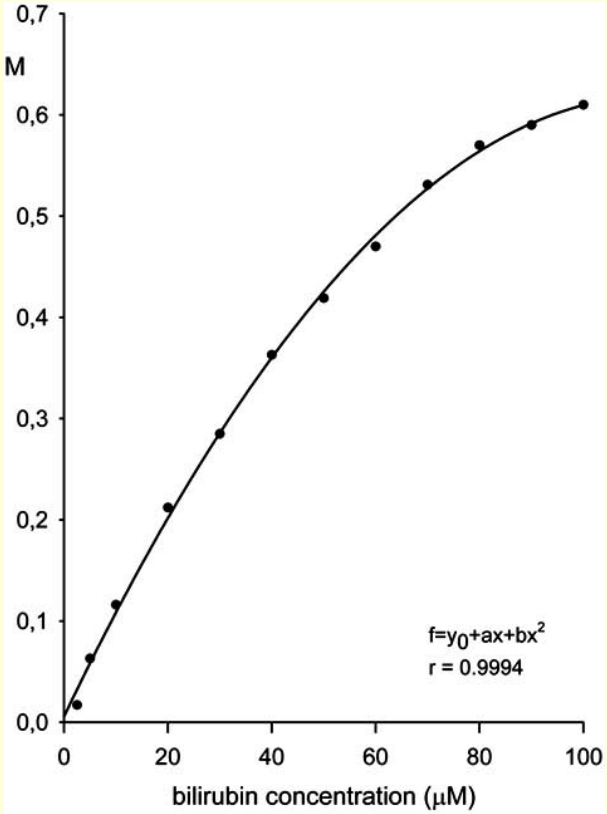
Senzor pro detekci bilirubinu v žaludku

Dvě LED (470 nm a 565 nm)
Si fotodetektor
Poměrové měření

$$M = \log\left[\frac{\int I_{0470nm}\,d\lambda}{\int I_{470nm}\,d\lambda}\right] - \log\left[\frac{\int I_{0565nm}\,d\lambda}{\int I_{565nm}\,d\lambda}\right]$$

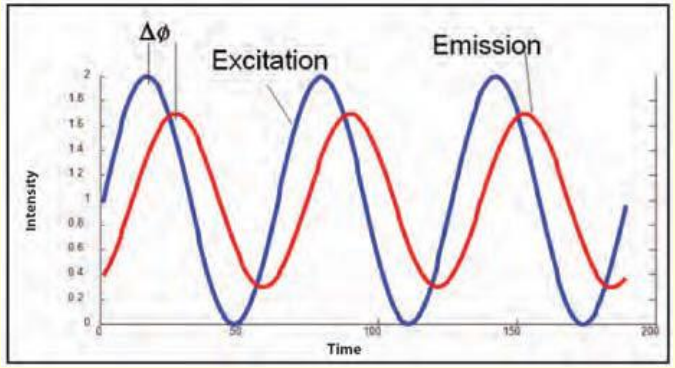
I_0 – signal ve vodě

LD < 1μM



Viz: F. Baldini et al., *Current Analytical Chemistry*, 2008, *4*, 378-390
(i pro detekci oxidu uhličitého v žaludku)

Senzor kyslíku pro farmacii



Modulace fáze výstupního signálu z fluorescenčního senzoru kyslíku

Sensor –zdroj, sonda,detektor

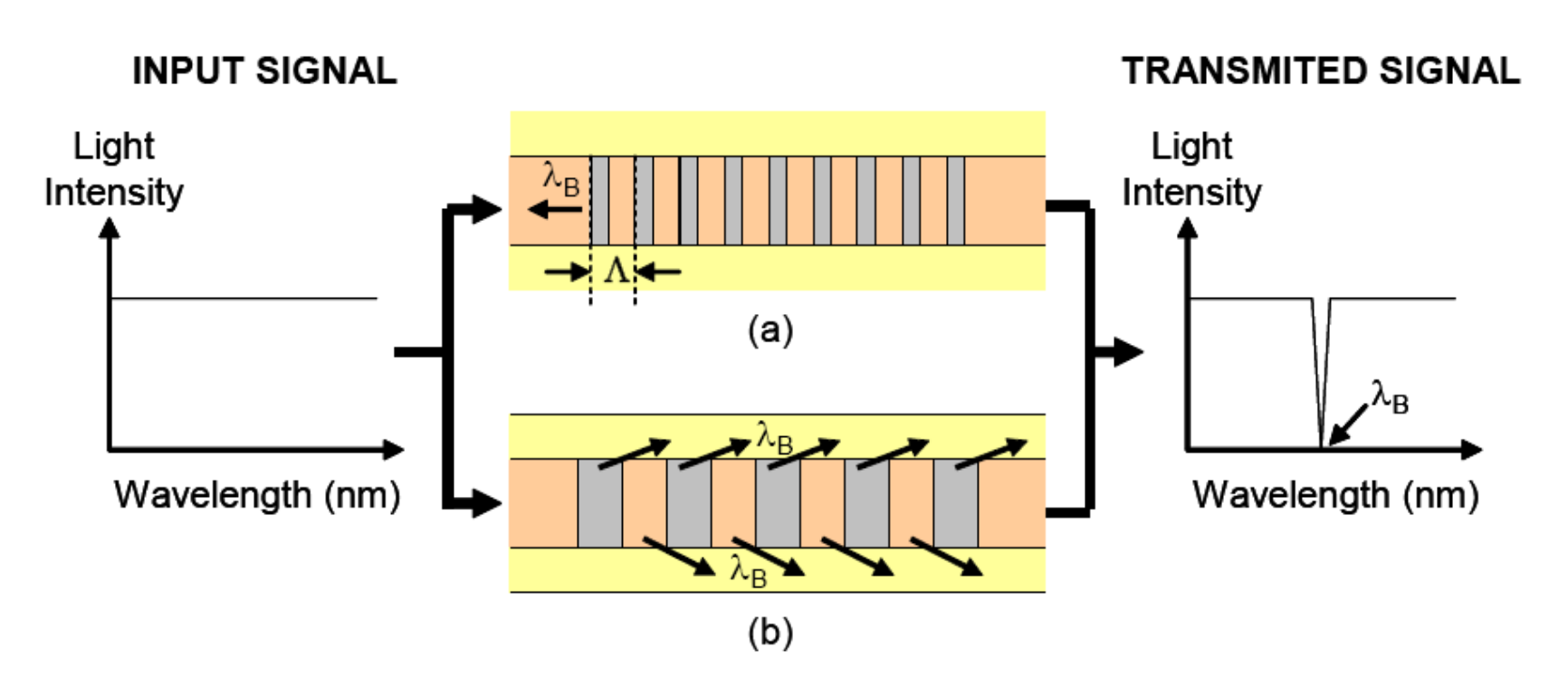
Ru komplex na špičce senzoru

www.oceanoptics.com

Detekce kyslíku a pH i u rostlin

Optické mřížky

periodické změny indexu lomu v jádře vlákna



(a) Braggovské mřížky (FBG) $\lambda_B = 2n_{eff}\Lambda_B$ **($\Lambda_B << \lambda$)**

(b) Mřížky s dlouhou periodou – „Long Period Gratings (LPG)“

$\lambda_{LPG} = (n_{CO} - n_{cl}^{m})\Lambda_{LPG}$ **(perioda stovky μm)**

Mřížky

- FBGs - zapsané UV lasery do vlnovodů sycených vodíkem přes masku

  Interference vidů šířících se jádrem

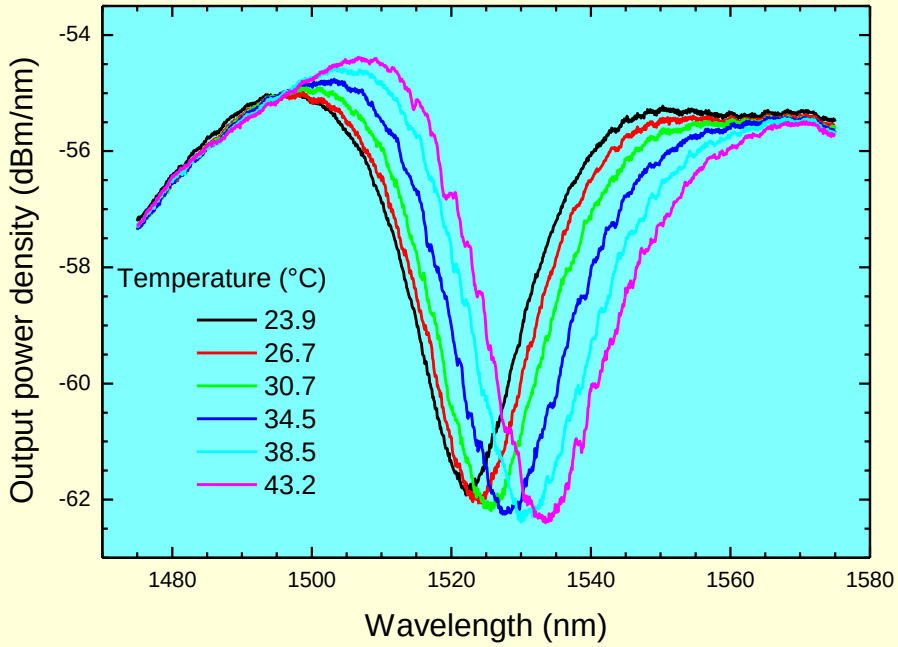
  Citlivé k detekovaným veličinám působícím na jádro - teplota, napětí, deformace
- LPGs zapisované CO_2 laserem přejíždějícímvlákno

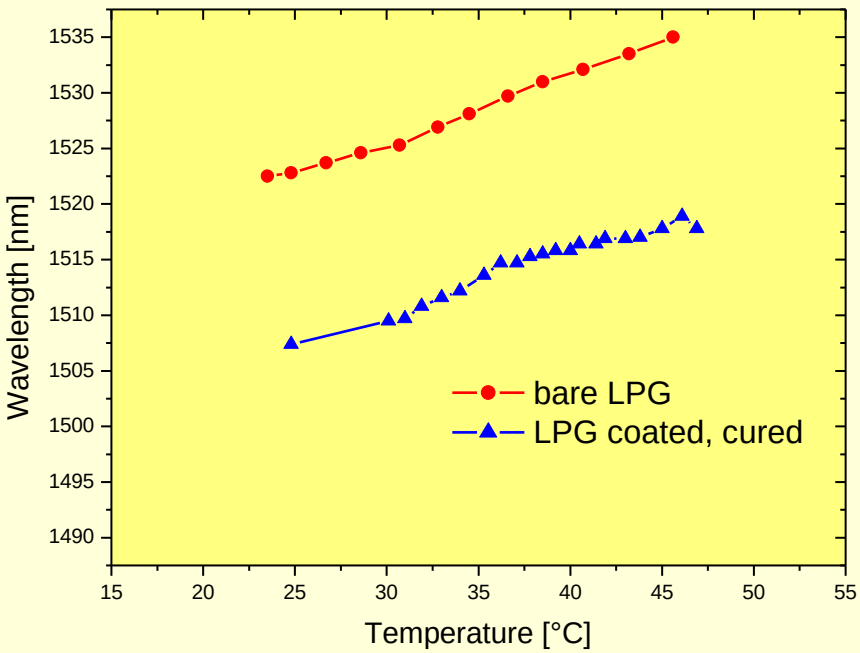
  Interakce vidů šířících se v jádře s plášťovými vidy

  Citlivé i k veličinám působícím na obal i jádro - teplota, napětí, deformace, chemické látky

K.O. Hill,Gerald Meltz, J. Lightwave Technol. 15, 1263-1276, 1997
J. Canning, J. Sensors 2009, Article ID 871580, 17 stran - vlákna
I. J. G. Sparrow, J. Sensors 2009, Article ID 607647, 12 stran - planární

Citlivost LPGs k teplotě a vnějšímu indexu lomu

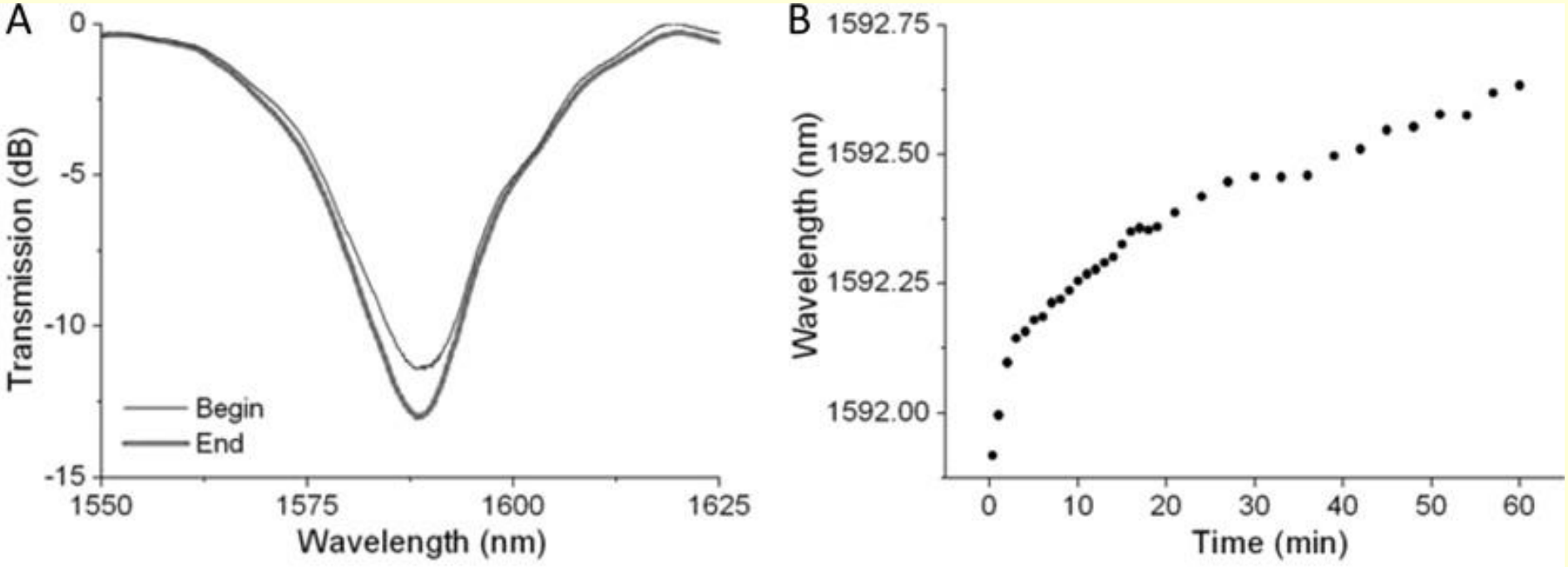




UFE: SM vlákno, Λ_B=500 μm; silikon pro pokrytí
Citlivost 0,5 nm/˚C

Zdroj: LED 1550 nm, detektor: spektrometr

LPG mřížka – SM vlákno: DNA zachyceni (A) a hybridizace (B)

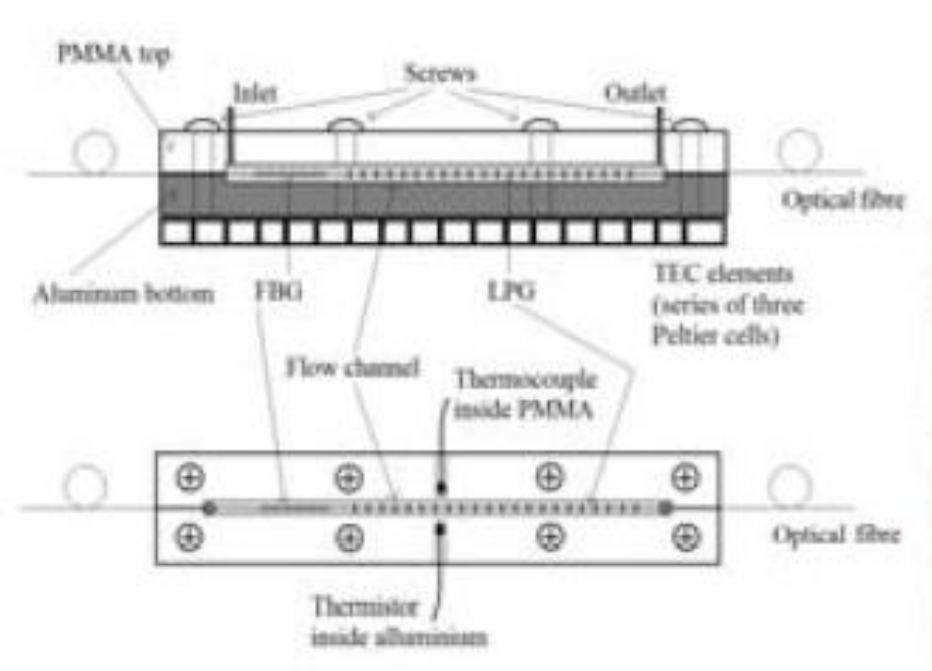


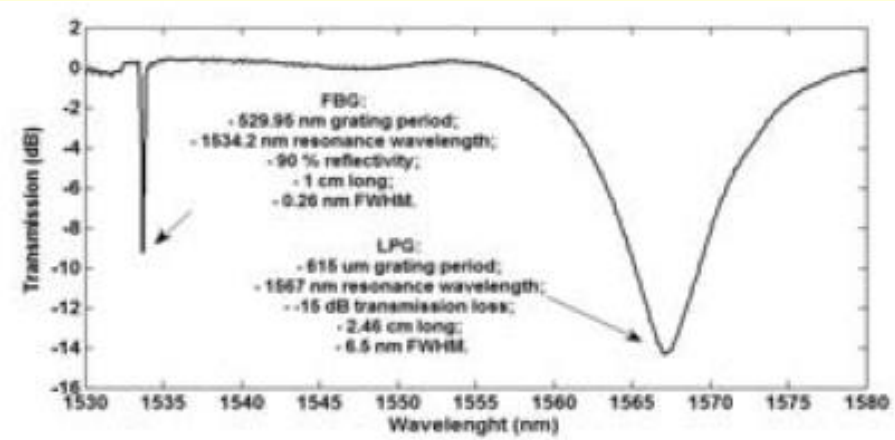
Perioda: Λ~160 μm

1 *μ*M ssDNA (5-GCACAGTCAGTCGCC-NH2-3) in PBS buffer

A.V. Hine et al., Biochem. Soc. Trans. (2009) 37, 445–449

Kombinace Braggovských mřížek a mřížek s dlouhou periodou



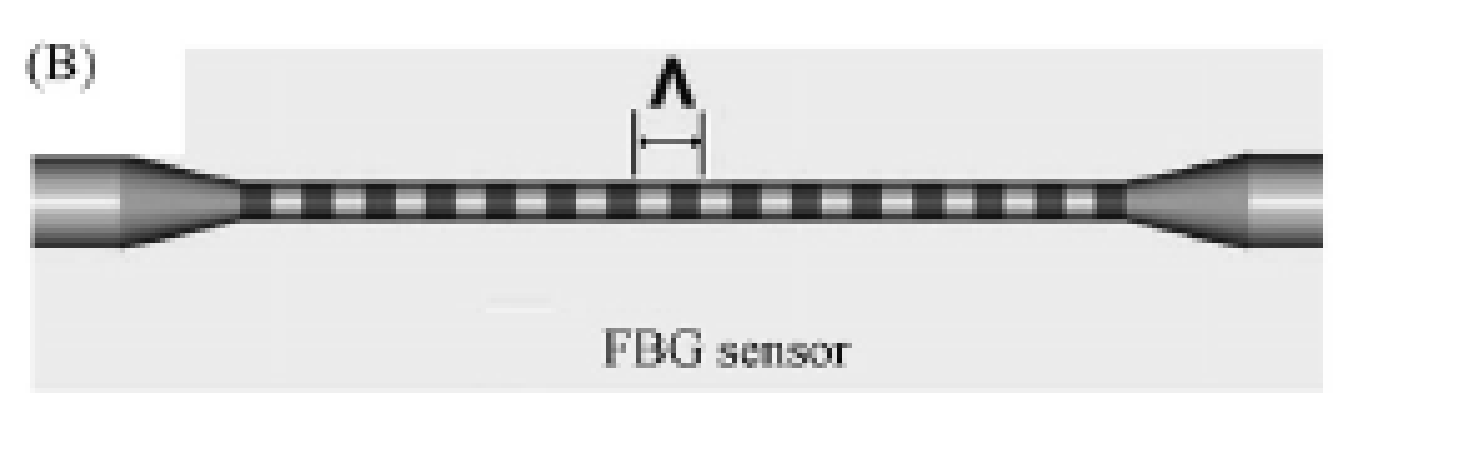


Mřížky vytvořené v jednom vlákně (Fibercore PS1250/1500)

LPG citlivá k napětí, teplotě, indexu lomu; FBG citlivá k napětí a teplotě.

F. Baldini et al., Proc. SPIE Vol. 7941, 7941- 40 (2011)

Braggovské mřížky pro biosenzory



Lze použít FBG pro chemickou detekci?

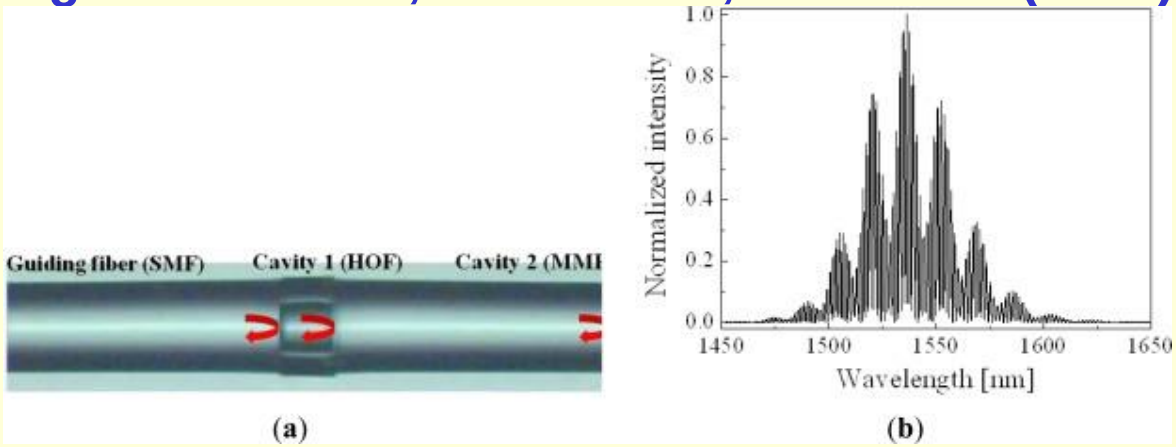
Pro chemické senzory a biosenzory je nutné odleptat plášť a otevřít přístup k evanescentnímu poli v oblasti FBG. Použito např. pro detekci DNA (μM).
X. Fan et al., Anal. Chimica Acta 620 (2008) 8–26

Další přístupy pro zvýšení citlivosti senzorů

Porovnání dvou vedených vln, jedné referenční a druhé s konstantou šíření změněnou interakcí s analytem ⇒ <u>Interferometrické senzory</u> ($\Delta n \sim 10^{-6}$ RIU i ve vodných roztocích)

X. Fan et al., Anal. Chimica Acta 620 (2008) 8-26 – plan. vlnovody

Byeong Ha Lee et al., Sensors 12, 2467-2486 (2012)-vlákna

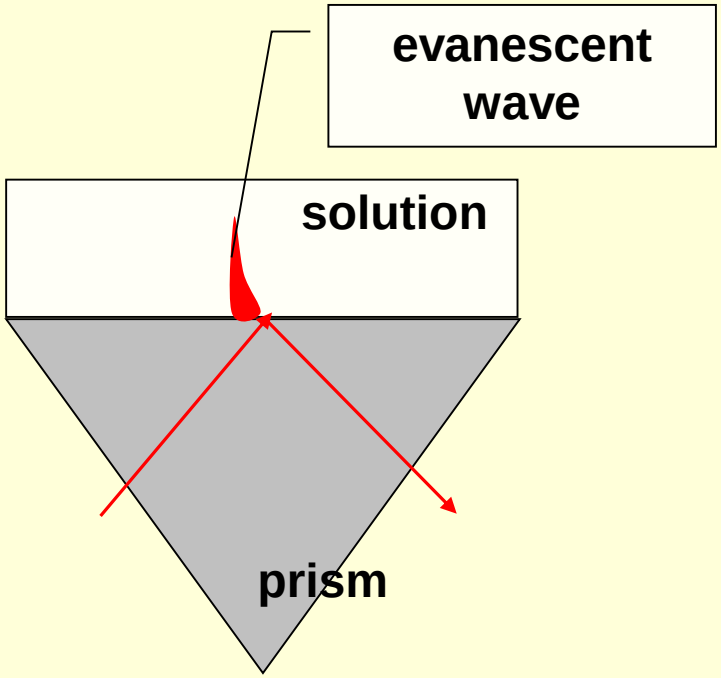


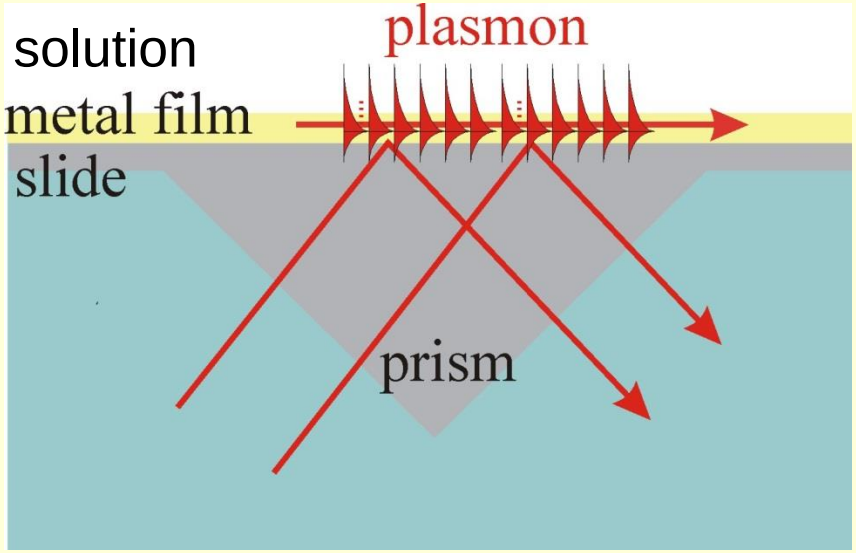
HOF 70 μm
MMF 360 μm
MMF ponořeno do vzorku

Zvýšení intenzity evanescentního pole na rozhraní jádro/plášť nanesením vhodných materiálů do pláště

- **SPR senzory ($\Delta n \sim 10^{-5} – 10^{-7}$ RIU i ve vodě)**

Senzory s povrchovými plazmony (Surface Plasmon - SP)



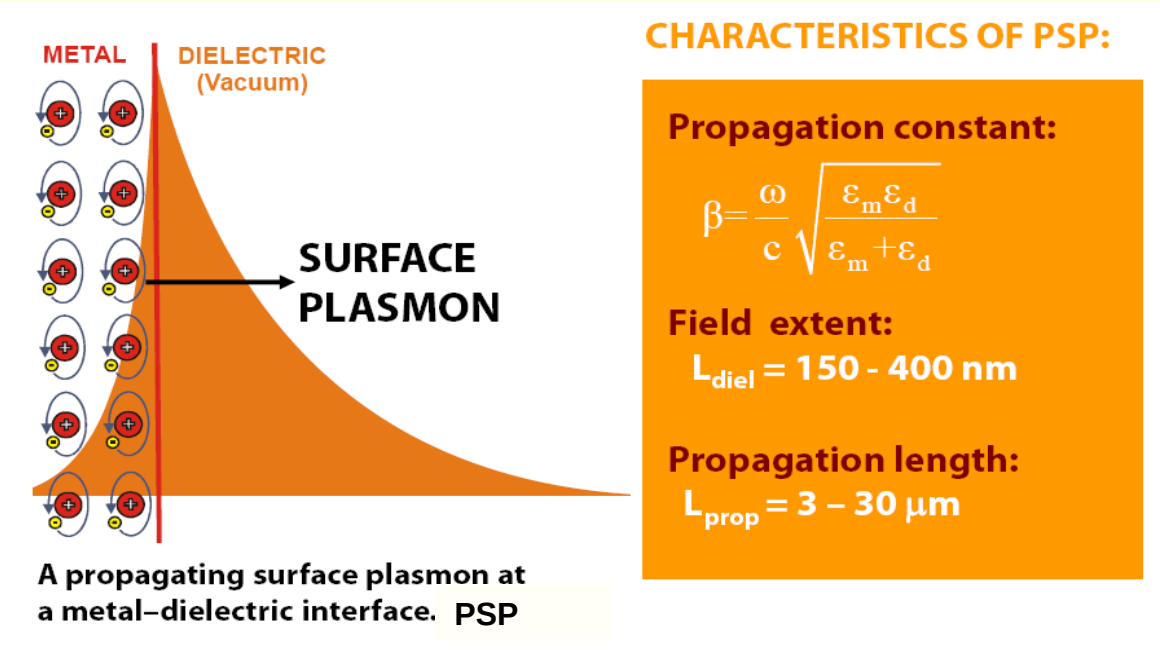


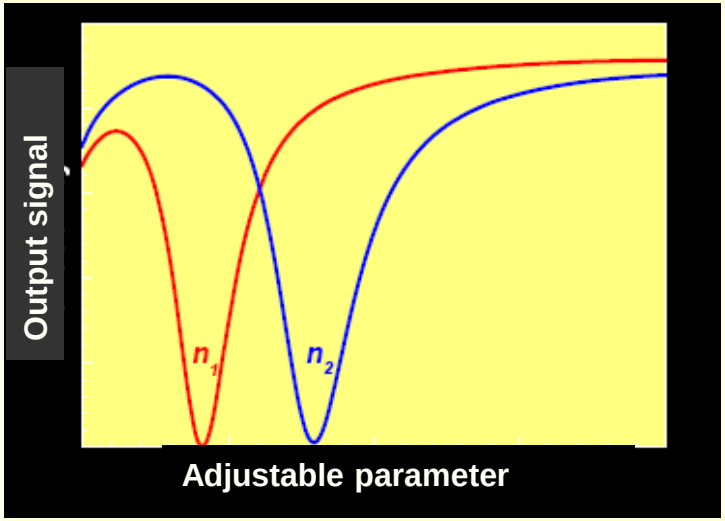
Evanescentní vlna na rozhraní hranol/roztok excituje SP, tj. předá energii do SP

SP↔ energetická změna volných elektronů – elektronová plasma na úrovni asi 10 eV (> ~124 nm)

Intenzivní evanescentní pole SP zasahuje do roztoku

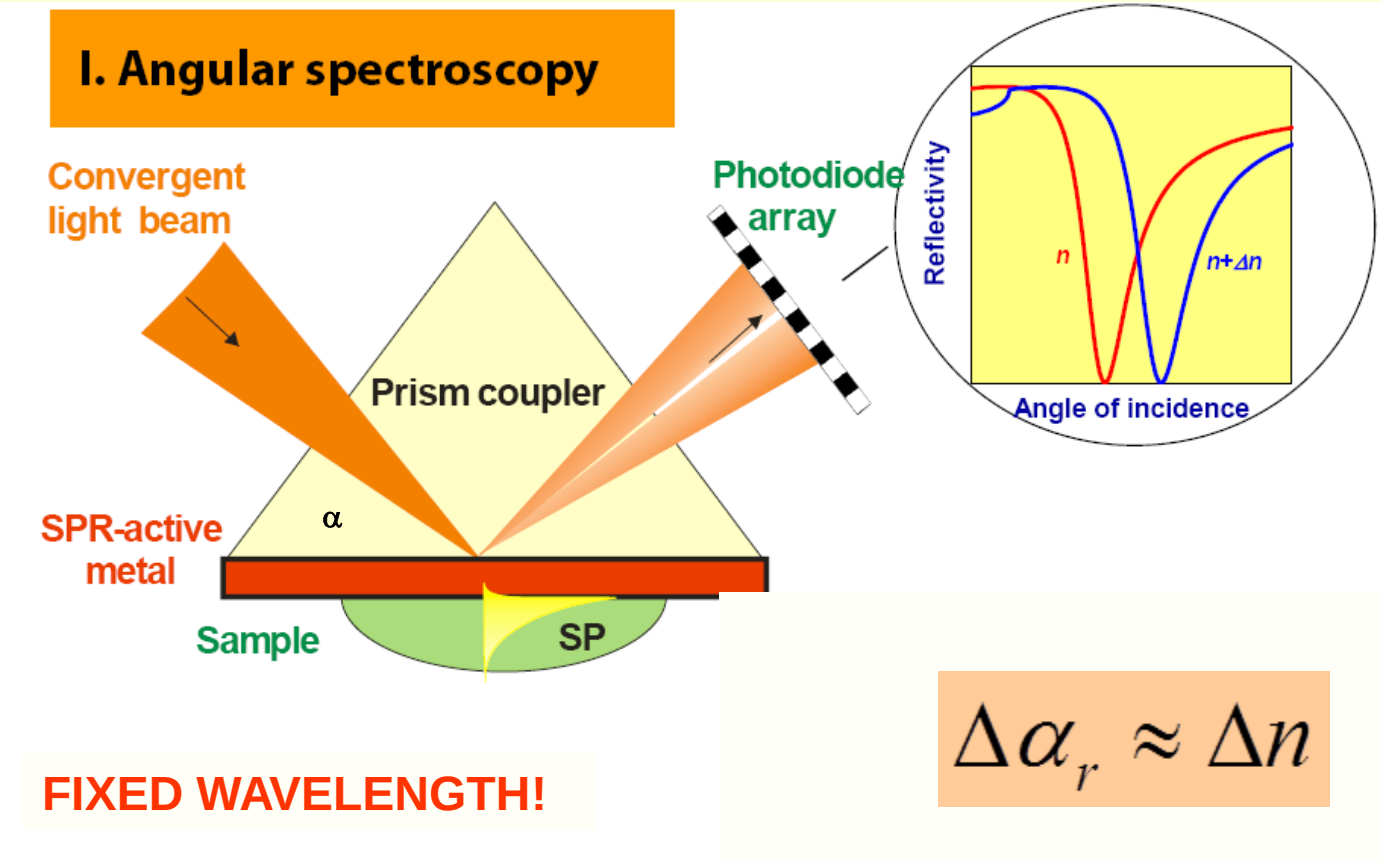
Senzory s povrchovými plasmony (SPR senzory)





Při vhodné hodnotě <u>adjustabilního parametru světla</u> dopadajícího na kovovou vrstvu dojde k přeskoku volných elektronů v kovu na vyšší energetickou hladinu, což je spojeno s pohlcením světla a snížením výstupního signálu senzoru (SPR rezonance). Její poloha závisí na indexu lomu dielektrika

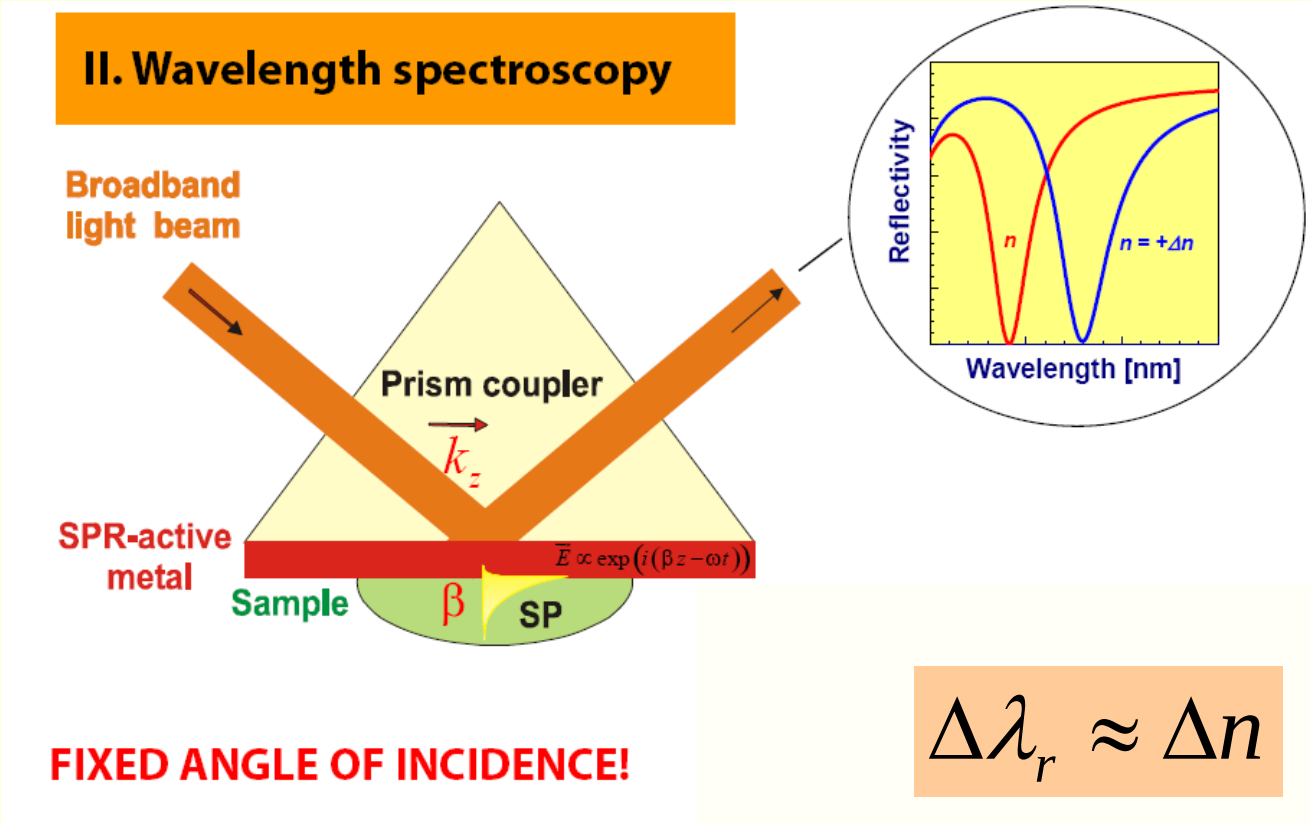
SPR senzory – způsoby excitace



$$\Delta\alpha_r \approx \Delta n$$

Nastaví se úhel dopadajícího světelného svazku a detekuje se odražené světlo od povrchu kovu. Konstantní vlnová délka λ. Poloha SPR rezonance závisí na úhlu a indexu lomu vzorku *n*.

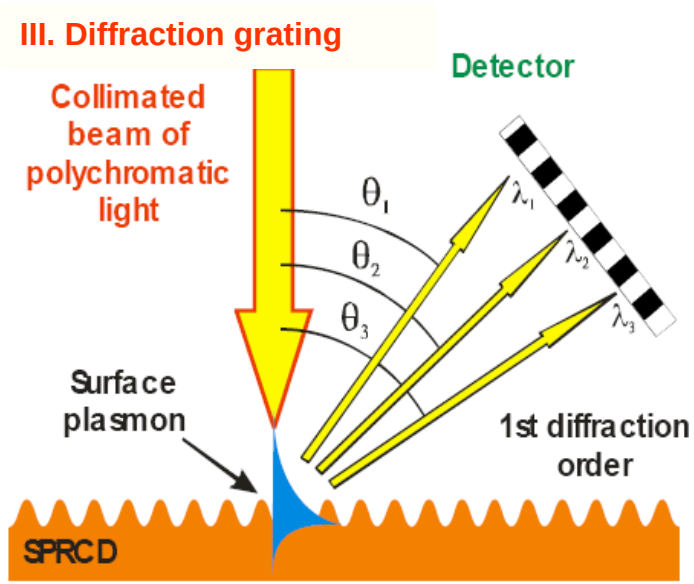
SPR senzory – způsoby excitace



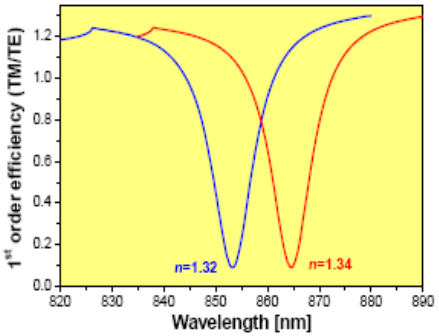
$$\Delta\lambda_r \approx \Delta n$$

Nastaví se vlnová délka dopadajícího světla a detekuje se odražené světlo od povrchu kovu. Konstantní úhel dopadu. Poloha SPR rezonance závisí na vlnové délce a indexu lomu vzorku *n*.

SPR senzory – způsoby excitace



SPRCD: principle of operation.



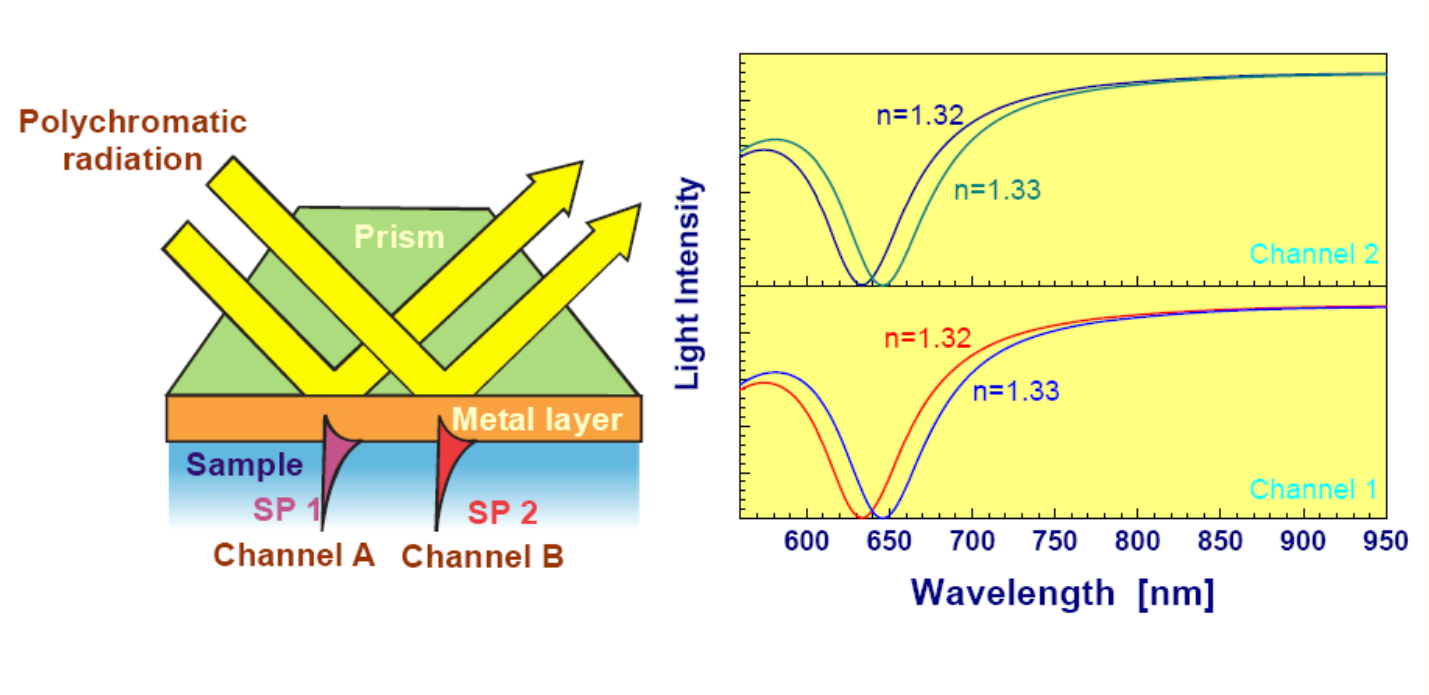
ADVANTAGES:

- Low-cost (no spectrometer)
- Compact
- Chips compatible with mass production

Na kovové vrstvě se vytvoří difrakční mřížka (perioda ~1250 nm), na níž dojde k difrakci vstupního kolimovaného polychromatického svazku. Difrakce 2. řádu excituje SP, 1. řád v závislosti na vlnové délce dopadá na pevný CCD detektor. LD~5.10^{-7}RIU.

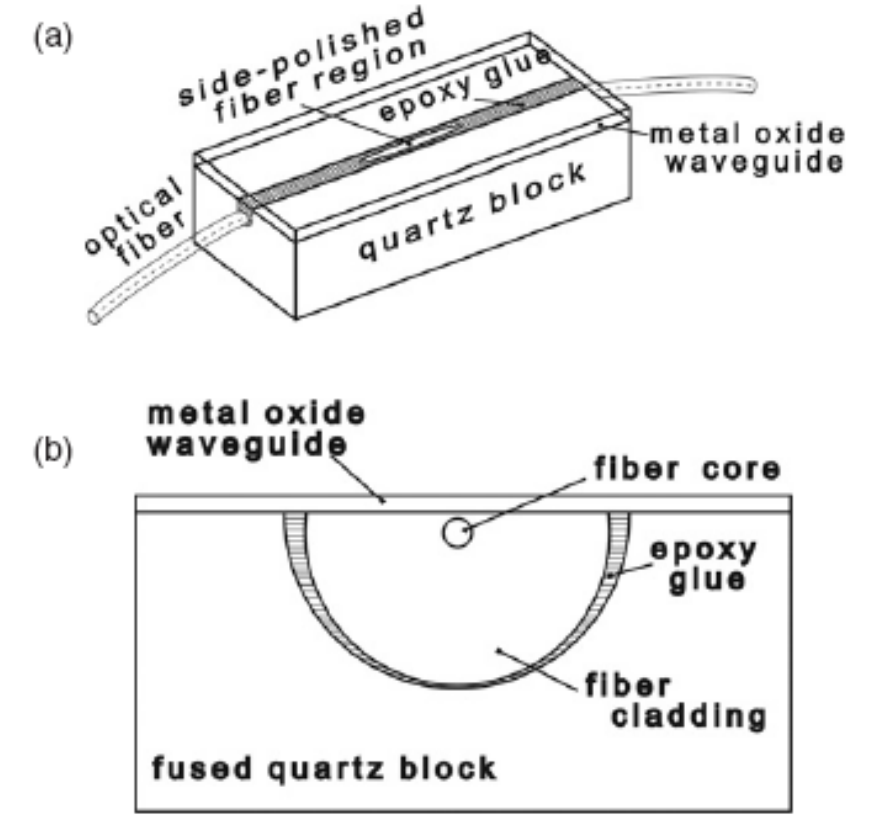
M. Piliarik et al., Biosensors and Bioelectronics 24 (2009) 3430–3435

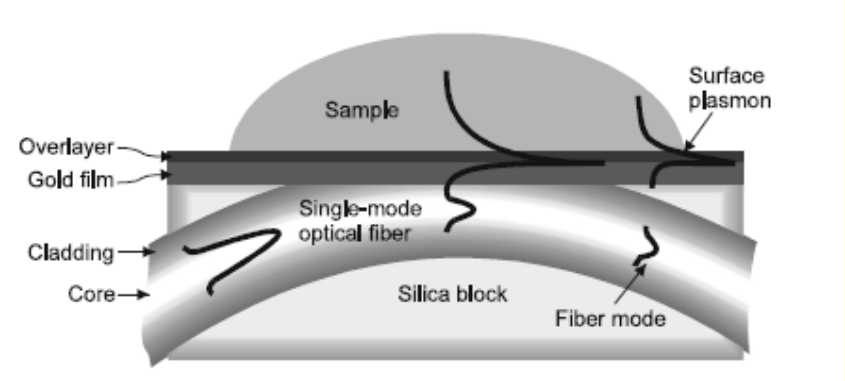
SPR senzory s více kanály pro detekci - reference

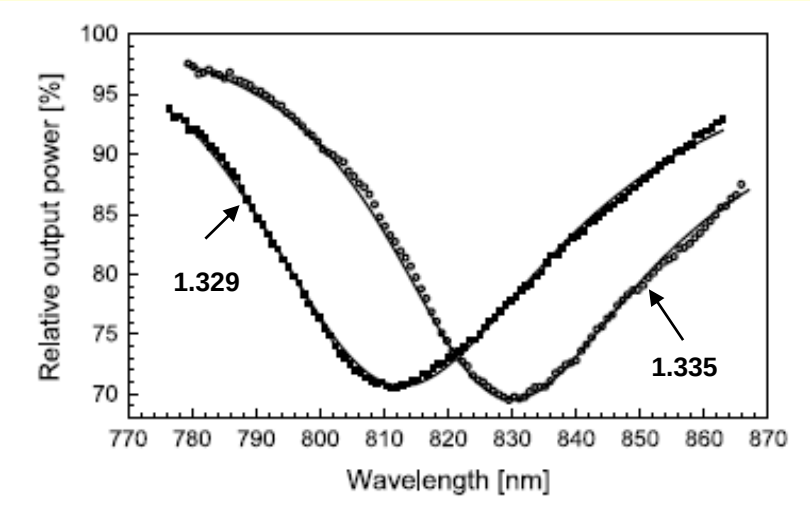


Dva paralelní detekční kanály (A-1 a B-2), odděleně excitované umožňují do jednoho kanálu zavést referenční vzorek (vlnovodně-spektroskopické uspořádání) . Vhodné i při SP excitaci pomocí mřížky.

SPR biosenzor na D-vláknu

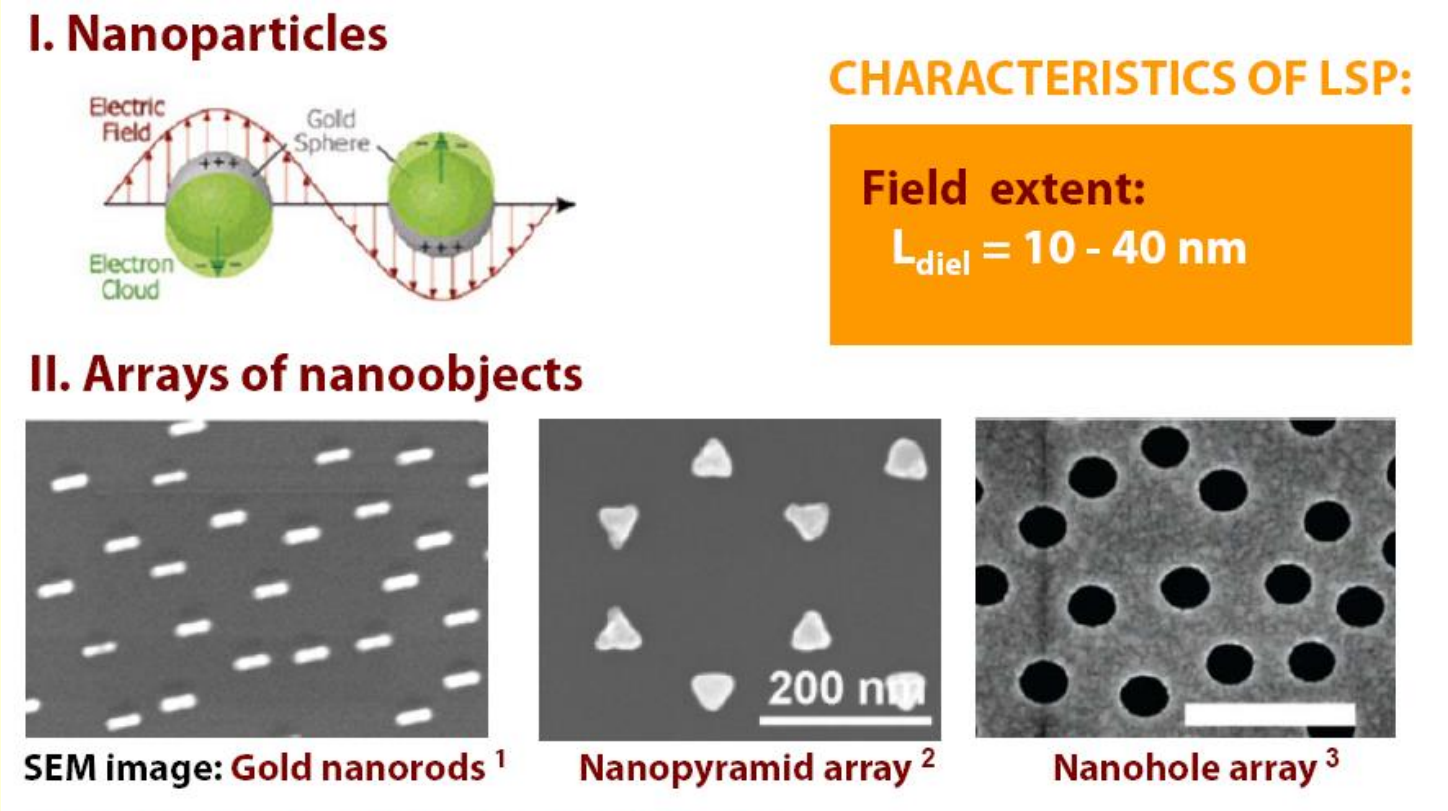






R. Slavik et al., Novel spectral fiber optic sensor based on surface plasmon resonance, *Sens. Actuators B*74, 106-111 (2001)

Lokalizované plazmony



Umožňují detekci v menších rozměrech porovnatelných s rozměry proteinů

J. N. Anker et al., *J. Phys. Chem.C* 113, 5891-5894 (2009).

SPR senzory – požadavky

Čtyři hlavní prvky

1. Zdroj světla s možností nastavit polarizaci, vlnovou délku, úhel dopadu, intenzitu, tvar svazku. Pouze p (TM) polarizované světlo excituje povrchový plasmon (SP). (Bílé světlo – využije se max. 50%)
2. Navazovací prvek vytvářející evanescentní poloe pro navázání světla do kovové vrstvy a tím i pro excitaci volných elektronů (optický hranol, mřížka, vlákno)
3. Tenká vrstva kovu (Au, Ag, Al, Cu, Pd, Pt, Ni, Co, Cr, W) nebo polovodiče (Si), s tloušťkou asi 50 nm, kde může světlo excitovat SP. Kovy mají velké ztráty ve viditelné a NIR oblasti.
4. Detektor světla (fotodioda, spektrometr, diodové pole)

SPR senzory praktická instrumentace

Sensors based on angular spectroscopy of surface plasmons: BIAcore S51 (left), BIAcore 3000 (middle), Spreeta sensor, TI (right) .

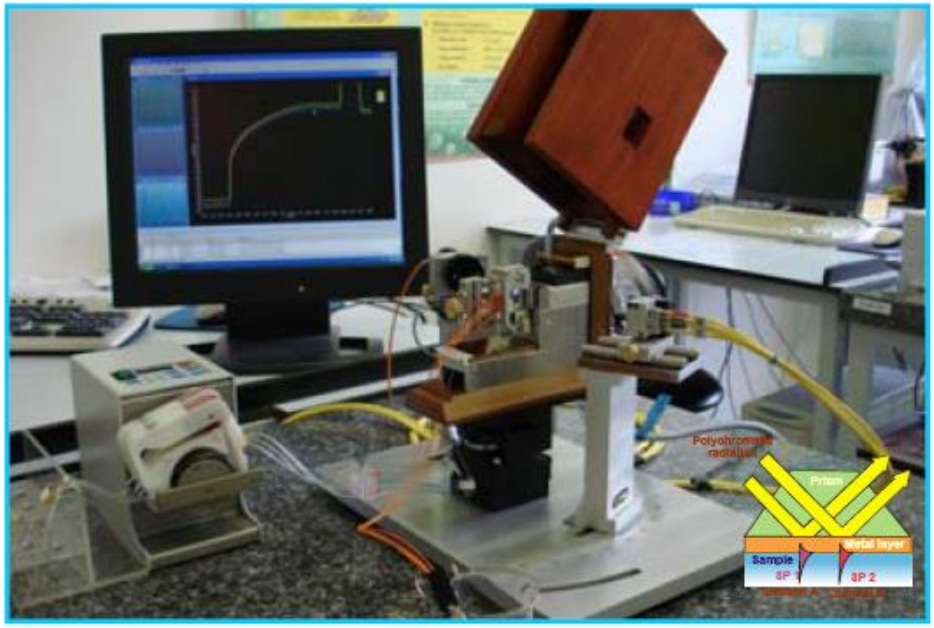
LIMITATIONS:

- Costly (over 300kEUR)
- Bulky (80 kg)
- Requires trained personnel
- Designed for use in the lab

Applications: biomolecular interaction analysis

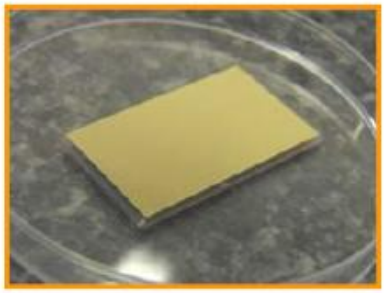
SPR senzory laboratorní instrumentace – ÚFE AV ČR

- Spectroscopy of surface plasmons.
- Four sensing channels, (flow chamber volume 0.5 µL per channel)
- Temp. stabilization (stability < 0.02°C)

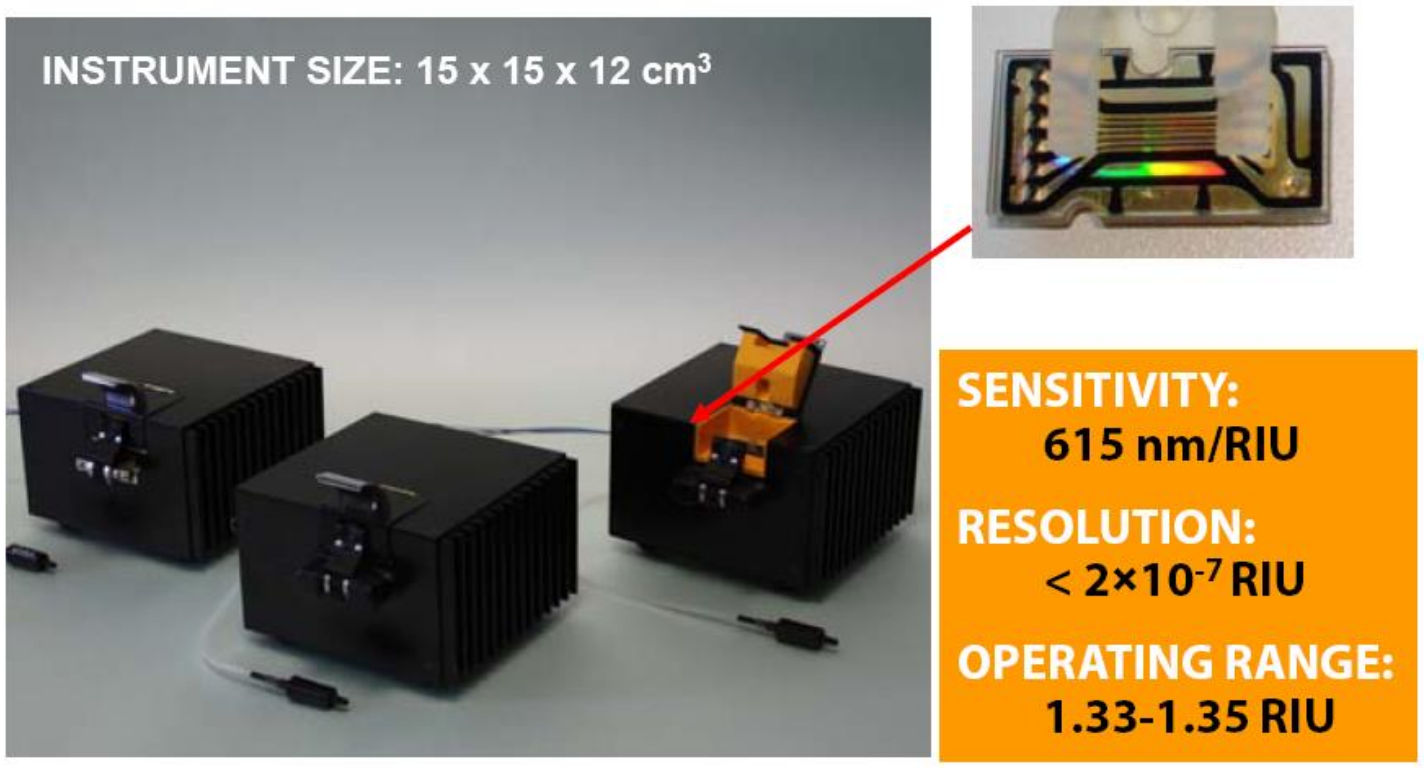


RI RESOLUTION:
$< 2\times10^{-7}$ RIU
OPERATING RANGE:
1.32-1.45 RIU

Four-channel SPR sensor and (top) and detail of an SPR chip (right).



SPR senzory praktická instrumentace – ÚFE AV ČR využívá excitaci mřížkou

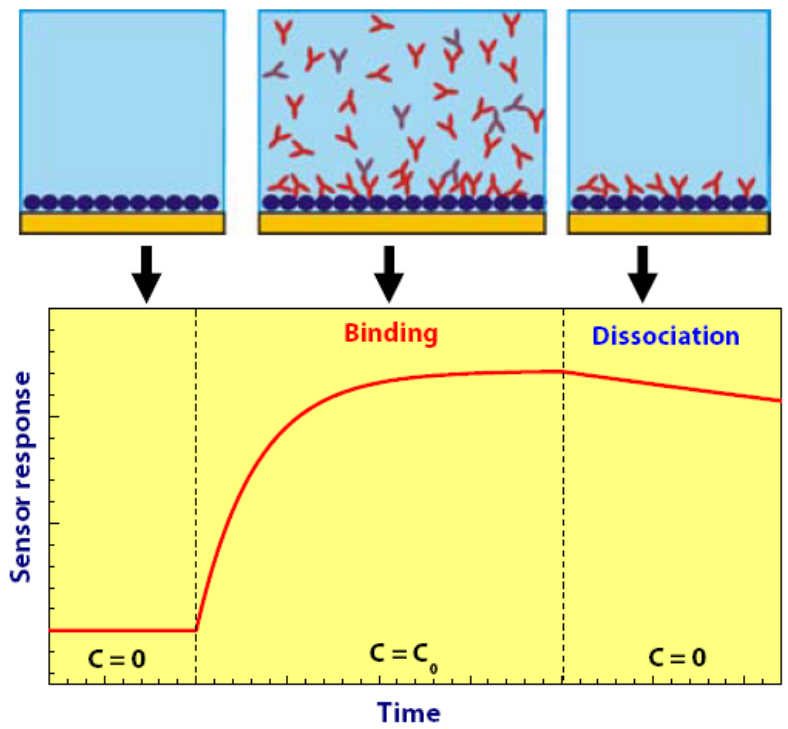


Laboratory prototype of 6-channel SPRCD sensor.

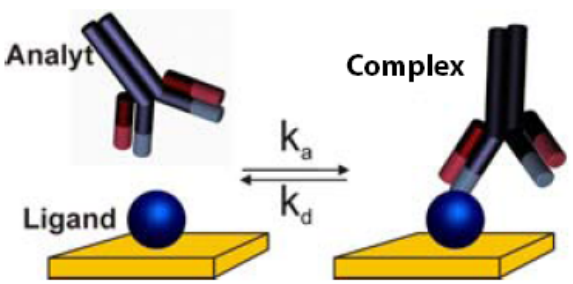
Pracují již ve více než 5 zemích světa, např. ve Federal Drug Agency (USA)

M. Piliarik, M.Vala, I. Tichý, J. Homola, *Biosens. Bioelectr.* 24, 3430–3435 (2009).

SPR senzory – Využití
Kinetika intermolekulárních interakcí



Typical SPR sensor response to (different stages of) molecular interaction occurring at the sensor surface.



Surface concentration of complexes *B*:

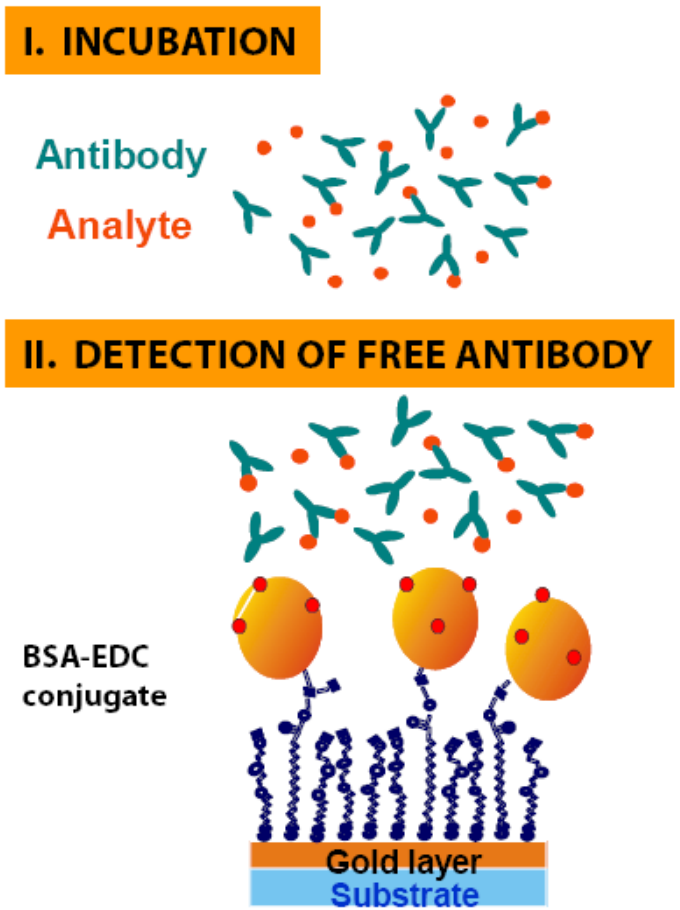
$$\frac{dB}{d\tau} = k_a C(R_T - B) - k_d B$$

Association rate

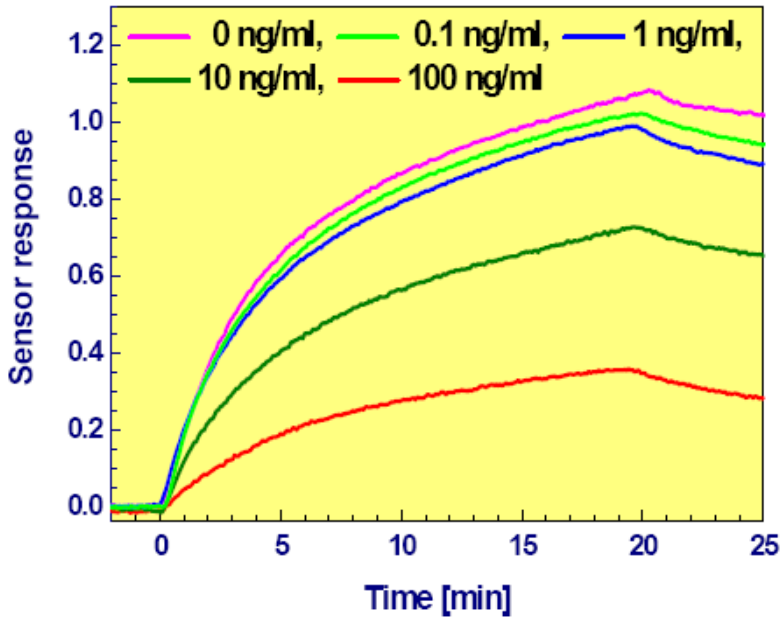
Ligand concentration

Dissociation rate

SPR senzory – Využití
Detekce chemických látek-herbicidů



Inhibition assay detection format.



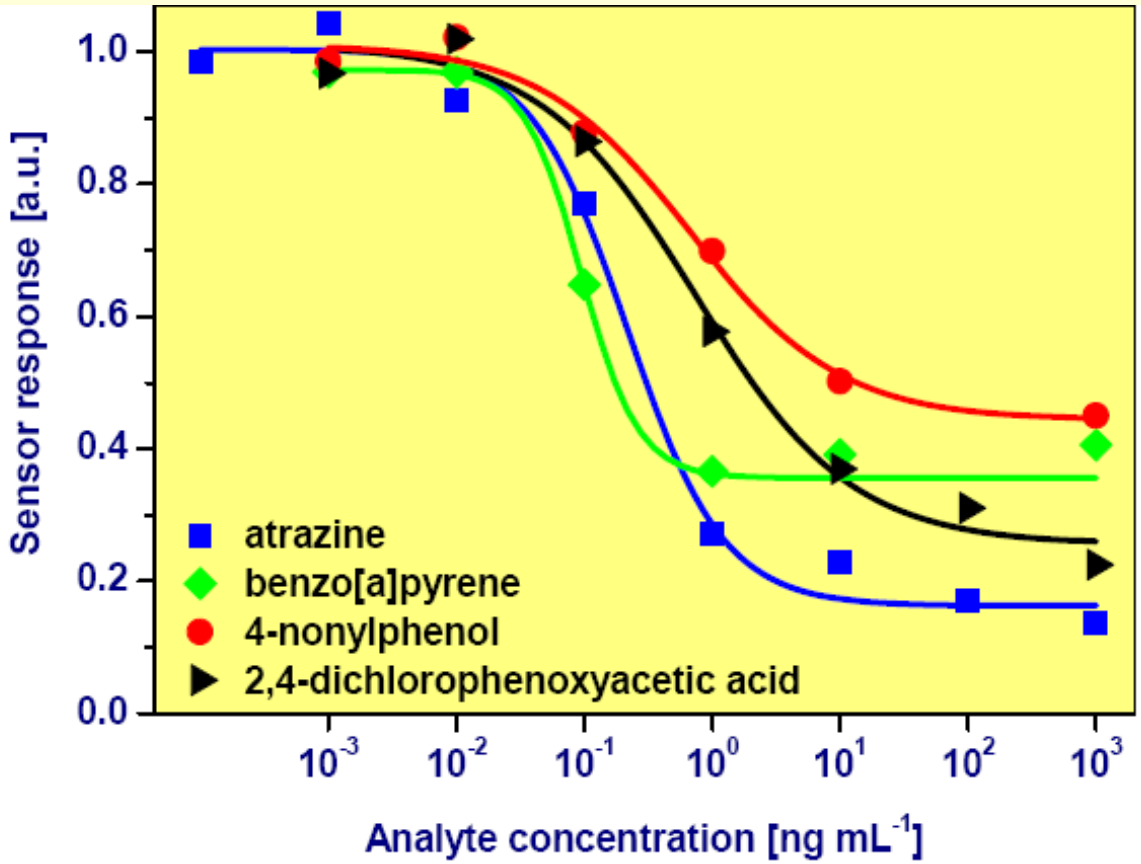
Detection of atrazine using inhibition assay. Kinetic response to unreacted antibody.

EDC- carboxyl-reactive carbodiimide crosslinker

Protilátka (antibody) k atrazinu

Detekce látek narušující systém žláz s vnitřní sekrecí

SPR senzory – Využití
Detekce chemických látek



ACHIEVED LODS:

ATR – 70 pg/ml

BaP – 50 pg/ml

4NP – 260 pg/ml

2,4-D – 160 pg/ml

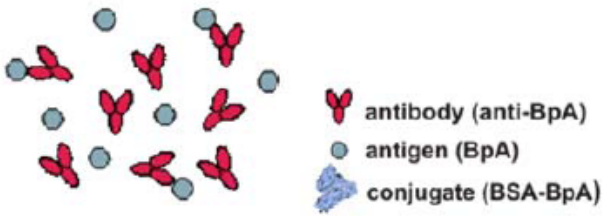
J. Dostálek, et al., *Anal. and Bioanal. Chemistry* 389, 1841–1847 (2007).

Calibration curves for detection of atrazine (ATR), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (24D), 4-nonylphenol (4NP) and benzo[a]pyrene (BaP).

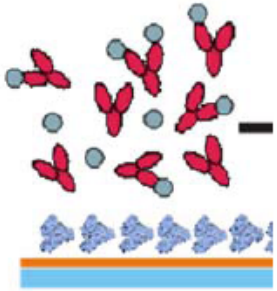
SPR senzory – Využití
Detekce nebezpečných látek

- Bisphenol A is a used to make polycarbonate plastics
- Bisphenol A is endocrine disruptor, dangerous especially in early development stage.

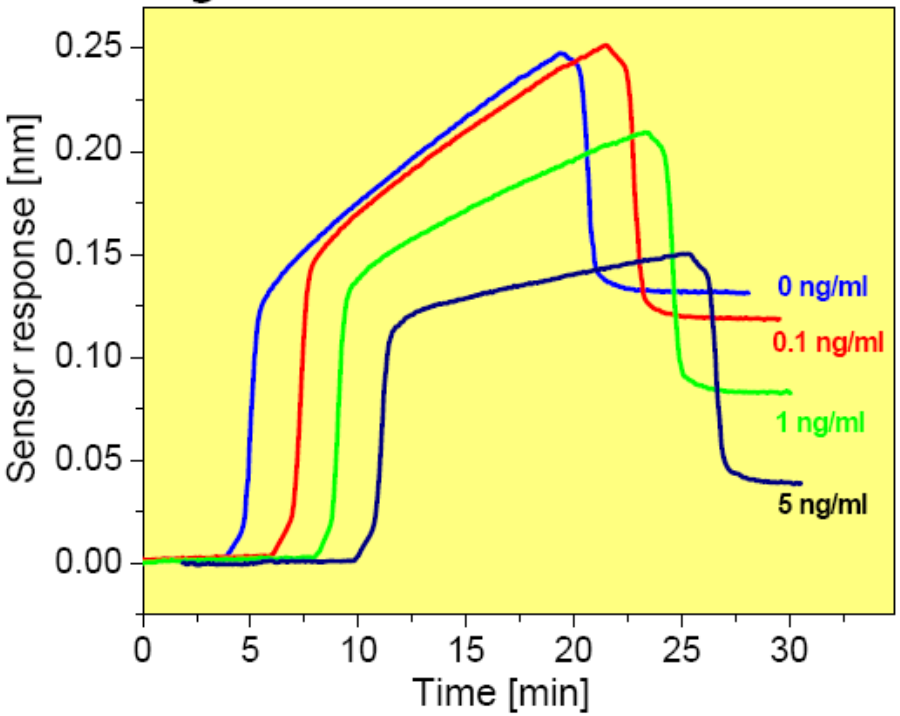
I. INCUBATION



II. DETECTION OF ANTIBODY

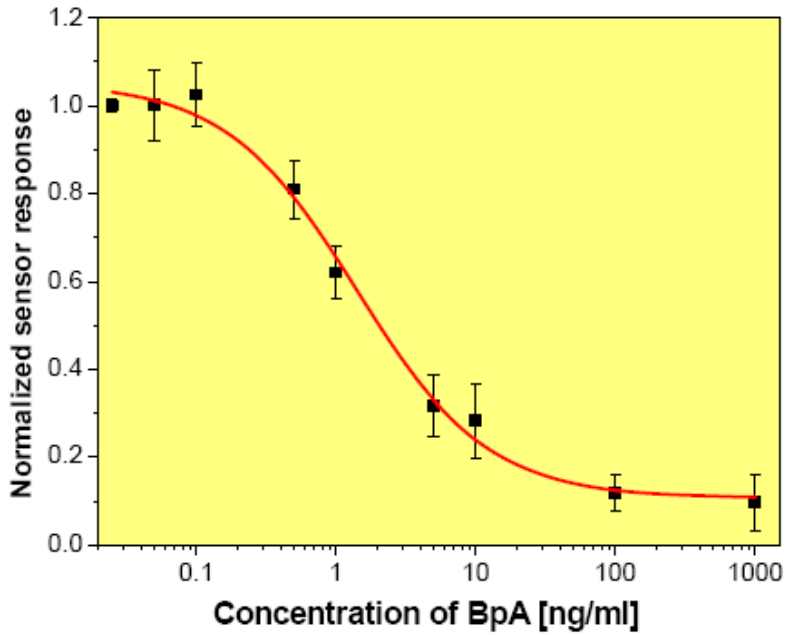


Inhibition binding detection format.

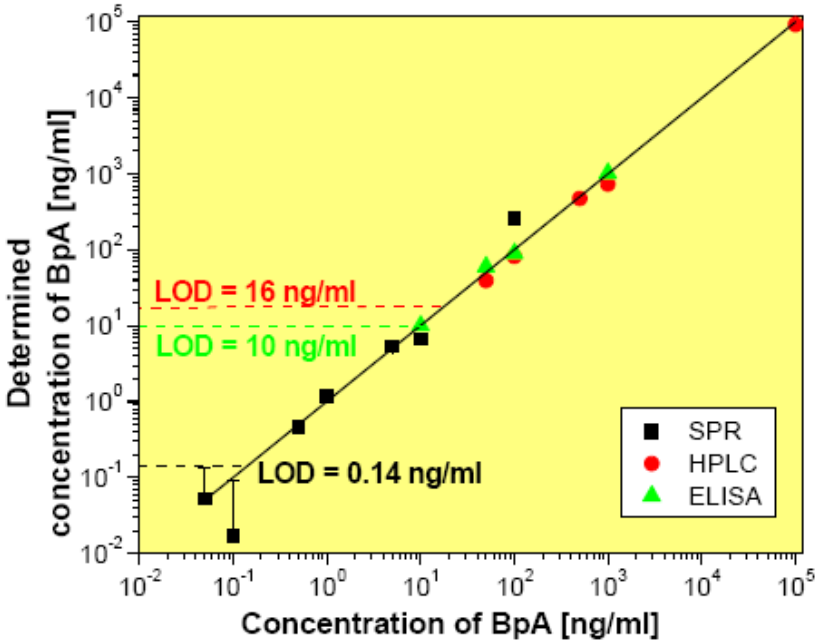


Detection of BpA using inhibition assay. Kinetic response to unreacted antibody.

SPR senzory – Využití
Detekce nebezpečných látek



Calibration curve for BpA in wastewater samples.



Determination of BpA in wastewater samples using SPR, HPLC and ELISA.

Bisphenol A in waste water:
K. Hegnerová, et al., *Anal. & Bioanal. Chem.*, 398, 1963–1966 (2010).

LOD: 140 pg/ml

Bisphenol A in drinking water:
K. Hegnerová, J. Homola, *Sens. Act. B*, 151, 177-179 (2010).

LOD: 40 pg/ml

Miniaturizace optických senzorů

Nové otázky

- Detekce v malých objemech vzorků (µl)

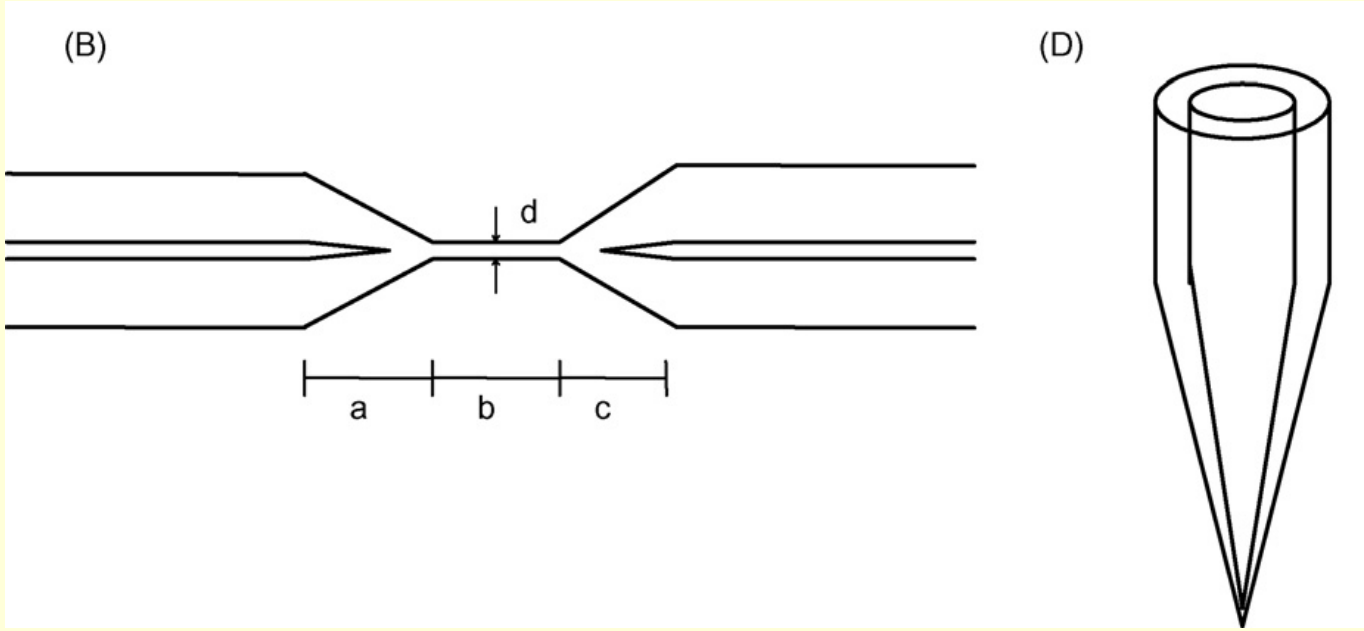
- In situ detekce v živočišných nebo rostlinných buňkách (rozměry ~1-100 µm)

Mikro a nanosenzory využívající

-Kónická vlákna – vláknově-optické tapery

- Optické nanočástice – PEBBLE - „*probes encapsulated by biologically localized embedding*“;

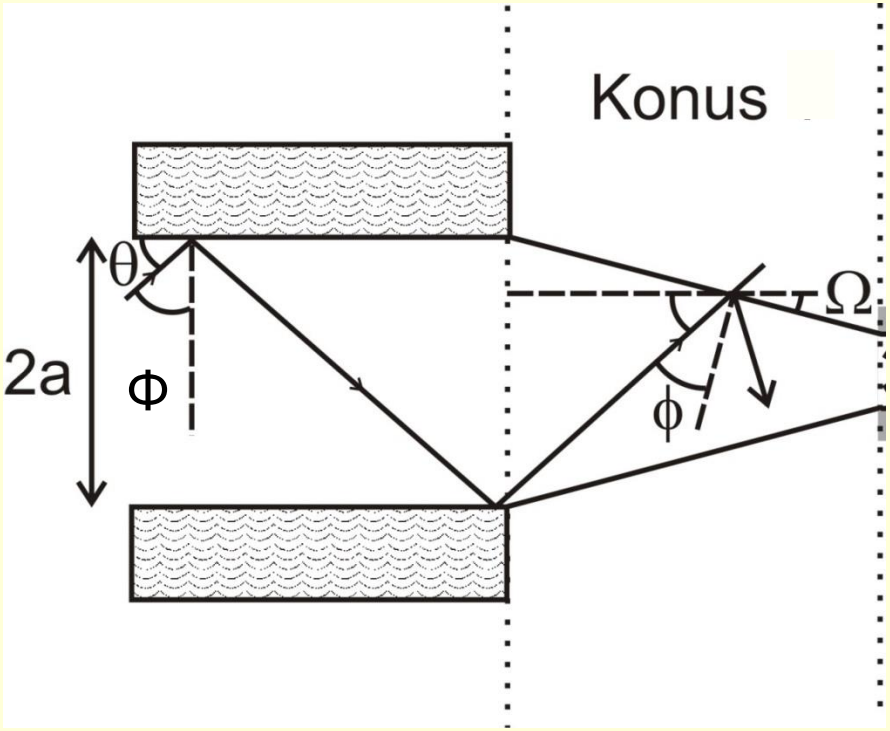
Kónicky zúžená vlákna -tapery

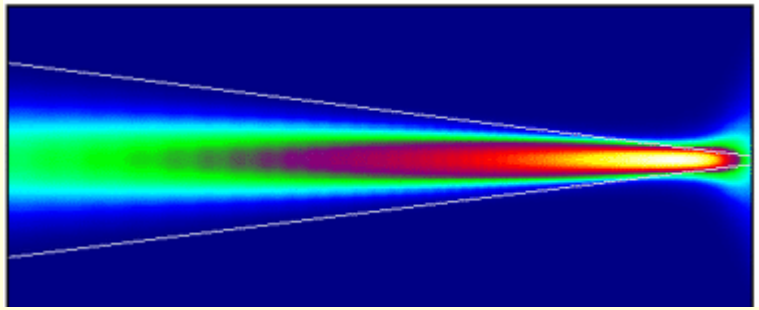


Umožňují zvýšit detekční citlivost ve srovnání s vlákny s konstantním průměrem.

Připravují se buď se dvěma kónusy (B) –”biconical” nebo s jedním jako vláknové špičky (D)- “fiber tips”

Kónicky zúžená vlákna - princip

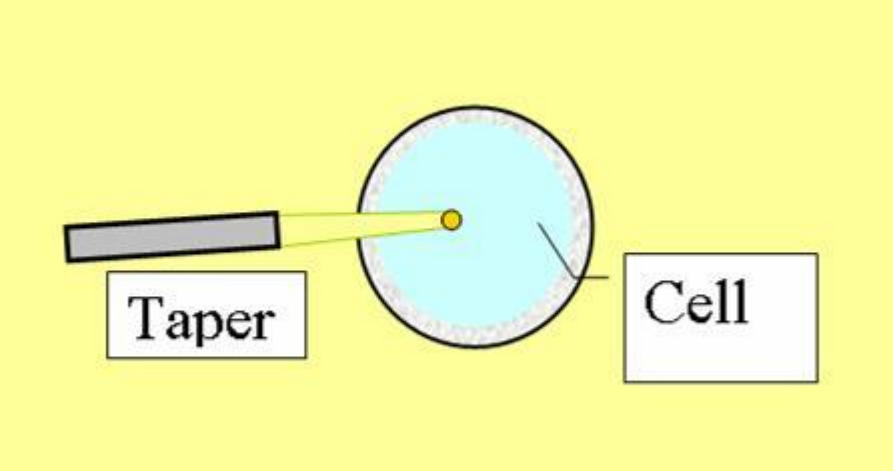




Zmenšuje se poloměr jádra a a reflexní úhel Φ na rozhraní jádro-plášť ⇒ zvyšuje se výkon přenášený v evanescentním poli a tím i odezva a detekční citlivost.

Senzory na vláknově-optických špičkách

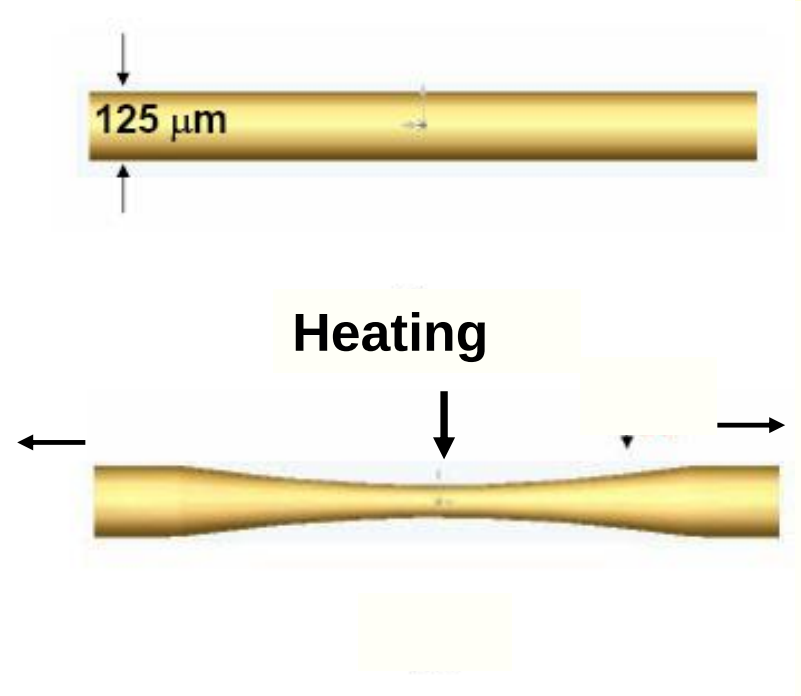
Optické vlákno protažené do špičky, která je modifikována vrstvou s opticko-chemickým převodníkem.



Optické prvky citlivé k draslíku pro detekci pH a K v buňkách myšších vajíček-”oocyte” (100μm)

S.M. Buck et al. , Talanta **63** (2004) 41

Příprava kónických špiček- termicky



Výchozí křemenné vlákno

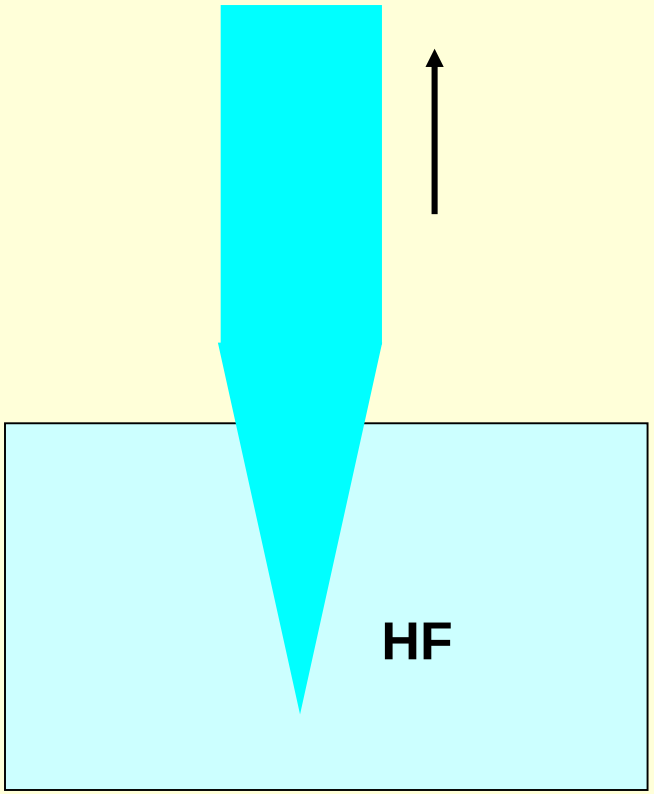
Prodloužení a zúžení vlákna při jeho zahřátí hořákem nebo CO_2 laserem

Pokrytí kovovou nebo keramickou ochrannou vrstvou

Přesné uříznutí

T. Martan et al., Proc. SPIE 7138 (2008), Article 71380Z DOI: 10.1117/12.818000

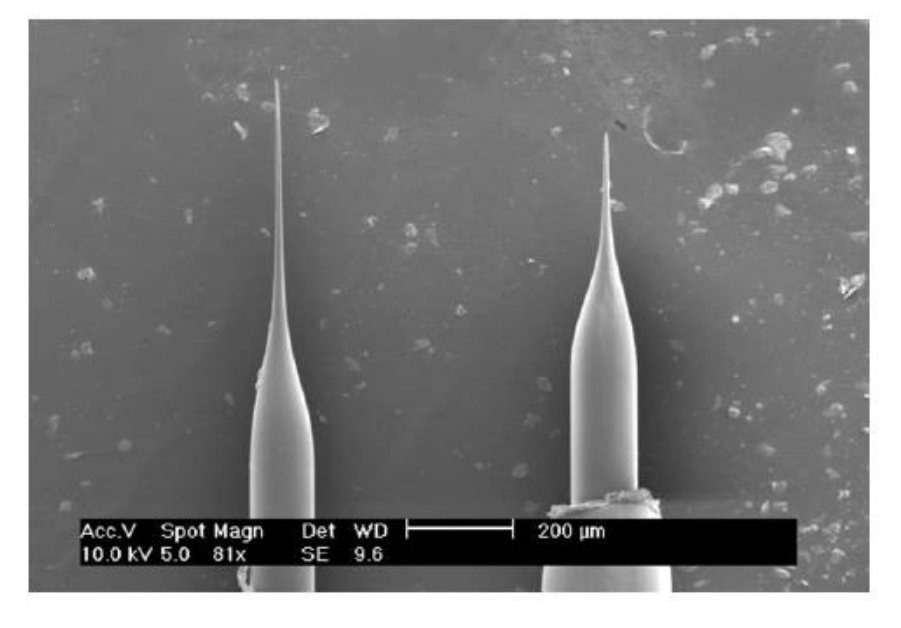
Příprava kónických špiček - leptání

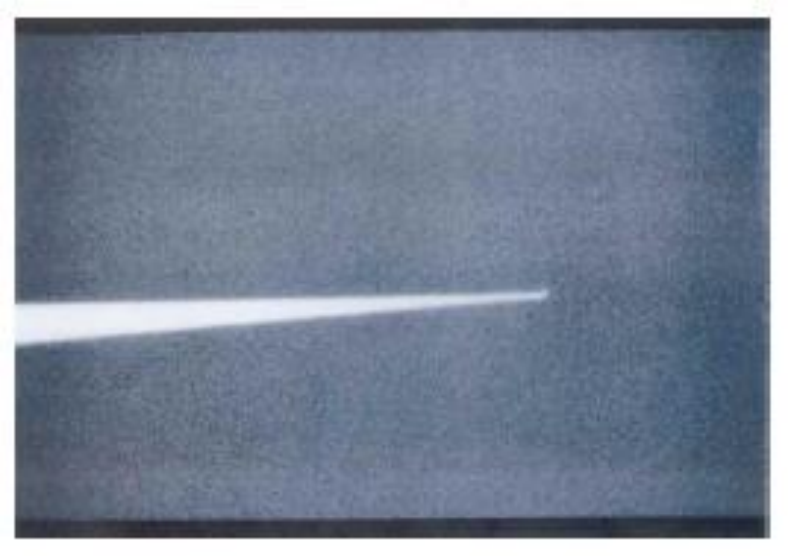


Ponořením křemenného vlákna do roztoku kyseliny fluorovodíkové a jeho pomalým vytahováním konstantní rychlostí

N. Nath et al., J. Anal. Toxicology 23 (1999) 460-467

Příklady připravených špiček





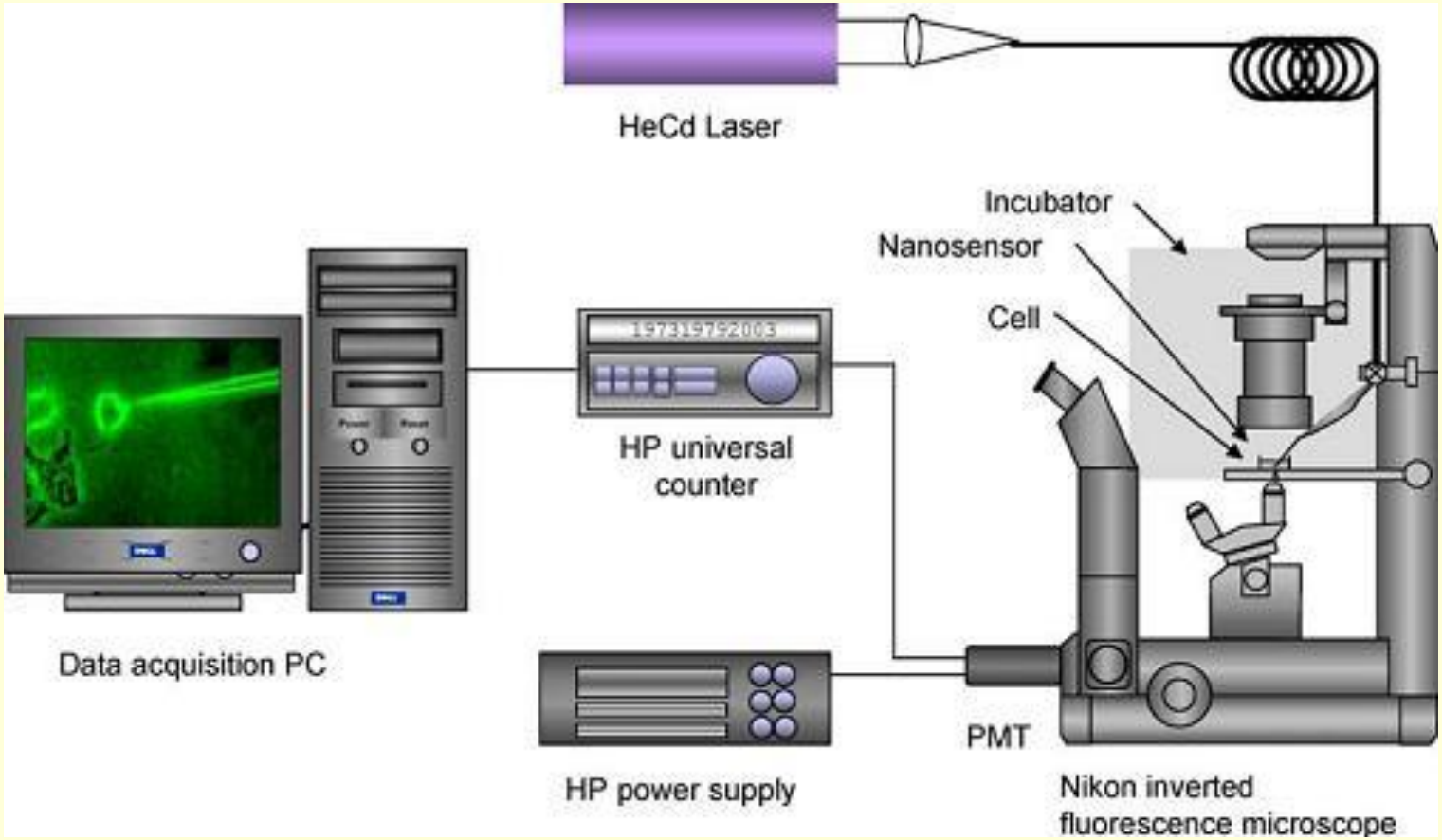
Průměr špičky 50 nm

B. Cullum et al., Tibtech September 18 (2000) 388-review

E. J. Park et al., J. Mater. Chem. 15 (2005) 2913 – detekce O_2

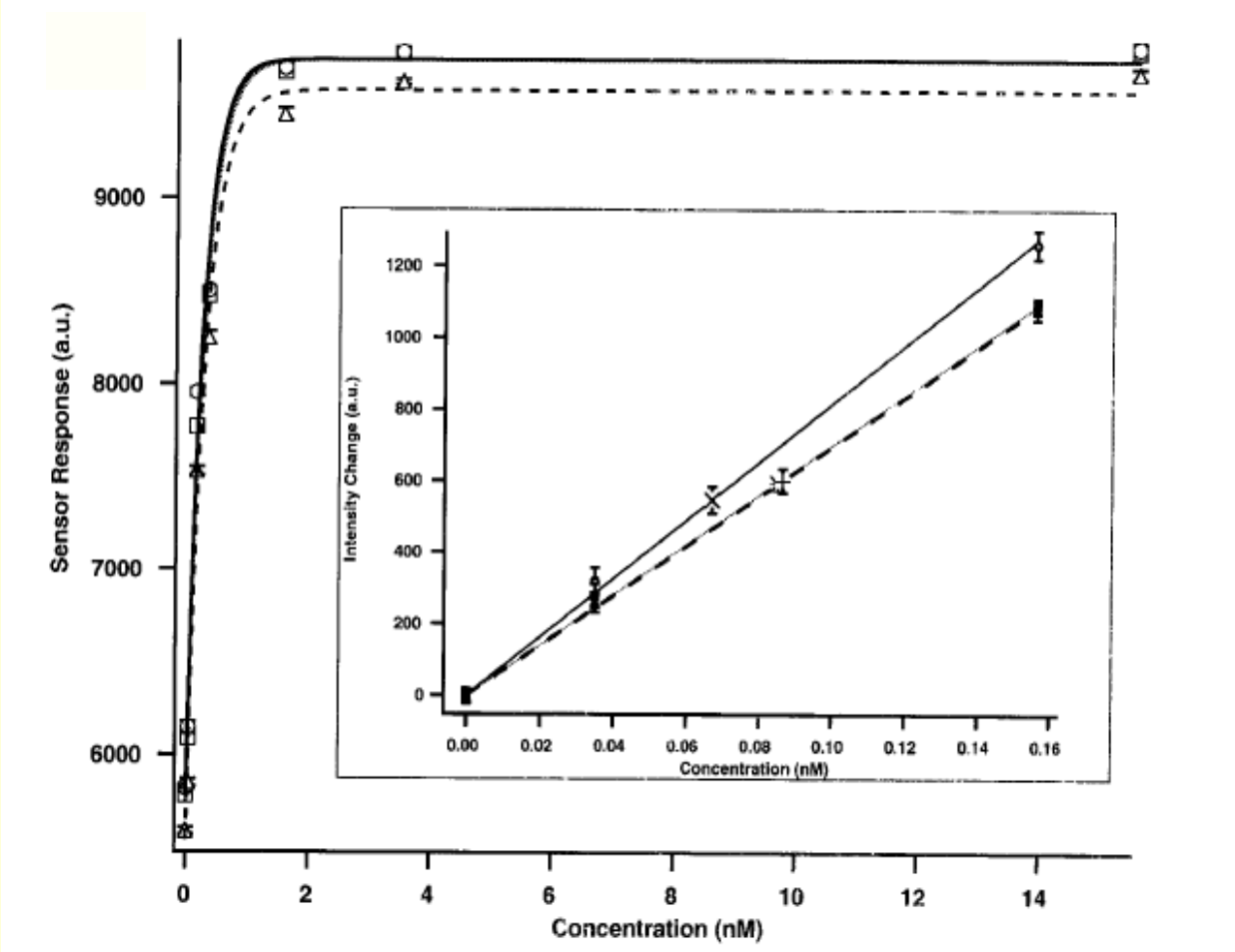
Senzory na vláknově-optických špičkách fluorescenční měření

Invertovaný fluorescenční mikroskop



T. Vo-Dinh et al., Anal Bioanal Chem 382 (2005) 918

Senzory na vláknově-optických špičkách - příklad

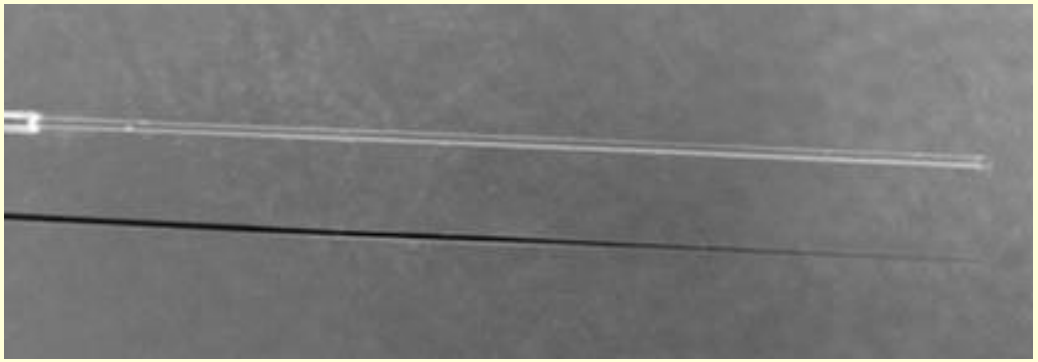


Excitace 325 nm
Emise nad 400 nm (zelena)
BPT zachycen na protilátce ukotvené na špiččce taperu

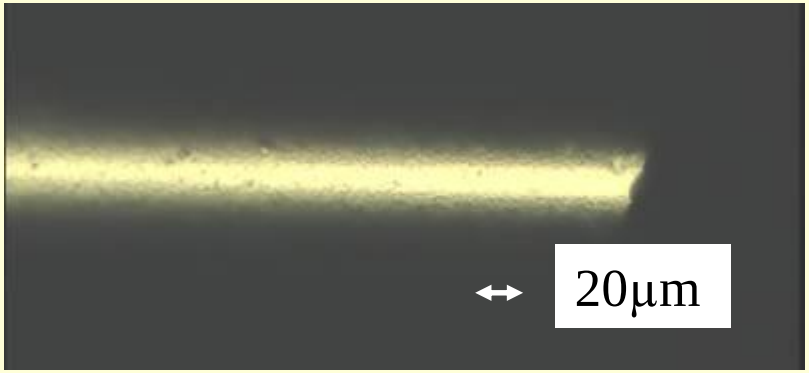
B. M. Cullum et al., Analytical Biochemistry 277 (2000) 25 – Fluorescence benzo[a]pyrene tetrol v buňce z krysích jater – protilátka pro BPT: **LD~ 10 pM**

Tapery UFE

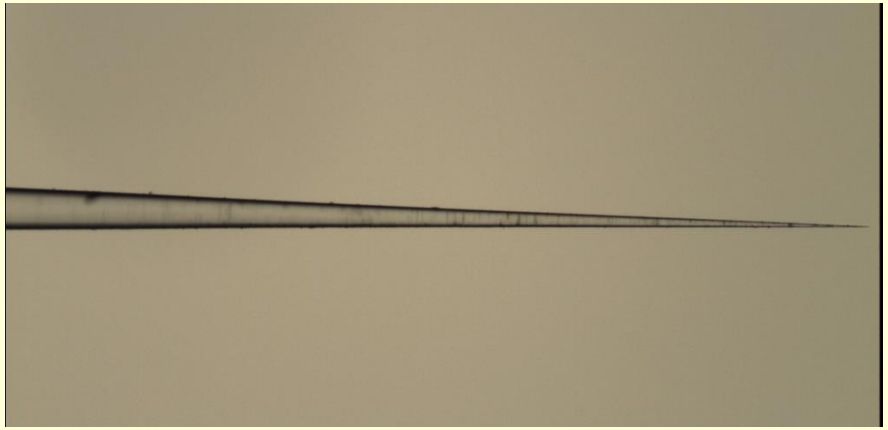
Taper pokrytý ITO a výchozí vlákno



Taper pokrytý Al



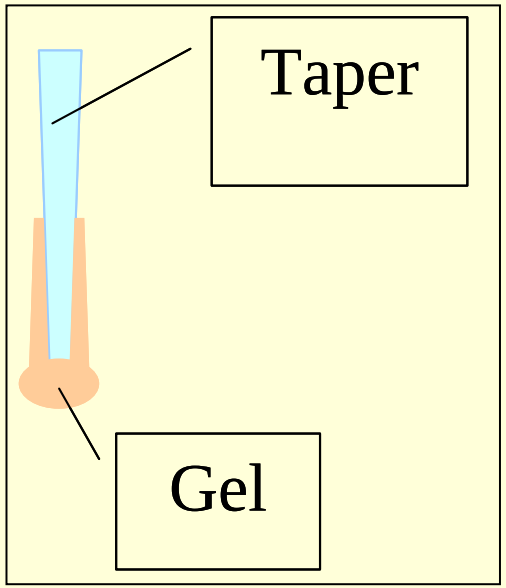
Taper pokrytý ITO s průměrem špičky 2 μm



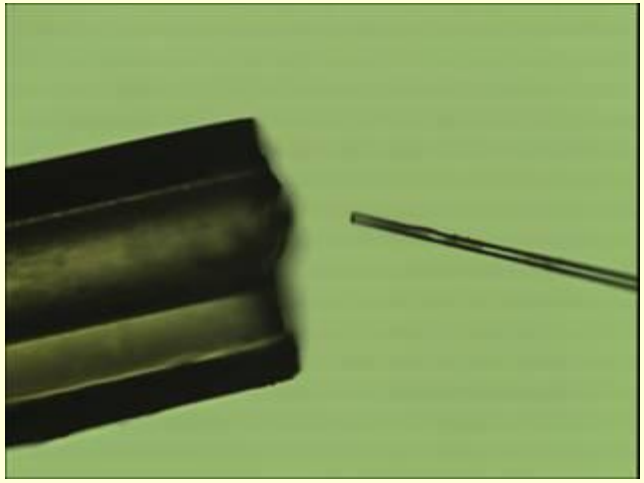
Pokrytí konce špičky polymerní nebo pórézní membranou

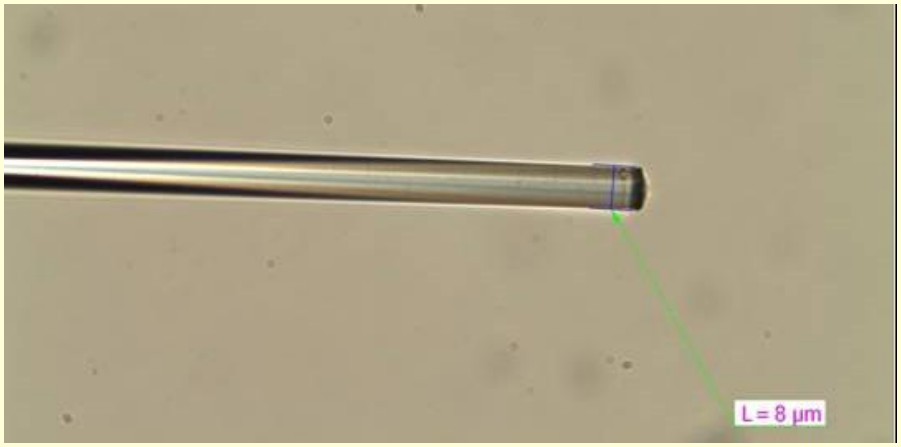
Detekční vrstvy – Příprava sol-gel

Namáčení



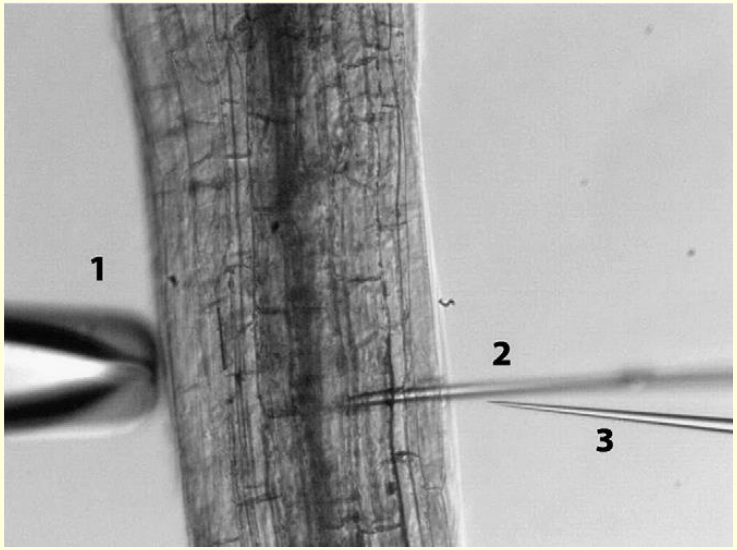
Z kapky v kapiláře

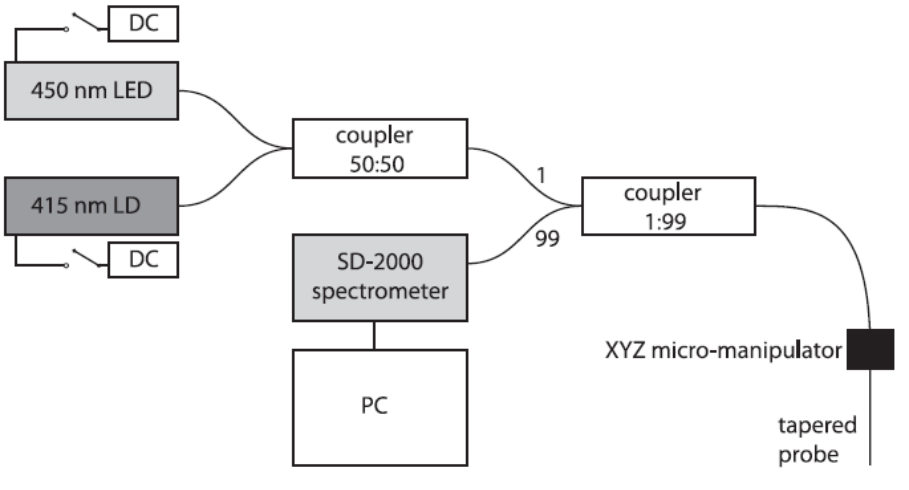




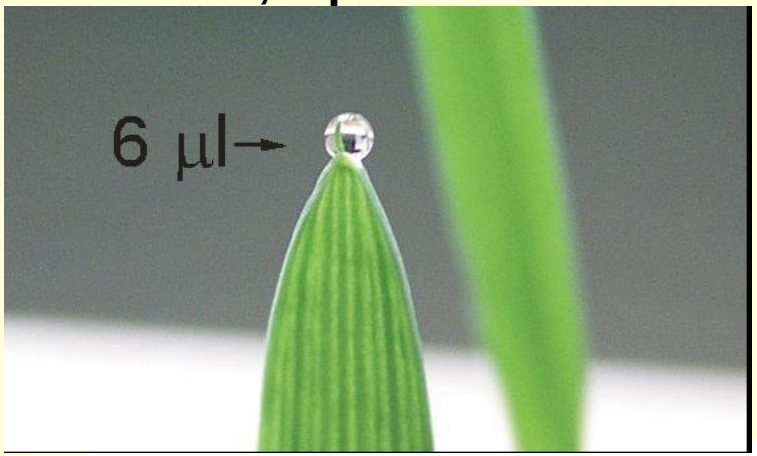
Reflexní pH sensor

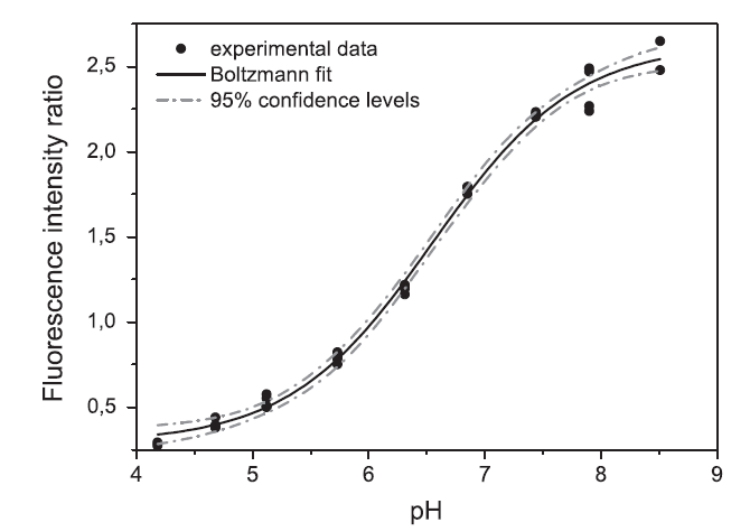
Špička na křemenném vlákně (diam. 1-20μm), luminiscenční pH indikátor (BCECF) na špičce – pH in v rostlinách (*Arabidopsis Thaliana)* nebo v exudátu





2-sensor, 3-penetrator





I. Kasik et al., Mat. Sci. Eng. C33, 4809, 2013

Detekce pH v exudátech z tabákových listů

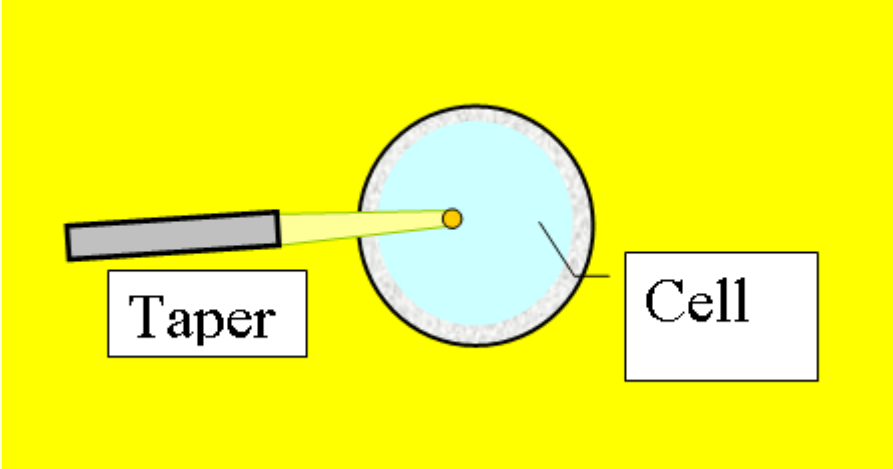
	Kapky na špičce listu	Exudát získaný po odříznutí špičky listu	Exudát získaný po odříznutí listu v jeho základně
Střední	5.0	5.6	5.5
St. odchylka	0.3	0.3	0.1
Elektrochem.	5.4	5.4	6.0

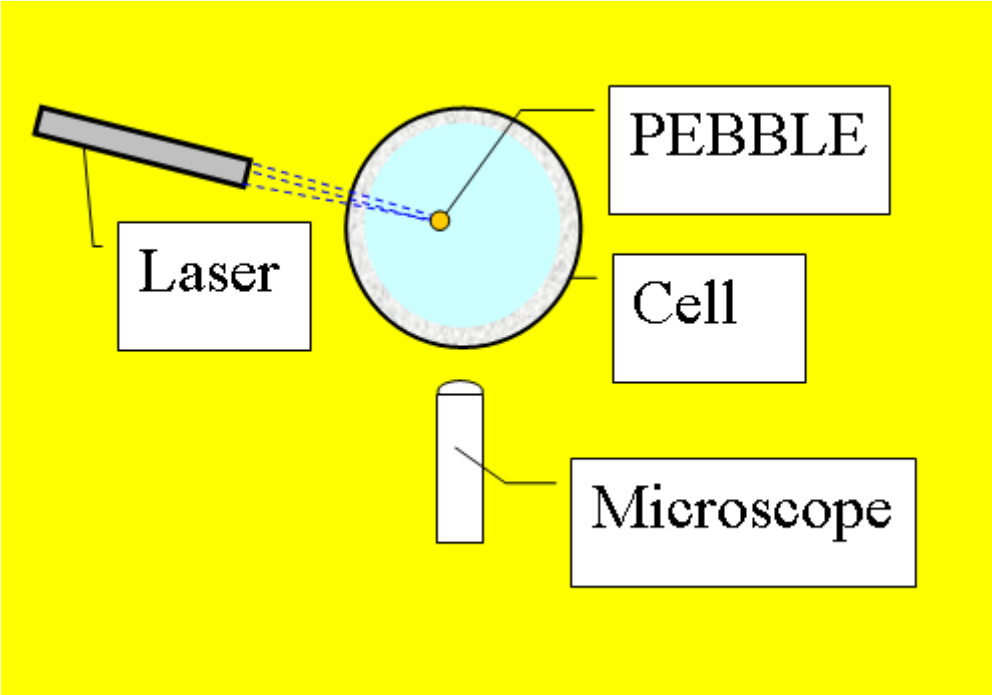
Žádný gradient pH nebyl v rámci statistických chyb prokázán

I. Kašík et al., Anal. Bioanl. Chem. 398 (2010) 1883-1889

PEBBLES

„Probes Encapsulated By Biologically Localised Environment“ = nanočástice (50-100 nm) obsahující měřící a referenční luminiscenční převodníky v inertní matrici

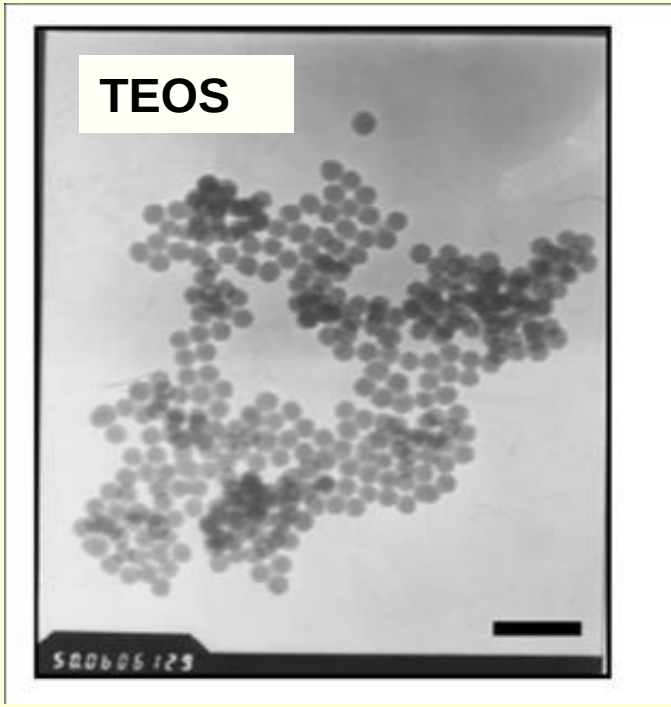




PEBBLE - PŘÍPRAVA

•Nanočástice 20-100 nm obsahující převodníky jsou připravovány emulzními technikami na základě :

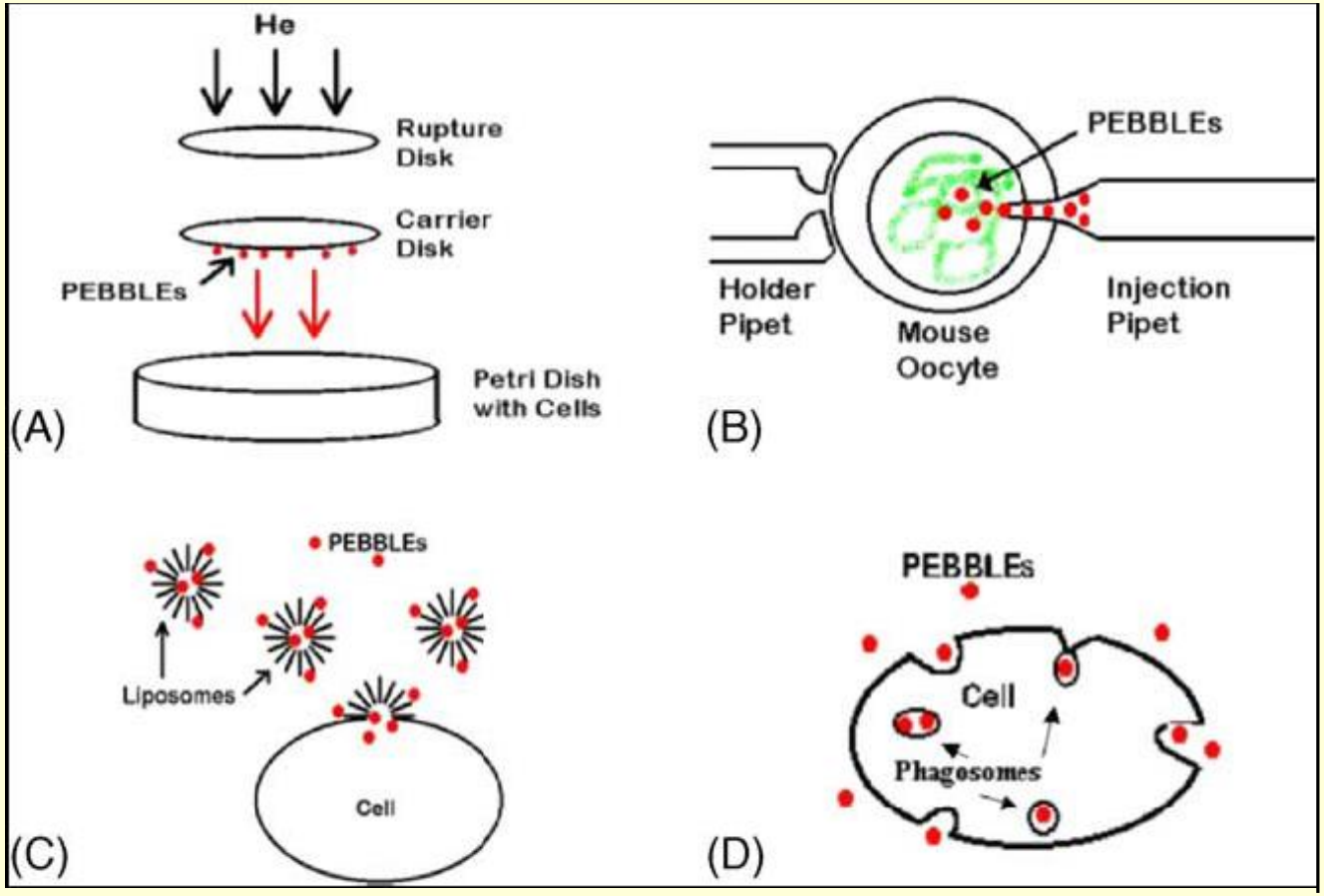
- Polymerů
- Organicky modifikovaných silikátů
- Alkoxidů -TEOS



W.Tang et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 369 (2008) 579 - polymery

X. Hun et al., Microchim Acta 159 (2007) 255, TEOS

Implementace PEBBLE do buňky

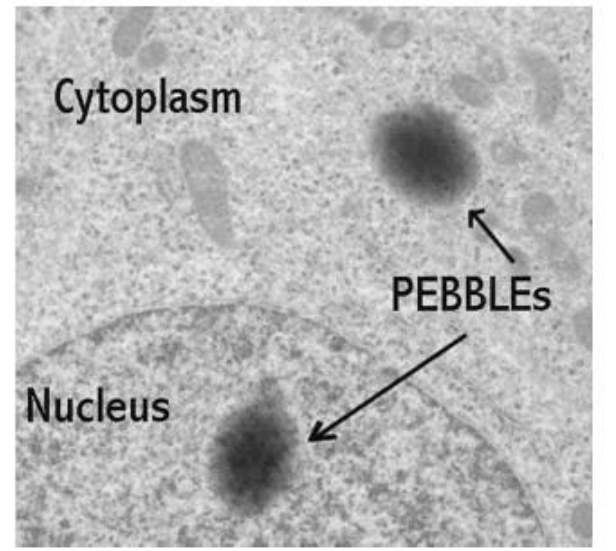


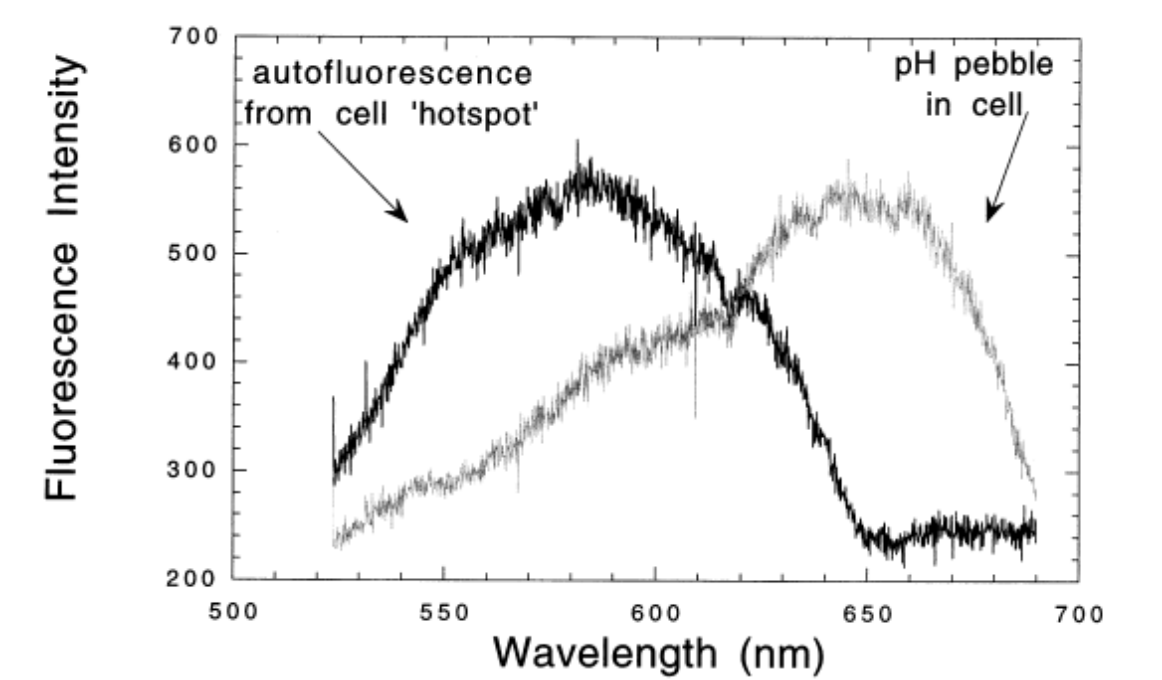
A) Genové dělo, B) Injektování, C) Liposomální přenos, D) Fagocytosa

S.M. Buck et al., Talanta 63 (2004) 41

Měření s PEBBLEs

1. Konfokální mikroskop
2. Invertovaný fluorescenční mikroskop





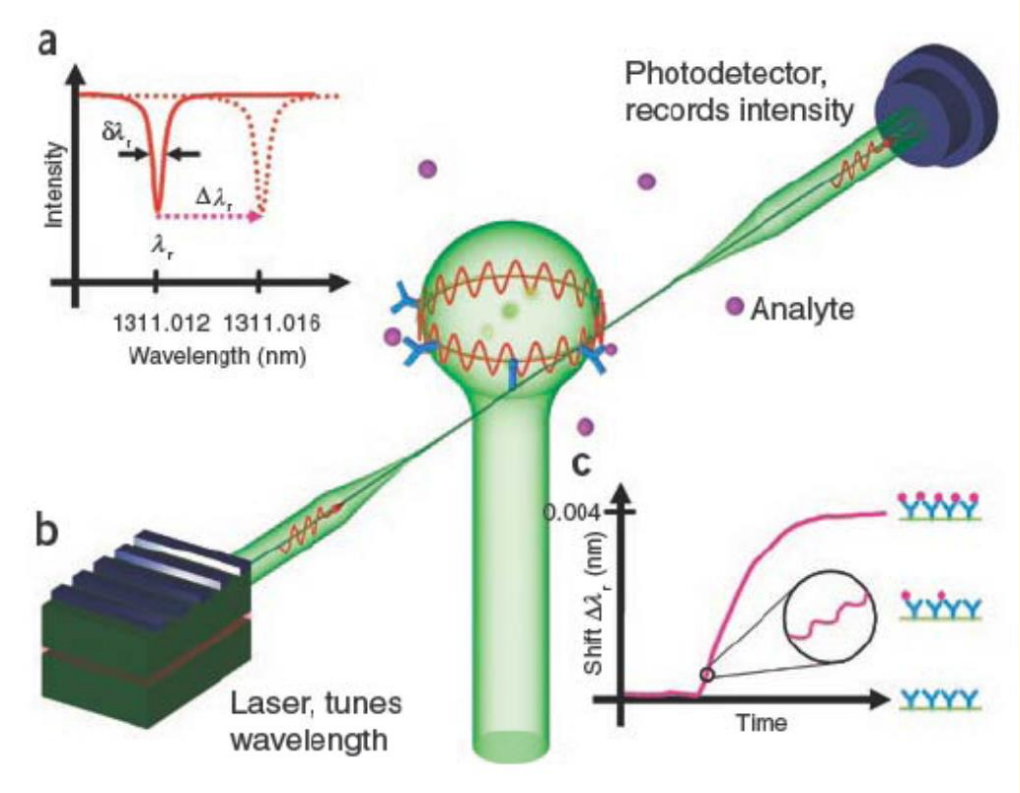
H.A. Clark et al., Sensors and Actuators B 51 (1998) 12 – pH, Ca, Mg, K, kyslík

Nové směry ve vývoji senzorů

- **WGM mikroresonátory**
- **Zobrazovací (imaging) senzory**
- **Fotonické krystaly**
- **Další možnosti**

WGM MIKROREZONÁTORY

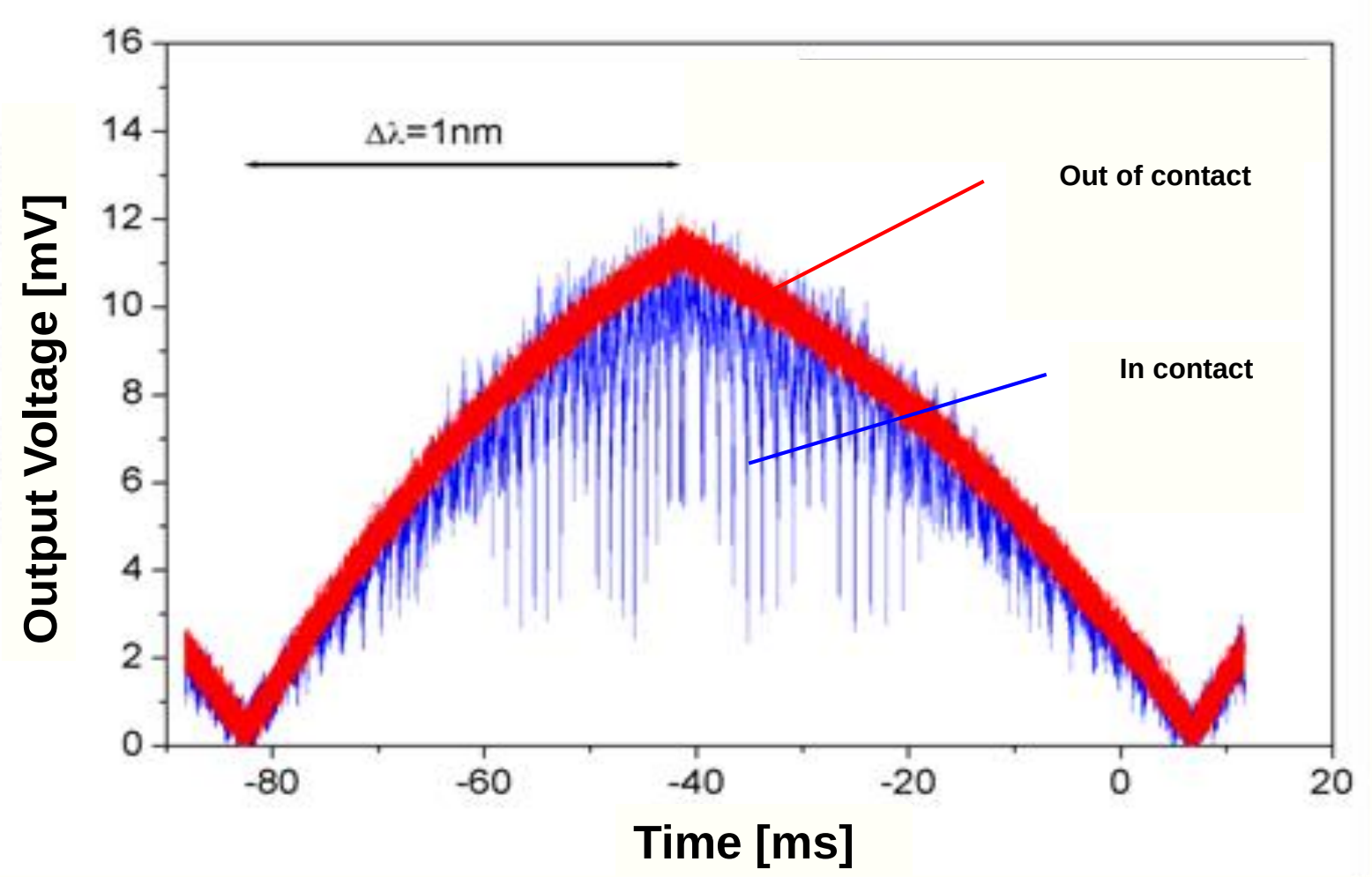
WGM=„Whispering Gallery Mode“ (módy šeptající galerie)



Světlo navázané do mikrokuličky obíhá kolem rozhraní kulička/okolí ve formě WGMs.

Změny polohy WGM rezonancí s koncentrací analytů a časem

WGM – Rezonanční spektra



Velmi úzké rezonanční pásy – pološířky pm

WGM – Rezonanční spektra

Šířka rezonančních pásů je charakterizována faktorem kvality $Q \sim \lambda/\Delta\lambda$

U mikrokuliček Q udává, kolikrát paprsek oběhne kolem rozhraní než je jeho energie pohlcena .

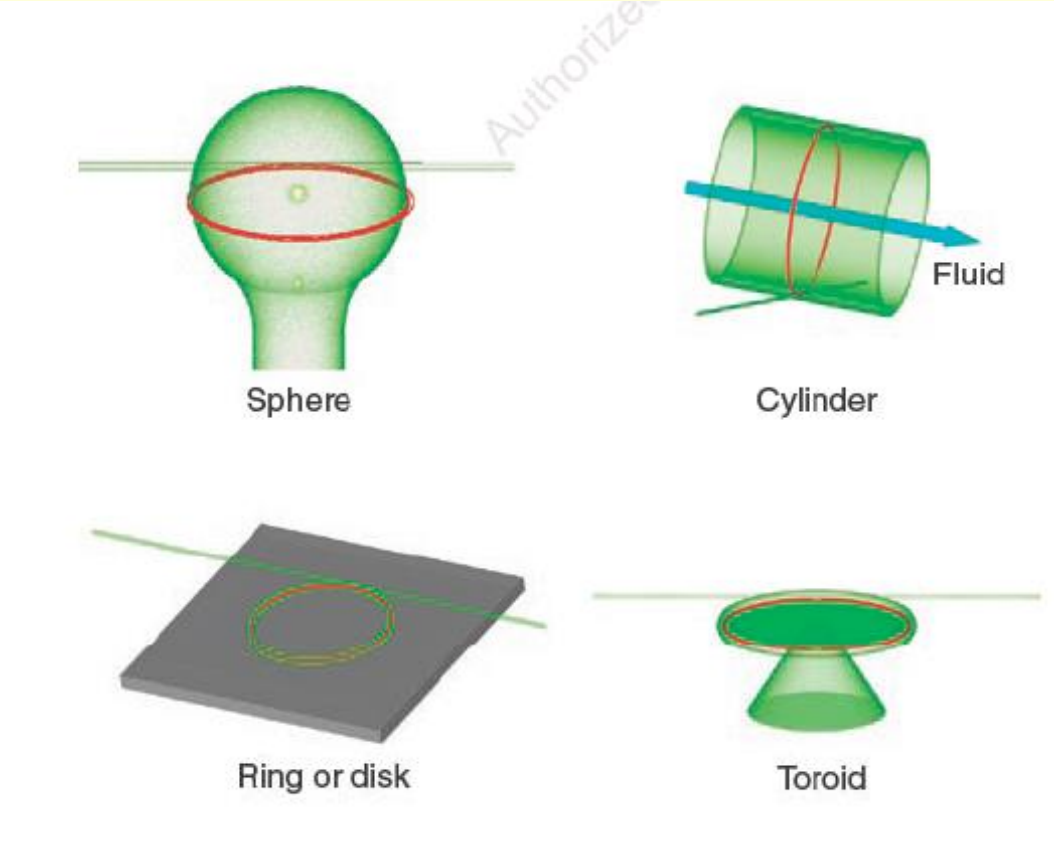
$Q \sim 10^3 - 10^9$

Kulička průměr 200 μm: L~ 0.6 m – 6 10^5 m

Poloha rezonančních pásů se mění se změnami indexu lomu okolí – detekce indexu lomu s přesností 10^{-8} RIU.

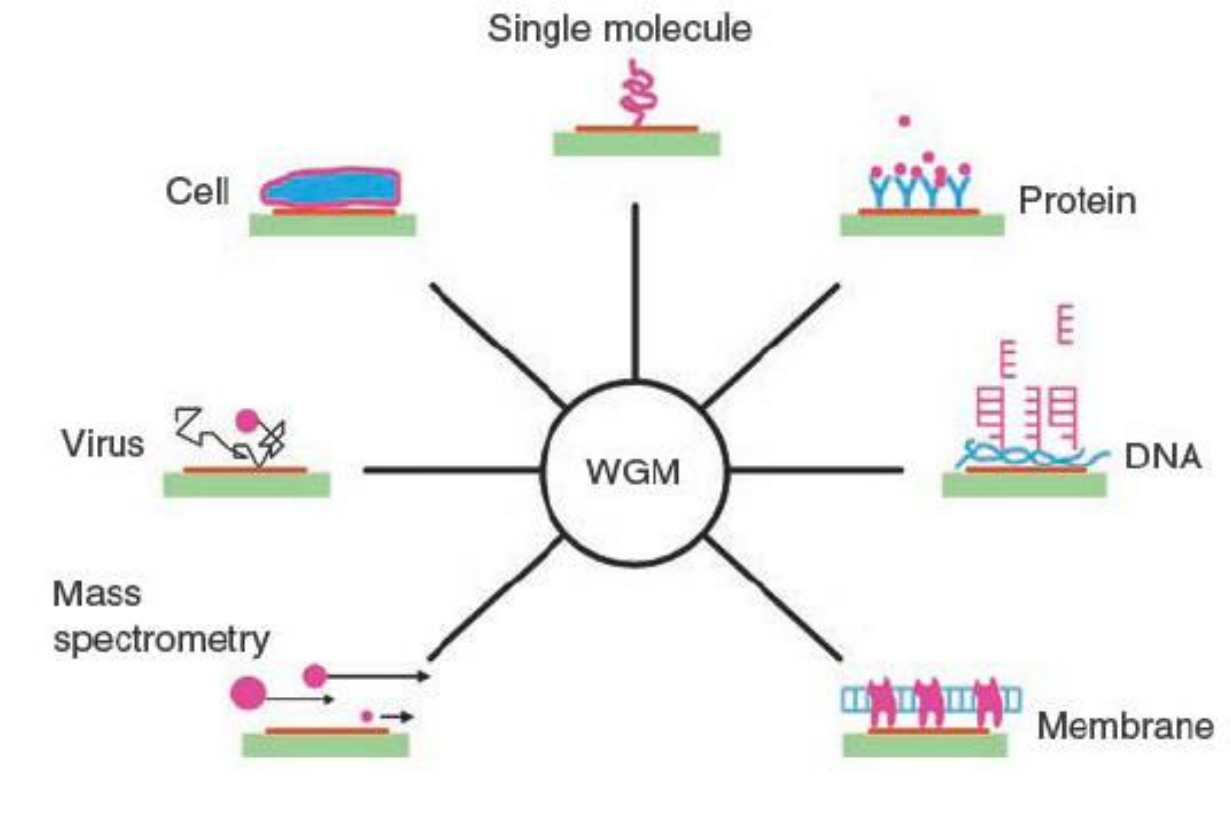
WGMs pronikají jen málo do okolí (50-100 nm)

Typy WGM mikrorezonátorů



Nejvyšší $Q \sim 10^6$ bylo dosaženo s mikrokuličkami (průměry 10-500 μm)

WGM Senzory – možnosti



F. Vollmer, S. Arnold, Nature Methods 5, 591-596 (2009)

WGM Imunosenzory

Nutné upravit povrch pro zachycení proteinů

<u>silanizací nebo použitím polymerů</u>

3-Aminopropyltriethoxysilane

F. Vollmer et al., Appl. Phys. Lett. **80** (2002) 4057 – detekce proteinů

3-Mercaptopropyltrimethoxysilane

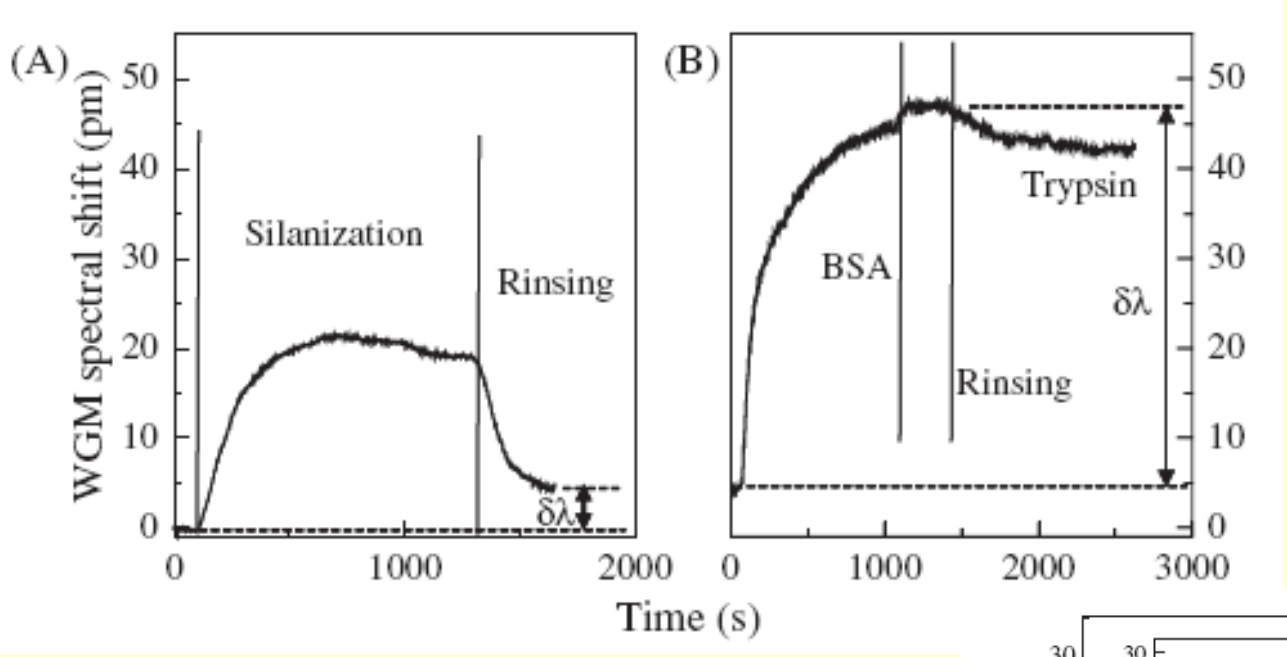
N. Hanumegowda et al., Sensor Lett. **3** (2005) 315 – sensor proteázy

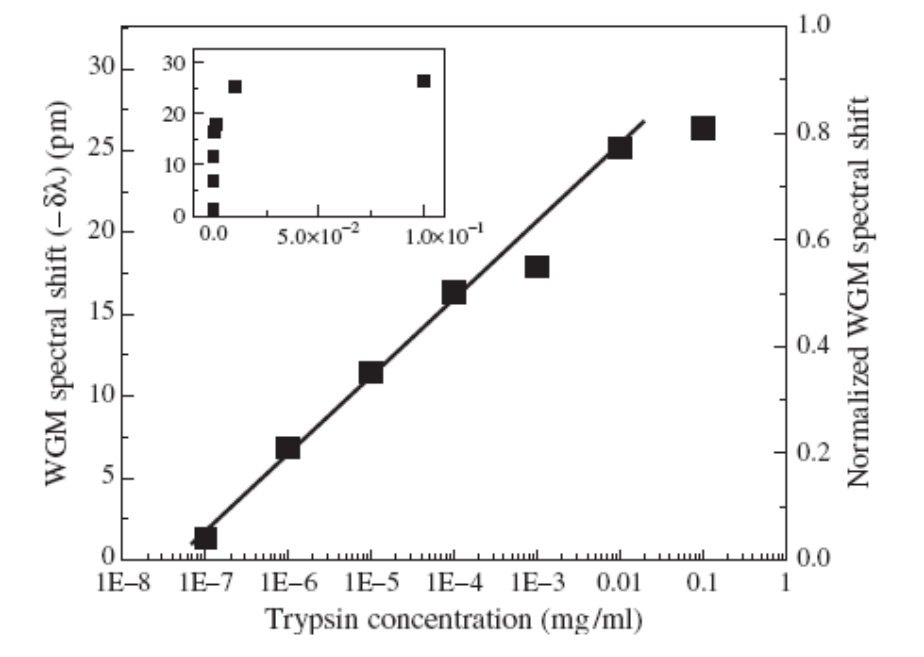
Polymerní vrstva - Eudragit® L100 (Degussa, n = 1.39)

anionický kopolymer kys. metacrylové a metylmetakrylátu

S. Soria et al., Opt. Express 17, 14694-14699 (2009)

WGM Imunosenzor





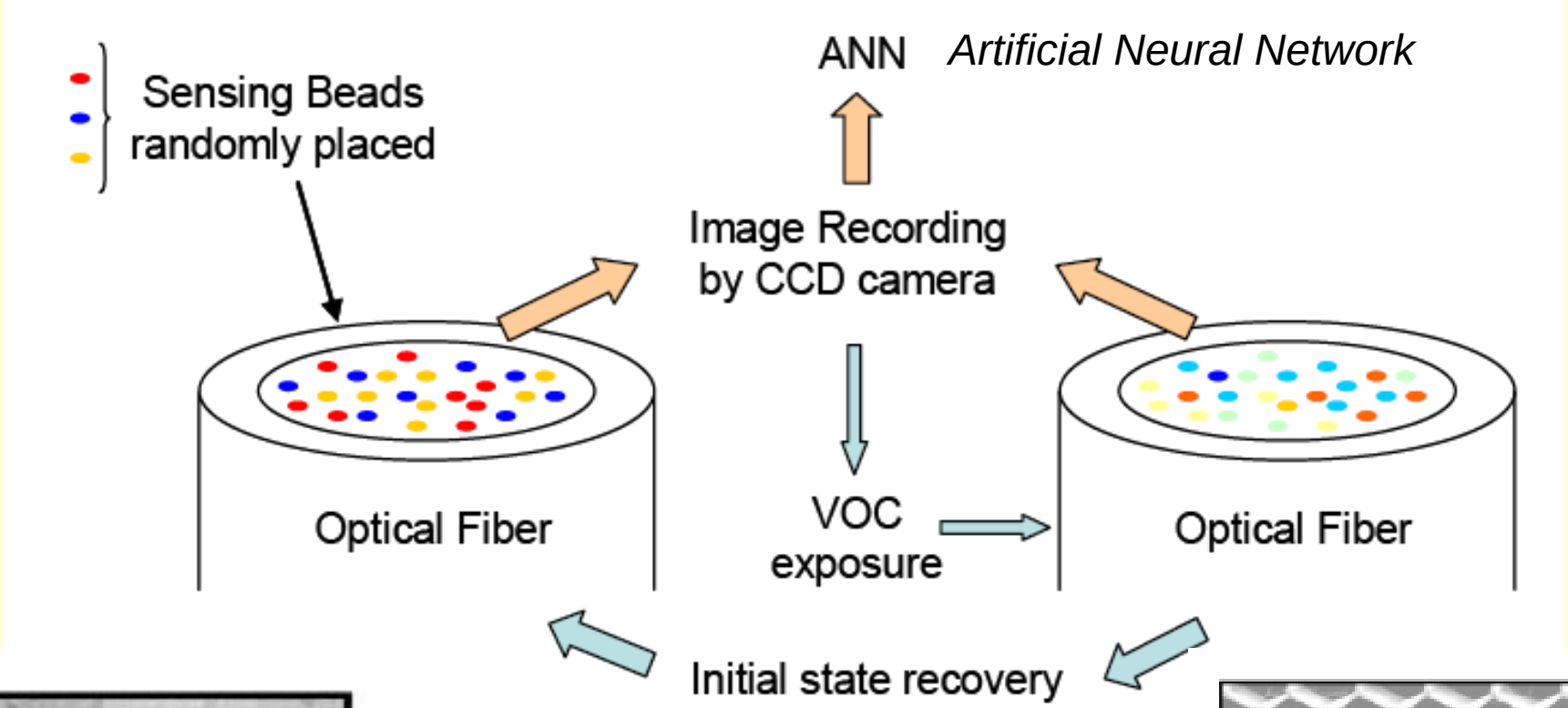
N. Hanumegowda et al., Sensor Lett. 3 (2005) 315

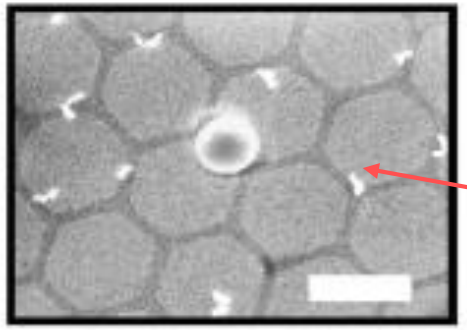
RI detekce – „Label Free“ Imunosenzory

Typ senzoru	LD
Mikrokulička	10^{-7} RIU - roztok 1 pg/mm^2 - DNA
LPG ve vlákně	10^{-4} RIU – roztok 4 pg/mm^2 - DNA
SPR	10^{-5} - 10^{-8} RIU – roztok 10 pg/mm^2
Interferometr (Mach Zehnder)	10^{-7}RIU - roztok 20 pg/mm^2 - protein

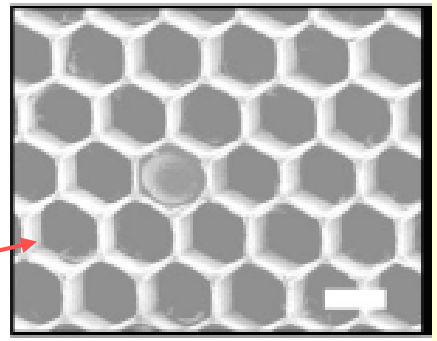
X. Fan et al., Analytica Chimica Acta 620 (2008) 8-26

Zobrazovací (Imaging) senzory



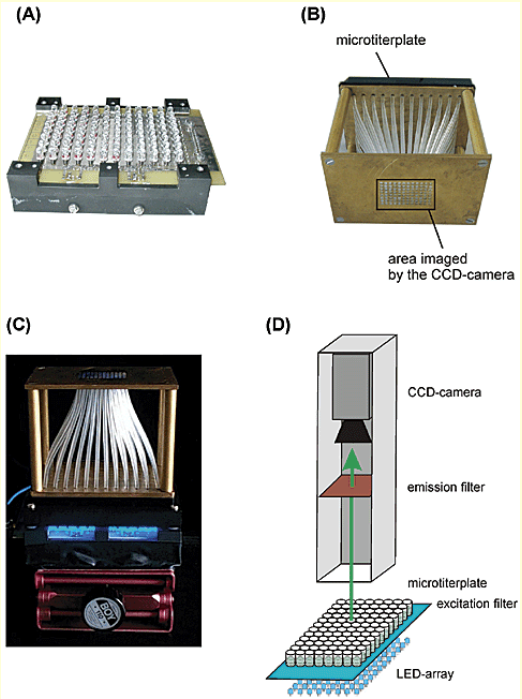


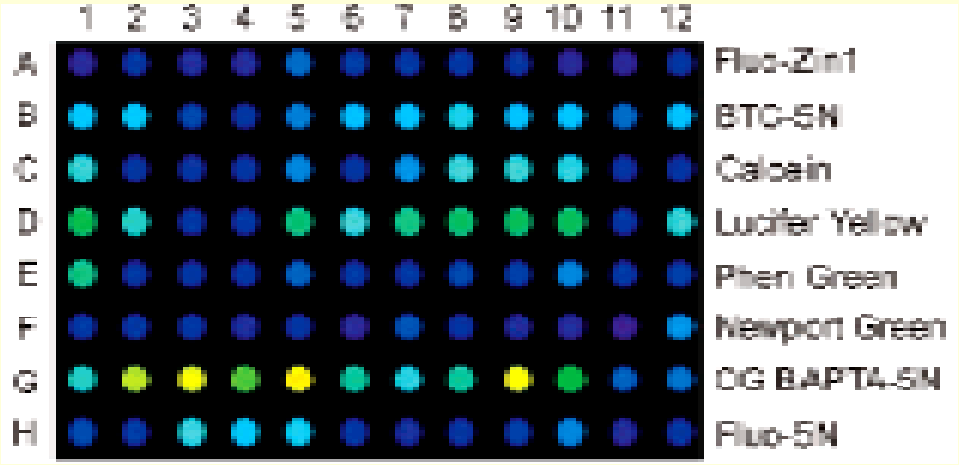
<u>Fluorescenční částice</u>
konec vlákna
do vyleptaného jádra



K.L. Danowski et al., Microchemical Journal 70(2001),51-61

Senzorová pole





Column No.	Ca^{2+} [μM]	Cu^{2+} [μM]	Ni^{2+} [μM]	Zn^{2+} [μM]	Cd^{2+} [μM]
1	0	0	0	0	0
2	1	1	1	1	1
3	10	10	10	10	10
4	100	100	100	100	100
5	1	0	0	0	0
6	0	1	0	0	0
7	0	0	1	0	0
8	0	0	0	1	0
9	0	0	0	0	1
10	10	0	0	0	0
11	0	10	0	0	0
12	0	0	10	0	0

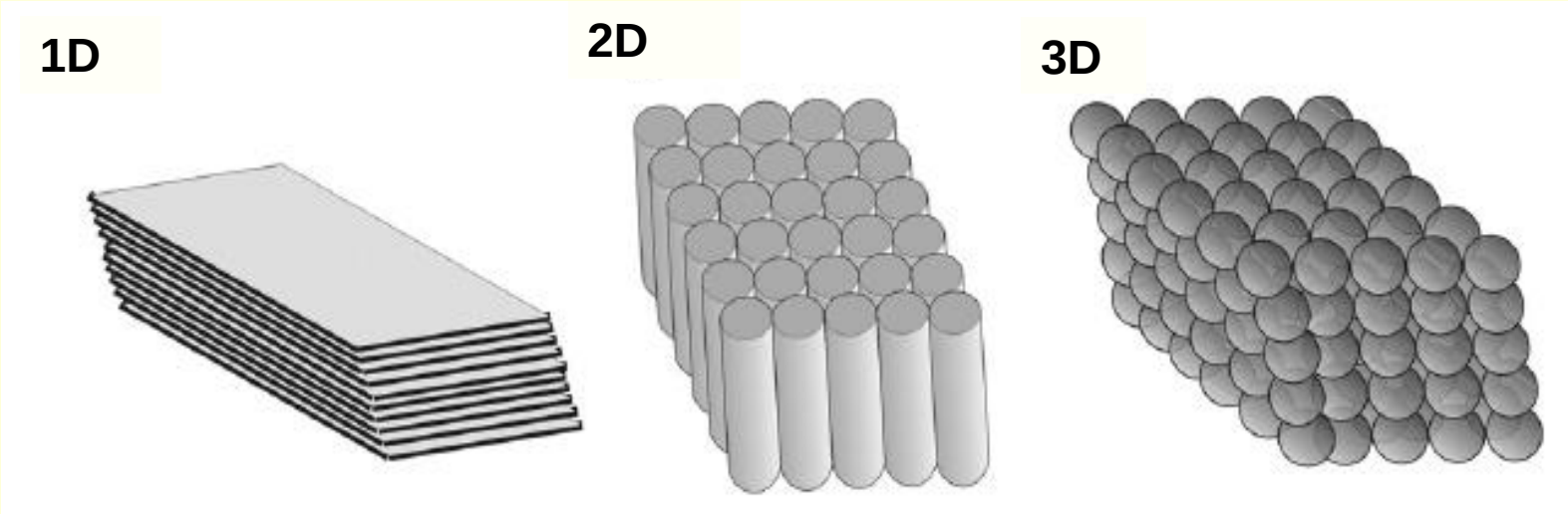
Fluo-Zin1- Zn; BTC-5N - Ca/Zn;
Calcein- Ca; Lucifer Yellow – Cu

Phen Green-Cu; Newport Green-Ni;
OG BAPT4-5N (OG 5N)-Ca; Fluo-5N-Ca

Využito pro určení selektivity ve vícesložkových analytech

T. Mayr et al., *Anal. Chem.* 75 (2003) 4389

Fotonické krystaly (PC)

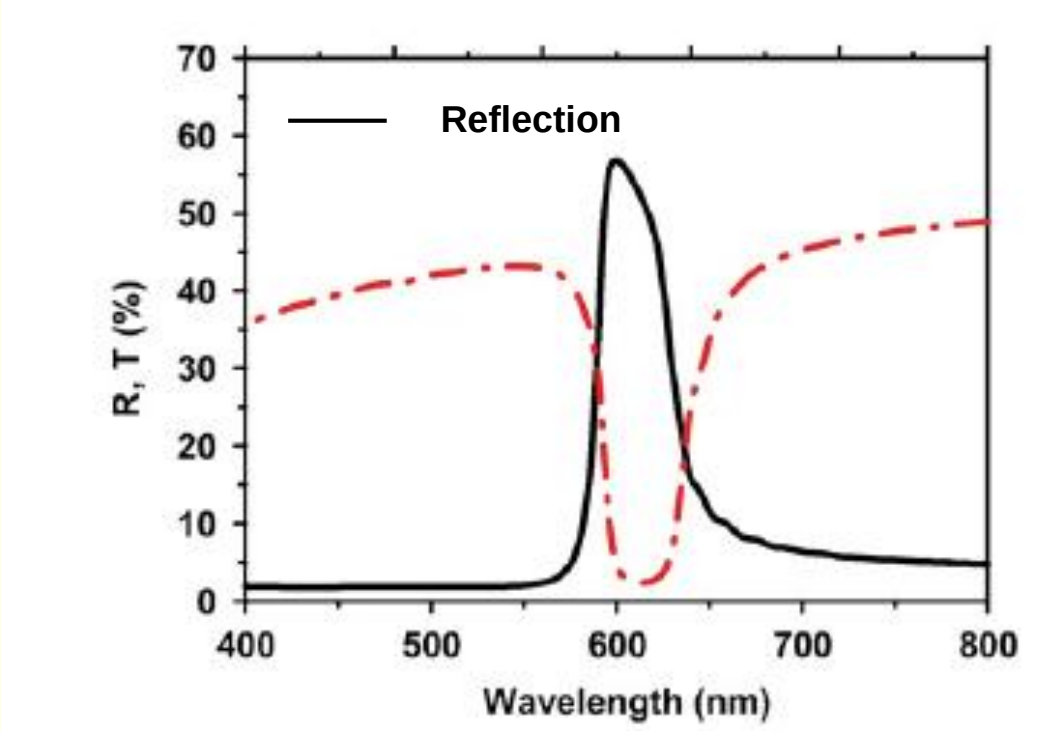


PC=struktury u nichž se dielektrická konstanta (index lomu) periodicky mění v jednom (1D) až třech (3D) směrech. Světlo dopadající na strukturu se odráží od každé hranice a odražené vlny <u>při vhodných podmínkách</u> spolu interferují a nejsou vedeny strukturou

$$m\lambda = 2n_{eff}d$$

Fotonický zakázaný pás

Fotonické krystaly 3D



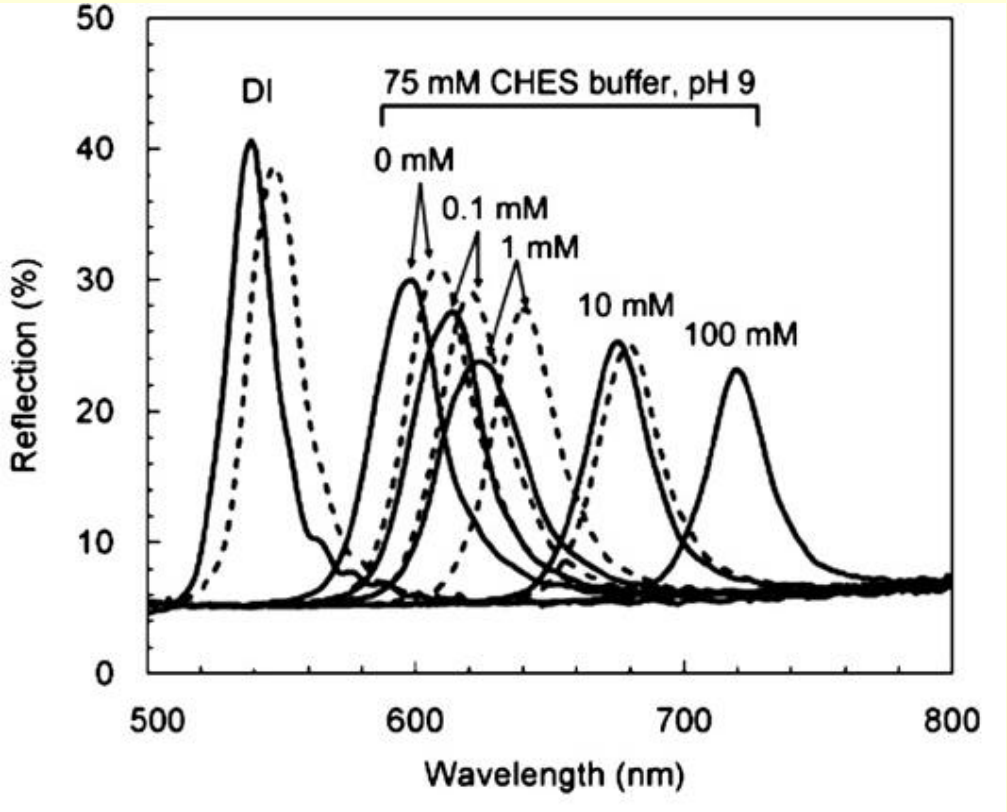
Polystyrenové kuličky 280 nm samoorganizující se v koloidní suspenzi

Poloha transmisního dipu závisí na indexu lomu v porech

R.V. Nair, R. Vijaya, Progress in Quantum Electronics 34 (2010) 89–134

Fotonické krystaly - senzory

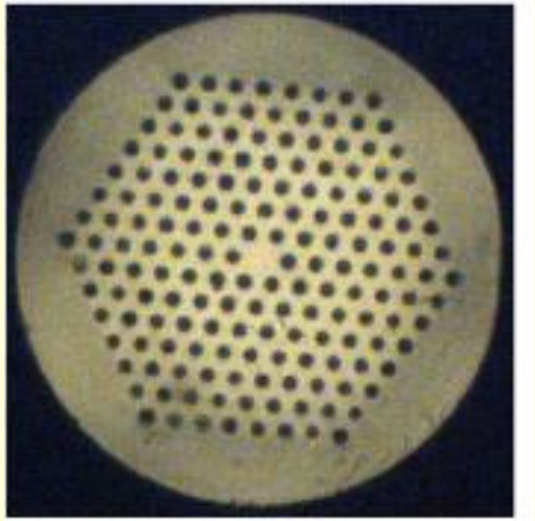
Detekce glukosy na 3D krystalech připravených kopolimerizací 3-acrylamidophenylboronic acid (APBA) a2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) v porech mezi polystyrenovými kuličkami. Měření reflexe v důsledku <u>změn vzdálenosti v mřížce</u>

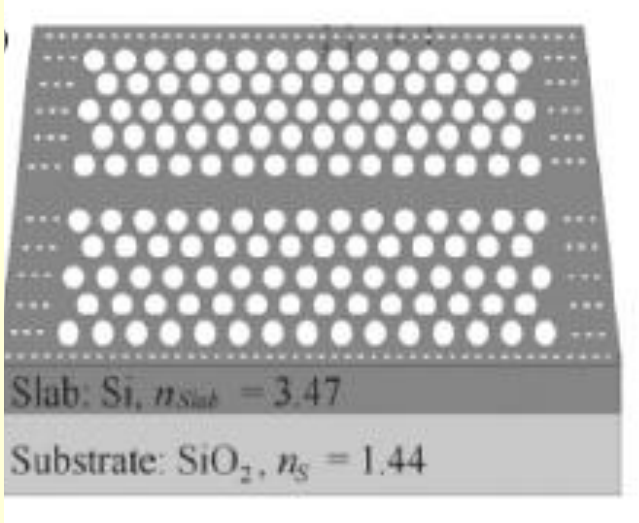


Posun reflexního pásu od modré do červené

R.V. Nair, R. Vijaya : Progress in Quantum Electronics 34 (2010) 89–134

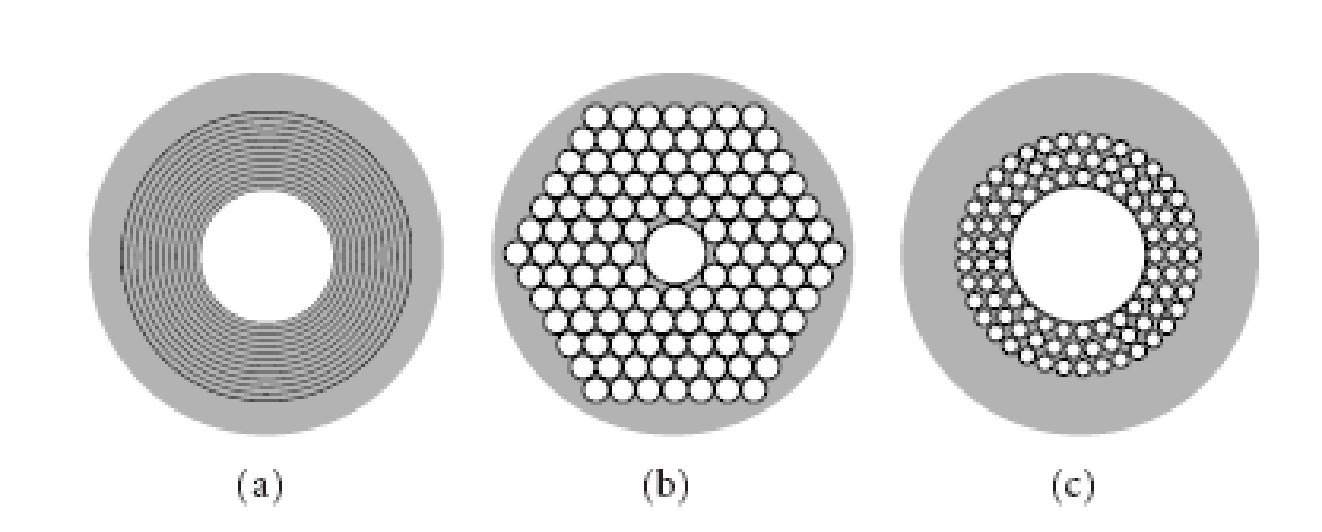
Fotonické vlnovody se vzduchovými děrami v plášti





Vedou světlo v důsledku <u>úplného odrazu světla na plášti s nižším indexem lomu</u> (mikrostrukturní vlákna) + <u>Braggovského odrazu</u> na periodické struktuře. Pro druhý způsob se do jádra zavádí *porucha ve struktuře.* Ta způsobí narušení zakázaného pásu

Fotonická vlákna s poruchou



Centrální porucha struktury vytvoří transmisi v oblasti fotonického zakázaného pásu, která je citlivá na změnu optických vlastnosti v poruše (kavita, vzduchová díra). Toho se využije v senzorech

Nové směry - Materiály

1)Nanomateriály

Kvantové tečky (**InP@ZnSe)**

Zlaté nanočástice

Uhlík 70, uhlíkové nanotrubice, grafeny

W. Yang et al.; *Angew. Chem.* 49(12) (2010), 2115-2133.

Nové směry - Materiály

1) „Ekologické „Green" materiály

Vodorozpustné barevné spreje pro současnou detekci teploty a tlaku na letadlech nebo automobilech

L. H. Fischer, …., O. S. Wolfbeis, *Analyst* 135 (2010), 1224-1229
DOI: 10.1039/B927255K

2) Biomateriály

Polymerní membrány např. bource morušového mající vysokou biokompatibilitu

3) Kombinatorické metody pro hledání senzorových materiálů

***Combinatorial Methods for Chemical and Biological Sensors.* R. A. Potyrailo, V. M. Mirsky (eds.), Springer, 2009**

Nové směry - Optoelektronika

1) Integrované senzory

Všechny komponenty senzoru integrované v jedné jednotce. Často využívají elektricky vodivé polymery jako je polypyrrole, polythiophenes

R. Shinar and J. Shinar; DOI: 10.1117/2.1200602.0121

2) Optická vlákna

Komerčně dostupný systém pro detekci kyslíku využívající luminiscenční doby života

Vláknově-optické multiplexy (pole)

F. J. Steemers et al.; *Nature Biotechnology* (2000) 18: 91 – 94 DOI:10.1038/72006

Možné rozšíření na imunosensory.

T.M. Blicharz et al., *Anal Chem.* (2009) 81: 2106–2114.DOI: 10.1021/ac802181j.

Nové směry-spektroskopie

1) Chemická fotografie

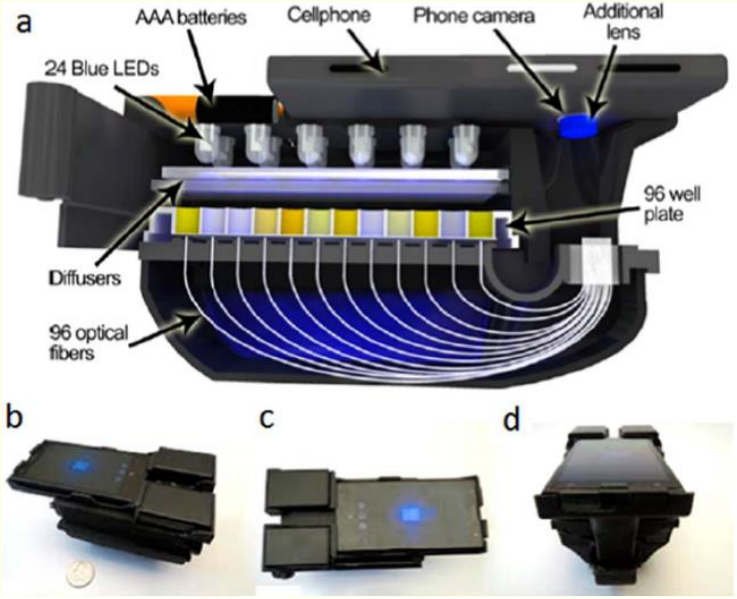
Digitální kamery mají 3 kanály : červený, zelený, modrý (RGB) – 3 spektrometry

2) Vícenásobná detekce – multiplexy, pole

M. I. J. Stich et al.; *Chem. Soc. Rev.* 39, 3102 (2010)

3) Senzory využívající mobilní telefony

D. Quesada-Gonzales et al., Biosens. Biolectr. 92, 549 (2017)



Nové směry - aplikace

1) Senzor glukosy pro umělou slinivku
2) Detekce v buňkách
3) Optický nos a jazyk,
4) Kombinatorické techniky hledání nových senzorových materiálů
4) Nové metody zpracování signálů; „Artificial Neural Networks; Principal Component Analysis“
5) Miniaturizace & Mikrofluidika

Příklady optických senzorů pro farmacii

-Sledování tvrzení laminátů (optické vlákno – změna RI)

-Detekce rozpouštědel ve vodě – chlorované uhlovodíky (FTIR, AgIBr vlákna. Střední IČ oblast)

-Homogenita prášků (spektrální posun při suchém míšení)

-Analýza proteinů a enzymů (FTIR, AgIBr vlákna)

-Kontrola kvality přípravy tablet (měření NIR na tabletách)

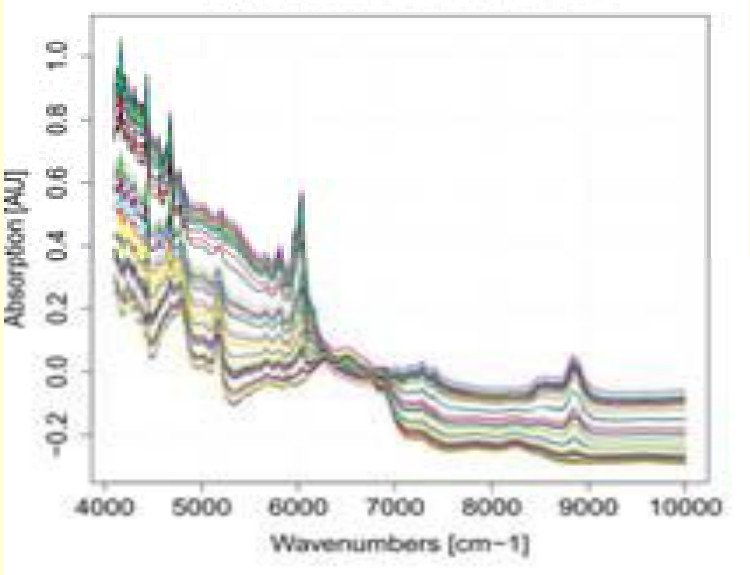
-Osobní dosimetr benzenu (optické vlákno s detekční membránou)

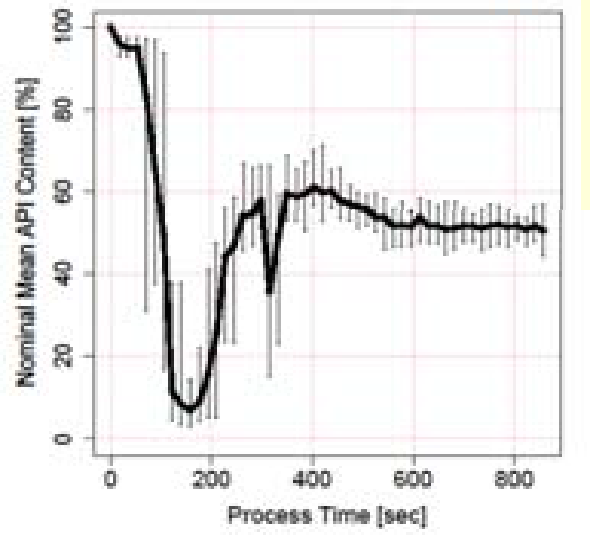
- Sledování mikrobiologických fermentorů (kyslík, CO_2)

E.D.S. Kerslake et al., Adv. Drug Delivery Rev. 21 (1996) 205-213

D. Meadows, Adv. Drug Delivery Rev. 21 (1996) 179-189

Suché míšení





Acetylsalicylova kyselina + monohydrat laktozy
Reflexní spektra v rozmezí 1-2,5 µm

C. Voura et. al., AIChe 2009 Annual Meeting, Nov. 9-13, Nashville , TN

Příklady detekčních prvků pro farmacii

Analyt	Metoda	Uspořádání/odkaz
Propranol (vysoký tlak)	Fluorescence adsorbovaného analytu (Amberlite XAD-7), excitace 300 nm, emise 338 nm	Spektrometr, průtočná kyveta/[1]
Aspirin	pH fluorescenční indikátor s lipofylním nosičem salicilátů v PVC folii, excitace 550 nm, emise 640 nm	Spektrometr, folie/[2]
Digoxin, Oxytocin aj.	Immunosensory	Afinitní biosensory, fluorescenční biosenzory/[3]

[1] J.F. Fernandez-Sanchez, J. Pharm. Biomed. Analysis, 31 (2003) 859-865
[2] H. He et al., Fresenius J. Anal. Chem. 343 (1992) 313-318
[3] I.A. Darwish, J. Biomed. Sci. 2 (2006) 217-235

Příklady komerčních senzorů

Senzor	Výrobce	www
chemický		
pH	GeoCenters	
pH, O_2	Presens	presens.de
CO_2	Yellow Springs	ysi.com
pH, O_2	OceanOptics	oceanoptics.com
O_2	SMSI	s4ms.com
O_2	Photosense	photosense.com
medicinální		
pH, CO_2, O_2	CDI (3M)	terumo.com
Žluč	Cecchi	medtronic.com
O_2	Abbott	abbott.com
O_2	Optex Biomedical, Inc.	Alacrastore.com

ČR: SAFIBRA s.r.o – Říčany u Prahy, SQS a.s. – Nová Paka.

Optické senzory - souhrn

- Nabízejí možnosti detekce řady molekul s využitím optických vlastností v senzorech přímých a nepřímých
- Umožňují miniaturizovanou detekci a detekci v nepřístupných místech
- Lze u nich řídit citlivost a selektivitu detekce v širokém rozsahu
- Nepotřebují elektrické vlastnosti molekul