



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ELECTRÓNICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA, OPCIÓN
INSTRUMENTACIÓN ELECTRÓNICA

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRO EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA

DISEÑO DE UN SENSOR FOTÓNICO BIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE LA HORMONA hCG

Presenta:

David Saúl Villegas Cantoran*

Asesores:

Dra. Luz del Carmen Gómez Pavón

Dra. Carolina Rickenstorff Parrao

Becario CONACYT*

Puebla, Pue 12 de Enero del 2021.

**Proyecto apoyado por el FOINS-CONACYT a través de Fronteras de la Ciencia No. 2319

Agradecimientos

Quiero agradecer a familia, en especial a mi madre, ya que ella ha sido parte en la motivación y fortaleza durante estos tiempos tan difíciles para culminar este trabajo.

Con profundo agradecimiento a mis asesoras de tesis la Dra. Luz del Carmen Gómez Pavón y a la Dra. Carolina Rickenstorff Parrao, ya que las dos han sido mi guía durante todos estos años de trabajo, por la confianza que depositaron en mí, por compartir tantos conocimientos conmigo, y por el inmenso apoyo.

Quiero agradecer al comité revisor el Dr. Emilio Miguel Soto García, el Dr. J. Fermi Guerrero Castellanos y al Dr. Victor Rodolfo Gonzalez Diaz, por su tiempo y dedicación en la revisión del documento, así como las observaciones brindadas para enriquecer el documento de tesis.

Especialmente agradezco a la Maestría en Ingeniería Electrónica opción en Instrumentación Electrónica de la Facultad de Ciencias de la Electrónica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), así como al Cuerpo Académico y personal administrativo por haberme aceptado y apoyado en la realización y culminación de este trabajo de tesis.

Resumen

El uso de biosensores se ha incrementado en los últimos años gracias a que permiten detectar un amplio espectro de elementos biológicos en diferentes campos de la vida como en el diagnóstico clínico, aplicaciones médicas, control de calidad de comida, agricultura, industria y la lucha contra el bioterrorismo. En particular, un elemento biológico que ha atraído la mayor atención es la hormona Gonadotropina coriónica humana (hCG) debido a que se encuentra en el ser humano, además sirve como marcador de embarazo, marcador tumoral el cual podría ser apto para detectar diferentes tipos de cáncer como el testicular en hombres y el ovárico en mujeres. Además, se ha descubierto en concentraciones anormales de hCG durante el embarazo puede desencadenar un aborto prematuro.

Debido a lo anterior, para que sea posible detectar el elemento biológico de interés, los biosensores de fibra óptica taper (TOF) ofrecen un gran número de ventajas con respecto a los otros tipos de biosensores como lo es su ultra sensibilidad al detectar el elemento de interés, su tamaño compacto y ligero que lo hace factible para su instalación en cualquier lugar, su inmunidad a la interferencia electromagnética y finalmente permite el monitoreo de la respuesta en tiempo real.

Además, una forma de incrementar la sensibilidad en el biosensor está en la de emplear nanomateriales como nanopartículas o nanotubos de oro o de plata. De igual forma, los nanomateriales facilitan una rápida respuesta del biosensor y en el caso particular del oro y la plata son biocompatibles.

En consecuencia, se diseñó un biosensor de fibra óptica taper para detectar la hormona (hCG) en diferentes semanas de embarazo. Para el inicio de este trabajo, se fabricó la fibra óptica taper mediante un sistema mecatrónico el cual emplea el método flame-brushing. Enseguida se realizó la deposición de nanotubos de oro en la fibra óptica taper para saber el rango de potencia óptica de salida óptima para depositar hormona hCG.

Después de calibrado el biosensor, se realizó la deposición de hormona hCG de diferentes semanas de embarazo sobre la fibra óptica taper previamente funcionalizada con nanotubos de oro. Finalmente se hace un análisis de las múltiples respuestas de potencia óptica de salida de cada deposición de hormona hCG a diferentes semanas de embarazo cuya finalidad es compararlas entre si y obtener una conclusión.

Índice general

Lista de figuras	II
1. Introducción	1
1.1. Objetivos	4
1.2. Justificación	5
1.3. Estructura de la tesis	6
2. Conceptos	7
2.1. Sensores	7
2.2. Tipos de sensores	9
2.3. Sensores biológicos	12
2.4. Biosensores de fibra óptica	15
2.5. Fibra óptica taper	21
2.6. Características de la hormona hCG	24
3. Desarrollo Experimental	27
3.1. Fabricación de fibras ópticas taper	27
3.2. Nanotubos y hormona hCG	29
3.2.1. Nanotubos de oro	29
3.2.2. Hormona hCG	30
3.3. Deposición de nanotubos y hormona en la fibra óptica taper	33
3.3.1. Deposición de hormona hCG y caracterización óptica	39
3.3.2. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso No Embarazada (<2.5 IU/ml)	40
3.3.3. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 1-2 semanas de embarazo (2.5 IU/ml)	42
3.3.4. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 2-3 semanas de embarazo (4.7 IU/ml)	43
3.3.5. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 3+ semanas de embarazo (8.29 IU/ml)	44
3.3.6. Análisis comparativo	45

Índice de figuras

2.1. Partes principales de un sensor	8
2.2. Sistema completo de un sensor	8
2.3. Sensor químico	9
2.4. Sensor Activo [29].	10
2.5. Sensor Pasivo [29].	10
2.6. Clasificación de los sensores [30]	11
2.7. Clasificación de los un biosensor [35].	14
2.8. Componentes de un biosensor	15
2.9. Secciones de una fibra óptica	16
2.10. Formación de angulo de incidencia [38].	17
2.11. Formación de angulo de critico [37].	18
2.12. Propagación de la luz en un mismo angulo por toda la fibra [39].	18
2.13. Propagación de la luz por toda la fibra [40].	19
2.14. Secciones de un biosensor de fibra óptica	19
2.15. Partes de una fibra óptica taper [42].	21
2.16. Campo evanescente en tres fibras [44].	22
2.17. Gráfica representativa del numero V versus fracción de energía saliendo del re- vestimiento [45].	23
2.18. Hormona hCG [47]	24
2.19. Variación de concentración de hormona hCG durante el embarazo [52].	25
3.1. Sistema mecatrónico de fabricación de fibras ópticas taper (TOF) [44].	27
3.2. Microscopio Óptico metalografico vertical marca VELAB modelo VE-146 [68].	28
3.3. Imagen de microscopio óptico de TOFs fabricadas, con un diámetro de: a) $2\mu\text{m}$, b) $2.5\mu\text{m}$ y c) $3\mu\text{m}$	29
3.4. a)Frasco con nanotubos de oro empleadas en los experimentos, b)Estructura de nanotubos de oro con diámetro de 10 nm.[66]	30
3.5. Descripción gráfica de la preparación de los nanotubos de oro.	30
3.6. Hormona hCG empleada en los experimentos	31
3.7. En a) se muestra el espectro de raman de la hormona hCG en forma de polvo sobre un substrato de Si mientras que en b) se presenta el espectro de raman de la hormona hCG y nanotubos de oro depositados sobre una fibra optica taper (TOF).	31
3.8. Lecturas mostradas	32
3.9. Deposito de la solución en la punta de una prueba de embarazo	33
3.10. Configuración experimental de hCG depositada en la fibra óptica cónica funcio- nalizada	34

3.11. Proceso de deposición de la gota	34
3.12. Imágenes SEM de la TOF funcionalizada con Au-NTs a diferencias potencias de transmisión de potencia óptica	35
3.13. Histograma de elementos químicos y espectro EDSX	36
3.14. Valores de potencia óptica de deposición de Au-NTs en la TOF.	37
3.15. Respuesta de la potencia óptica en el proceso de deposición de Au-NTs para diferentes potencias de entrada y de salida.	38
3.16. Respuesta de potencia óptica de la interacción de la hCG con la TOF.	40
3.17. Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso No Embarazada (<2.5 IU/ml).	41
3.18. Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso No Embarazada (<2.5 IU/ml).	41
3.19. Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 1-2 semanas de embarazo; [2.5 IU/ml].	42
3.20. Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 1-2 semanas de embarazo; [2.5 IU/ml].	43
3.21. Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 2-3 semanas de embarazo; [4.7 IU/ml].	43
3.22. Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 2-3 semanas de embarazo; [4.7 IU/ml].	44
3.23. Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 3+ semanas de embarazo; [8.29 IU/ml].	44
3.24. Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 3+ semanas de embarazo; [8.29 IU/ml].	45
3.25. Tabla representativa de todos lo valores de bajada de cada una de las diferentes concentraciones de hormona.	45

Capítulo 1

Introducción

Un biosensor se define como un dispositivo que usa reacciones bioquímicas específicas empleando un elemento de reconocimiento biológico como enzimas aisladas, antígenos, tejidos, orgánulos o células completas con el fin de detectar compuestos químicos o biológicos produciendo respuestas eléctricas, químicas u ópticas (bioluminiscencia) [1]. La definición de un sensor biológico se ha ampliado a lo largo del tiempo para incluir sensores que no utilizan un mecanismo biológico para la detección [2]. Ahora es comúnmente aceptado que el sensor biológico sea aquel que detecte eventos de naturaleza biológica con independencia del mecanismo empleado [3].

El biosensor data del año de 1916 cuando Griffin y Nelson realizaron la primera inmovilización de enzimas empleando un compuesto llamado invertasa en un sólido compuesto de aluminio y carbón [4]. Seis años más tarde en 1922 se realizó el primer medidor de pH portable a base de 2 electrodos de vidrio por W.S. Hughes y con base en este mismo prototipo se construiría un medidor de pH para sangre, aplicado a análisis clínicos en 1925 [5]. En el año de 1962, L. Clark desarrolló un sensor electroquímico de glucosa a base de glucosa oxidasa. Este experimento es la base para la construcción de biosensores de glucosa de sangre en la actualidad.

En el año de 1965 T. Hirschfeld introdujo por primera vez el concepto de campo evanescente en inmunoensayos empleando una barra de vidrio. El campo evanescente se utilizó para activar sustancias fluorescentes unidas a ciertos anticuerpos, los cuales se encontraban adheridos a la superficie de la barra [6]. Diez años más tarde, M.N. Kronick y W.A Little de la Universidad de Stanford presentaron un trabajo que consistía en detectar un anticuerpo con fluorescencia utilizando campo evanescente presente en una fibra óptica y funcionalizada con anticuerpos IgG [7].

En el año de 1979 se publicó un artículo llamado “Affinity Sensors for Individual Metabolites” por J. Schultz y G. Sims, en el cual demostraban la construcción de biosensores basados en detección óptica. Además, se describe la elaboración de un prototipo basado en una fibra óptica, una célula fotoeléctrica y un filtro, cuyo resultado fue que la concentración de glucosa junto con un inmovilizador llamado Concanavalina A (Con-A) aumenta la fluorescencia [8].

Para el mes de mayo de 1982 los doctores Schultz, Mansour y Goldstein de la Universidad de Michigan en Estados Unidos, publicaron en la Asociación Americana de Diabetes un artículo el cual describía la forma de detectar glucosa por medios ópticos. Se usó una proteína llamada

Concanavalina A como receptor y el compuesto dextrano FITC que contiene altos niveles de glucosa en forma fluorescente. Enseguida se colocó Concanavalina A, FITC y la fibra óptica que se utilizó como medio de detección. Utilizando un láser de argón de 577 nm. Con este trabajo se obtuvo un sensor capaz de detectar glucosa con concentraciones de 4000 mol/L [9].

Las fibras ópticas que han atraído mayor atención son las micro-nano fibras ópticas o fibras ópticas taper debido a que han sido empleadas en la detección de diferentes marcadores biológicos, como lo son proteínas, virus y bacterias que ayudan a identificar rápidamente ciertos padecimientos. Los sensores basados en fibra óptica taper, tienen ventajas sobre los sensores electrónicos como su capacidad de transmitir información de forma remota, su inmunidad a la radiación electromagnética, su bajo consumo de energía y su alta sensibilidad al medio [10].

En 1976 se publicó un artículo donde se detalló la fabricación de dos fibras ópticas taper por los japoneses Takeshi Ozeki y Kawasaki del Centro de Investigación de Comunicaciones de Ottawa Canadá. En este trabajo se documentó que la primera fibra óptica fue adelgazada por medio de una técnica llamada fresado químico. En esta técnica se removió recubrimiento de la fibra óptica mediante inmersión en ácido fluorhídrico. Por lo tanto el diámetro que llegó a alcanzar en la parte adelgazada fueron $20\mu\text{m}$. La segunda fibra se adelgazó por calentamiento y tracción utilizando un soplete de propano [11].

En los últimos 15 años se elevó el número de trabajos que hablan del uso del campo evanescente para el diseño de sensores de fibra óptica taper en múltiples aplicaciones. En muchas ocasiones se emplean nano partículas como coadyuvante en la detección.

Por ejemplo, en el año 2015 los doctores Haifeng Liu y Yinping Miao elaboraron un sensor para detectar humedad utilizando una fibra óptica taper. Esta fibra óptica taper se fabricó por la técnica de tracción y con una empalmadora de fusión. La fibra óptica fue funcionalizada con una mezcla de agua con nano partículas de óxido de silicio. Gracias a este recubrimiento la zona más delgada de la fibra pudo registrar los cambios en la humedad del ambiente [12].

En ese mismo año se presentó un trabajo relacionado a biosensores con fibra óptica taper por J. Miller, A. Castaneda y K. Ho Lee de la Universidad de California en Estados Unidos. Se empleó gas butano junto con estiramiento de la fibra en ambos extremos para su adelgazamiento, con lo cual su diámetro fue de $5\mu\text{m}$. Se reportaron el empleo de una fibra óptica taper para detectar proteínas usando la reacción entre el anticuerpo G y el antígeno IgG que se encuentra en la sangre del ser humano. Para mejorar su sensibilidad se aplicó Ácido fluorhídrico y se incidió en la fibra luz infrarroja entre los 1460nm y los 1600 nm. Con estas pruebas el sensor fue altamente sensible y robusto al detectar cualquier proteína con concentraciones entre 50 nanogramos/mL a 50 microgramos/mL [13].

Más tarde en 2017 los investigadores de la Universidad de Guangzhou en China Donghui He y Yang Hu llevaron a cabo la detección de luz ultravioleta de 405 nm utilizando una fibra óptica taper. La fibra óptica taper fue adelgazada por la técnica flame-brushing hasta $10\mu\text{m}$. Para aumentar la sensibilidad de la fibra óptica taper se usaron partículas de óxido de titanio, ya que al interactuar estas nano-partículas con el campo evanescente de la parte adelgazada hace más funcional la detección de luz ultravioleta. Los resultados obtenidos en esta prueba fue que el cambio de la potencia óptica transmitida por la fibra óptica taper con nano partículas

de óxido de titanio es de aproximadamente 3 dB cuando la potencia de la luz violeta aumenta de 0 mW a 11 mW, usando una longitud de onda de 1520 nm [14]

En 2019 se publicó un artículo por la Universidad de Kebangsaan en Malasia que describe la fabricación de un sensor capaz de detectar dióxido de carbono diluido en una fibra óptica taper. Esta fibra fue fabricada por un aparato totalmente automatizado llamado Vytran GPX-3400 el cual contiene un filamento con un soplete el cual va adelgazando la fibra simultáneamente. La zona adelgazada fue cubierta con nano- partículas en forma de arroz llamadas nanorice de óxido de zinc junto con dióxido de carbono diluido para dar buena sensibilidad a la misma. El campo evanescente detectó el dióxido de carbono y se registró la respuesta del sensor [15].

Aún no existen trabajos que utilicen fibras ópticas taper para la detección de la hormona hCG. Pero se han realizado trabajos similares para detectar otro tipo de hormonas como por ejemplo en el año 2012 S. Rajalingam , M. Vinoth y A. Zachariah de la universidad de VIT de la India realizaron un biosensor de fibra óptica taper para detectar testosterona. El adelgazamiento de la fibra se realizó por el método de adelgazamiento químico utilizando ácido fluorhídrico cuyo diámetro al aplicar esta técnica paso de los $125\mu\text{m}$ a los $61\mu\text{m}$. Para la detección se empleó campo evanescente presente en la zona adelgazada de la fibra y un polímero llamado Benzonitrilo el cual sirvió para fijar el receptor (fragmentos de testosterona). Como resultados el índice de refracción cambiaba modificando la intensidad óptica de salida de la fibra [16].

Enseguida se nombran otros métodos los cuales han detectado la hormona HCG, pero sin utilizar como transductor una fibra óptica taper. En el año 2012 los doctores Xiang Yan y Zhongbing Huang realizaron la detección de la hormona hCG a base de un arreglo de matrices de óxido de zinc (ZnO), que presenta múltiples ventajas como su fotoluminiscencia y su gran estabilidad ambiental y eléctrica. Por medio de un compuesto llamado ácido mercaptosuccínico que sirvió para hacer reaccionar la hormona y el arreglo de óxido de zinc, se midió luminiscencia con un rango de concentración entre los 2–20 ng/mL [17] .

Cuatro años más tarde en 2016 los investigadores Ning Xia, Xing Wang y Lin Liu realizaron un trabajo titulado “A Graphene Oxide-Based Fluorescent Method for the detection of Human Chorionic Gonadotropin” en el cual reportan la elaboración de un sensor para detectar la hormona HCG en muestras de orina, apoyándose con una plataforma de Óxido de grafito. Se observó que al unir óxido de grafito, de isotiocianato de fluoresceína y la hormona HCG se produjo una buena detección de la misma. Además, que al ir aumentando la concentración de HCG en un rango entre 0.05–20 IU/ml aumentaba la señal de fluorescencia [18]

En el año 2017 Kamrul Islam , Ahmed Suhail y Genhua Pan de la Universidad de Plymouth en el Reino Unido utilizaron un transistor de grafeno para detectar HCG, ya que el grafeno tiene una extrema sensibilidad al medio ambiente y por ser altamente conductor de electrones. Con la finalidad de detectar esta hormona se fabricó el transistor de grafeno sobre una película de SiO₂/Si con terminales de oro y cromo para obtener finalmente un transistor FET. Inmediatamente se emplearon enlazadores no covalentes llamados ácido 1-pirenobutírico y enseguida se colocó la hormona HCG para iniciar su detección. Al final se demostró que al combinar estos elementos, surgió detección a concentraciones de 1 pg/mL de HCG y con una

muy alta sensibilidad [19].

En el año 2018 se desarrolló un dispositivo capaz de detectar hormona HCG con interacción de antígenos-anticuerpos con ayuda de tiras LFA(análisis de flujo lateral) y un transductor electroquímico. Estas tiras se emplean en las pruebas de embarazo. Los investigadores Eyad M. Hamad y Ghadeer Hawamdeh usaron pruebas de embarazo basadas en nano partículas de oro. Inmediatamente se utilizaron dos electrodos de cobre unidos a las tiras. Sobre las tiras de LFA se vierte la hormona HCG junto con NaCl como solución. A continuación se toman los valores de los voltajes por medio de los electrodos conectados a las tiras y así se obtiene análisis de resultados por una trama de nyquist. Se demostró finalmente que a mayor concentración de HCG aumenta la resistividad al igual que su sensibilidad [20].

Con base a lo anterior, se concluye que la mayoría de los trabajos más recientes para detección de hCG no emplean fibras ópticas taper y dependen fuertemente de reacciones inmunológicas para trabajar. Por lo tanto surge un gran interés en desarrollar un biosensor a base de una fibra óptica taper y el empleo de campo evanescente.

1.1. Objetivos

Objetivo General

Estudio experimental de la interacción de nanopartículas y el campo evanescente de una fibra óptica taper (TOF) en presencia de la hormona hCG.

Objetivos Específicos

1. Calcular teóricamente el campo evanescente en una fibra óptica taper (TOF) variando su diámetro y el índice de refracción circundante.
2. Fabricar fibras ópticas taper con diámetros entre $1\ \mu\text{m}$ y $5\ \mu\text{m}$ utilizando la técnica flame-brushing.
3. Analizar la morfología de la fibra óptica taper antes y después de realizar depósitos de nanopartículas y hormona HGC, empleando microscopio electrónico y un microscopio electrónico de barrido (SEM).
4. Analizar los cambios de intensidad que presenta la fibra óptica taper (TOF), las concentraciones de nanopartículas.
5. Analizar las variaciones de intensidad que presenta la fibra óptica taper (TOF), variando el radio de la fibra óptica desde $1\ \mu\text{m}$ hasta los $5\ \mu\text{m}$.
6. Analizar las variaciones de intensidad que presenta la fibra óptica taper (TOF), variando las nanopartículas entre el oro y la plata.
7. Determinar la relación entre la potencia medida con respecto a la longitud de onda, potencia del láser y tiempo de deposición.

1.2. Justificación

Durante los últimos 40 años la hormona ha sido de gran interés para la comunidad científica dado que esta hormona se encuentra en la sangre y en orina del ser humano. Dicha hormona contribuye al desarrollo del cerebro en la etapa embrionaria y también es esencial para la detección de diferentes tipos de cáncer [21] Físicos e ingenieros se han dado a la tarea de investigar más acerca sobre la detección de diferentes tipos de elementos biológicos con apoyo de la instrumentación electrónica [22][23]. La instrumentación electrónica está destinada al diseño de dispositivos electrónicos para la medición, visualización ,generación y conversión de señales eléctricas, así como a dispositivos que convierten una señal no eléctrica a una señal eléctrica al cual denominamos transductor.

La comunidad científica ha desarrollado diferentes sensores para la detección de elementos biológicos como la enzima, el plasma o los parásitos y en consecuencia estas investigaciones han sido reportadas con resultados positivos en diferentes páginas de conocimiento científico [2]. Los sensores fotónicos basados en una fibra óptica taper, han sido muy atractivos dado que presentan múltiples ventajas en comparación con otras técnicas de diseño de biosensores. Estas ventajas son [13][24]:

1. Inmunidad a la radiación electromagnética.
2. Necesitan de poca energía para poder funcionar y son adecuadas para detecciones remotas.
3. La capacidad de transmitir a largas distancias.
4. Presentan amplios campos evanescentes que la dotan de alta sensibilidad al medio.

Por esta razón, se adelgazará una fibra óptica estándar SMF-28, para detectar los cambios que presente la misma al relacionarse las nanopartículas con la hormona HGC. Dichos experimentos se llevarán a cabo utilizando luz infrarroja de 980 nm y 1550 nm, produciendo en la fibra un campo evanescente que interactuará con las nano partículas y la hormona en disolución [10][25]. En este caso, se espera que tanto el campo evanescente junto con las nano partículas de oro o plata contribuyan a detectar cambios en el índice de refracción producido por la hormona HGC.

Dichos cambios serán medidos, empleando fotodetectores, microscopia electrónica de barrido y microscopio óptico el cual nos permitiría visualizar la estructura de la fibra óptica taper antes y después de hacer la deposición de las nano partículas de oro o plata junto con la hormona HGC.

Con este trabajo se fortalecerán las líneas de investigación en el área de nanóptica y optoelectrónica. Además en el futuro se espera tener lazos de trabajo con el hospital universitario de la BUAP con el fin de que este trabajo puede ser aplicado en la sociedad para detectar enfermedades mortales como lo es el cáncer.

1.3. Estructura de la tesis

En este capítulo se presentaron los trabajos realizados con relación a sensores biológicos y algunos antecedentes de trabajos desarrollados sobre la fabricación de una fibra óptica taper. Enseguida se expusieron los trabajos más recientes de sensores biológicos con fibra óptica taper junto con el empleo de nano partículas, hormona hCG y campo evanescente. Adicionalmente los objetivos generales, objetivos específicos, justificación y finalmente la descripción del trabajo.

En el capítulo 2 se describirán los conceptos más importantes que caracterizan a nuestro trabajo como la definición de sensor, biosensores, biosensores de fibra óptica especialmente los de fibra óptica taper, y finalmente el concepto de hormona hCG.

En relación con el capítulo 3, se presentará la técnica de fabricación de fibras ópticas taper así como el proceso de deposición de NPs y la hormona HCG sobre estas.

En el capítulo 4 se resumen las conclusiones de dichos experimentos.

Capítulo 2

Conceptos

En este capítulo, se presentan los conceptos más relevantes en este trabajo como la definición de sensores y su clasificación. A continuación, se prosigue con la descripción de los sensores biológicos, haciendo énfasis en aquellos hechos de fibras ópticas. Finalmente se incluye una breve descripción de la hormona hCG.

2.1. Sensores

Los sensores son herramientas que ayudan al ser humano a hacer su vida más simple. Por ejemplo, un medidor de glucosa es un claro ejemplo de sensor debido a que detecta los niveles de glucosa en la sangre o un sensor de temperatura que es implementado en los sistemas aire acondicionado en los hogares o automóviles mencionado algunos ejemplos más destacados. En años recientes el empleo de sensores ha ido en aumento debido a que estos han sido implementados en numerosas aplicaciones y en diferentes sectores industriales o médicos cuyo objetivo es medir diferentes magnitudes físicas, químicas o biológicas [26].

Un sensor es un dispositivo que recibe un estímulo externo de entrada y responde con una señal eléctrica de salida. El estímulo puede ser cualquier variable física como lo es la luz, humedad, sonido, movimiento y composiciones químicas las cuales finalmente son convertidas en una señal eléctrica de salida. Esta señal eléctrica de salida se presenta en forma de corriente, carga o voltaje y a veces debe ser amplificada debido a que la señal es muy débil o pequeña [27]. En la Figura 2.1 se muestran las partes que componen a un sensor.

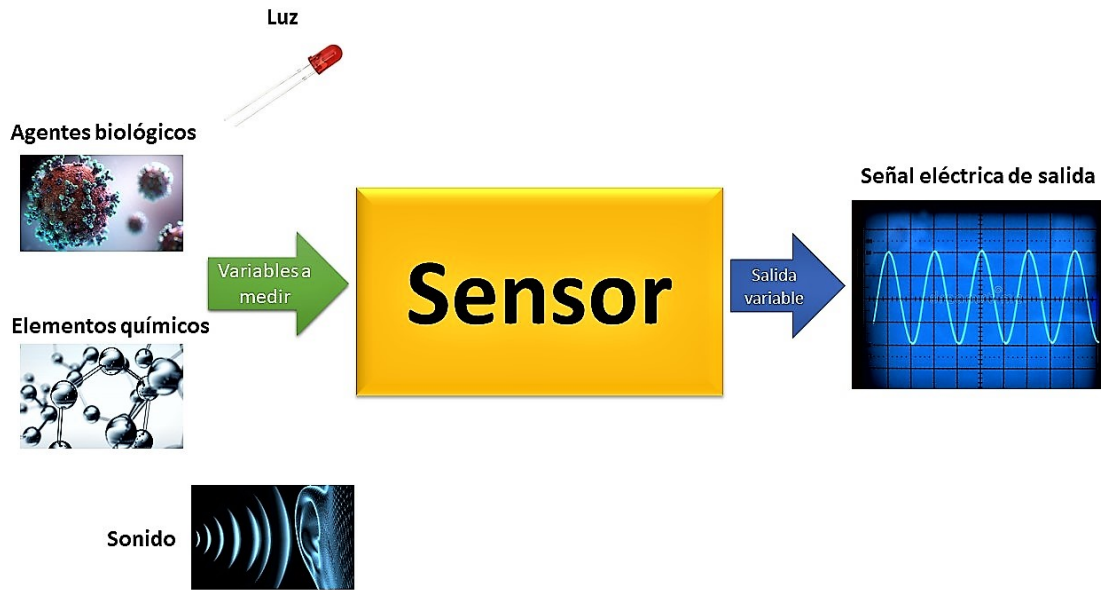


Figura 2.1: Partes principales de un sensor

A su vez cuando la señal de salida es amplificada (comúnmente una señal analógica), es necesario convertir esta señal a digital para que los datos puedan ser medidos. Con un convertidor analógico a digital estos datos son convertidos a datos digitales y así estos pueden ser enviados a un display o a un procesador de datos dentro de una computadora y finalmente ser analizados. En resumen, un sensor es un convertidor de energía y además juega un papel de traductor de un valor no eléctrico a uno eléctrico[27][28]. En la Figura 2.2 se presenta un esquema de un sistema completo de sensor.

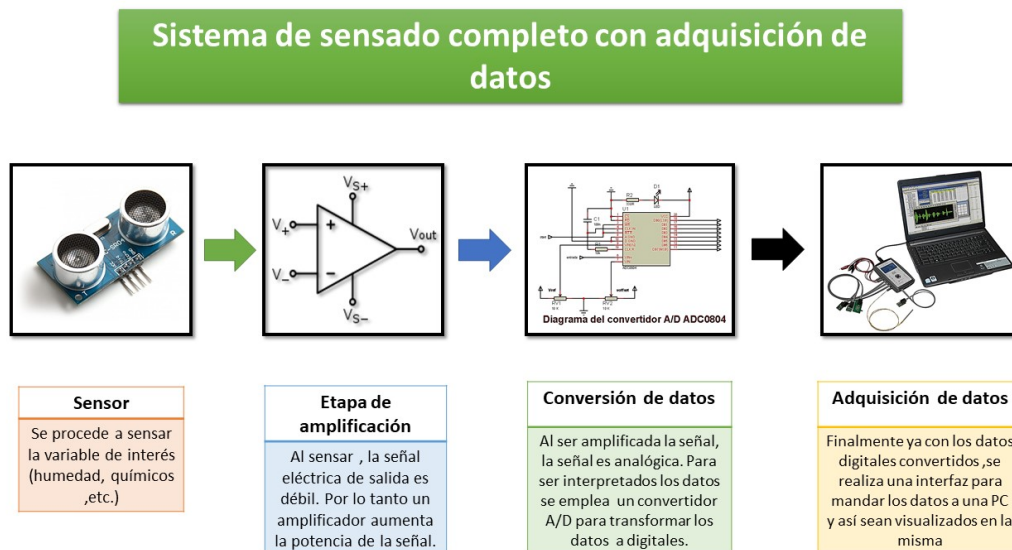


Figura 2.2: Sistema completo de un sensor

Debido a lo anterior, los sensores no deben de ser confundidos con los transductores cuya

función es convertir cualquier tipo de energía o propiedad en otro tipo de energía o propiedad, pero no solamente en una señal eléctrica de salida como lo hace un sensor. La diferencia entre estos es muy ligera, pero hay que señalar que muchos sensores emplean transductores para realizar el sensado de alguna variable física como por ejemplo el sensor químico el cual se compone principalmente de dos partes, la primera parte se compone de un convertidor de energía desde una reacción química a calor y enseguida de calor a una señal eléctrica. En la Figura 2.3 se demuestra como al reunir varios transductores, se puede fabricar un sensor completo [27].

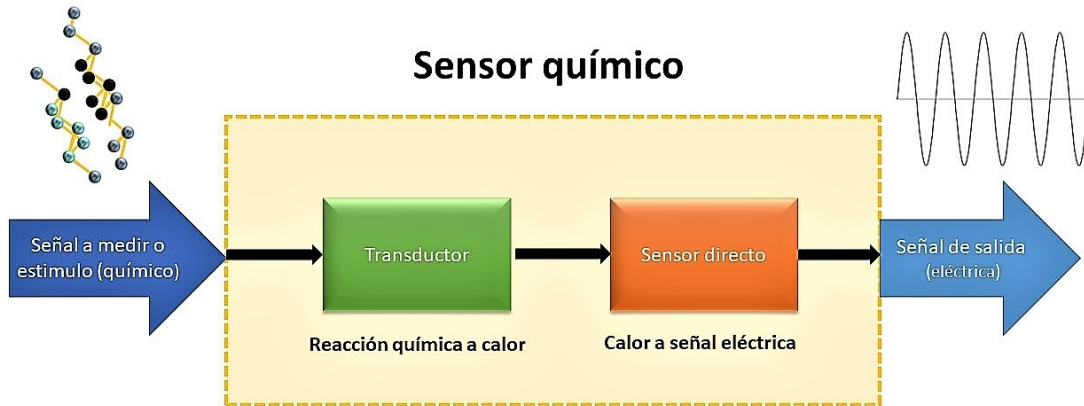


Figura 2.3: Sensor químico

En la siguiente sección se explicará la clasificación de los sensores y las aplicaciones que se les brindan en diferentes aspectos de la vida cotidiana.

2.2. Tipos de sensores

Los sensores pueden ser clasificados dependiendo del medio en el que estén interactuando, el tipo de aplicación que se les asigne y del funcionamiento. Pero principalmente están categorizados de la siguiente manera:

Activos o pasivos:

Un sensor activo es aquel que requiere de una fuente de alimentación externa la cual es llamada señal de excitación. Esta señal es modificada (modulada) por el sensor para producir la señal de salida. A menudo estos sensores también se les denominan sensores paramétricos debido a que la señal de salida depende directamente de los cambios que se registren en la señal de excitación (señal de entrada). Un ejemplo de sensor activo es una galga extensiométrica resistiva ya que para medir la resistencia eléctrica del sensor se debe aplicar corriente eléctrica en sus extremos con una fuente de poder externa. En la Figura 2.4 se muestra un diagrama de como esta conformado un sensor activo [27] [29] [30].

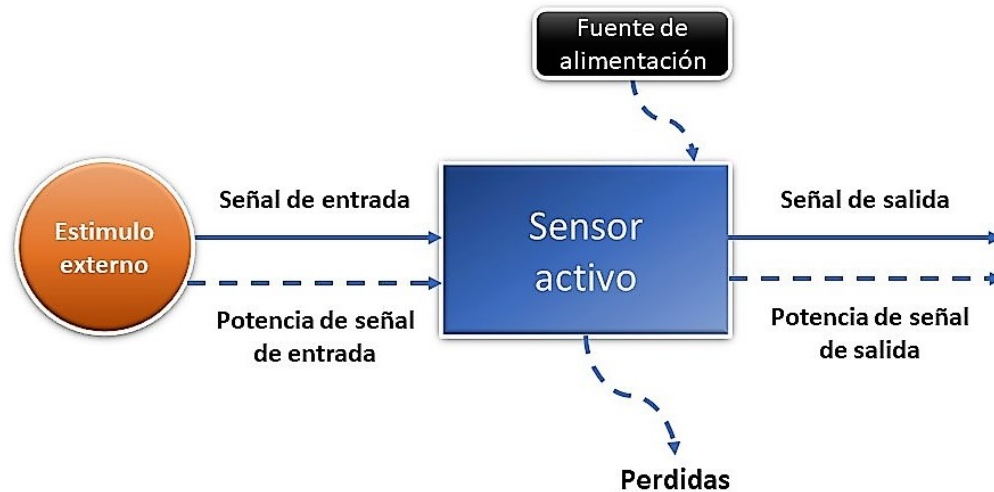


Figura 2.4: Sensor Activo [29].

En cambio, el sensor pasivo Figura 2.5 no necesita de una fuente de energía adicional para operar. Ahora cuando este sensor recibe un estímulo externo este responde generando una señal eléctrica en su salida. Además, funcionan cambiando uno o más de sus propias propiedades de entrada para generar una señal eléctrica de salida. Algunos de los ejemplos de este tipo de sensor son el termopar, el fotodiodo y el sensor piezoeléctrico [27] [29] [30].

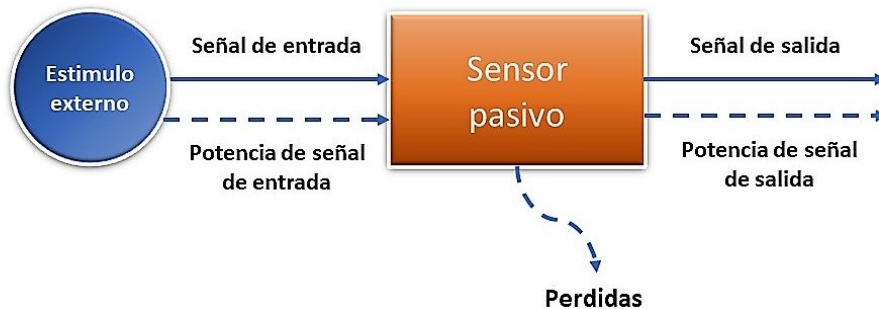


Figura 2.5: Sensor Pasivo [29].

Absolutos o relativos

Por otra parte, los sensores pueden ser clasificados por el tipo referencia o de medición. El primero se le conoce como sensor absoluto el cual reacciona a un estímulo exterior en referencia a una escala física absoluta. Un ejemplo de este tipo de sensor es el termistor el cual sirve para detectar temperatura gracias a la variación del valor su resistencia. Este valor esta altamente relacionado a la escala de temperatura absoluta de kelvin [27]. Al contrario, el sensor relativo mide la diferencia entre dos magnitudes y asimismo produce una señal que se asocia a una escala relativa con algún caso especial. Un ejemplo de este tipo de sensores son los de presión ya que este produce una señal de salida con respecto a un punto de referencia que no es presión cero como lo es la presión atmosférica [27]. En resumen, existen varias clasificaciones de sensores

como lo es por la aplicación que se les dé, por sus propiedades, por el método de detección que emplean y otras más. En el diagrama de la Figura 2.6, se simplifican los grupos más importantes de sensores que existen actualmente.

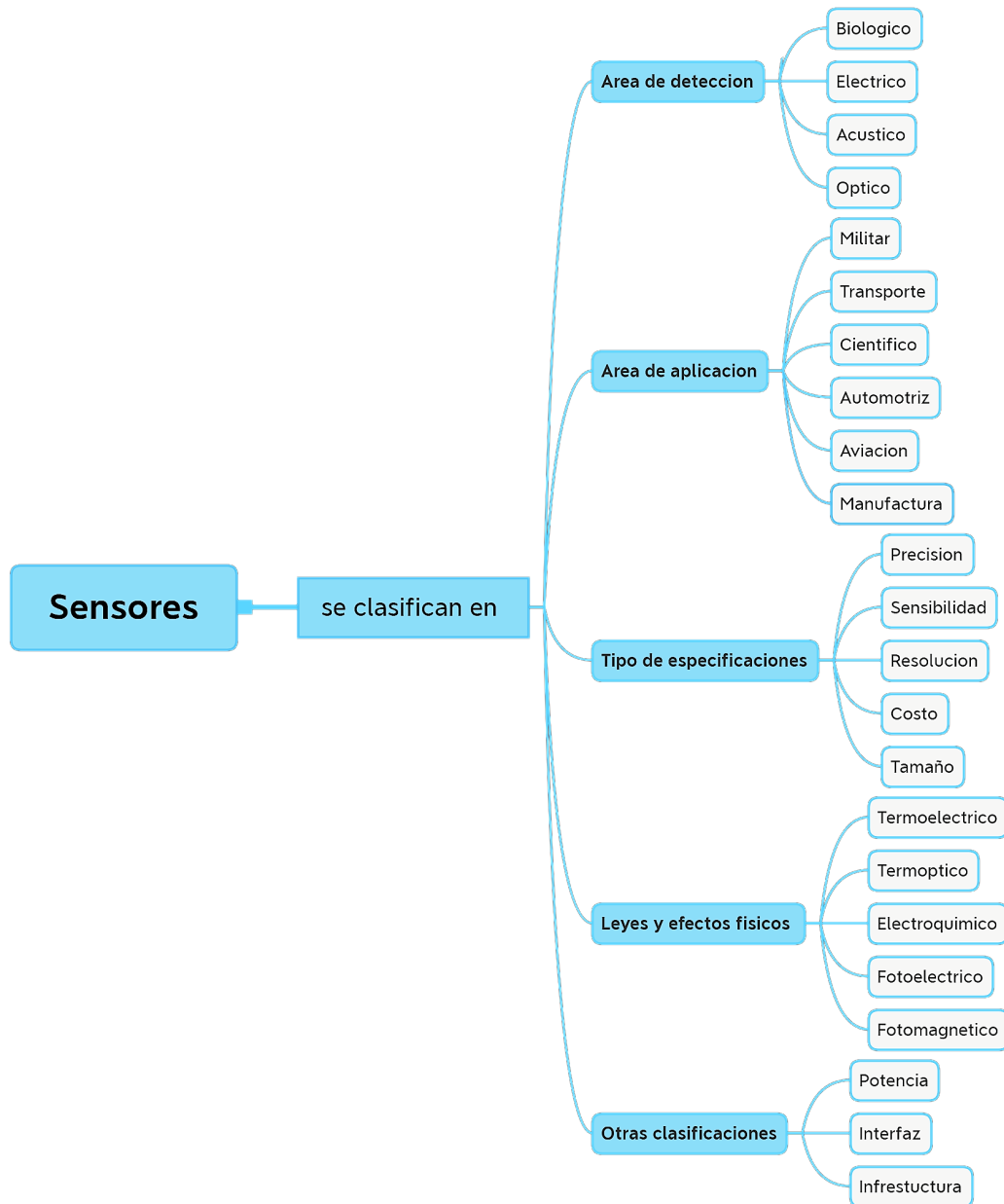


Figura 2.6: Clasificación de los sensores [30]

2.3. Sensores biológicos

Actualmente el uso de sensores se ha incrementado en los últimos años debido a que son empleados en diversos campos como en la investigación, industria, alimentos entre otros. Sin embargo, de todos los tipos de sensores que existen como los ejemplificados en la sección 2.2, los biosensores han captado el interés debido a que ellos pueden ser usados para convertir procesos bioquímicos en una señal medible a detectar y asimismo poseen alta sensibilidad de detección y otras cualidades que serán discutidas más adelante [31].

Los sensores biológicos se emplean en el diagnóstico clínico de enfermedades, aplicaciones médicas, monitoreo ambiental, y de defensa para combatir el bioterrorismo [31]. Para que un biosensor pueda trabajar de forma adecuada debe de considerarse lo siguiente:

- El analito (la muestra o elemento que se desea medir) deberá ser estable.
- El sensor debe de ser exacto, preciso y mostrar una alta sensibilidad.
- Deberá ser pequeño, portable y de costo razonable.
- Que proporcione mediciones en tiempo real para una medición rápida.

Debido a lo anterior un biosensor es un dispositivo que permite detectar y medir una sustancia de interés biológico. Su principal finalidad es proporcionar información rápida, en tiempo real, precisa y fiable del analito a medir [31].

Los componentes principales de un biosensor son el bioreceptor, transductor y el sistema electrónico donde el bioreceptor se encarga de amarrar o pegar el analito de interés al transductor y enseguida este responde con una señal eléctrica o óptica de salida. Ahora se explicarán con más detalle las partes que componen al biosensor [32].

1. Bioreceptor

Es responsable de amarrar o atar el analito o muestra de interés a la superficie del transductor. Los bioreceptores más comunes son:

- **Anticuerpos**

Son muy empleados en la mayoría de los biosensores a causa de que son estables y versátiles. Se emplea para amarrar o atar analitos o muestras de origen químico o microbiológico y al mismo tiempo proporciona detección a bajas concentraciones [33].

- **Ácido nucleico**

Se utiliza para detectar enfermedades genéticas e infecciones, microorganismos en el agua y la comida y en la medicina forense gracias a que su mecanismo de detección basado en DNA el cual permite atarse rápidamente al código genético o secuencia del analito analizado y así es rápidamente localizado y convertido a señal eléctrica [33].

- **Enzimas**

La mayoría de los biosensores emplean este tipo de bioreceptor debido a sus capacidades de reacción catalítica al unirse al analito. Se dice reacción catalítica al aumento de la velocidad de la reacción química entre analito y bioreceptor y por lo tanto la detección se amplifica generalmente. Por último, al ser muy selectivas y sensibles a los cambios producen una respuesta bastante rápida de detección[33].

- **Bioreceptores sintéticos**

Los bioreceptores sintéticos son fabricados de nanomateriales como lo son las nanopartículas, nanotubos y nanocompuestos, así como se pueden encontrar fabricados a base de oro, carbón, plata entre otros elementos. Una peculiaridad de estos bioreceptores es el tamaño de su diámetro que oscila entre de 1 a 1000 nm. Al ser tan pequeños, al ser tan pequeños presentan una gran superficie activa y en consecuencia poseen mayor sensibilidad a su entorno, una respuesta rápida al ser unidos con el analito de interés y el más importante su poder de amplificación de señal[33].

2. Transductor

Es la parte más elemental del biosensor ya que convierte los cambios relacionados entre el analito y el bioreceptor a señales eléctricas o ópticas y así mismo convierte la información en un efecto medible. Asimismo, la intensidad de la señal presentada como reacción bioquímica al unirse el analito y el bioreceptor es directa o inversamente proporcional a la concentración del analito [31][32]. Los transductores se dividen en 3 tipos los cuales son:

- **Óptico**

El transductor óptico es un poderoso instrumento que ha tenido influencia en varias áreas como en la investigación biomédica, monitoreo ambiental y como dispositivo para enfrentar el bioterrorismo. El proceso de transducción se basa fundamentalmente en los cambios de índice de refracción, fase, amplitud y frecuencia de la luz de entrada al estar en contacto entre el analito y bioreceptor. Los componentes principales de un transductor óptico son la fuente de luz el cual puede ser luz infrarroja, el dieléctrico (fibra óptica o arreglos ópticos) y finalmente el sistema de detección óptica. Las ventajas de usar este transductor son la rapidez en detección en tiempo real, la ultra alta sensibilidad, la inmunidad a la radiación electromagnética y su tamaño pequeño y las desventajas son las afectaciones que tiene la medición al entrar en contacto con el medio ambiente, así como la detección es perturbada al entrar otro agente como la suciedad y el polvo [31][33].

- **Piezoeléctrico**

Este transductor se apoya principalmente en los sistemas microelectromecánicos como los resonadores de frecuencia y cuarzos que son sensibles a los cambios de masa, densidad y viscosidad. Son utilizados a menudo en la detección de colera, hepatitis a-b-c y enfermedades originadas por alimentos contaminados. Las ventajas de este tipo de sensores son la alta sensibilidad, tamaño pequeño, alta robustez y alta precisión. Sus desventajas son su alta sensibilidad a la temperatura [33].

- **Eléctricoquímico**

Este transductor emplea un electrodo para la localización de cualquier analito a través de la detección de una propiedad eléctrica como la resistencia, corriente, potencial,

capacitancia e impedancia. También se basan en el potencial químico de una especie particular en solución (el analito), medido en comparación con el electrodo de referencia.

Sus aplicaciones principales son en el sector de industrial y en el medio ambiente. Sus ventajas son alta especificidad, sensibilidad y selectividad, tienen un tiempo de respuesta reducido y son rentables [31][33].

Finalmente la clasificación de completa de biosensores se presenta en la Figura 2.7

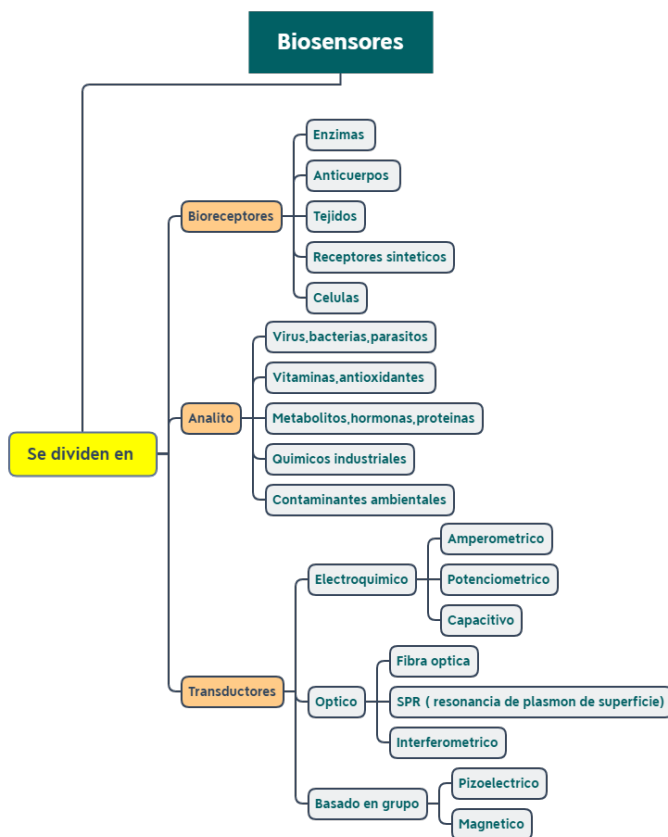


Figura 2.7: Clasificación de los un biosensor [35].

En resumen, de todos los biosensores presentados anteriormente los que han llamado más la atención en los últimos años son los biosensores ópticos, pero en especial los que están basados fibra óptica en virtud de que se pueden ajustar en zonas de alto peligro gracias a su pequeño tamaño y además de que son flexibles y muy resistentes. En la siguiente sección se hablarán acerca de los biosensores ópticos particularmente los que son de fibra óptica donde se discutirán su principio de funcionamiento, su estructura y sus aplicaciones. Finalmente en la Figura 2.8 se muestra las partes que forman un biosensor incluido la instrumentación.

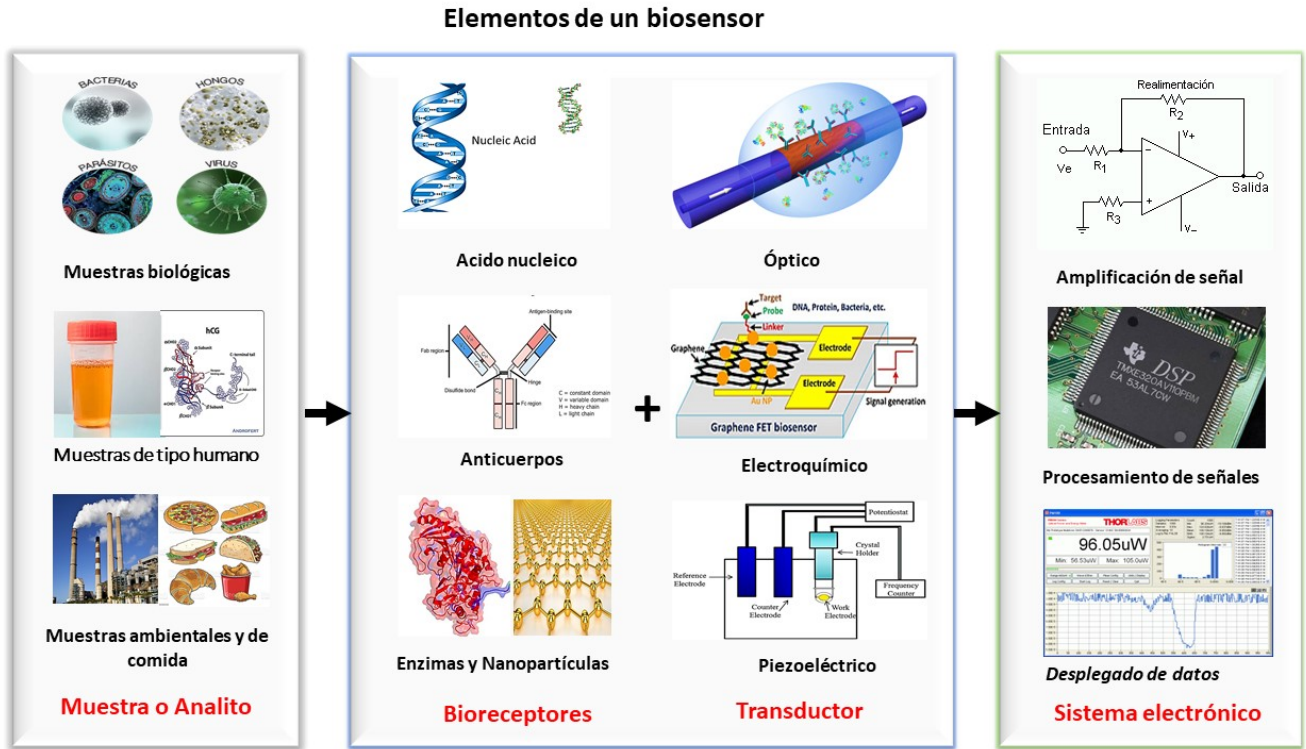


Figura 2.8: Componentes de un biosensor

2.4. Biosensores de fibra óptica

A partir de la invención de la fibra óptica moderna que data del año 1960 cuando entro en operación el láser, esta ha sido empleada en aplicaciones médicas, científicas, quirúrgicas, industriales y en el desarrollo de sensores. Además, las fibras ópticas han sido opciones de remplazo de cables eléctricos los cuales contienen múltiples desventajas como su poca inmunidad al ruido, su difícil instalación y su poca flexibilidad [34].

Sin embargo, los biosensores de fibra óptica tienen muchas ventajas en comparación con los otros transductores como, por ejemplo [35]:

- Las fibras pueden transmitir la luz a distancias bastante largas con un mínimo valor de pérdidas.
- Puede ser empleado en condiciones peligrosas debido a su estructura flexible y dura.
- Son inmunes a la interferencia electromagnética.
- Son ultra sensibles al momento de sensar.
- No requieren de electrodos para operar como el biosensor electroquímico.
- Se pueden utilizar para controlar remotamente diferentes procesos a largas distancias debido a su baja atenuación.

Por lo tanto, un biosensor de fibra óptica es un dispositivo el cual puede medir la concentración de un cierto tipo de muestra o analito a través de un sistema de fibra óptica el cual esta constituido por tres partes fundamentales [31]:

1. Fuente de luz:

Inyecta luz a lo largo de toda la fibra óptica. Se recomienda usar un láser con longitud de onda por encima de los 660 nm ya que la mayoría de las fibras ópticas están diseñadas para trabajar en el espectro infrarrojo [2].

2. Fibra óptica

Una fibra óptica es una guía de onda dieléctrica cilíndrica fabricada comúnmente de vidrio o plástico, cuya función es guiar luz visible o infrarroja a distancias largas. En un biosensor actúa como conductor de luz y como sustrato donde ocurren una serie de fenómenos fisicoquímicos al interactuar el bioreceptor y el analito de manera que las propiedades ópticas como el índice de refracción cambian y este cambio es directamente proporcional a la concentración de analito [2][31].

Las fibras ópticas están constituidas principalmente de 3 partes [36][37]:

- **Núcleo**

Es la zona donde en condiciones normales viaja la mayor parte de la luz transmitida por la fibra. Es un filamento de vidrio que se encuentra en el centro de la fibra.

- **Revestimiento**

Es una capa de vidrio la cual se encarga de atrapar la luz en el núcleo por el principio de reflexión total interna y de igual forma mantiene limpio el núcleo de la fibra.

- **Recubrimiento**

Sirve para proteger a la fibra óptica de daños físicos como rayaduras, suciedad, grasa, partículas de piel y de humedad. Usualmente está fabricada de plástico.

En la Figura 2.9 se presentan las partes que componen a una fibra óptica:

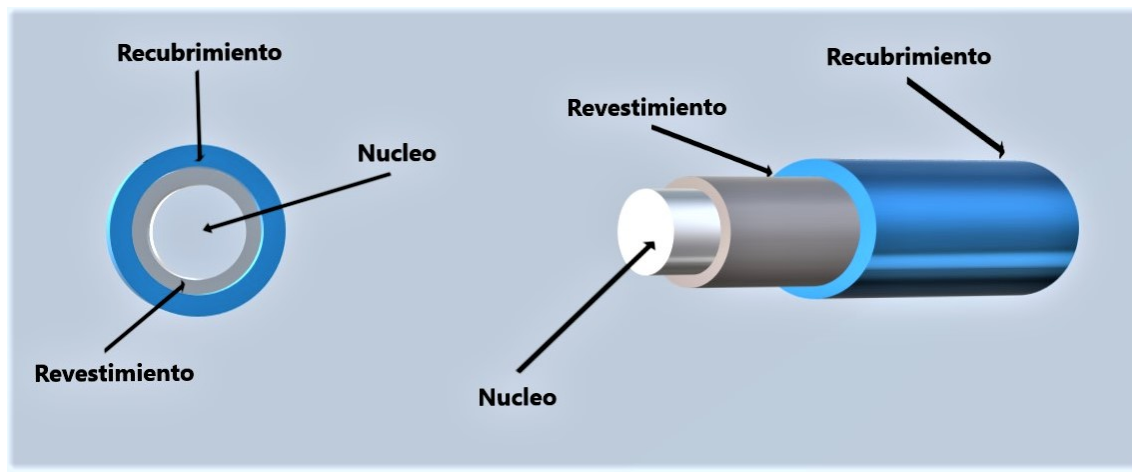


Figura 2.9: Secciones de una fibra óptica

Funcionamiento de una fibra óptica

El fenómeno que hace posible transmitir luz a grandes distancias es la reflexión total interna. Pero para que ocurra la reflexión total interna en una fibra óptica es necesario tomar en cuenta el índice de refracción del medio dieléctrico. El índice de refracción de un medio es definido como el cociente de la velocidad de la luz en el vacío a la velocidad de la luz en el medio y esta depende del material a través del cual se está moviendo la luz.

La reflexión total interna es un fenómeno que ocurre durante la transmisión de la luz desde un medio denso a uno menos denso. Dependiendo del ángulo que forme la luz respecto a la interfaz esta se refleja y queda atrapada en el medio más denso. En una fibra óptica la reflexión total interna ocurre de la siguiente manera [36][37]:

- a) Teniendo en cuenta que el índice de refracción del núcleo (n_1) es más alto que el revestimiento (n_2). Al entrar el rayo en el núcleo se forma un ángulo de incidencia como se muestra en la Figura 2.10:

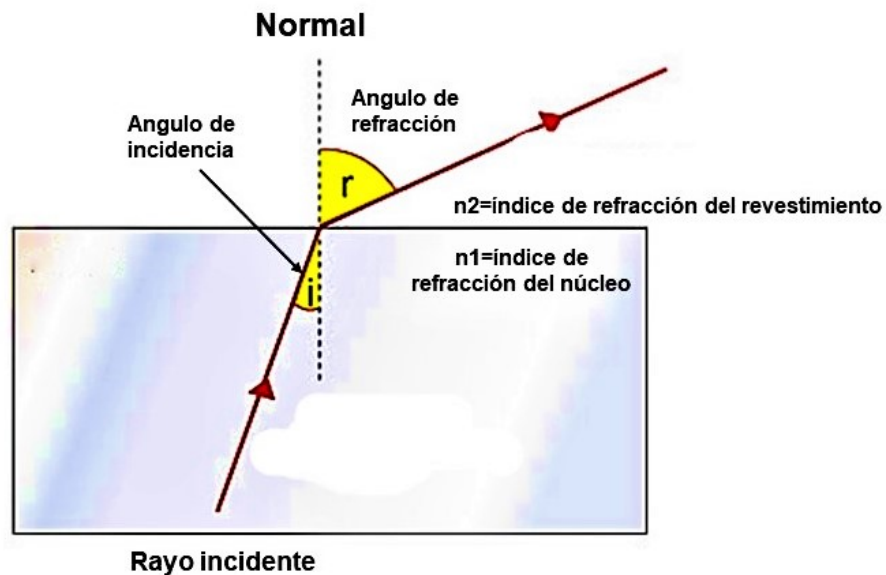


Figura 2.10: Formación de ángulo de incidencia [38].

- b) Al entrar el rayo a un material con índice de refracción más bajo, el ángulo de incidencia incrementa. Por lo tanto, cuando el ángulo de refracción alcanza 90 grados y la luz es refractada entre el núcleo y el revestimiento, el ángulo de incidencia produce un efecto llamado ángulo crítico como se presenta en la Figura 2.11.

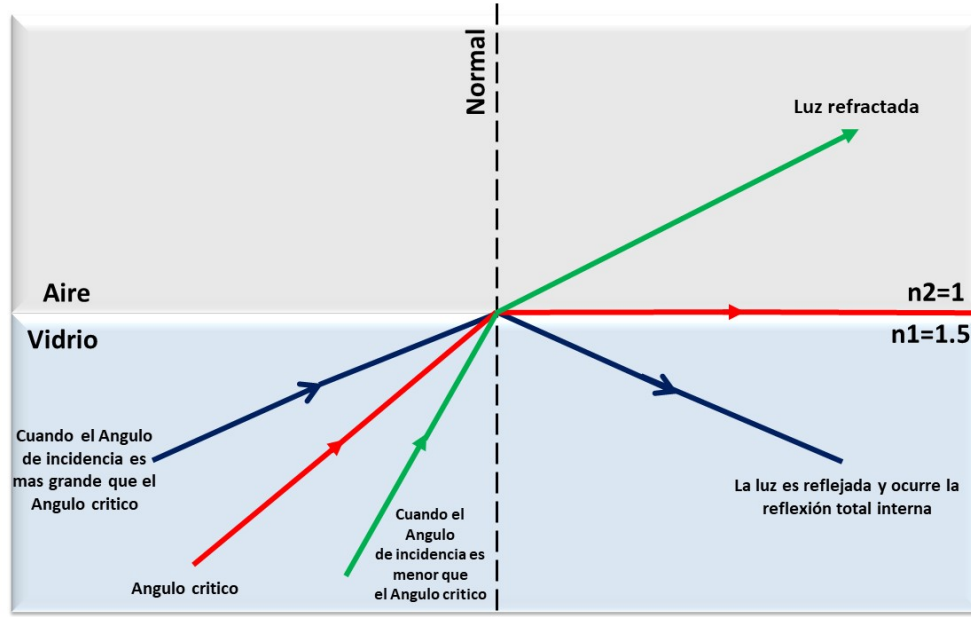


Figura 2.11: Formación de ángulo de crítico [37].

- c) Entonces, si el ángulo de incidencia es más grande que el ángulo crítico, el rayo de luz es reflejado de vuelta en el núcleo. Este proceso simplemente actúa como un espejo entre los dos dieléctricos (revestimiento-núcleo).
- d) Si la fibra tiene lados paralelos y es rodeado por un material con un índice de refracción más bajo, la luz será reflejada a lo largo de ella en un ángulo constante como se muestra en la Figura 2.12

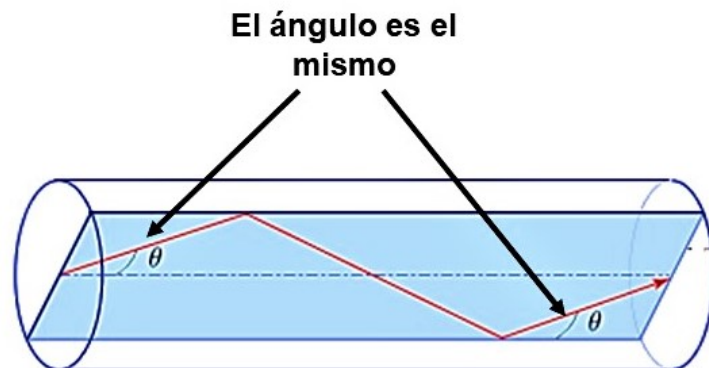


Figura 2.12: Propagación de la luz en un mismo ángulo por toda la fibra [39].

- e) Finalmente, cualquier rayo lanzado con un ángulo más grande que el crítico será reflejado y rebotará constantemente entre el núcleo y revestimiento hasta el final de la fibra. En la Figura 2.13 se expone la trayectoria completa del rayo de luz en la fibra óptica.

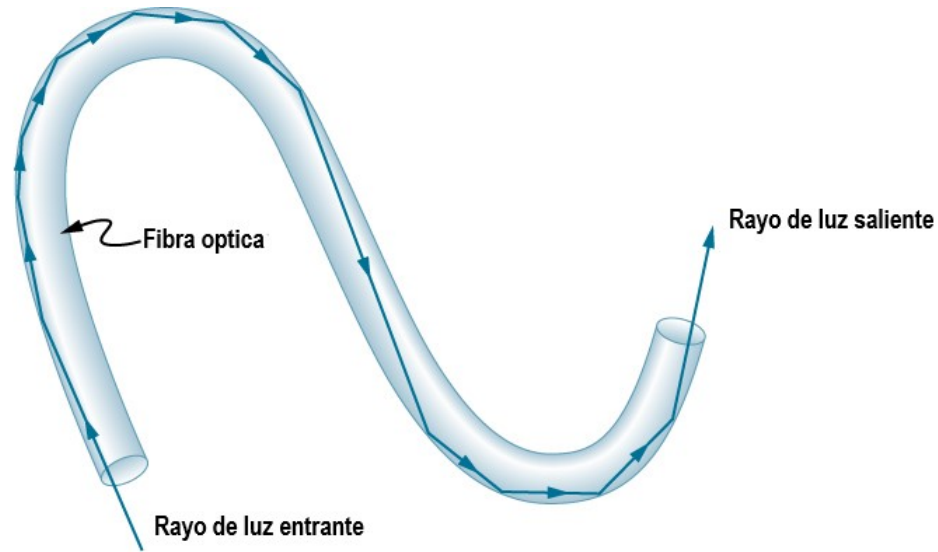


Figura 2.13: Propagación de la luz por toda la fibra [40].

3. Detector

Para detectar los cambios de índice de refracción que tiene la fibra óptica al medir el analito o muestra de interés, se necesita un sistema de instrumentación como un procesador de señales o una computadora para monitorear los datos de salida.

Finalmente en la figura 2.14 se muestran los tres elementos más importantes de un biosensor de fibra óptica.

Partes de un biosensor de fibra óptica

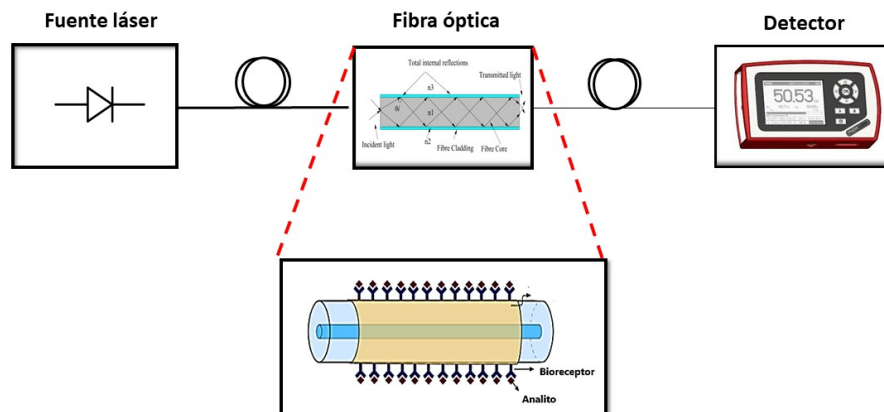


Figura 2.14: Secciones de un biosensor de fibra óptica .

Por otra parte, una de las características más destacadas de un biosensor de fibra óptica es la sensibilidad puesto que esta directamente relacionada con la gran cantidad de energía que pueda desprenderse de la fibra y así detectar con mayor rapidez la muestra. Esta cantidad de

energía se le llama onda evanescente el cual será explicada más adelante. No obstante, para aumentar aun mas la sensibilidad de la fibra óptica se descubrió un método el cual consiste en modificar o alterar la geometría de la fibra en la región de sensado donde la sensibilidad puede aumentar hasta en un 80 por ciento [2].

La mejor representación de esta fibra alterada geoméricamente se le denomina fibra óptica taper cuyo origen radica en Japón desde 1976. En la siguiente sección se detallará el principio de funcionamiento de este tipo de fibras, su método de fabricación y sus aplicaciones principales.

2.5. Fibra óptica taper

Como se habló anteriormente, una de las formas para hacer un biosensor de fibra óptica mucho más sensible es alterando la geometría de la misma. Este tipo de fibra se le denomina fibra óptica taper y se han investigado para diversas aplicaciones, incluida la medición de características físicas (índice de refracción, temperatura, presión, etc.), concentraciones químicas y detección de biomoléculas. Además, ofrecen otras ventajas como su gran campo evanescente como medio de detección y su rapidez de detección [41].

Una fibra óptica taper o también llamada nanofibra es una guía de onda la cual consiste en una región de la fibra con diámetro reducido o adelgazado y uniforme nombrada cintura que está delimitada por secciones cónicas donde el diámetro de la fibra cambia gradualmente llamadas regiones de transición. Generalmente el adelgazamiento se logra por métodos químicos o métodos de calentamiento y estiramiento por medio de un soplete donde en el proceso los diámetros del núcleo y del revestimiento se reducen en la misma porción. Este proceso será explicado con mayor detalle en el siguiente capítulo de fabricación de la fibra óptica taper [42]. En la Figura 2.15, se muestra un diagrama de la estructura de la fibra óptica taper la cual está compuesta principalmente de 3 secciones:

- **Dos regiones de transición**

En esta región es donde el diámetro de la fibra disminuye y aumenta respectivamente.

- **Cintura**

Es la zona mas importante de la fibra debido a que aquí es donde se encuentra el campo evanescente para el sensado de la muestra de interés.

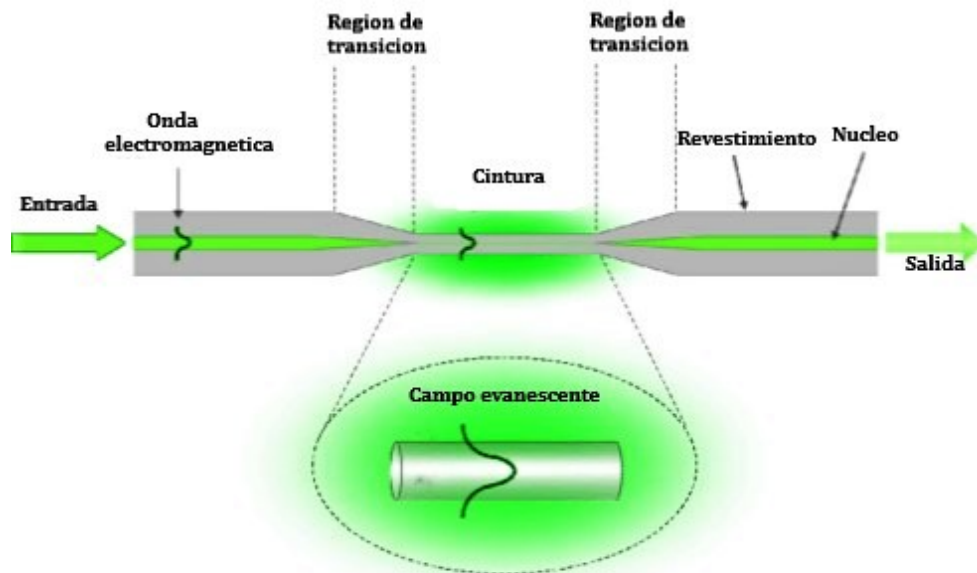


Figura 2.15: Partes de una fibra óptica taper [42].

El principio de detección de la fibra óptica taper es llamado campo evanescente sin embargo para entender como funciona el campo evanescente es necesario detallar cual es el origen de este. Como se había explicado en la sección de funcionamiento de la fibra óptica, al hacer incidir luz en una fibra óptica esta se propaga por medio de reflexión total interna donde la luz va reflejándose entre la interfaz núcleo-revestimiento hasta el final de la fibra. No obstante, una pequeña porción de la luz se extiende al revestimiento ó sea el medio que rodea el núcleo. Esta porción de luz se le denomina onda evanescente [2].

Por lo general el campo evanescente en una fibra óptica no interactúa con el ambiente exterior porque decae a un valor insignificante cuando llega más allá del revestimiento y de esta forma no se puede aprovechar el mismo para realizar la detección de muestras [41].

Una forma de acceder al campo evanescente para la detección de cualquier muestra es quitar el recubrimiento y reducir el diámetro del revestimiento para que el campo evanescente sea expuesto. Conforme el diámetro se va reduciendo más, el campo evanescente se amplificará gradualmente. En la Figura 2.16 se ejemplifican tres fibras ópticas donde al ir reduciendo más el diámetro del revestimiento, el campo evanescente aumenta considerablemente [41][42].

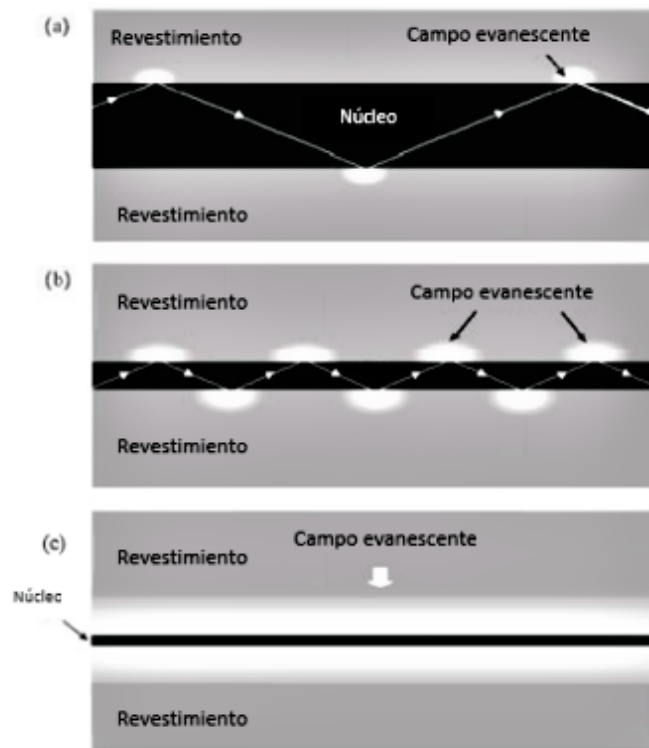


Figura 2.16: Campo evanescente en tres fibras [44].

La fuerza del campo evanescente depende de varios factores, el índice del núcleo, el índice del revestimiento, el radio de la fibra y la longitud de onda. Un parámetro que reúne los factores antes mencionados se le denomina número V o parámetro de la fibra donde también determina el número y tipo de modos que hay en una fibra óptica. Un modo en una fibra óptica es el

número de caminos que sigue un haz de luz al interior una fibra, precisamente en el núcleo donde se confina la luz [45].

En consecuencia, el modo de orden más bajo como por ejemplo 1, tiene el confinamiento más estrecho del campo y, por lo tanto, el campo evanescente es más débil. Ahora si aumenta el orden de modo de la fibra, el campo evanescente es más intenso debido a que se aumenta el numero de caminos o trayectorias que sigue la luz.

Usando una fibra monomodo donde el haz sigue una sola trayectoria se puede lograr que la luz viaje en múltiples modos o caminos convirtiéndola en una fibra óptica táper y así sea optima para el diseño de un biosensor de alta sensibilidad gracias a su amplio campo evanescente. Por ejemplo, cuando una fibra óptica tiene un valor ≤ 2.05 , la fibra puede soportar solo un modo de propagación en el que aproximadamente el 85 % de la energía en la fibra permanece en el núcleo y la energía restante fluye a través del revestimiento que es alrededor del 15 % mientras que si $V > 2.05$ la fibra admitirá muchos modos especialmente en la región mas delgada llamada cintura[2][45].

En la siguiente Figura 2.17 se muestra una gráfica donde representa el número de modos versus fracción de energía que sale en el revestimiento. Por ejemplo, si $V=7.2$, el numero de modos transmitidos en la fibra será de tres y al alinear este valor con la curva se dispone que el porcentaje de energía que saldrá del revestimiento será entre el 60-70 % de la zona adelgazada mientras que el 30-40 % permanecerá en el núcleo. Por esta razón el 70 % del campo evanescente estará disponible fuera de la fibra y finalmente la misma estará lista para medir células, tejido o biomoléculas, donde el campo evanescente interactúa con el medio exterior permitiendo alterar las propiedades de la luz dentro de la fibra dando como resultado que la fibra actúe como un biosensor[2][45].

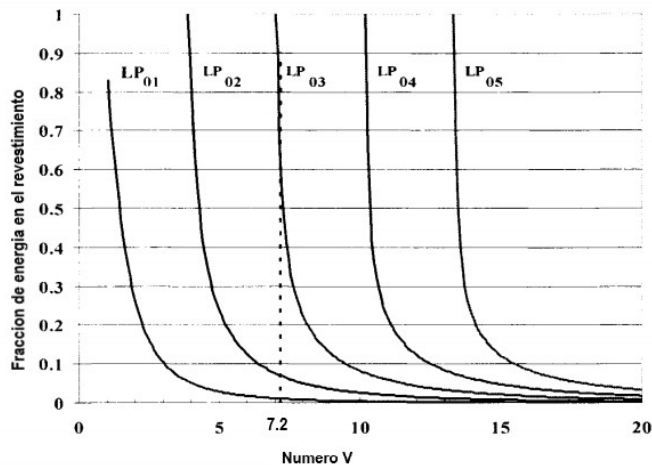


Figura 2.17: Gráfica representativa del numero V versus fracción de energía saliendo del revestimiento [45].

2.6. Características de la hormona hCG

Los primeros indicios de la presencia de hormona hCG fueron encontrados en 1919 cuando el científico japonés Toyochi Hirose demostró que había un enlace muy fuerte entre la hormona, el útero y la placenta en conejos. Para 1927 los ginecólogos alemanes Selmar Aschheim y Bernhard Zondek comprobaron que la sangre y la orina de las mujeres embarazadas contenían una sustancia estimulante relacionada con las gonadotropinas las cuales su función es la regulación de la reproducción. A partir de aquí nacieron las pruebas de embarazo como se conocen hoy en día [46][48]. Alrededor de 1928 nació la palabra human chorionic gonadotropin (hCG) en

sus siglas en ingles o mejor conocida en español como Gonadotropina coriónica humana donde chorion viene del latín y significa placenta, la palabra gonadotropin surge debido a que es una hormona gonadotropina la cual actúa dentro de los ovarios de las mujeres para la reproducción humana (figura 2.18) [49].

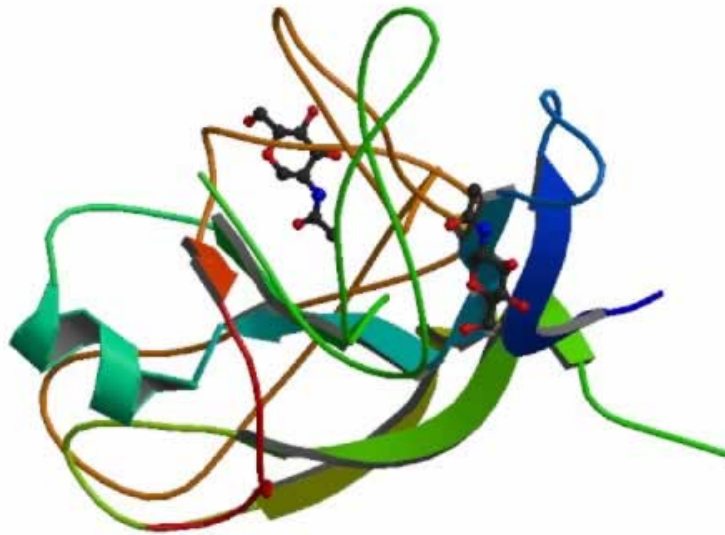


Figura 2.18: Hormona hCG [47]

La hormona hCG esta formada por dos subunidades diferentes (alfa y beta), la cadena alfa es común a las hormonas de la tiroides (TSH), la hipófisis (FSH) y LH cuya función es la regulación del ciclo menstrual, mientras que la cadena beta es específica de la hCG y esta presente tanto en hombres como en mujeres. La hCG es una glucoproteína, en la que aproximadamente el 65 por ciento de su peso molecular corresponde a las proteínas o a los aminoácidos [50].

La hormona hCG es una hormona producida principalmente en el embarazo con vida me-

dia de 32 a 37 horas, fabricada por el embrión en desarrollo poco después de la concepción y más tarde por la placenta [50]. Su función es mantener la producción de progesterona que es fundamental para el embarazo en los seres humanos. Es secretada a la circulación sanguínea y excretada en la orina, donde se emplea como método de elección para el diagnóstico y confirmación del embarazo en el cual los niveles de hCG aumentan de forma rápida y predecible en los primeros días del embarazo y es posible detectarla en la orina hasta 9 o 10 días después de la fecha estimada de concepción. Para la detección del embarazo, en la Figura 2.19 se muestran los niveles de hCG donde se puede observar que en la semana 12 los niveles de esta hormona alcanzan su máximo [51].

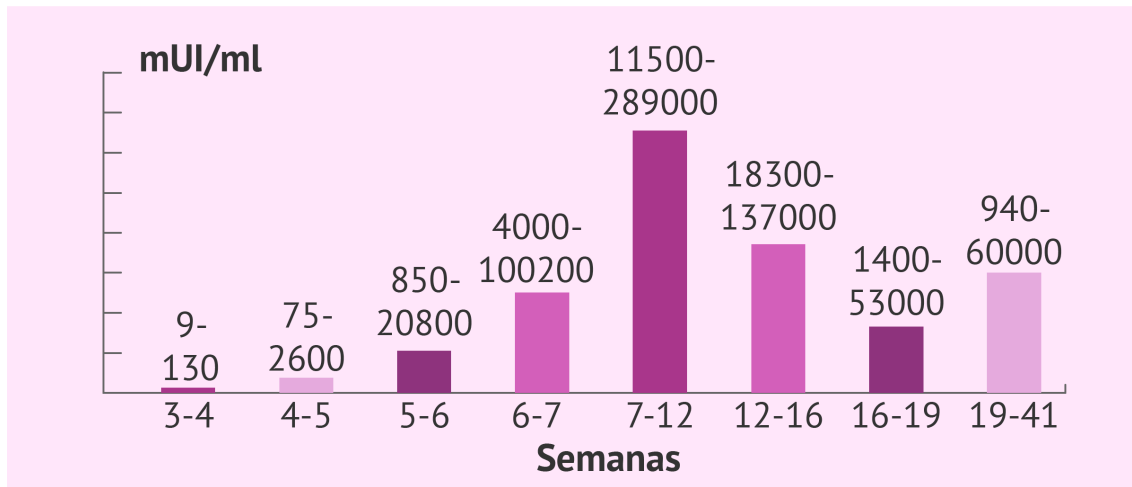


Figura 2.19: Variación de concentración de hormona hCG durante el embarazo [52].

La determinación de hCG en sangre u orina puede detectar otro tipo de trastornos como:

1. Trastornos en hombres

La elevación excesiva de la hormona genera en el hombre adulto manifestaciones como ginecomastia e hipertiroidismo, y en el niño, pubertad precoz [53][54].

2. Como marcador tumoral

La hormona gonadotropina coriónica es considerada como un marcador tumoral asociado a enfermedades malignas trofoblásticas y a tumores de células germinativas [55][56].

3. Marcador de riesgo para el Síndrome de Down

Entre 1987 y 1989, varios investigadores reportaron niveles elevados de HCG en la sangre de mujeres embarazadas portadoras de un feto con el Síndrome de Down [57] [58].

4. Cáncer testicular

Se ha encontrado cáncer de células germinales en los testículos, donde células trofoblásticas tienen la capacidad de producir esta hCG y elevarla en la sangre a niveles similares a la de algunas etapas del embarazo [59].

5. Cáncer ovárico

Se ha hallado que grandes concentraciones de hCG producen tumores de células germinales especialmente en el cáncer de ovario. [60]

6. Nauseas y vómitos en el embarazo

Recientes estudios han determinado que altas concentraciones de hormona hCG tienen la capacidad de alterar una de las partes del sistema nervioso que provocan náuseas y vómitos [61].

7. Abortos

Concentraciones anormales de la hormona durante en el embarazo han sido correlacionadas con anomalías como los abortos recurrentes y la preeclampsia [62].

Adicionalmente esta hormona también se puede encontrar en tejidos normales de riñón, estomago, pulmón y hígado. En concentraciones altas fue encontrada en cáncer de páncreas y colon [63].

Capítulo 3

Desarrollo Experimental

En esta sección se explica la fabricación de fibras ópticas taper, el proceso de deposición de nanotubos y hormona sobre la fibra óptica taper. Así también se presentan las características de los productos empleados para realizar dichos experimentos. Para finalizar se espera que la presencia de nanotubos incremente la respuesta de la fibra óptica taper al entrar en resonancia con el láser con longitud de onda de 1550 nm.

3.1. Fabricación de fibras ópticas taper

La fabricación de fibras ópticas taper se llevó a cabo mediante el sistema mecatrónico automatizado que implementa la técnica de adelgazamiento flame-brushing modificada, con número de solicitud de patente MX/a/2016/015494 (Figura 3.1) [10]. El sistema permite fabricar fibras ópticas taper de diámetros que van de los $20\mu\text{m}$ hasta 500nm , en el Laboratorio de Sistemas Fotonicos y Nanooptica de la Facultad de Ciencias de la Electrónica. La técnica flame-brushing se basa principalmente por el adelgazamiento por medio de barrido de una flama en una parte de la fibra óptica sin recubrimiento, aplicando una fuerza de estiramiento en sentido contrario, en los extremos de la fibra óptica.

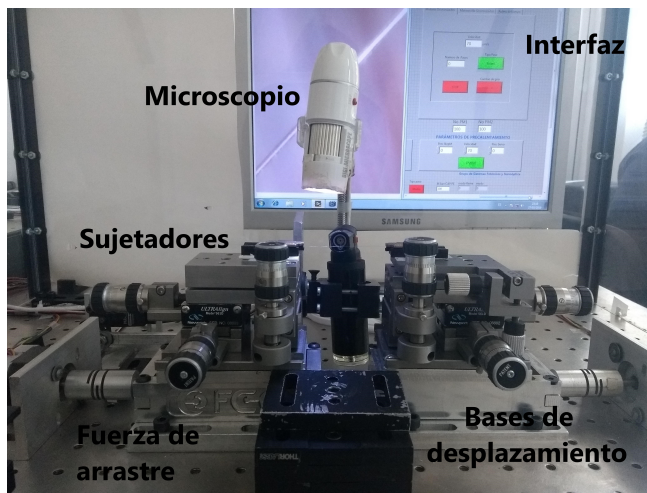


Figura 3.1: Sistema mecatrónico de fabricación de fibras ópticas taper (TOF) [44].

Para esta tesis, los diámetros obtenidos de las fibras ópticas taper fueron desde $2\mu\text{m}$ hasta

$5\mu\text{m}$) de diámetro en la zona mas delgada, en un tiempo de fabricación entre 8 minutos a 18 minutos cada una de ellas.

Se estima cualitativamente el diámetro de la fibra óptica fabricada, empleando un microscopio óptico metalografico vertical marca VELAB modelo VE-146, como se presenta en la figura 3.2.



Figura 3.2: Microscopio Óptico metalografico vertical marca VELAB modelo VE-146 [68].

Cada linea de la regleta utilizada con el microscopio corresponde a $2.5\ \mu\text{m}$, mediante la cual se realiza un estimado del diámetro de la fibra óptica taper fabricada.

En la figura 3.3 se muestran algunas fibras ópticas fabricadas. El radio se midió con un microscopio óptico utilizando un aumento de 40X, en donde cada subdivisión equivale a $2.5\mu\text{m}$.

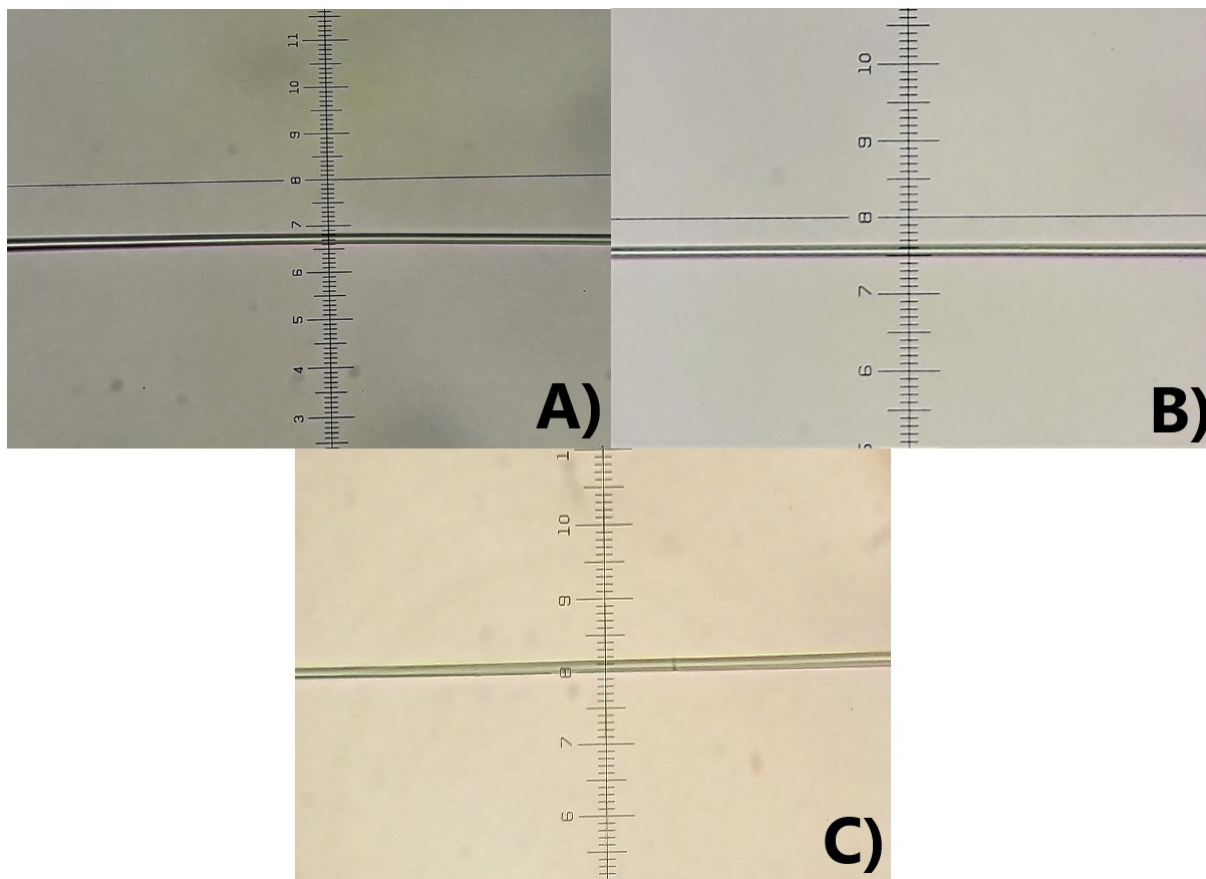


Figura 3.3: Imagen de microscopio óptico de TOFs fabricadas, con un diámetro de: a) $2\mu\text{m}$, b) $2.5\mu\text{m}$ y c) $3\mu\text{m}$

Esta caracterización, permite estimar el diámetro de la zona más delgada de la fibra óptica taper, en donde se realizarán los depósitos de las nanopartículas y de la hormona, sin necesidad de realizar la caracterización de las fibras en el microscopio electrónico de barrido (SEM). Esto es necesario, debido a la cantidad de pruebas que era necesario realizar.

3.2. Nanotubos y hormona hCG

3.2.1. Nanotubos de oro

Se emplean nanotubos de oro (Au-NT) con una longitud de 57-61 nm y un diámetro de 10 nm, de la marca Sigma-Aldrich (Figura 3.4), diluidos en agua a una concentración es de $35\ \mu\text{g}/\text{mL}$. Están diseñados para obtener un pico de absorción en un láser infrarrojo con longitud de onda de 980 nm. Para su almacenamiento pueden estar a temperatura ambiente, en un lugar oscuro. Debido a las excelentes propiedades ópticas que surgen de la resonancia del plasmón superficial, los nanotubos de oro encuentran aplicaciones en imágenes biomédicas, administración de fármacos y tratamiento fototérmico. Los nanotubos cubiertos con citrato no son citotóxicos y son muy adecuados para las aplicaciones biomédicas [65].

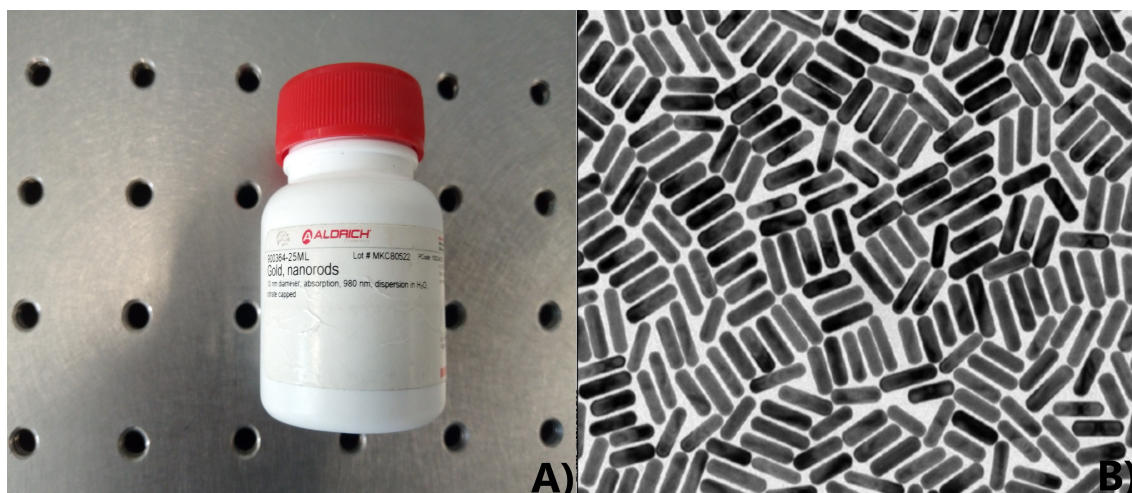


Figura 3.4: a) Frasco con nanotubos de oro empleadas en los experimentos, b) Estructura de nanotubos de oro con diámetro de 10 nm.[66]

La preparación de la disolución de nanotubos de oro, para realizar la deposición en la fibra óptica taper, se lleva a cabo de la siguiente forma:

Se extraen con una jeringa 0.2 mL de solución con nanotubos del frasco original, colocando la solución en un tubo eppendorf de 1 mL. Se realiza un baño ultrasónico por 180 segundos a una potencia de 35W para homogeneizar la solución. En la figura 3.5 se muestra dicho proceso en una forma gráfica.



Figura 3.5: Descripción gráfica de la preparación de los nanotubos de oro.

3.2.2. Hormona hCG

Para el desarrollo de los experimentos se emplea hormona *Human Chorionic Gonadotropin* (hCG) en presentación en polvo liofilizado, comercializadas por la empresa Sigma-Aldrich. La

hCG debe mantenerse en refrigeración, a una temperatura de -14°C . En la figura 3.6 se muestra la presentación en la que es adquirida [67].

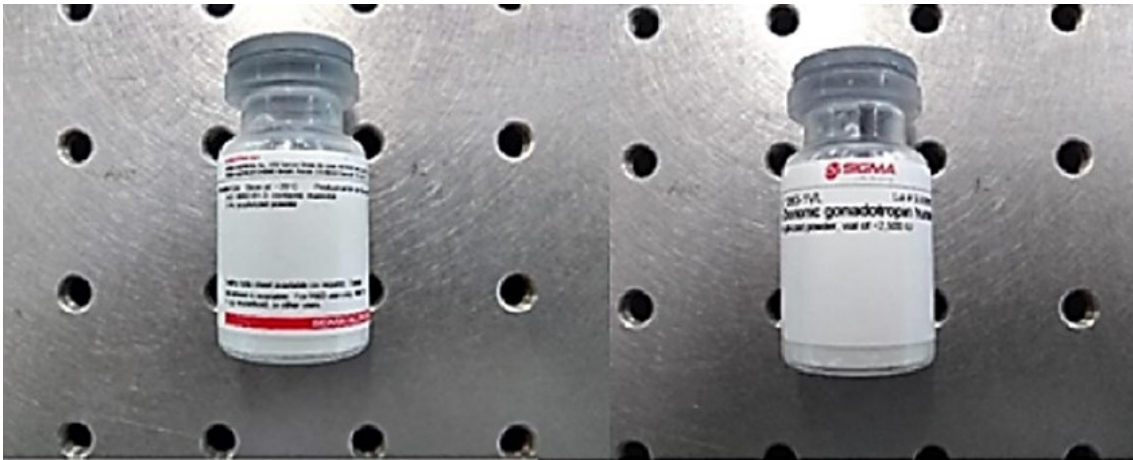


Figura 3.6: Hormona hCG empleada en los experimentos

Como parte de la caracterización de la hormona hCG, se tomaron medidas Raman de la hormona hCG, los espectros se muestran en la 3.7. El espectro en la 3.7 es de la hormona hCG en forma de polvo sobre un sustrato de Si, que muestra la presencia de picos característicos correspondientes a este material biológico a 980nm, aproximadamente.

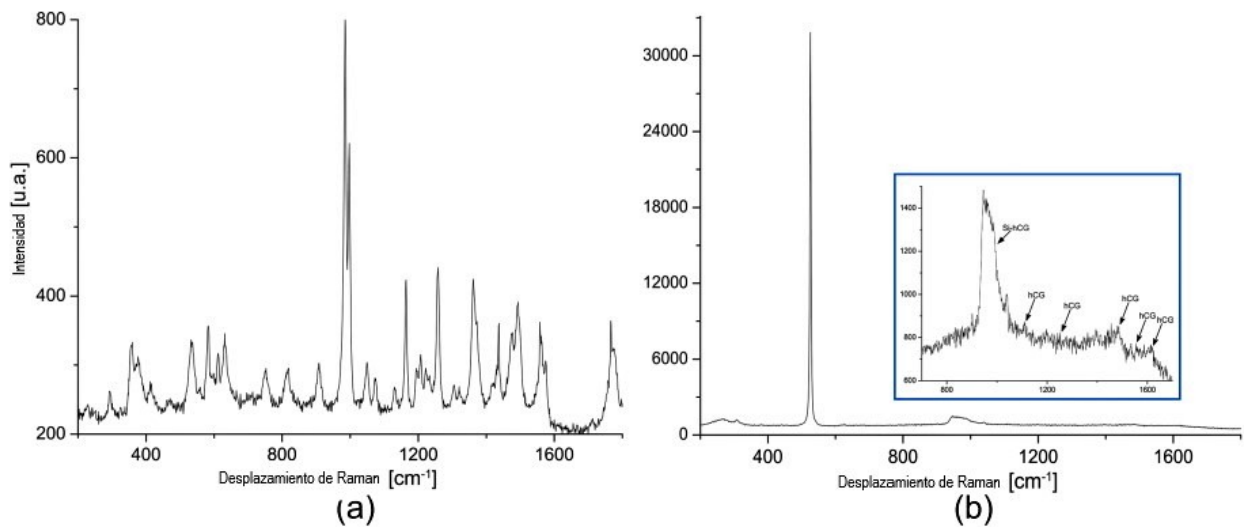


Figura 3.7: En a) se muestra el espectro de raman de la hormona hCG en forma de polvo sobre un sustrato de Si mientras que en b) se presenta el espectro de raman de la hormona hCG y nanotubos de oro depositados sobre una fibra optica taper (TOF).

Como se sabe, la concentración de la hormona hCG varía según el número de semanas de embarazo. Por tanto, con el objetivo de validar el umbral de la concentración de la hormona detectada, se utiliza una prueba comercial digital (Clearblue[®]) como referencia del número de semanas de embarazo. Según especificaciones del fabricante, a partir del nivel de hCG en la orina, el indicador mostrará un cálculo aproximado de las semanas de embarazo. Las concentraciones

umbral correspondientes de la hormona hCG son 2.5 mUI/ml, 4.7 mUI/ml y 8.29 mUI/ml, para las etapas del embarazo 1-2 semanas; 2-3 semanas y 3+, respectivamente.

En la figura 3.8 se presenta la información del número de semanas detectada por la prueba de embarazo, a partir de la concentración de la hormona en la solución:



Figura 3.8: Lecturas mostradas

Para la preparación de las disoluciones para esta prueba, se toma una pequeña cantidad de hormona hCG en polvo, con una micro espátula de longitud de 60mm y ancho 300 μm , se diluye en 1 mL de agua desionizada. Se aplica un baño de ultrasonido para homogeneizar la solución y se extrae con una jeringa 0.8 mL; se deposita la solución en la punta sensor de la prueba de embarazo para detectar el número de semanas de embarazo. En la figura 3.9 se presenta en forma gráfica el deposito de la solución en la prueba de embarazo.

Preparación de disolución con hormona hCG de 1-2 semanas, 2-3 semanas y 3+ semanas

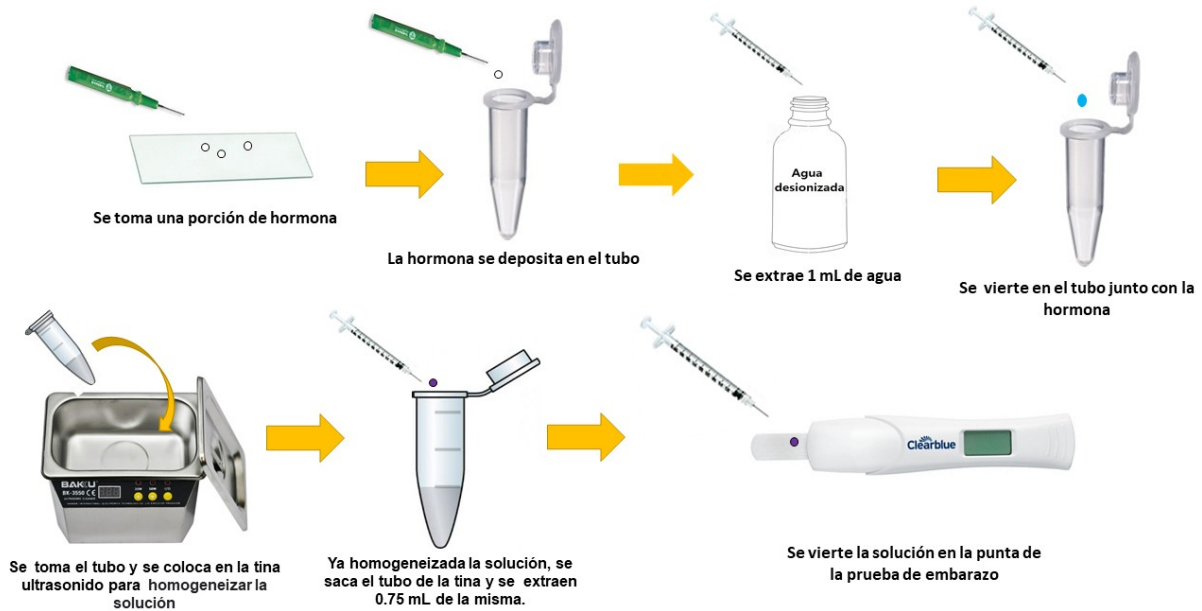


Figura 3.9: Deposito de la solución en la punta de una prueba de embarazo

Cabe mencionar, que no se utiliza toda la solución en la prueba de embarazo, ya que en función del resultado, la solución restante en la jeringa se utiliza para depositar la hCG en la TOF.

3.3. Deposición de nanotubos y hormona en la fibra óptica taper

La configuración experimental para la deposición de Au-NTs y hormona hCG en LA TOF se muestra en la figura 3.10. La fuente de la radiación óptica es un diodo láser con una longitud de onda de 980 nm (Modelo 27-8000-300, JDSU) y la potencia óptica de entrada fue de 5 mW. La radiación óptica fue inyectada en uno de los extremos de la TOF. Se conecta un medidor de potencia óptica (modelo PM100D, Thorlabs) en el otro extremo de la TOF para monitorear la potencia óptica que se propaga a través de ésta.

En la figura 3.10 se muestra el proceso de la deposición de nanotubos y de hormona hCG sobre la TOF y el sistema experimental utilizado.

Proceso de deposición de nanotubos y hCG en una TOF.

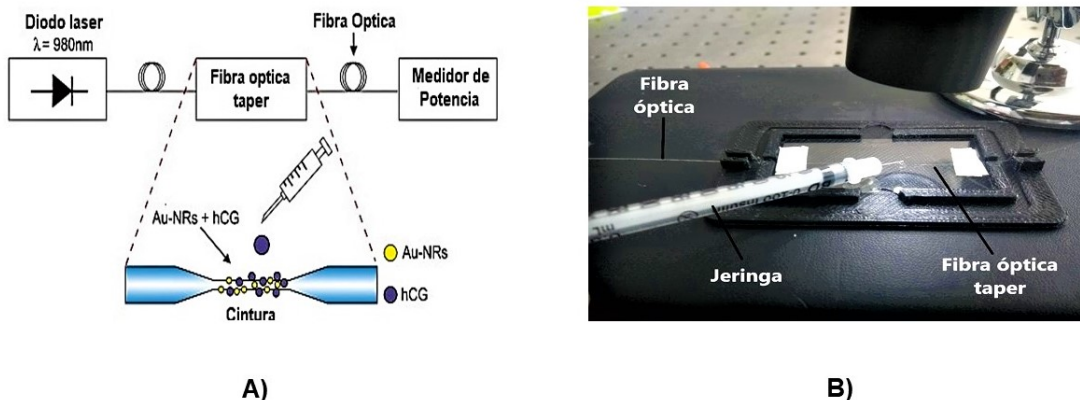


Figura 3.10: Configuración experimental de hCG depositada en la fibra óptica cónica funcionalizada

Una vez encendido el láser, se deposita una gota con la solución precursora de Au-NTs en la región de la cintura de la TOF, como se muestra en la figura 3.11. El campo evanescente es suficiente para funcionalizar la TOF con los Au-NTs como se ha reportado anteriormente con otras nanopartículas metálicas [69] [70] [71].

Proceso de deposición de nanotubos y hCG en una TOF.

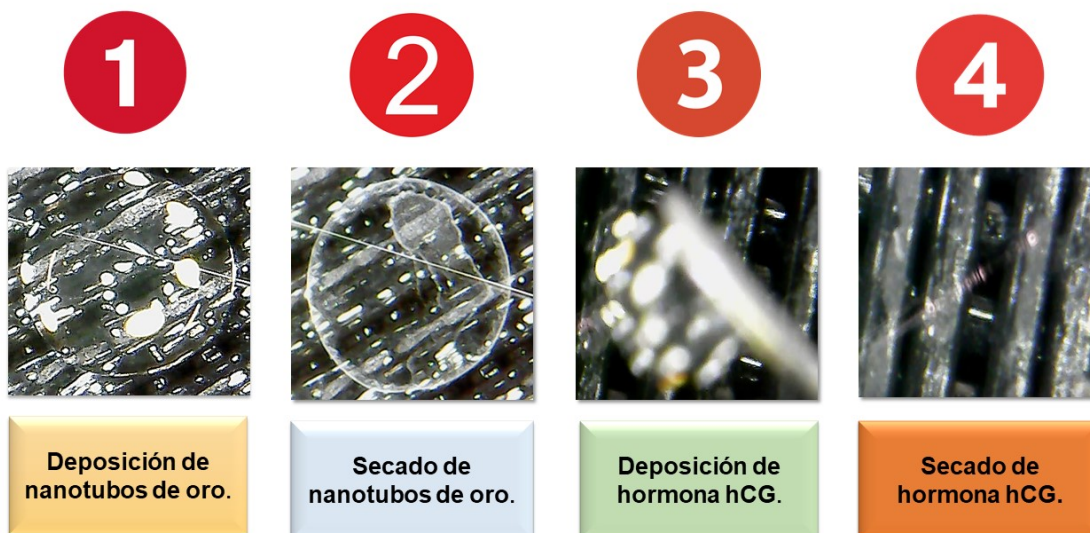


Figura 3.11: Proceso de deposición de la gota

Una vez que se evapora la gota con la solución de Au-NTs, se continúa con el monitoreo de la potencia de salida, observándose que llega un momento en que dicha medición se estabiliza. Posteriormente, se apaga el láser de bombeo y al encenderlo de nuevo después de media hora, por ejemplo, se obtiene nuevamente la misma medición de potencia de salida registrada antes

de apagar el láser. Con esto se comprobó que no se presentaba ningún cambio en la fibra óptica taper funcionalizada con los Au-NTs.

En la figura 3.12, se presenta tres imágenes obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (SEM) de las TOF funcionalizadas con Au-NTs, aplicando diferentes potencias ópticas de entrada: a) 53mW, b) 38mW, c) 37mW. Se observa como se depositan los Au-NTs en la superficie de la fibra óptica taper, siendo mayor el número de nanotubos depositados a mayor potencia de entrada y viceversa.

En este caso, se caracterizó el comportamiento de la potencia de salida de la TOF funcionalizada con los Au-NTs para los tres casos presentados en la figura 3.11.

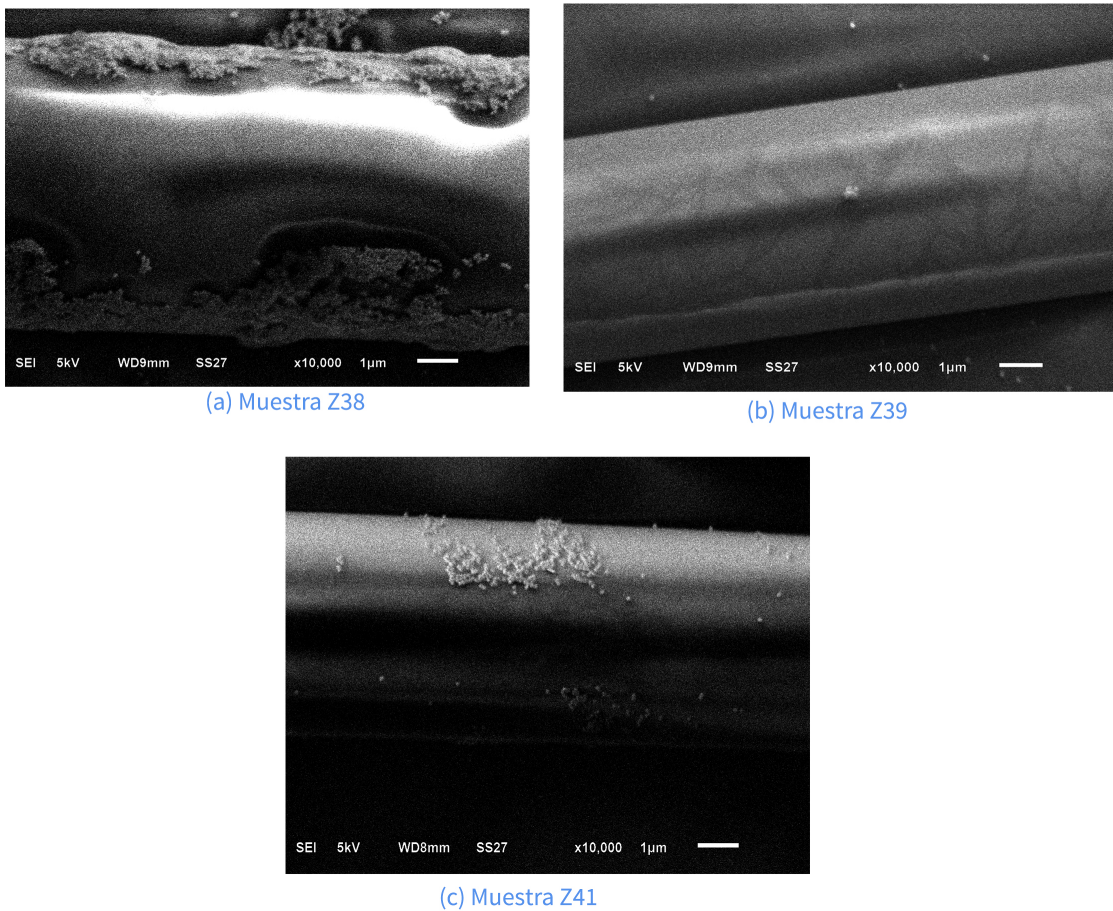


Figura 3.12: Imágenes SEM de la TOF funcionalizada con Au-NTs a diferencias potencias de transmisión de potencia óptica

En el SEM, también fue posible llevar a cabo el análisis de Espectrometría de Dispersión de Energía de rayos X (EDSX, por sus siglas en inglés), para verificar los elementos químicos que componen a la fibra óptica taper funcionalizada.

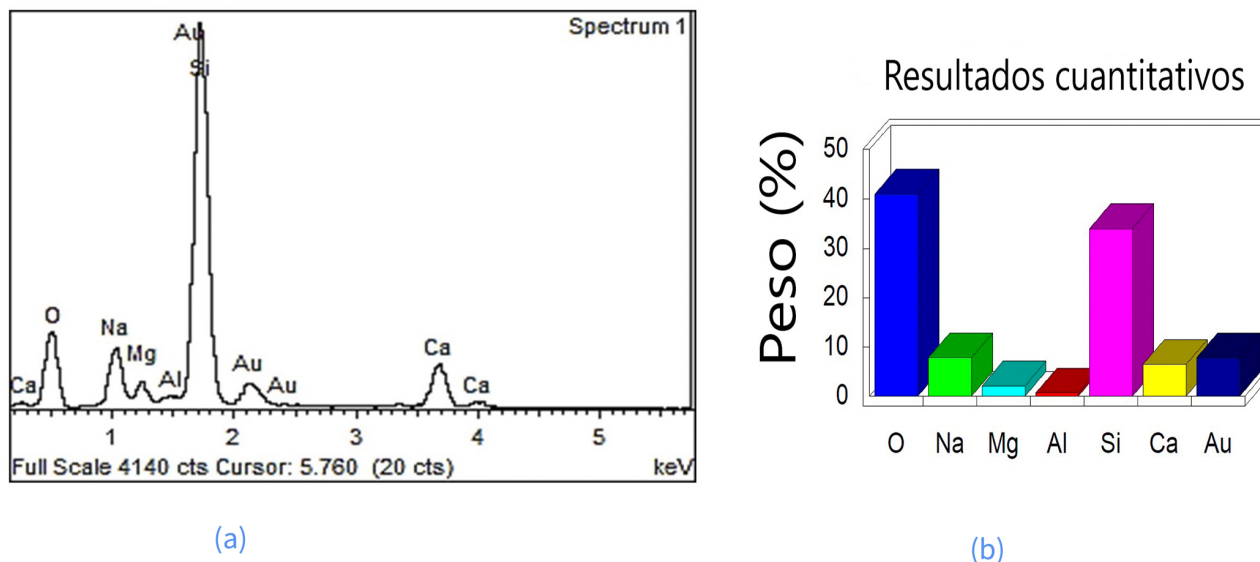


Figura 3.13: Histograma de elementos químicos y espectro EDSX

En la figura 3.13, se presenta el histograma y el porcentaje atómico de la composición química. Los elementos químicos detectados son: silicio (Si), Oxígeno (O), Oro (Au), Sodio (Na), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Aluminio (Al). Para descartar los elementos que contiene el portaobjetos, se realizó la caracterización EDS al portaobjetos sin la fibra óptica, a partir del cual se obtiene que los elementos químicos correspondientes debido al portaobjetos son: Si, O, Na, Mg, Al; el Ca se atribuye a la cinta que se utiliza para fijar la muestra en la base del SEM. Por lo tanto, al integrar la fibra óptica taper funcionalizada aparecen los elementos correspondientes, los cuales son Si, O de la fibra óptica y Au de los nanotubos. No se presenta ningún otro elemento que pudiera darse por contaminación de la fibra óptica taper al fabricarse, o al manipularse y transportarse desde la funcionalización hasta su caracterización.

Una vez funcionalizada la TOF con los Au-NT, se caracterizó el comportamiento de la potencia de salida para los tres casos presentados en la 3.11, se presentan las gráficas de comportamiento de la potencia óptica de salida de las muestras Z38, Z39 y Z41 . En la figura figura 3.14 se presenta una tabla con las características de deposición de los Au-NTs, para las tres imágenes de SEM presentadas en la figura 3.12.

N_{fibra}	<i>Deposicion</i>	$P_{ent}(mW)$	$P_{sal}(mW)$ Antes de depositar Au-NTs	$P_{final}(mW)$ Al funcionalizar la TOF con los Au-NTs
Z38	Nanotubos de oro	53	13.9	Se fue a cero la medición
Z39	Nanotubos de oro	38	4.1	1.4
Z41	Nanotubos de oro	37	11.4	4.5

Figura 3.14: Valores de potencia óptica de deposición de Au-NTs en la TOF.

En el caso de la muestra Z38, se aplicó una potencia de entrada de 53mW, obteniéndose antes de la deposición de los Au-NTs una potencia de 13.96 mW. Al aplicar la gota de solución con Au-NTs la potencia de salida empieza a variar, decayendo la intensidad de la potencia óptica. Conforme se seca la gota de solución de Au-NTs los nanotubos son atraídos por medio del campo evanescente a la superficie de la TOF, llevándose a cabo la deposición de éstas, como se observa en la figura 3.15a). La variación de la intensidad del minuto 2.3 hasta el minuto 4.0, se considera que se debe al proceso de deposición de los nanotubos en la TOF. En este caso, al secarse la gota se observó que inmediatamente la radiación óptica de salida se va a cero. En este caso, tomando en cuenta el SEM de la figura 3.12 a), se considera que al depositarse una mayor cantidad de Au-NTs sobre la superficie de la TOF debido a la potencia de entrada de 53 mW, los Au-NTs absorben una mayor de campo evanescente propagándose a los largo del TOF, lo cual conduce a cero la potencia a la salida.

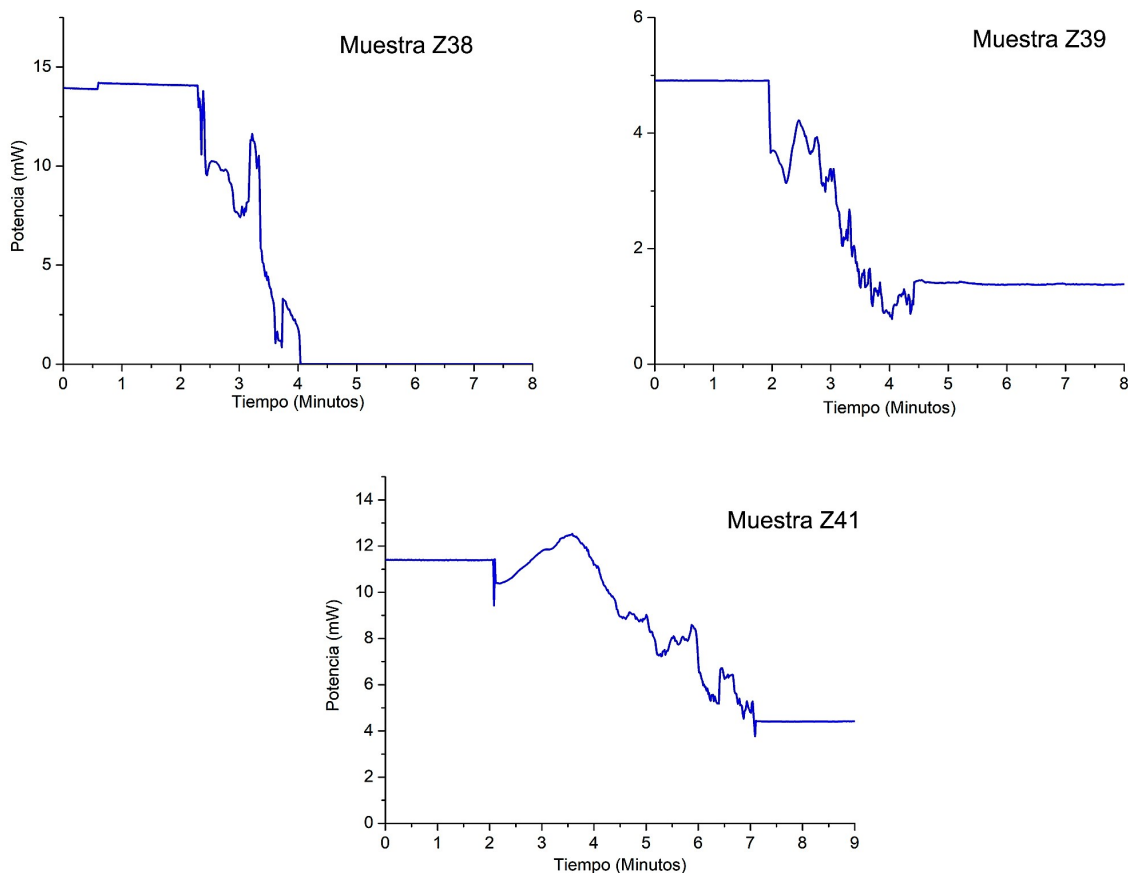


Figura 3.15: Respuesta de la potencia óptica en el proceso de deposición de Au-NTs para diferentes potencias de entrada y de salida.

En el caso de la muestra Z39, se redujo la potencia de entrada a 38 mW, obteniéndose una potencia a la salida de la TOF 4.89 mW, antes de la aplicación de la gota con solución de Au-NTs. Al aplicarse los Au-NTs, se observa una reducción abrupta a 3.67 mW y se observa un proceso de interacción de los Au-NTs con la radiación del campo evanescente del desde 1.97 minutos hasta 4.57 minutos, en el cual se seca la gota de la solución de Au-NTs. En este caso, la potencia de salida se ha reducido a 1.42 mW y se mantiene estable hasta que se apaga el láser de bombeo 4 minutos después del secado de la gota. En este caso, debido a la reducción de la potencia de salida al depositar las Au-NTs en la TOF, se observa en la figura 3.14 b) que se redujo significativamente la cantidad de Au-NTs depositadas en la superficie de la TOF, pues la fuerza de atracción de la radiación es mucho menor, atrayendo en consecuencia una menos cantidad de Au-NTs.

Con la muestra Z41, se aplicó una potencia de entrada igual al caso de la muestra Z39; sin embargo, se observa en la figura 3.15, que la potencia de salida es de 11.39 mW antes de la aplicación de la gota de solución de Au-NTs. Las pérdidas en este caso son menores con respecto a la muestra Z39, por lo que hay una intensidad óptica mayor propagándose a lo largo de la TOF. Al aplicarse la gota de la solución de Au-NTs, la potencia cae abruptamente a 9.45 mW e inicia el proceso de interacción de los Au-NTs con el campo evanescente, que en este caso es mayor que en el caso de la muestra Z39. Del minuto 2.06 al minuto 7.1 en el cual se seca la gota, se observa la variación de la potencia óptica debido al proceso de interacción del campo evanescente con los Au-NTs. Al secarse la gota se mantiene una potencia de salida de 7.46 mW

de la TOF funcionalizada con los Au-NTs. Al observar la imagen SEM de la figura 3.12 c), se depositó una mayor cantidad de Au-NTs en la superficie de la TOF con respecto a la muestra Z39 pero menor con respecto a la muestra Z38.

Por lo tanto, debido a que una vez que se depositan los Au-NTs sobre la TOF se depositará posteriormente la hormona hCG, se determinó trabajar con fibras ópticas con un diámetro de 2.5 a 3 μm , con potencias ópticas de salida correspondientes a las obtenidas con la muestra Z41. Esto es, debido a que es necesario que el campo evanescente que se propague a través de la fibra TOF funcionalizadas con los Au-NTs sea suficiente para atraer la hormona hCG a la superficie de la TOF. Realizándose diversas pruebas, se determinó un rango de potencia de entrada de 30-38 mW con una potencia de salida antes de la aplicación de la gota de solución de Au-NTs de 10-11.5 mW, a partir de las cuales se obtiene una potencia estable entre 1-5 mW de la TOF funcionalizada con Au-NTs.

3.3.1. Deposición de hormona hCG y caracterización óptica

La deposición de la hormona hCG se lleva a cabo una vez que se ha funcionalizado la TOF con aplicando la gota de la solución de Au-NTs. Posteriormente al secado de la gota de dicha solución, como se explicó anteriormente, se apaga y se enciende el láser para comprobar que la salida de potencia óptica es la misma. Se espera tres minutos a que se estabilice la medición y se deposita una gota de la solución con la hormona hCG, exactamente donde quedo la marca de la gota depositada con Au-NTs. Se mantiene la transmisión de la radiación a través de la TOF, hasta que se seca la gota de solución con hCG y se estabilice la potencia de salida.

Para estas pruebas se establecieron 4 niveles de concentración, como se explicó previamente en la subsección 3.2.2, utilizando una prueba de embarazo digital:

- No embarazada; [<2.5 IU/ml]
- 1-2 semanas de embarazo; [2.5 IU/ml]
- 2-3 semanas de embarazo; [4.7 IU/ml]
- 3+ semanas de embarazo; [8.29 IU/ml]

Antes de iniciar las pruebas de la interacción de la hormona hCG con la TOF funcionalizada con Au-NTs, se comprobó la respuesta óptica de la TOF a la hCG sin depositar los Au-NTs. En la figura 3.16, se presentan los cuatro casos a analizar. En este caso, se aplica la gota con la solución de hCG a la fibra óptica adelgazada.

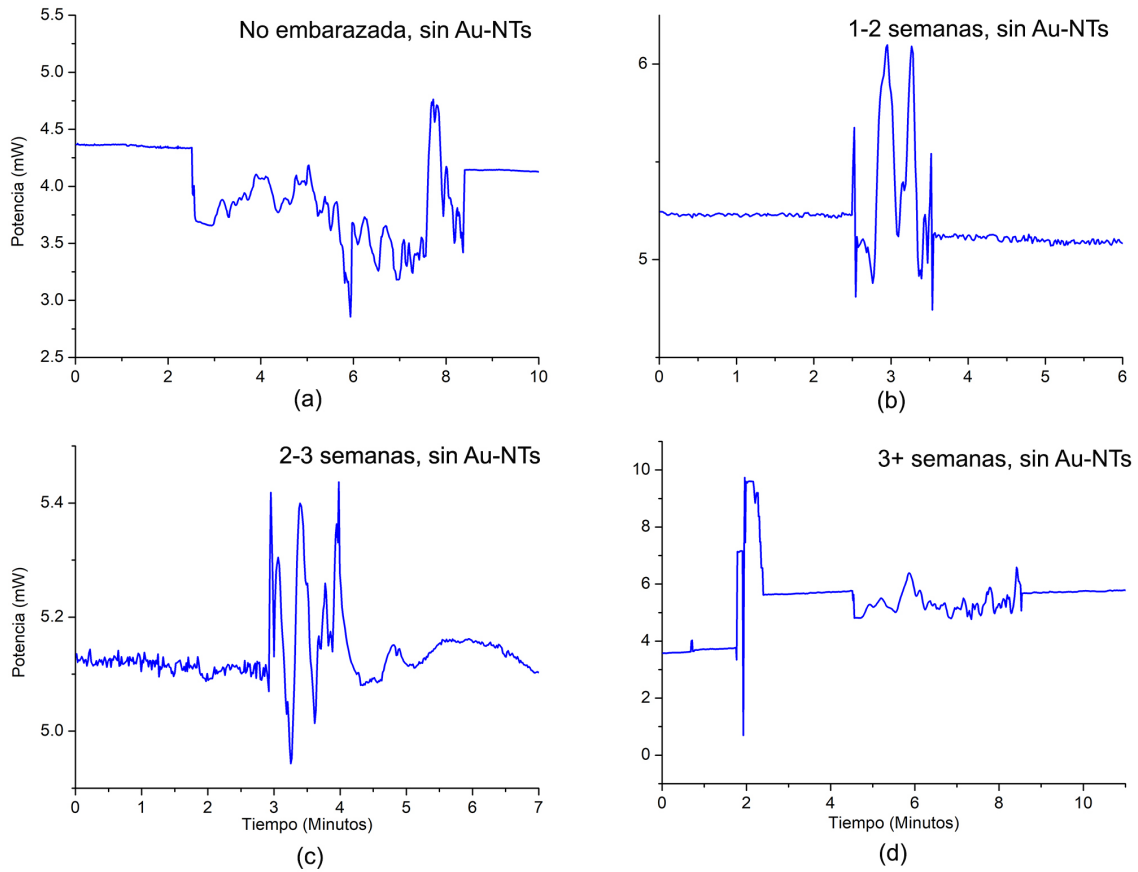


Figura 3.16: Respuesta de potencia óptica de la interacción de la hCG con la TOF.

A continuación se lleva a cabo el análisis de la respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG.

3.3.2. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso No Embarazada (<2.5 IU/ml)

Una vez funcionalizada la TOF con los Au-NTs, se prepara la solución de hCG y se comprueba con la prueba de embarazo comercial que de como resultado No Embarazada, esto implica una baja concentración de hCG en la solución. En la figura 3.17, se presenta el comportamiento de la potencia óptica a la salida. En la figura 3.10, se presenta todo el proceso desde la deposición de las Au-NTs sobre la TOF. En el minuto 12:38, se aplica la solución de hCG e inmediatamente la potencia de salida baja y se observa un comportamiento variable en la potencia de salida debido a la interacción que se está llevando a cabo entre la hCG con el campo evanescente interactuando con los Au-NTs, llegando a estabilizarse en el minuto 15.15.

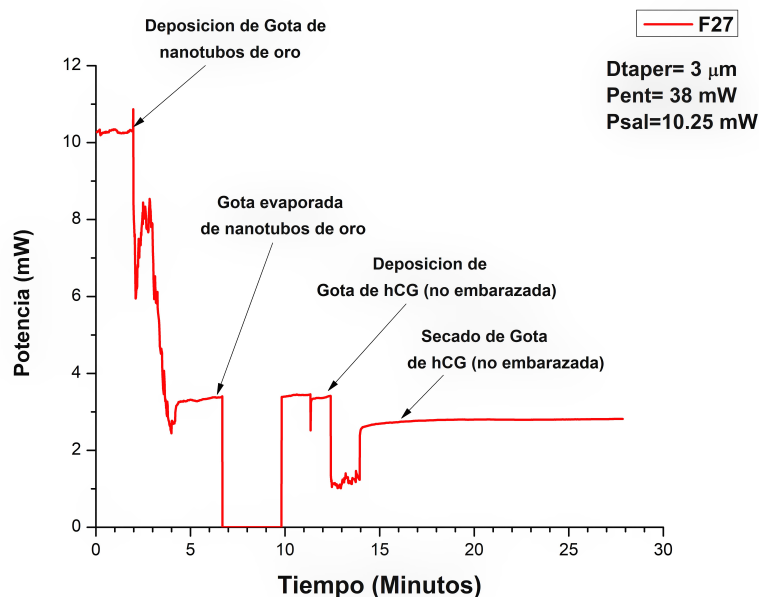


Figura 3.17: Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso No Embarazada (<2.5 IU/ml).

En la figura 3.18 se presenta, en el caso de dos muestras diferentes, un acercamiento al comportamiento de la potencia óptica en el momento de depositar la gota de solución de hCG, en donde se observa que se genera un escalón al momento en que la gota de solución de hCG toca la TOF funcionalizada con Au-NTs. En este caso se observa que la respuesta inmediata es una reducción de la potencia óptica de salida de 2.2 mW en la muestra a) y de 2.2 mW en la muestra b), el ancho del escalón es de 0.9 y 1.5 minutos, respectivamente. Produciéndose a continuación la oscilación en la respuesta durante el tiempo en que la gota de hCG está interactuando con la TOF funcionalizada con Au-NTs, hasta que se evapora. La potencia de salida se mantiene estable una vez evaporada la gota de hCG sobre la TOF funcionalizada con Au-NTs.

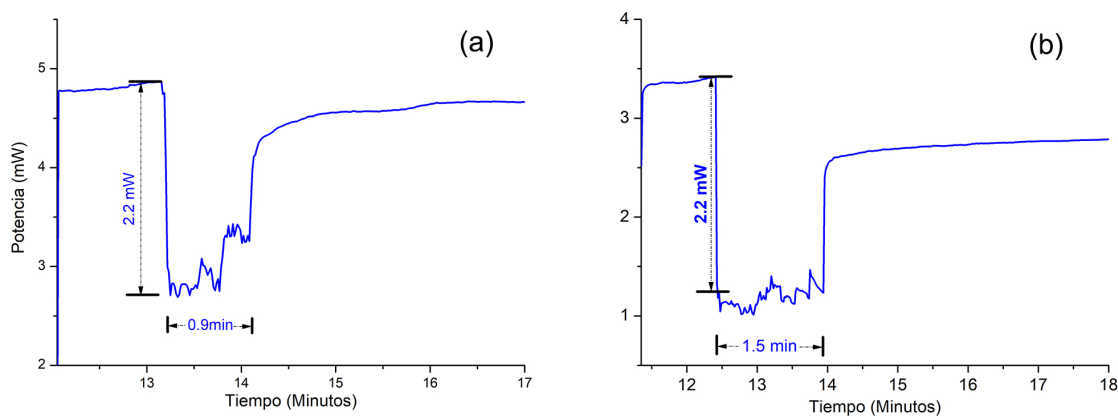


Figura 3.18: Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso No Embarazada (<2.5 IU/ml).

En este caso se puede observar que aunque la deposición de la solución de hCG se realizó con una diferencia de potencia óptica propagándose a través de la TOF funcionalizada, el rango

de respuesta inmediata en la reducción de la potencia de salida al aplicar la gota de hCG es de 2.2 mW. Con respecto al ancho del escalón, hay una diferencia de 0.6 minutos respecto al secado de la gota; esto es, a mayor potencia propagándose a través de la fibra es menor el tiempo de secado de la gota de solución y viceversa.

3.3.3. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 1-2 semanas de embarazo (2.5 IU/ml)

En la figura 3.19 se presenta la respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, al incrementar la concentración de la hCG en la solución, para el caso en que la prueba de embarazo comercial indica 1-2 semanas de embarazo, esto es 2.5 IU/ml.

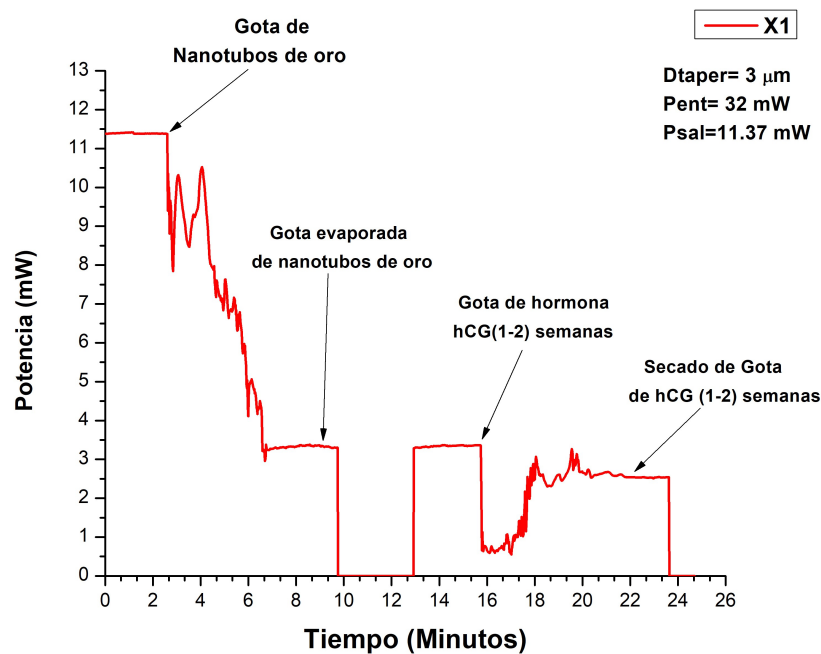


Figura 3.19: Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 1-2 semanas de embarazo; [2.5 IU/ml].

En este caso, se observa que la potencia a la salida, después de depositar la gota de la solución con hCG, tarda más tiempo en estabilizarse.

En la figura 3.20, se presenta el comportamiento de la potencia óptica al depositar la hCG sobre la TOF funcionalizada con Au-NTs. En este caso, se observa que se presenta la respuesta inmediata al aplicar la gota de hCG sobre la TOF, sin embargo, solamente se forma el escalón en el primer caso. En el segundo caso, posteriormente a la respuesta de deposición, la potencia se reduce a casi cero y no se forma el escalón. Sin embargo, enfocándonos a la respuesta en el instante de la deposición de la hCG en la TOF, se obtiene en ambos casos un valor similar de diferencia de potencia óptica, siendo de 2.7 mW y 2.6 mW.

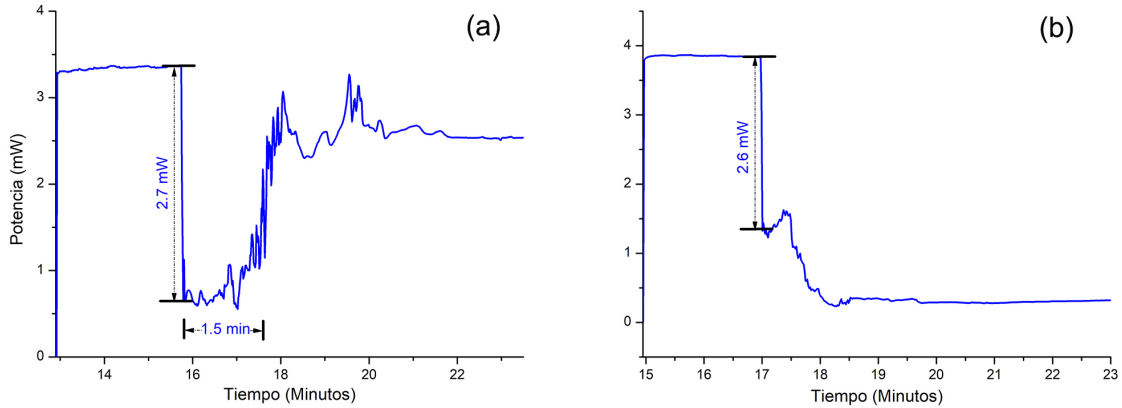


Figura 3.20: Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 1-2 semanas de embarazo; [2.5 IU/ml].

3.3.4. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 2-3 semanas de embarazo (4.7 IU/ml)

En el caso de 2-3 semanas de embarazo, la concentración de la hCG se considera de 4.7 IU/ml, en la figura 3.21 se presenta la respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG. En este caso, la potencia a la salida al funcionalizar la TOF con los Au-NTs es mayor con respecto a los casos presentados anteriormente, siendo de 8.6 mW. Se obtiene la respuesta al depositar la gota de solución de hCG sobre la TOF funcionalizada, generando un escalón en la respuesta óptica hasta el secado de la gota.

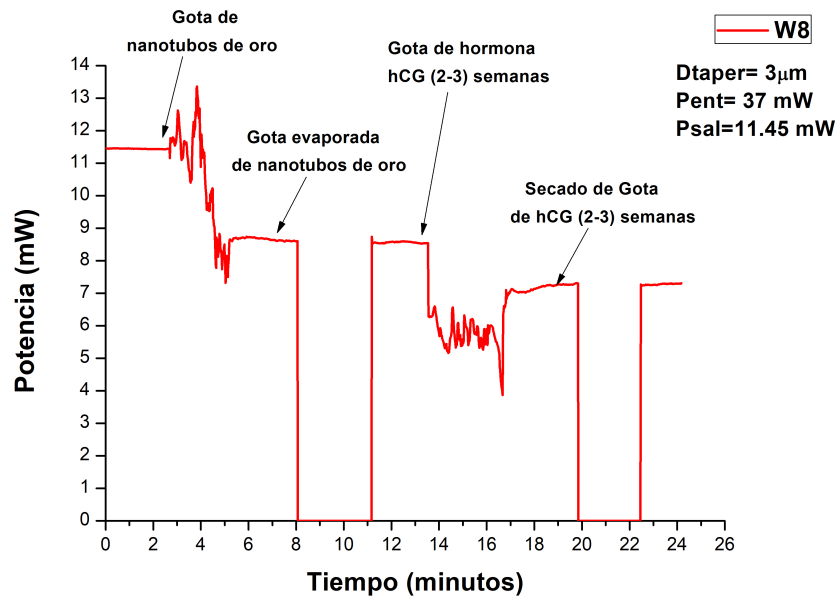


Figura 3.21: Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 2-3 semanas de embarazo; [4.7 IU/ml].

En la figura 3.22 se presentan dos casos, en el primer caso se presenta la respuesta de la

TOF funcionalizada a la hCG para una potencia de 3.8 mW y en el segundo caso para una potencia de 8.6 mW.

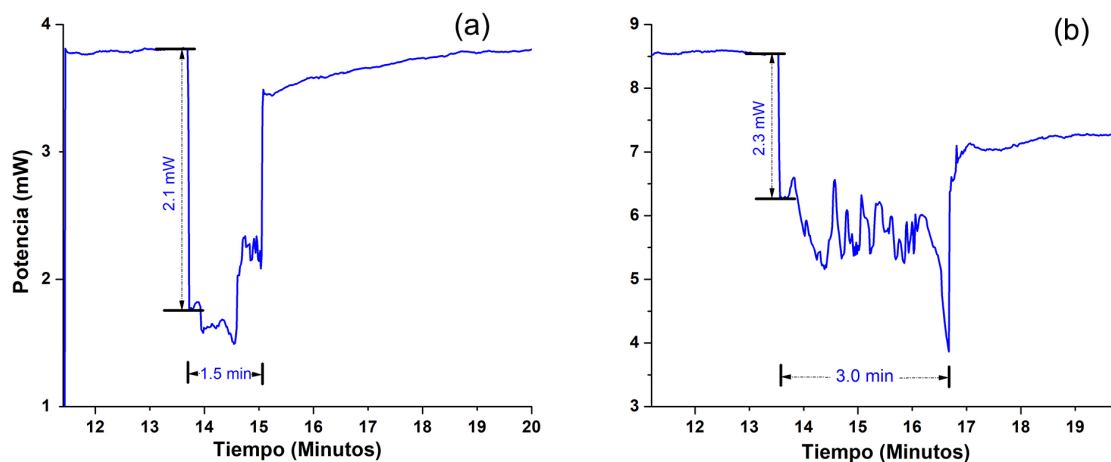


Figura 3.22: Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 2-3 semanas de embarazo; [4.7 IU/ml].

En este caso la respuesta de la diferencia de potencia al aplicar la solución de hCG es de 2.1 y 2.3 mW, respectivamente. En el caso del ancho del escalón generado es de 1.5 y 3.0 minutos.

3.3.5. Respuesta de la TOF funcionalizada con los Au-NTs a la hCG, caso 3+ semanas de embarazo (8.29 IU/ml)

En la figura 3.23 se presenta la respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para una concentración de hCG de 8.29 IU/ml, esto es el caso 3+ semanas de embarazo indicados en la prueba comercial.

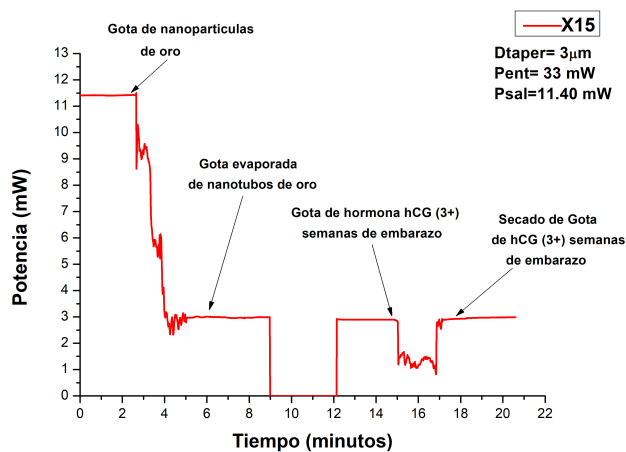


Figura 3.23: Respuesta óptica de la deposición de Au-NTs en la TOF y de la hormona hCG, para el caso 3+ semanas de embarazo; [8.29 IU/ml].

En este caso se depositó los Au-NTs sobre la TOF a una potencia de 11.3 mW, una vez funcionalizada la potencia a la salida fue de 3 mW, aproximadamente.

En la figura 3.24 se observa la respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG para dos casos. En ambos casos, a pesar de la diferencia del ancho del escalón generado en le respuesta óptica, la respuesta en la diferencia de la potencia óptica al aplicar la gota de hCG en la TOF es similar. Los respuesta óptica fue de 1.7 mW y 1.6 mW, respectivamente.

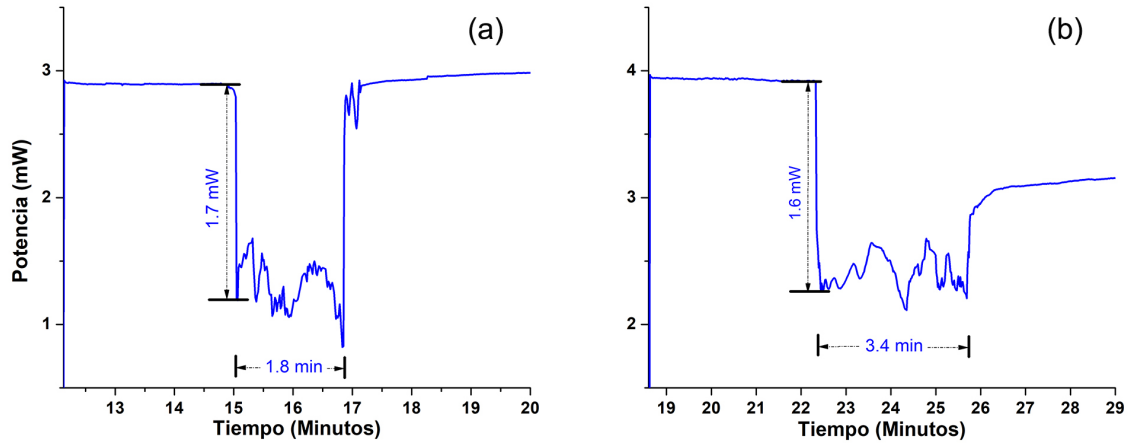


Figura 3.24: Respuesta de la potencia óptica de la TOF funcionalizada con Au-NTs a la hCG, para el caso 3+ semanas de embarazo; [8.29 IU/ml].

3.3.6. Análisis comparativo

En la figura 3.25 se expone una tabla con los valores de diferencia de potencia de todas las gráficas la cual se muestra a continuación:

Concentracion hCG (IU/ml)	Deposición	$P_{respuesta}(mW)$
Menor a 2.5 IU/ml	a) Au-NTs+hCG(No embarazada)	2.2
	b) Au-NTs+hCG(No embarazada)	2.2
2.5 IU/ml	a) Au-NTs+hCG(1-2 semanas de embarazo)	2.7
	b) Au-NTs+hCG(1-2 semanas de embarazo)	2.6
4.7 IU/ml	a) Au-NTs+hCG(2-3semanas de embarazo)	2.1
	b) Au-NTs+hCG(2-3 semanas de embarazo)	2.3
8.29 IU/ml	a) Au-NTs+hCG(3+ semanas de embarazo)	1.7
	b) Au-NTs+hCG(3+ semanas de embarazo)	1.6

Figura 3.25: Tabla representativa de todos lo valores de bajada de cada una de las diferentes concentraciones de hormona.

Realizando un análisis basándose en la respuesta de la potencia óptica al aplicar la gota de solución de hCG sobre la TOF funcionalizada con Au-NTs, en los casos de la variación de concentración de la hCG desde 2.5 IU/ml a 8.29 IU/ml, se observa que a mayor concentración de la hCG en la solución la diferencia de potencia óptica a la salida se va reduciendo. Esto

consideramos puede deberse a que, al contener la solución una mayor cantidad de hCG la TOF funcionalizada detecta más rápido la presencia de la misma al aplicar la gota de la solución.

Sin embargo, con las muestras que se obtuvieron para el caso de concentraciones menores de 2.5 IU/ml, los valores de la respuesta de la potencia óptica se encuentran el rango de los detectados para el caso de 4.7 IU/ml. Desafortunadamente, debido a la falta de tiempo por la pandemia que atravesamos actualmente, no ha sido posible llevar a cabo un mayor número de pruebas para determinar si este comportamiento se mantiene o si dichos valores se deben a algún motivo externo, que pueda afectar la caracterización.

Finalmente, al comparar los resultados de las pruebas de detección de la hCG realizadas con TOF funcionalizadas con los Au-NTs y las TOF sin AU-NTs, se puede concluir que el uso de los nanotubos de oro en la fibra óptica taper, coadyuvan en la detección de la hormona hCG en función de su concentración.

Conclusiones

En este trabajo se determinó la detección de la hormona hCG a través de su interacción con el campo evanescente de fibras ópticas taper funcionalizadas con nanotubos de oro. Se llevó a cabo la caracterización óptica de la funcionalización de la fibra óptica taper y de la detección de la hormona hCG, por medio de la técnica de microscopía electrónica de barrido, la Espectrometría de Dispersión de Energía de rayos X y el comportamiento de la potencia óptica. A partir de lo cual se determinó el rango de potencia óptica para funcionalizar la fibra óptica taper con los nanotubos de oro, siendo establecido entre 30mW y 39 mW, con una potencia de salida de 10 mW a 11.5 mW, para realizar posteriormente la detección de la hormona hCG.

Se descartó algún agente externo como polvo o suciedad que pudiera alterar la respuesta óptica de salida al momento de realizar la deposición de nanotubos y hormona gracias a la alta sensibilidad de la fibra, se realizó el análisis de Espectrometría de Dispersión de Energía de rayos X para descartar la presencia de algún elemento químico diferente a los esperados por la estructura del portaobjetos, la base del portamuestras del SEM, la fibra óptica y los nanotubos de oro. No se observó ningún elemento químico adicional y en consecuencia se puede dar paso a las pruebas, sin la incertidumbre de que la respuesta óptica se vea afectada por algún contaminante en la muestras.

Se llevó a cabo la caracterización de la detección de la hormona hCG a diferentes concentraciones, desde 2.5 IU/ml a 8.29 IU/ml, para determinar si era posible a través de la interacción del campo evanescente con los nanotubos de oro. Al depositar hormona hCG a diferentes concentraciones, se obtuvo que a menor concentración de hormona (1-2 semanas de embarazo), la respuesta de la potencia óptica de salida es más prolongada que a mayor concentración (3+ semanas de embarazo) puesto que, al ir aumentando más la concentración de hormona, altera el comportamiento de la potencia óptica gracias a la absorción del campo evanescente por la hormona hCG y este actúa respondiendo con una disminución de la potencia óptica menos prolongada.

Cabe mencionar que aunque es necesario llevar a cabo un estudio experimental más amplio sobre la detección de la hormona hCG a través de su interacción con el campo evanescente de fibras ópticas taper funcionalizadas con nanotubos de oro, consideramos que este trabajo proporciona las bases para estudiar en futuros trabajos, métodos para aumentar la sensibilidad de detección de la concentración de la hormona hCG a niveles que permitiría detectar la presencia de patologías cancerosas, por ejemplo. Además es necesario verificar la sensibilidad de detección del sistema de sensado propuesto, así como, determinar si la tendencia de respuesta en potencia óptica se mantiene, para detectar la concentración de hormona en solución en un rango más amplio, sobre todo a niveles más bajos.

Bibliografía

- [1] Beatriz E. Soledad. *Biosensores en la Industria*. Lulu.com, Primera edición, 2009.
- [2] Frances Ligler, Chris R. Taitt. *Optical biosensors: today and tomorrow*. Elsevier, Segunda edición, 2008.
- [3] Andreas B. Dahlin. *Plasmonic Biosensors: An Integrated View of Refractometric Detection*. IOS press, Volumen 4, 2011.
- [4] Oskar R. Zaborsky. Immobilization of Enzymes by Adsorption; Biomedical Applications of Immobilized Enzymes and Proteins. *Plenum Press*, 37–46, 1977.
- [5] Jerome Schultz, Richard F. Taylor. *Handbook of Chemical and Biological Sensors*. Crc Press, 1996.
- [6] Thomas Scheper. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, 2008.
- [7] Mel N Kronick, William A Little. A New immunoassay based on fluorescence excitation by internal reflection spectroscopy. *Journal of Immunological Methods*, 8:235-240, 1975.
- [8] Jerome S Schultz. Thirty-Fifth Anniversary of the Optical Affinity Sensor for Glucose: A Personal Retrospective. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 9(1):153-5, 2015.
- [9] Jerome S. Schultz , Sohrab Mansouri, Irwin Goldstein. Affinity Sensor: A New Technique for Developing Implantable Sensors for Glucose and Other Metabolites. *Diabetes care*, 5(3):245-53, 1982.
- [10] Rafael G Coxca. Caracterización de micro-nano fibras ópticas para el desarrollo de dispositivos fotónicos. Tesis de Maestría FCE BUAP, (2016).
- [11] Takeshi Ozeki ,B Kawasaki. Efficient power coupling using taper-ended multimode optical fibres. *in Electronics Letters*, 12(23):607-608, 1976.
- [12] Haifeng Liu. Relative Humidity Sensor Based on S-Taper Fiber Coated With SiO₂ Nanoparticles. *in IEEE Sensors Journal*, 15(6):3424-3428,2015.
- [13] John Miller, Angelica Castaneda. Biconically tapered fiber optic probes for rapid label-free immunoassays. *Biosensors*, 5(2):158-71, 2015.
- [14] Donghui He. Micro fiber with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles and violet light sensing. *2017 Opto-Electronics and Communications Conference (OECC) and Photonics Global Conference (PGC)*, 7(1):1-2, 2017.

- [15] Wan Baihaqi Wan Ab Rahman . Label-Free Detection of Dissolved Carbon Dioxide Utilizing Multimode Tapered Optical Fiber Coated Zinc Oxide Nanorice. *in IEEE Access*, 7:4538-4545, 2019.
- [16] Sivacoumar Rajalingam ,Alex Zachariah., Tapered Optical Fiber Bio-Sensor for Testosterone Detection ,IMCS2012.
- [17] Xiang Yan, Mian He, Xiaoming Liao. Detection of HCG-antigen based on enhanced photoluminescence of hierarchical ZnO arrays. *Colloids Surf B Biointerfaces* , 89:86-92, 2012.
- [18] Ning Xia, Xin Wang ,Lin liu. A Graphene Oxide-Based Fluorescent Method for the Detection of Human Chorionic Gonadotropin. *Sensors 2016*, 16(10): 1699, 2016.
- [19] Kamrul Islam, Ahmed Suhail, Genhua Pan. A Label-Free and Ultrasensitive Immunosensor for Detection of Human Chorionic Gonadotropin Based on Graphene FETs. *Biosensors (Basel)*, 2017.
- [20] Eyad M. Hamad, Ghadeer Hawamdeh, Noor Abu Jarrad, Omar Yasin, Samer I. Al-Gharabli. Detection of Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Hormone using Digital Lateral Flow Immunoassay. *2018 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Honolulu, HI, 3845-3848, 2018,
- [21] Laurence Cole, Stephen Butler. *Human Chorionic Gonadotropin (hCG)*. Elsevier, Second edition, 2015.
- [22] Ye Tian, Wenhui Wang. Tapered Optical Fiber Sensor for Label-Free Detection of Biomolecules. *Sensors 11*, 11(4):3780–3790, 2011.
- [23] Amarjeet S. Bassi, George K. Knopf. *Smart Biosensor Technology*. Crc press, Primera edición ,2007.
- [24] Jingyi Lou, Yipei Wang. Microfiber Optical Sensors: A Review.*Sensors 14*, 14(4):5823-44, 2014
- [25] Nancy Elizabeth González-Sierra,Luz del Carmen Gómez-Pavón,Gerardo Francisco Pérez-Sánchez,Arnulfo Luis-Ramos, Plácido Zaca-Morán, Jesús Manuel Muñoz-Pacheco, Fernando Chávez-Ramírez. Tapered Optical Fiber Functionalized with Palladium Nanoparticles by Drop Casting and Laser Radiation for H₂ and Volatile Organic Compounds Sensing Purposes. *Sensors 17*,17(9): 2039, 2017.
- [26] Clarence W. De Silva. *Sensor Systems: Fundamentals and Applications*.CRC press,2016.
- [27] Jacob fraden. *Handbook of Modern Sensors: Physics, Designs, and Applications*. Springer, 2014.
- [28] John G. Webster, Halit Eren. *The Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook (Electrical Engineering Handbook)*. CRC Press, 1999.
- [29] Gerard Meijer.*Smart Sensor Systems*. Wiley-Interscience, 2008.
- [30] Nathan Ida. *Sensors, Actuators, and Their Interfaces: A Multidisciplinary Introduction*. SciTech Publishing, 2014.

- [31] Chandra Mouli Pandey, Bansi Dhar Malhotra. *Biosensors: Fundamentals and Applications*. De Gruyter, 2019.
- [32] Jeong-Yeol Yoon *Introduction to Biosensors: From Electric Circuits to Immunosensors (2nd Softcover Reprint of the Original 2nd 2016 ed.)*. Springer, 2018.
- [33] Chandran Karunakaran, Kalpana Bhargava, Robson Benjamin. *Biosensors and Bioelectronics (Illustrated ed.)*. Elsevier, 2015.
- [34] Jim Hayes. *Fiber Optics Technician's Manual*. Delmar Pub, 2000.
- [35] Gennady Evtugyn. *Biosensors: Essentials*. Springer, 2013.
- [36] John Senior. *Optical Fiber Communications: Principles and Practice*. Pearson, 2008.
- [37] John Crisp. *Introduction to Fiber Optics*. Newnes ,2005.
- [38] [En línea](Enero 2021). http://www.passmyexams.co.uk/GCSE/physics/total-internal_reflection.html, Total Internal Reflection.
- [39] Bahaa E. A. Saleh ,and Malvin C. Teich. *Fundamentals of Photonics (2nd ed.)*. Wiley-Interscience, 2007.
- [40] [En línea](Enero 2021).<https://legacy-content01.cnx.org/content/m10571/latest/?collection=col10280/latest>, Total Internal Reflection.
- [41] Jürgen C. Schlesinger. *Optical Fibers Research Advances*. Nova Science, 2007.
- [42] Sergiy Korposh, Stephen W. James,. Tapered Optical Fibre Sensors: Current Trends and Future Perspectives. *Sensors (Basel)*, 19(10):2294, 2019.
- [43] Ricardo Correia, Stephen James, Stephen P Morgan, Seung-Woo Lee. Biomedical application of optical fibre sensors. *Journal of Optics*, 20(10):1088.
- [44] Nayeli Mantilla Hernandez. Interacción de nanopartículas y el campo evanescente de una fibra óptica taper con la hormona hCG. Tesis de Licenciatura FCE BUAP, 2019.
- [45] Chris D. Geddes, Joshep R. Lakowics. *Lakowics. Reviews in Fluorescence 2005*. Springer, 2005.
- [46] Aschheim S, Zondek B. The Detection of the Presence of the Hormone of the Anterior Pituitary Body in the Urine as an Aid to the Diagnosis of Pregnancy. *Klin Wochenschr*, 6:1322-1328,1927.
- [47] [En línea](Enero 2021). https://www.gonadotropina.com/gonadotropina_corionica_humana_hcg, Gonadotropina coriónica humana (hCG).
- [48] Howard W Jones Jr, Chorionic gonadotropin: a narrative of its identification and origin and the role of Georgeanna Seeger Jones. *Obstet Gynecol Surv*, 62(1):1-3, 2007.
- [49] L. A. Cole. Human Chorionic Gonadotropin (Hcg) (2nd Revised ed.). *Elsevier*, 2014.

- [50] Nelson Velazquez. La hormona gonadotrofina coriónica humana: Una molécula ubícua y versátil. Parte I. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*,74(2): 122-133, 2014.
- [51] Donna Day Baird, Clarice R. Weinberg, D. Robert McConnaughey, Allen J. Wilcox. Rescue of the Corpus Luteum in Human Pregnancy, *Biology of Reproduction*. 68(2):448–456, 2003.
- [52] [En línea](Enero 2021). <https://www.reproduccionasistida.org/la-hormona-del-embarazo-la-hormona-gonadotrofina-corionica-humana-beta-hcg/>, Cuáles son los valores normales de la hormona beta-hCG?.
- [53] Hung, W., Blizzard, R. M., Migeon, C. J., Camacho, A. M., and Nyhan, W. L. Precocious puberty in a boy with hepatoma and circulating gonadotropin. *The Journal of pediatrics*, 63(5):895-903, 1963.
- [54] Navarro C, Corretger JM, Sancho A, Rovira J, Morales L. Paraneoplastic precocious puberty. Report of a new case with hepatoblastoma and review of the literature. *Cancer*, 56(7):1725-9, 1985.
- [55] JF O'Connor , JP Schlatterer , S Birken. Development of highly sensitive immunoassays to measure human chorionic gonadotropin, its beta-subunit, and beta core fragment in the urine: application to malignancies. *Cancer Res*.48(5):1361-1366, 1988.
- [56] R J Norman,R H Buck. Detection of a small molecular species of human chorionic gonadotropin in the urine of patients with carcinoma of the cervix and cervical intraepithelial neoplasia: comparison with other assays for human chorionic gonadotropin and its fragments. *Gynecologic oncology*, 37(2):254-9, 1990.
- [57] M.H Bogart, M.R Pandian, O.W.Jones. Abnormal maternal serum chorionic gonadotrophin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn*, 7:623-630, 1987.
- [58] N.J.Wald, H.S Cuckle, J.W Densem. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancies. *BMJ*, 297:883-887, 1988.
- [59] P A Light .Tumour markers in testicular cancer. *Journal of the Royal Society of Medicine* vol. 78 *Suppl 6*,Suppl 6 (1985): 19-24.
- [60] Miriam Lenhard, Alexandra Tsvilina, Lan Schumacher. Human chorionic gonadotropin and its relation to grade, stage and patient survival in ovarian cancer. *BMC Cancer*, 12:2,2012.
- [61] Noel M. Lee. Nausea and vomiting of pregnancy. *Gastroenterol Clin North Am*, 40(2):309, 2011.
- [62] J C Kingdom, T Kelly, A B MacLean. Rapid one step urine test for human chorionic gonadotrophin in evaluating suspected complications of early pregnancy. *BMJ*. 302(6788):1308-1311, 1991.
- [63] A. R. Midgley, G. B. Pierce. Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin. *J Exp Med*, 115(2):289-294,1962.
- [64] [En línea](Enero 2021)https://cdn.shopify.com/s/files/1/1618/8597/products/VE-146-02_2000x.jpg?v=1585862505.

- [65] [En línea](Enero 2021). <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/900364?lang=en®ion=US> . Pagina de productos de Sigma-Aldrich.
- [66] [En línea](Enero 2021)<https://www.nanovexbiotech.com/products/nanoparticles/gold-nanoparticles/gold-nanorods/>. Pagina de productos de Sigma-Aldrich.
- [67] [En línea](Enero 2021).https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/c1063pis.pdf. Pagina de productos de Sigma-Aldrich.
- [68] [En línea](Enero 2021) https://cdn.shopify.com/s/files/1/1618/8597/products/VE-146-02_2000x.jpg?v=1585862505.
- [69] Nancy Elizabeth González-Sierra, Luz del Carmen Gómez-Pavón, Gerardo Francisco Pérez-Sánchez, Arnulfo Luis-Ramos, Plácido Zaca-Morán, Jesús Manuel Muñoz-Pacheco, and Fernando Chávez-Ramírez. Tapered optical fiber functionalized with palladium nanoparticles by drop casting and laser radiation for H₂ and volatile organic compounds sensing purposes. *Sensors*,17(9):2039, 2017.
- [70] Ken Kashiwagi and Shinji Yamashita. Deposition of carbon nanotubes around microfiber via evanescent light. *Opt. Express*, 17(20):18364-18370, 2009.
- [71] Luz del Carmen Gómez-Pavón, Arnulfo Luis-Ramos, Geovanni de Jesús Lozano Perera, Jesús Manuel Muñoz-Pacheco , Juan Pablo Padilla Martínez , and Plácido Zaca-Morán. Influence on the saturable absorption of the induced losses by photodeposition of zinc nanoparticles in an optical fiber. *Opt. Express*,26(2):1556-1563, 2018.