



B E N E M É R I T A
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ELECTRÓNICA

**“INTERACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS Y EL CAMPO
EVANESCENTE DE UNA FIBRA ÓPTICA TAPER CON LA
HORMONA hCG”**

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ELECTRÓNICA

PRESENTA

NAYELI MANTILLA HERNÁNDEZ*

ASESORES

DRA. LUZ DEL CARMEN GÓMEZ PAVÓN
PROFESORA INVESTIGADORA DE LA FCE

DRA. CAROLINA RICKENSTORFF PARRAO
PROFESORA INVESTIGADORA DE LA FCE

PUEBLA, PUEBLA
JUNIO, 2019

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mi familia, por su gran apoyo, motivación y confianza en todo momento.

Agradezco a mis asesores de tesis, la Dra. Luz del Carmen Gómez Pavón y la Dra. Carolina Rickenstorff Parrao por sus conocimientos compartidos, por la confianza que depositaron en mí, por el apoyo y motivación, por ser mi guía durante todo trabajo.

Agradezco a la VIEP por el apoyo para poder llevar a cabo este trabajo de tesis bajo el proyecto VIEP_BUAP No. VIEP_2018_ID 00290.

Resumen

Los biosensores se utilizan para medir distintos compuestos biológicos como bacterias, proteínas, etc. Encontrados en las áreas de alimentos, tratamiento de aguas, o el diagnóstico y control de enfermedades, estos dispositivos basan su funcionamiento en mecanismos biológicos o físicos. En particular la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) juega un papel importante como marcador temprano del embarazo e indicador de distintos tipos de cáncer. Se han dedicado grandes esfuerzos al desarrollo de biosensores de fibra óptica, en particular las micro/nanofibras ópticas son usadas como sensores ópticos para detectar sustancias químicas o biológicas ya que presentan propiedades únicas como: intensos campos evanescentes, inmunidad a la radiación electromagnética además de que son ligeras y compactas; las últimas dos propiedades dan la posibilidad de miniaturizar sistemas. Las nanopartículas (NPs) son estructuras sintetizadas que cuentan con una alta relación superficie/volumen y tienen la capacidad de responder óptica y electroquímicamente a estímulos externos. Las nanopartículas metálicas más ampliamente utilizadas como transductores en biosensores son oro (AuNPs) y plata (AgNPs) debido a su baja toxicidad y biocompatibilidad. Varios trabajos han observado que el recubrimiento de una micro/nanofibra con nanopartículas es un coadyuvante en su sensibilidad.

En base a lo anterior, en el presente trabajo de tesis se hará uso de fibras taper recubiertas con materiales nanométricos para determinar si son capaces de detectar el compuesto biológico de interés, la hormona hCG. Se presenta la fabricación de fibras ópticas con diámetros micrométricos y el proceso experimental para observar su respuesta en contacto con disoluciones de la hormona (hCG) en presencia de nanopartículas (NPs) de oro, las cuales serán depositadas de manera secuencial y simultánea sobre la fibra óptica taper. Por medio de mediciones de la intensidad óptica transmitida se estudiará cualitativamente si la fibra puede detectar la presencia de la hormona hCG y NPs a partir de la variación en su campo evanescente. Las fibras ópticas taper son fabricadas mediante un sistema mecatrónico que implementa la técnica *flame-brushing* en la Facultad de Ciencias de la Electrónica de la BUAP. Por su parte, se emplea la técnica de foto deposición por goteo para llevar a cabo los recubrimientos.

Índice

1. Introducción	1
1.1. Sensores	1
1.2. Sensores biológicos	2
1.3. Sensores biológicos de fibra óptica	4
1.4. Sensores biológicos de fibra óptica taper	5
1.5. Características de la hormona hCG	8
1.6. Objetivo general	9
1.6.1. Objetivos específicos	9
1.7. Justificación	10
2. Desarrollo Experimental	11
2.1. Fabricación de fibras ópticas taper	11
2.1.1. Preparación previa de la fibra óptica estándar	12
2.1.2. Adelgazamiento por la técnica flame-brushing	12
2.1.3. Manipulación y almacenamiento de la fibra taper	13
2.2. Caracterización óptica de las TOF	14
2.2.1. Microscopia óptica	14
2.2.2. Microscopia electrónica de barrido	15
2.2.3. Propagación de intensidad óptica	16
2.3. Materiales utilizados	18
2.4. Preparación de las soluciones hCG y NPs	19
2.5. Fotodeposición de nanopartículas y hormona hCG sobre la TOF	20
2.5.1. Deposición secuencial de nanopartículas y hormona hCG	20
2.5.2. Deposición simultánea de NPs y hCG	21
3. Resultados	23
3.1. Caracterización de intensidad	23
3.1.1. Deposición secuencial de nanopartículas y hormona hCG	25
3.1.2. Deposición simultánea de NPs y hCG	28
3.2. Caracterización en microscopio óptico después de realizar los depósitos	29
3.2.1. Fibras taper después de depósito de nanopartículas y hormona hCG de manera secuencial (separada).	29
3.2.2. Fibras ópticas taper después de depósito de nanopartículas y hormona hCG de manera simultánea (combinada).	31
4. Conclusiones	33

5. Trabajos futuros

34

Índice de figuras

1.1. Representación esquemática de una Fibra Óptica a) vista frontal de la fibra óptica, b)vista longitudinal de la fibra óptica.	5
1.2. Representación esquemática de una Fibra Óptica taper.	6
1.3. (a) Comportamiento de la radiación óptica en una fibra con un diámetro mayor al de la longitud de la luz, (b) el diámetro se reduce y la incidencia de la luz sobre la superficie de la fibra óptica se amplifica y (c) ejemplo de propagación del campo evanescente producido por el núcleo de la fibra óptica., Figura 1.2,1.3 (2004) [12].	7
2.1. Micro-pelador de fibra óptica marca Micro Electronics Inc., modelo KIT-MS-FOK-1. Thorlabs	12
2.2. Sistema de fabricación de micro/nanofibras ópticas de silicio que se encuentra en el laboratorio de Fotónica y Nanoóptica de la FCE.	13
2.3. Almacenamiento de una fibra óptica taper.	14
2.4. a)Microscopio óptico metalográfico, b)Fibra óptica estándar, c)Fibra óptica taper.	15
2.5. Microscopio electrónico de barrido SEM Vega TS5136SB de TESCAN.	15
2.6. Imagen de fibra óptica taper obtenida en microscopio electrónico de barrido SEM.	16
2.7. Equipo láser utilizado para la caracterización de intensidad y potencia característica a) láser JDSU modelo 27-8000-300, b)Controlador de temperatura y corriente marca ILX Lightwave, modelo LDT-5225 y IDX-3220.	17
2.8. a)Microscopio óptico digital, b)emisión de la radiación en la zona más delgada de la TOF.	17
2.9. Medidor de potencia óptica y fotodetector marca Thorlabs modelo PM100D y fotodiodo S122.	18
2.10. Hormona hCG modelo C1063-1VL, marca Sigma-Aldrich.	18
2.11. NPs marca Sigma-Aldrich, modelo 742031-25ML con un tamaño promedio de 100nm.	18
2.12. Baño sónico BAKU BK-3550.	19
2.13. a) cálculo aproximado para el volumen de hCG b) micro espátula de 0.5mm de diámetro color rojo Control Company utilizada para tomar un volumen de hormona.	19
2.14. Arreglo experimental para hacer el depósito de las soluciones.	20
2.15. Depósito de NPs sobre una fibra óptica taper.	21
2.16. Depósito de hormona hCG sobre una fibra óptica taper con NPs.	21

2.17. Depósito de NPs y hormona hCG de manera simultánea.	22
3.1. Curva característica de diodo láser JDSU modelo 27-8000-300.	24
3.2. a)Arreglo experimental para la caracterización de la transmisión óptica se hace pasar radiación optica a través de la TOF y se monitorea la potencia de salida con un medidor de potencia, y se ubica de la zona mas delgada de la TOF con un microscopio digital, b)acercamiento de la zona mas delgada de la TOF donde se obverva radiación óptica q se encuentra fuera de la misma.	25
3.3. a)deposición de la solución en la TOF con ayuda de una jeringa para insulina, b)acercamiento de la zona mas delgada de la TOF donde es depositada la solución acuosa.	25
3.4. Comportamiento de la potencia óptica al depositar NPs.	26
3.5. Comportamiento de la potencia óptica al depositar hCG.	27
3.6. Comportamiento de la potencia óptica al depositar hCG con diferente concentración de NPs y potencia de entrada.	27
3.7. Gráficas de depósito de manera simultánea.	29
3.8. TOF limpia.	30
3.9. TOF con depósito de NPs a)zona de transición con depósito 1)TOF limpia, 2)zona de transición, 3)TOF con NPs, b)zona más delgada de TOF con NPs.	30
3.10. TOF con depósito de NPs y hCG a)zona de transición 1)TOF limpia, 2)zona de transición, 3)TOF con NPS y hCG, b) zona más delgada de TOF con NPs y hCG.	31
3.11. Imágenes obtenidas mediante microscopio óptico de fibras ópticas taper con depósito simultáneo	32

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo se definirá qué es un sensor y los parámetros que lo caracterizan. Posteriormente se abordará el tema de los sensores biológicos haciendo énfasis en los sensores de fibras ópticas particularmente aquellos basados en la interacción de fibras ópticas taper y nanopartículas (NPs).

Finalmente, se justificará el presente tema de tesis basados en una revisión bibliográfica.

1.1. Sensores

Un sensor es un dispositivo que detecta o mide cantidades físicas. Por otro lado, un actuador convierte una señal (usualmente eléctrica) a alguna acción, usualmente mecánica; y un transductor es un dispositivo que convierte energía de una forma en otra.

La diferencia entre un sensor y un transductor son ligeras. Un sensor lleva a cabo una acción transductora y el transductor debe necesariamente sensar alguna cantidad física. La clasificación de los sensores es convencionalmente por el principio de conversión, la cantidad a ser medida, la tecnología usada o la aplicación.

Entre los tipos de energía que pueden ser sensadas están la radiante, mecánica, gravitacional, eléctrica, térmica y magnética.

Los sensores pueden ser clasificados como activos y pasivos [1]. Un sensor **activo** es el que puede generar una señal de salida sin necesidad de una fuente externa por ejemplo celdas solares y piezo eléctricos. Los sensores **pasivos** usan el mismo tipo de energía a la salida como en la entrada por ejemplo los diafragmas.

Aunque la captura y procesamiento de información ha sido necesaria a lo largo de los tiempos; la sociedad futura continuará necesitando detectar y procesar muchos tipos de variables para obtener más información, automatización o una capacidad mayor de tomar decisiones en sistemas y subsistemas centrados en sectores tan diferentes como biomedicina, aeronáutica, ingeniería civil, transporte, automotriz, informático, robótica, medioambiental, salud, casa, etcétera. Por lo tanto, es necesario desarrollar la capacidad para capturar, cuantificar y traducir eficientemente cualquier tipo de magnitud física o química a otro dominio, generalmente eléctrico [2].

Las características más importantes que definen a un sensor son [3]:

- **Sensibilidad:** Describe un cambio en el parámetro detectado como resultado de un cambio en la medición. Es el factor de escala, se define a partir de la pendiente de la curva de calibración.
- **Selectividad:** Es la habilidad que posee el sensor para identificar específicamente la variable de interés.
- **Tiempo de respuesta:** Se define como el tiempo que le toma al parámetro de detección pasar del 10 % al 90 % del valor final.
- **Resolución:** Denominada también detección del sistema, indica el cambio detectable más pequeño usado para la detección, es decir, es el incremento mínimo que debe tener la entrada para que se registre un cambio en la salida.
- **Límite de detección (LD):** Es el valor más pequeño de medida que puede ser detectado por el sensor. En función de la resolución y sensibilidad se define mediante la relación: $LD=R/S$, donde R representa la resolución y S la sensibilidad.
- **Reversibilidad:** Es la propiedad que tienen los materiales (que intervienen en la detección) de poder regresar a su estado original al finalizar la detección.

1.2. Sensores biológicos

En el contexto biológico es importante monitorear las propiedades físicas (densidad, tamaño, etc.) y químicas (cambios en la composición) producidas por distintos procesos en los seres vivos. En particular, los seres vivos tienen incorporados este tipo de mecanismos de forma natural. Por ejemplo, nuestro cuerpo tiene diversos sensores que monitorean niveles de glucosa en la sangre y de otras sustancias que desatan la liberación de insulina. A este tipo de sensores se les conoce como biosensores y nos permiten detectar y medir una sustancia de interés biológico. Los primeros biosensores artificiales fueron construidos en los años 60 y consistían en la unión de detectores de pH (acidez o alcalinidad) u oxígeno con enzimas inmovilizadas para detectar glucosa [4]. A partir de esa fecha se desarrollaron distintos tipos de biosensores basados en diversos mecanismos como los optoelectrónicos basados en la respuesta óptica, los electroquímicos y enzimáticos basados en los cambios químicos del sensor. Existen muchas aplicaciones de biosensores en nuestra vida cotidiana, por ejemplo, en medicina se utilizan dispositivos que nos permiten medir sustancias bioquímicas claves para detectar enfermedades, como los niveles de glucosa en sangre para el diagnóstico de la diabetes. Otras aplicaciones son: la detección de drogas, monitoreo de bioreactores que hacen fármacos en la industria y la investigación de procesos biológicos básicos. El mercado global de biosensores en el año 2012 llegó los 8.5 billones de dólares americanos y se proyectó un alcance de 16.8 billones en el año 2018 [5].

A continuación se presentan los métodos de sensado, ventajas desventajas y aplicaciones, incluidas las aplicaciones médicas, de distintos métodos de sensado.

- **Amperométricos y potenciométricos:**
Ventajas:

- Operan a bajos voltajes.
- Menor interferencia en sus componentes.
- Mayor selectividad.
- Mayor velocidad.
- Se requiere poca muestra.
- Costo accesible.

Desventajas:

- Reacciones dependientes de concentración de oxígeno.

Apliaciones:

- Médicas: medición de glucosa, sacarosa, enfermedades del corazón. [6].

■ **Calorimétricos:**

Ventajas:

- Estable a temperatura ambiente.
- Bajo costo.
- Adecuada sensibilidad para la aplicación industrial.

Desventajas:

- Altos costos

Aplicaciones:

- Industriales: medición de gas, combustible.
- Cocinas, medición de gas.
- Médicas: medición colesterol, acido úrico. [7]

■ **Ópticos:**

Ventajas:

- Alta sensibilidad.
- Tolerante a cambios en el medio.
- Largo tiempo de vida.

Desventajas:

- Si está expuesto al medio se ve afectado.
- La detección puede ser afectada por materiales y colores del objeto.

Aplicaciones:

- Ph

- Monitoreo de la cantidad de oxígeno y dióxido de carbono en una cirugía.
 - Detección de componentes biológicos como: hormonas, proteínas, suero y orina. [6]
- **Acústicos:**
Ventajas:
- Largo tiempo de vida.
- Desventajas:
- Baja sensibilidad.
- Aplicaciones:
- Para sensores inalámbricos.
 - Usados para medir la constante de gravedad de analitos como inmunoglobulina.
 - Mide cambios en la resonancia causado por cambios en el analito. [8]

En años recientes, las aplicaciones de nanomateriales en biosensores proporcionan oportunidades para construir una nueva generación de tecnologías de biosensores. Los nanomateriales mejoran las propiedades mecánicas, electroquímicas, ópticas y magnéticas de los biosensores.

Los biosensores basados en nanomateriales presentan una perspectiva muy atractiva la cual será ampliamente aplicada en diagnósticos clínicos, análisis de alimentos, control de procesos y monitoreo ambiental en el futuro cercano.

En este contexto se ha reportado que los sensores de fibra óptica ofrecen diferentes ventajas sobre los sensores de tecnologías convencionales, esto debido a que: no son susceptibles a la interferencia electromagnética; pueden funcionar en ambientes hostiles y tolerar altas temperaturas. Además, son biocompatibles y se multiplexan fácilmente, permitiendo el monitoreo simultáneo de una serie de medidas; se pueden utilizar para control remoto a grandes distancias monitoreando el entorno, debido a la baja atenuación que presentan para el caso de los sensores de fibra óptica la influencia del medio externo debe ser maximizada debido a que frecuentemente utilizan la interacción del campo evanescente con el medio externo [9, 10].

En la siguiente sección se hablará brevemente de las características de la fibra óptica y en particular de la aplicación de los sensores de fibra óptica tipo taper.

1.3. Sensores biológicos de fibra óptica

Las fibras ópticas son guías de onda que transmiten luz a grandes distancias produciendo pocas pérdidas. La fibra óptica es un alambre cilíndrico transparente compuesto por una región central o núcleo y una región circundante conocida como revestimiento (Figura 1.1). La luz que incide en uno de los extremos del alambre es confinada en su interior debido a que el índice de refracción del núcleo es mayor que el del revestimiento. Debido a la diferencia en el índice de refracción en la frontera núcleo-revestimiento se produce el fenómeno conocido

como reflexión total interna por el cual la luz viaja confinada dentro del núcleo hasta emerger en el otro extremo de la fibra.

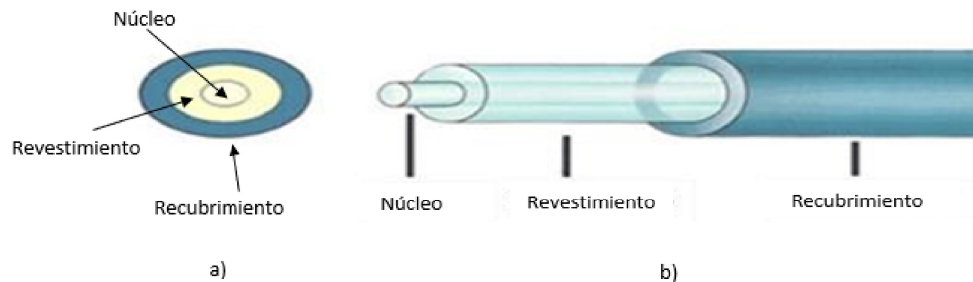


Figura 1.1: Representación esquemática de una Fibra Óptica a) vista frontal de la fibra óptica, b) vista longitudinal de la fibra óptica.

Debido a sus características las fibras ópticas han sido utilizadas en muchas aplicaciones de detección médicas y biológicas. Los sensores de fibra óptica son muy variados tanto en tipo de fibra, fenómeno óptico medido y configuración. En tipos de fibra tenemos sensores que utilizan fibras de núcleo cristalino hueco, monomodo, multimodo. En los arreglos pueden ser: resonadores, rejillas, fiber bundle y fibras taper.

En años recientes ha crecido el interés en el uso de fibras ópticas adelgazadas conocidas comúnmente como fibras ópticas taper, para el desarrollo de sensores, incluyendo sensores biológicos. En la siguiente sección se hablará de este tipo de sensores al cual pertenece el desarrollado en el presente trabajo de tesis.

1.4. Sensores biológicos de fibra óptica taper

Una clase especial de sensor de fibra óptica la conforman las fibras ópticas adelgazadas hasta diámetros micrométricos mediante procesos químicos o físicos las cuales son conocidas como microfibras o fibras ópticas taper (TOF, por sus siglas en inglés), la cual se presenta esquemáticamente en la Figura 1.2 [11]. A diferencia de las fibras ópticas estándar, las fibras taper poseen la característica de generar intensos campos evanescentes en la zona más delgada de la fibra óptica que les permiten ser muy sensibles a cambios del medio que las rodea.

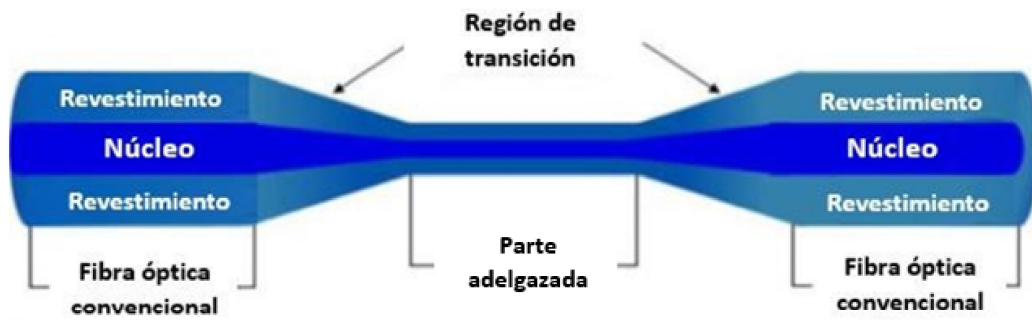


Figura 1.2: Representación esquemática de una Fibra Óptica taper.

Un campo evanescente es radiación óptica que escapa del núcleo de la fibra óptica durante la reflexión con el revestimiento. El campo evanescente siempre está presente en una fibra óptica, pero este fenómeno se amplifica cuando el diámetro de la fibra óptica tiende a ser micrométrico. En la Figura 1.3 se puede observar que cada vez que el haz de luz se propaga en el núcleo de la fibra óptica se refleja, sin embargo una pequeña parte de la energía se pierde durante su propagación. Conforme el diámetro de la fibra se hace más pequeño las pérdidas crecen hasta alcanzar una distribución continua. El campo evanescente decae exponencialmente con la distancia respecto a la superficie de la fibra y debido a que viaja fuera de la fibra su intensidad es altamente sensible a cambios en el índice de refracción del medio circundante. Por ello, la presencia de campo evanescente es deseable en el sensado de diferentes sustancias en cantidades muy pequeñas.

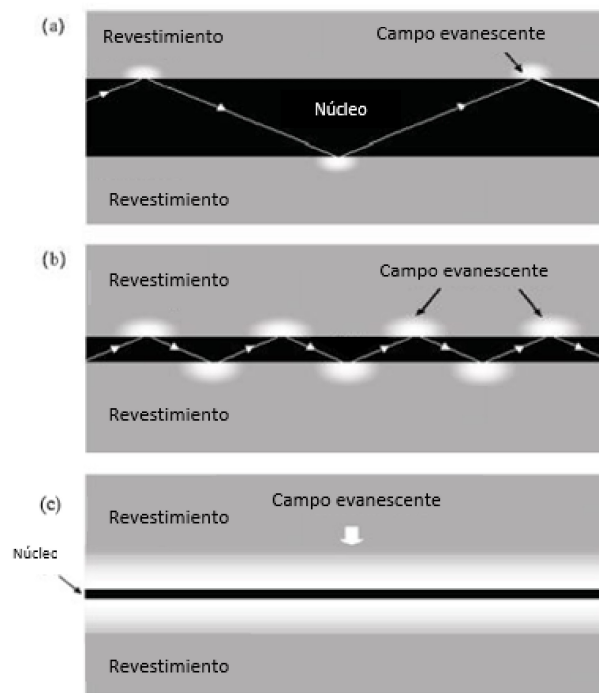


Figura 1.3: (a) Comportamiento de la radiación óptica en una fibra con un diámetro mayor al de la longitud de la luz, (b) el diámetro se reduce y la incidencia de la luz sobre la superficie de la fibra óptica se amplifica y (c) ejemplo de propagación del campo evanescente producido por el núcleo de la fibra óptica., Figura 1.2,1.3 (2004) [12].

Además de los intensos campos evanescentes, las fibras ópticas taper son atractivas por las siguientes razones :

- Son inmunes a la radiación electromagnética.
- Requieren poca energía para funcionar.
- Son ligeras.
- Compactas.
- Requieren pequeños volúmenes de muestras.
- Soportan condiciones ambientales extremas (temperatura, acidez, sustancias inflamables).

Las fibras ópticas taper han sido usadas extensamente como sensores ópticos para detectar diversas sustancias químicas y biológicas, desde hace aproximadamente 15 años. Algunos ejemplos son: en 2012 haciendo uso de una fibra monomodo adelgazada químicamente, con radio de $6\mu\text{m}$ se midió la concentración de testosterona. La medición de esta hormona se realizó mediante la intensidad transmitida con un fotodiodo [13]. En 2015 fue reportado un biosensor para la detección de ADN de cadena sencilla usando una fibra adelgazada recubierta con un polímero poroso mediante enlace electroquímico [14] el cual utilizaba una fibra con

diámetro $7.5\mu\text{m}$ y la concentración de ADN se midió en base del corrimiento espectral en la región 1250-1650nm. Por otro lado en 2015, se hizo uso de una fibra taper con recubrimiento de material nanométrico para el desarrollo de un sensor de urea. En este caso, el material nanométrico era óxido de zinc (ZnO) y el diámetro de la fibra fue de $32\mu\text{m}$. La medición de urea en el sensor se determinó por cambios de voltaje e índice de refracción para una longitud de onda de 1550nm [15]. En 2016 se publicó un artículo sobre la fabricación de un sensor de microfibras para la detección de la unión de proteínas biotina-estreptavidina. La microfibras fue cubierta por una combinación de NPs de oro y óxido de silicio. El diámetro de las fibras taper fue de $14\mu\text{m}$ y el corrimiento espectral de la luz transmitida en la longitud de onda 550-900nm fue medida [16]. En 2017 la Royal Society of Chemistry publicó un artículo presentando un sensor de fibra taper capaz de medir la presencia de neurotransmisores GABA. En dicho artículo se utilizó una fibra con diámetro de $7.8\mu\text{m}$ la cual fue recubierta con nanopartículas (NPs) compuestas de plata, óxido de silicio y oro a fin de detectar corrimiento espectral en la región de 1250nm -1650nm [17]. De forma similar en el año 2018 se presentó un sensor de fibra taper funcionalizada con NPs de plata para monitorear el citocromo en las células a tiempo real, que es indicador de muerte celular programada. El sensor mencionado anteriormente utiliza una fibra con diámetro $10.5\mu\text{m}$ y un corrimiento espectral en el rango de 1500-1600nm [18].

En base a los trabajos mencionados se observa que la interacción de fibras ópticas taper con NPs es un área en desarrollo de dispositivos para el sensado de elementos biológicos. Hasta el momento no se han reportado trabajos respecto a la detección de hCG haciendo uso de fibras ópticas taper. Es por ello que en este trabajo de tesis se hablará de hacer la funcionalización de una fibra óptica taper para la detección de hCG. La siguiente sección tratará de las características e importancia de este compuesto biológico.

1.5. Características de la hormona hCG

La hormona gonadotropina coriónica humana o hCG (por sus siglas en inglés) es una hormona glicoproteica producida durante el embarazo después de la fecundación. La hCG también es producida en la hipófisis de los hombres y mujeres de todas las edades, así como también por ciertas clases de tumores cancerosos.

En una mujer embarazada los niveles de hCG están entre $25\text{ng/mL} - 10,000\text{ ng/mL}$ en el primer trimestre. En caso contrario la concentración es menor a 10ng/mL (rango normal de hCG presente también en hombres)[19].

Como se ha mencionado anteriormente la hCG no sólo es un marcador del embarazo sino también de diferentes tumores cancerosos. En los hombres la presencia de esta hormona en un nivel menor al rango normal es indicio de cáncer testicular y de vejiga, mientras en las mujeres no embarazadas esto denota cáncer uterino principalmente. Además de lo antes mencionado la hCG sirve como [20]:

- Marcador de síndrome de down (en conjunto con otras pruebas).
- Marcador de preeclampsia.
- Implantación del embrión en fertilización in vitro.
- Terapia hormonal para varones (descenso de testículos).

Existen una gran cantidad de trabajos que utilizan chips, plasmones y NPs para detectar hCG con gran precisión. En 2000 se creó un sensor chip que puede detectar hCG en el rango de 5-25mIU/MI=0.3-1.5ng/mL por medio de NPs de oro (5-15nm de diámetro) y látex (100nm de diámetro) funcionalizadas con antígenos hCG [21]. En 2012 fue desarrollado un detector hecho de NPs de oro (13nm de diámetro) depositadas en una fibra de celulosa para determinar hCG en el suero humano. Las NPs estaban cubiertas con antígeno hCG beta mientras que la tira de celulosa poseía antígeno hCG alpha. Se observó que la absorción de plasmones superficiales en 520nm con corrimiento espectral dependía de la concentración de hCG [22]. En 2014 otro grupo de investigadores desarrollaron un sustrato de ZnO al cual le hicieron crecer cristales columnares del mismo material. Sobre los cristales se colocaron anticuerpos y antígenos de hCG. Las columnas no permitían que se adhirieran otras proteínas y favorecían la unión de hCG. En dicho estudio se midió la luminiscencia del ZnO respecto a la concentración de hCG desde 2ng/mL hasta 20ng/mL [23]. En la referencia [24] se reporta la detección de hCG utilizando nanopartículas de oro cubiertas con aptámeros, las cuales son partículas de reconocimiento específico. Este sensor, fue capaz de detectar hCG en el rango de 5-2000mIU/mL (conversión 1000mIU/mL=100ng/mL.) en un periodo de 90 minutos. La referencia [25] presenta un sensor de hCG comercial para ayudar a la detección temprana del embarazo basada en inmunofluorescencia. Utiliza anticuerpos específicos para capturar y detectar hCG.

En base a las referencias mencionadas en la sección 1.3 y 1.4 se ha reportado la detección de elementos biológicos en base a la interacción de fibras ópticas taper con diversos materiales nanométricos basados en la adherencia química o eléctrica con el compuesto de interés. Sin embargo, se puede observar que para la detección de hCG no existen trabajos utilizando la conjunción de fibra óptica taper con materiales nanométricos y es necesario la presencia de antígenos. Es por ello que en este trabajo de tesis se explora la interacción de nanopartículas y el campo evanescente de una fibra óptica taper con hCG. Esto con el fin de investigar cualitativamente si hay alguna reacción en el campo evanescente en presencia de hCG sin utilizar ninguna funcionalización con antígenos.

1.6. Objetivo general

Determinar la interacción de hormona gonadotropina coriónica humana a través del campo evanescente a 980nm con la fibra óptica taper funcionalizada con nanopartículas de oro.

1.6.1. Objetivos específicos

- Fabricar fibras ópticas taper utilizando la técnica flame-brushing con radios de estiramiento de entre $2\mu\text{m}$ y $5\mu\text{m}$.
- Caracterizar la morfología de las fibras ópticas taper antes y después de depositarse hCG y NPs por medio de microscopio electrónico de barrido (SEM).
- Depositar hCG y NPs sobre la fibra óptica taper de manera secuencial (separada) y simultánea (combinada).

- Caracterizar la respuesta óptica en intensidad producida por hCG y NPs depositadas de manera secuencial y simultánea en las fibras ópticas taper.

1.7. Justificación

Las fibras ópticas taper han despertado un gran interés en el desarrollo de sensores ópticos, ya que poseen ventajas únicas con respecto a otros sensores.

Debido a estas características se han dedicado grandes esfuerzos al desarrollo de sensores ópticos basados en fibras ópticas taper para la detección de sustancias químicas y biológicas. En el estado del arte existen muchos trabajos para detección de hCG que es el compuesto biológico de interés en esta tesis. Sin embargo a la fecha no han sido reportados sensores de fibras para este fin. En la mayoría de los casos los sensores de hCG reportados utilizan NPs funcionalizadas con antígenos. La funcionalización de antígenos sobre materiales nanoestructurados no es una tarea sencilla. Es por ello que en este trabajo de tesis se estudiará la interacción de hCG con el campo evanescente de una fibra óptica taper sin hacer uso de funcionalizaciones de esta clase.

Capítulo 2

Desarrollo Experimental

En este capítulo se describe el proceso experimental de la preparación y fabricación de las fibras ópticas taper y su caracterización mediante microscopía. Posteriormente se describe el arreglo experimental implementado para el análisis de la deposición de nanopartículas de oro y hCG sobre las fibras ópticas taper con el fin de caracterizar las propiedades ópticas en presencia de estas disoluciones cuando se depositan de manera simultánea (combinada) y secuencial (separada).

El desarrollo experimental consta de:

1. La fabricación de las fibras ópticas taper mediante el sistema mecatrónico que implementa la técnica de adelgazamiento flame-brushing.
2. Caracterización óptica del diámetro de la fibra óptica taper.
3. Caracterización mediante la propagación de radiación óptica en las TOF fabricadas.
4. Deposición de nanopartículas de oro y hCG de manera simultánea y secuencial, alrededor de las TOF por la técnica de goteo y fotodeposición.

2.1. Fabricación de fibras ópticas taper

La fabricación de las fibras ópticas taper se realiza mediante el sistema mecatrónico automatizado que implementa la técnica de adelgazamiento flame-brushing.

La técnica flame-brushing es una de las técnicas más reportadas para la fabricación de las fibras ópticas taper. La técnica mencionada se basa en el adelgazamiento por medio de barrido de una flama en una parte de la de la fibra óptica estándar sin recubrimiento. De forma simultánea se aplica una fuerza de arrastre a los extremos de la fibra. La caracterización del sistema mecatrónico, así como la repetibilidad en el proceso de fabricación, para obtener un determinado diámetro y longitud de las TOF se describe en la tesis de Rafael Coxca [26].

En este trabajo de tesis fue utilizado el sistema para fabricación de micro/nanofibras ópticas de silicio, con número de solicitud de patente MX/a/2016/015494, de la Facultad de Ciencias de la Electrónica; mediante el cual es posible la fabricación de fibras ópticas taper con diámetros desde $20\mu\text{m}$ hasta 500nm (DOI: 10.1364/LAOP.2016.LW3A.2).

A continuación se describe el proceso de fabricación de las TOF.

2.1.1. Preparación previa de la fibra óptica estándar

El proceso de fabricación de una fibra óptica taper por la técnica flame-brushing consiste de los siguientes pasos antes de su estiramiento: en primer lugar se corta un tramo de 60cm de fibra óptica estándar monomodo (SMF-28e), posteriormente, se remueve 3.5cm del recubrimiento de plástico en la parte central de la fibra óptica utilizando un micro-pelador de fibra óptica marca Micro Electronics Inc., modelo KIT-MS-FOK-1, el cual se presenta en la Figura 2.1. Ya que se ha retirado el recubrimiento de plástico, se limpia perfectamente la zona con un paño humedecido con alcohol isopropílico para quitar el exceso de residuos plásticos que estuvieran presentes en la fibra óptica. Una vez preparada la fibra óptica estándar a adelgazar, se procede a la fabricación de la TOF, utilizando el sistema de fabricación flame-brushing de la Facultad de Ciencias de la Electrónica.



Figura 2.1: Micro-pelador de fibra óptica marca Micro Electronics Inc., modelo KIT-MS-FOK-1. Thorlabs

2.1.2. Adelgazamiento por la técnica flame-brushing

El sistema de fabricación de micro/nanofibras ópticas de silicio que se encuentra en el laboratorio de Fotónica y Nanoóptica de la FCE, presentado en la Figura 2.2, se compone de dos bases mecánicas conectadas a motores a pasos y una fuente de calor (soplete comercial) ambos controlados por una interfaz de computadora [26].

Como primer paso, se coloca la fibra óptica sin recubrimiento, preparada previamente en los sujetadores de las bases mecánicas, las cuales serán desplazadas por motores a pasos.

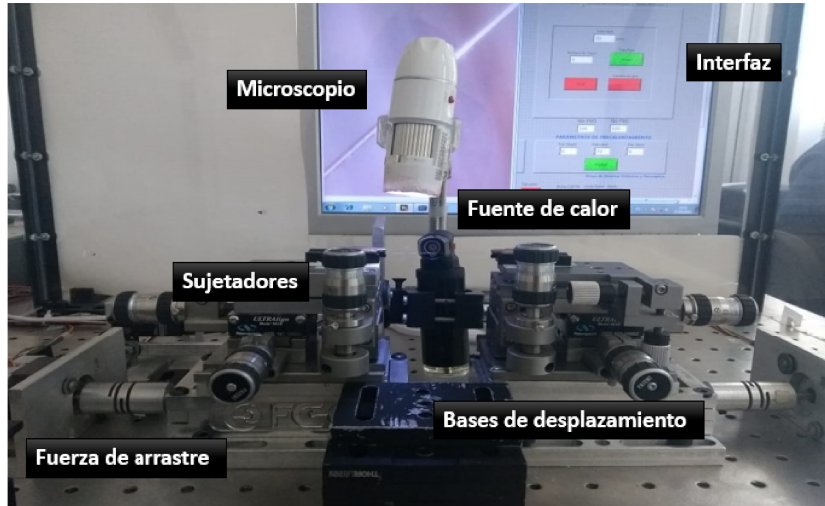


Figura 2.2: Sistema de fabricación de micro/nanofibras ópticas de silicio que se encuentra en el laboratorio de Fotónica y Nanoóptica de la FCE.

Teniendo todo colocado, se procede a introducir los parámetros que se desean para el adelgazamiento en la interfaz de usuario, los cuales se mencionan a continuación.

- **Parámetros de estiramiento:** podemos establecer la velocidad de desplazamiento de las bases, sentido de desplazamiento y número de pasos.
- **Parámetros de calentamiento:** establecemos tiempo de precalentamiento (tiempo en que la fuente de calor trabaja antes de que las bases de desplazamiento empiecen su recorrido).
- **Ángulo de flama del soplete:** posición de la flama arriba o bajo la fibra.

El sistema está dentro de una cámara de acrílico y el estiramiento se monitorea mediante un microscopio digital.

En este trabajo de tesis se eligió fabricar fibras de $2\mu\text{m}$ a $7.5\mu\text{m}$ correspondientes al número de 1000 y 660 pasos, respectivamente. En dicha configuración la rapidez de los motores a pasos fue de $12\mu\text{m/s}$, el tiempo de precalentamiento fue de 30 segundos y la rapidez de barrido de la flama fue de $160\mu\text{m/s}$. Una fibra óptica taper con diámetro de $6\mu\text{m}$ se fabrica en un tiempo promedio de 25 minutos.

2.1.3. Manipulación y almacenamiento de la fibra taper

Una vez que ha concluido el proceso de fabricación de la fibra óptica taper se procede a retirarla del sistema mecatrónico. Con la ayuda de una base con tornillo sin fin se acerca un portaobjetos con cinta doble cara en sus extremos debajo de la fibra óptica taper. Con la ayuda de una microespátula se pegan los extremos de la fibra al portaobjetos. Cuando se tiene la fibra óptica taper montada en el portaobjetos se retira y se coloca en una caja de plástico con tapa para su almacenaje y posterior caracterización, presentado en la Figura 2.3.



Figura 2.3: Almacenamiento de una fibra óptica taper.

Posteriormente se verifica que el diámetro de las fibras ópticas taper fabricadas este entre 2 y $7.5\mu\text{m}$ con ayuda de un microscopio óptico.

2.2. Caracterización óptica de las TOF

La caracterización óptica de las fibras ópticas taper se realiza de manera cualitativa a través de un microscopio óptico metalográfico vertical.

2.2.1. Microscopia óptica

Para determinar el diámetro aproximado de las TOF fabricadas, se utilizó un microscopio óptico metalográfico vertical marca VELAB modelo VE-146, el cual se presenta en la Figura 2.4a, el cual nos permite hacer una revisión rápida y un estimado del diámetro de la fibra adelgazada. Dicho microscopio está diseñado para realizar caracterizaciones metalúrgicas, dejando un espacio entre el objetivo y la muestra, esto fue de mucha ayuda ya que con un microscopio convencional se llegan a romper las muestras por contacto con el objetivo. Para la caracterización del microscopio se midió una fibra óptica convencional SMF-28 con el objetivo de $40\times$, esto para establecer cuántas divisiones de la regla del microscopio abarca el diámetro de la fibra óptica y así saber la escala. Como sabemos, una fibra óptica SMF-28 sin recubrimiento mide $125\mu\text{m}$ y utilizando el objetivo de $40\times$ de amplificación resultaron 50 subdivisiones (Figura 2.4b). Por medio de una regla de tres se obtuvo que cada subdivisión corresponde a $2.5\mu\text{m}$. En la figura 2.4c se muestra una fibra óptica taper con un diámetro de $6\mu\text{m}$, aproximadamente.

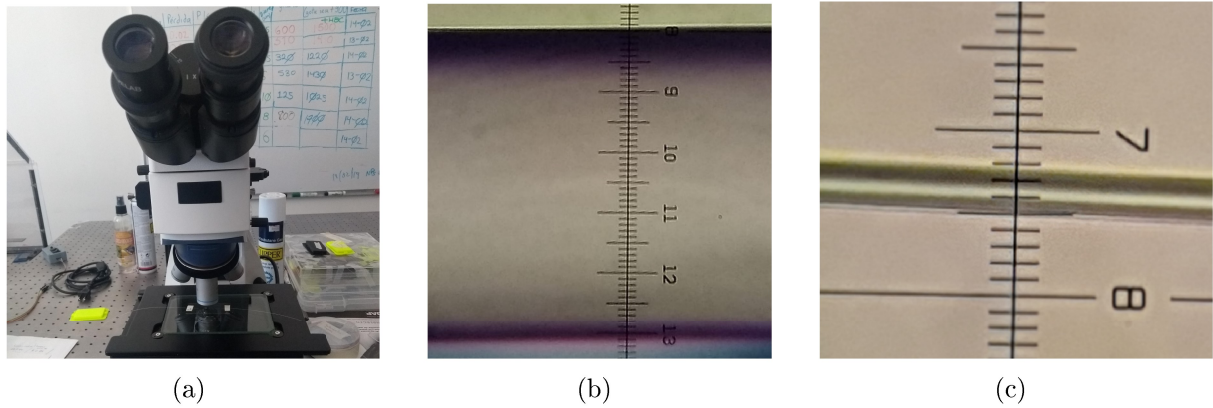


Figura 2.4: a)Microscopio óptico metalográfico, b)Fibra óptica estándar, c)Fibra óptica taper.

2.2.2. Microscopia electrónica de barrido

Para una caracterización más precisa de las fibras fabricadas se utilizó el microscopio electrónico de barrido (SEM por sus siglas en inglés) marca TESCAN SEM Vega modelo TS-5136SB el cual se encuentra en el laboratorio de Físico-Química de Materiales del Instituto de Ciencias de la BUAP. El microscopio SEM dispone de un cañón que emite electrones los cuales chocan contra lo que se desea analizar y crean una imagen aumentada. Utiliza lentes magnéticas que dirigen y enfocan el haz de electrones. Cuenta con un sistema de vacío lo cual es una parte relevante para propagar el haz de electrones ya que los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire. Las fibras analizadas en el SEM estaban dispuestas en un portaobjetos de vidrio, el cual fue colocado sobre una cinta de carbono para conducir el haz de electrones (Figura 2.5). En el microscopio electrónico de barrido la imagen se obtiene a partir de las señales emitidas por la muestra las cuales se transmiten a un fotomultiplicador y esta se va formando a medida que se desplaza el haz de electrones sobre una porción de la superficie. El barrido se realiza línea por línea sobre una pequeña zona de forma rectangular. Esta zona se visualiza ampliificada en la imagen final [27].



Figura 2.5: Microscopio electrónico de barrido SEM Vega TS5136SB de TESCAN.

Gracias al SEM se puede apreciar mejor la parte adelgazada de una fibra óptica y los efectos que influyen en su forma. Entre estos factores se encuentran: número de pasos de estiramiento de los motores, velocidad de estiramiento, ángulo de la flama y tiempo de precalentamiento de la fibra antes de iniciar el estiramiento. Con el microscopio electrónico de barrido se pudo observar que las TOF presentaban uniformidad y que la longitud de adelgazamiento fue cercana a 1 cm y estaban totalmente rectas. Cabe decir que es favorable que las TOF no presenten torceduras para evitar pérdidas y efectos no lineales. La figura siguiente (Figura 2.6) presenta una imagen SEM de una fibra óptica taper con diámetro de $5\mu\text{m}$.

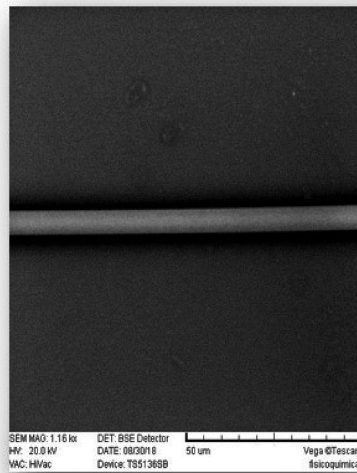


Figura 2.6: Imagen de fibra óptica taper obtenida en microscopio electrónico de barrido SEM.

2.2.3. Propagación de intensidad óptica

Una vez fabricadas las fibras ópticas taper se mide la potencia óptica transmitida a través de estas. Para esto, se fusiona un extremo de la TOF a un diodo láser.

Para las pruebas ópticas realizadas se utilizó el equipo láser JDSU modelo 27-8000-300 con una longitud de onda de 980nm, que se muestra en la Figura 2.7a. Debido a que el diodo láser es muy sensible a la temperatura se utilizó a un controlador de temperatura ILX Lightwave LDT-5225 a fin de mantener la potencia de salida estable (Figura 2.7b).

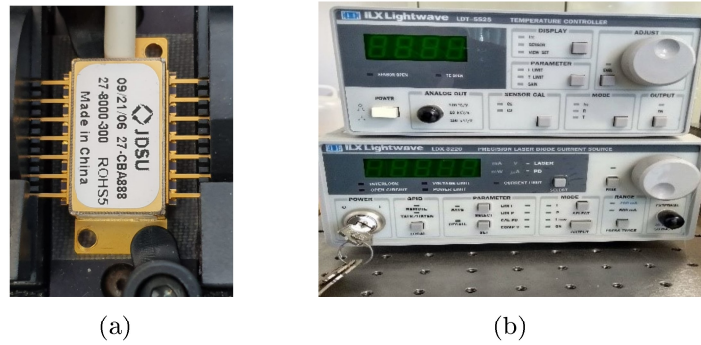


Figura 2.7: Equipo láser utilizado para la caracterización de intensidad y potencia característica a) dido láser JDSU modelo 27-8000-300, b) Controlador de temperatura y corriente marca ILX Lightwave, modelo LDT-5225 y IDX-3220.

Para observar el campo evanescente en la zona adelgazada de la TOF se utiliza un microscopio óptico digital el cual cuenta con una amplificación de hasta $500\times$, presentado en la Figura 2.8a. En la Figura 2.8b se observa la emisión de la radiación en la zona más delgada de fibra óptica taper, el cual es el campo evanescente.

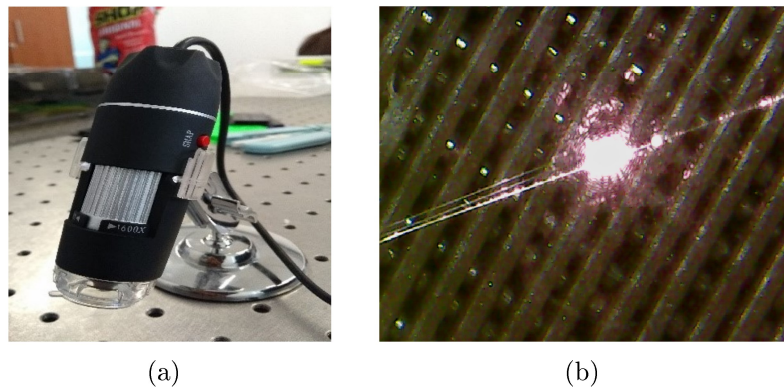


Figura 2.8: a) Microscopio óptico digital, b) emisión de la radiación en la zona más delgada de la TOF.

El monitoreo de la intensidad transmitida por la fibra óptica taper se realiza en el otro extremo de la TOF con el medidor de potencia óptica Thorlabs modelo PM100D, presentado en la Figura 2.9 utilizando un fotodiodo de la misma marca modelo S122C para longitudes de onda de 700-1800nm y una potencia máxima de detección de 40mW el cual tiene una interfaz configurable que guarda los datos de las pruebas realizadas.



Figura 2.9: Medidor de potencia óptica y fotodetector marca Thorlabs modelo PM100D y fotodiodo S122.

2.3. Materiales utilizados

Hormona hCG comercial

Para llevar a cabo los experimentos, en este trabajo de tesis se utiliza hCG en polvo: chorionic gonadotropin human, modelo C1063-1VL, marca Sigma-Aldrich, como se muestra en la Figura 2.10. Debe de mantenerse a la temperatura de almacenamiento de -14°C .



Figura 2.10: Hormona hCG modelo C1063-1VL, marca Sigma-Aldrich.

Nanopartículas

Las nanopartículas de oro son de la marca Sigma-Aldrich, modelo 742031-25ML con un tamaño promedio de 100nm (Figura 2.11). Se deben mantener a una temperatura de $2-8^{\circ}\text{C}$.



Figura 2.11: NPs marca Sigma-Aldrich, modelo 742031-25ML con un tamaño promedio de 100nm.

A continuación, se presenta la preparación de las soluciones utilizadas en las pruebas.

2.4. Preparación de las soluciones hCG y NPs

Para preparar las soluciones de nanopartículas y hormona hCG utilizadas en la deposición, se utilizó un baño sónico (Figura 2.12) y agua desionizada para diluir los compuestos.



Figura 2.12: Baño sónico BAKU BK-3550.

El procedimiento para obtener las soluciones utilizadas en las pruebas se explica a continuación:

Para hacer la preparación de las nanopartículas, una cantidad de 0.5 ml de nanopartículas fueron diluidas en 2.0 ml de agua desionizada y sometidas a ultrasonido durante 10 min.

Para preparar la solución de hormona hCG, en 0.5 ml de agua desionizada de diluye un volumen de hormona hCG aproximado a 0.098mm^3 . Esto se calculó tomando en cuenta una espátula circular con diámetro 0.5mm, y una altura de polvo hCG de 0.5mm, Figura 2.13. La solución resultante se somete a ultrasonido durante 10 min.

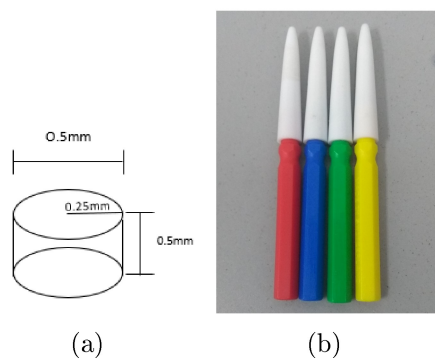


Figura 2.13: a) cálculo aproximado para el volumen de hCG b) micro espátula de 0.5mm de diámetro color rojo Control Company utilizada para tomar un volumen de hormona.

Para la deposición de las nanopartículas y la hormona sobre la fibra TOF se hace uso del arreglo experimental presentado en la Figura 2.14, transmitiendo radiación a través de la fibra óptica taper y por medio de un medidor de potencia se detectan variaciones de la potencia de salida en los depósitos secuencial y simultáneo como se describe a continuación.



Figura 2.14: Arreglo experimental para hacer el depósito de las soluciones.

2.5. Fotodeposición de nanopartículas y hormona hCG sobre la TOF

La deposición de las nanopartículas y la hormona hCG se realiza mediante la técnica de goteo y la técnica de fotodeposición, para lo cual se hace pasar radiación óptica a través de la fibra óptica taper colocándose una gota de solución acuosa de NPs y/o hCG sobre la zona más delgada de la TOF. Con esto se pretende que la radiación óptica del campo evanescente atraiga las NPs y/o la hCG sobre la superficie de la fibra óptica taper llevándose a cabo la deposición [28].

La potencia óptica del diodo láser que alimenta a las fibras esta en el rango de 3-28mW, debido a que al utilizar elementos biológicos se busca no utilizar intensidades muy altas y además, se ha demostrado que las nanopartículas se depositan a potencias ópticas bajas [3].

A continuación, se describen los dos métodos realizados en este trabajo de tesis.

2.5.1. Deposición secuencial de nanopartículas y hormona hCG

Para esto se transmite la radiación láser a través de la fibra óptica taper, y a continuación se procede a colocar una gota de la solución de nanopartículas de oro sobre la región adelgazada de la fibra óptica taper donde emana mayor campo evanescente (Figura 2.15). Sin apagar el láser se deja que la gota se evapore, y se espera 15 minutos adicionales para dar tiempo a la estabilización de potencia. Durante este proceso la potencia transmitida se monitorea en el tiempo.

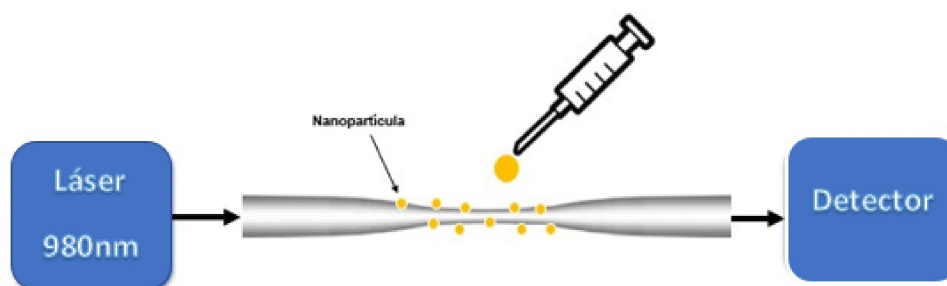


Figura 2.15: Depósito de NPs sobre una fibra óptica taper.

Una vez finalizado en tiempo de estabilización de 15 minutos, se deposita una gota de hCG en la misma región de la TOF en donde se depositaron las NPs, monitoreando constantemente la variación de la potencia de salida durante el proceso de la deposición secuencial (Figura 2.16).

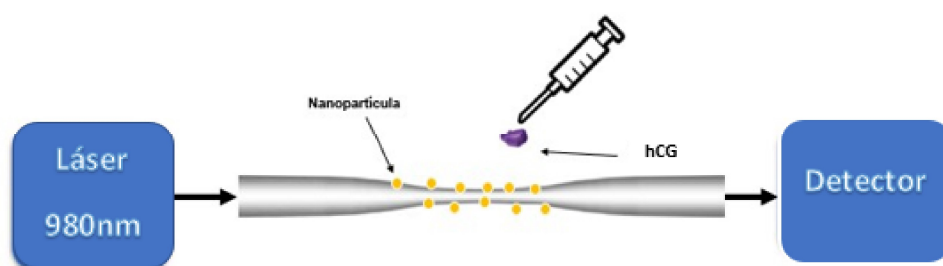


Figura 2.16: Depósito de hormona hCG sobre una fibra óptica taper con NPs.

2.5.2. Deposición simultánea de NPs y hCG

Para el depósito de manera simultánea se preparó la solución de nanopartículas como se describe anteriormente. De la solución resultante se extrajeron con ayuda de una jeringa 0.5 ml y se colocaron en otro recipiente. En estos 0.5 ml se diluye un volumen 0.098mm^3 de polvo hCG y la mezcla se somete a ultrasonido por un periodo de 10 minutos.

Al igual que la deposición de manera secuencial se localiza la región más delgada de la fibra óptica taper con la ayuda de un microscopio digital y se transmite radiación óptica láser a través de la fibra. Posteriormente, con la ayuda de una jeringa se coloca una gota de la solución que contiene las nanopartículas y hormona hCG sobre la región adelgazada de la fibra óptica taper (Figura 2.17). Se espera a que se evapore la gota. Sin apagar el láser se dejan transcurrir 15 minutos más para la estabilización de la potencia.

Durante todo el proceso se lleva a cabo el monitoreo de la potencia óptica de salida para observar el comportamiento de la potencia en función del tiempo al interactuar la TOF con la solución combinada.

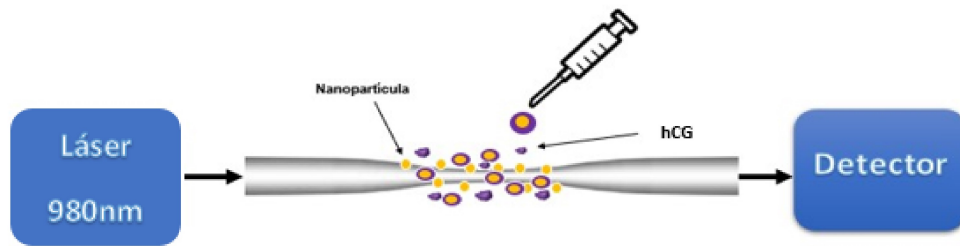


Figura 2.17: Depósito de NPs y hormona hCG de manera simultánea.

Capítulo 3

Resultados

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la interacción del campo evanescente de una fibra óptica taper en presencia de hormona hCG y nanopartículas. La intensidad transmitida al realizar los depósitos se hizo mediante un fotodetector. Las gráficas de intensidad contra tiempo de las fibras correspondientes a diferentes modalidades de deposición (nanopartículas y hormona hCG por separado y nanopartículas y hormona hCG combinadas) son presentadas. Las pruebas fueron repetidas variando intensidad del láser, la concentración de hormona y nanopartículas, así como la temperatura del laboratorio. Una vez terminadas las mediciones de intensidad, la morfología de los depósitos es caracterizada por medio de microscopia óptica.

3.1. Caracterización de intensidad

Como se mencionó en el Capítulo 2 se utilizó un láser de fibra óptica a 980nm para insertar la radiación óptica a las fibras. Antes de iniciar se llevó a cabo la caracterización del láser a utilizar, obteniéndose la curva característica del mismo. Ya que el diodo láser se controla por corriente se obtuvo la gráfica de la potencia de salida en función de la corriente de entrada la cual se observa en la figura 3.1.

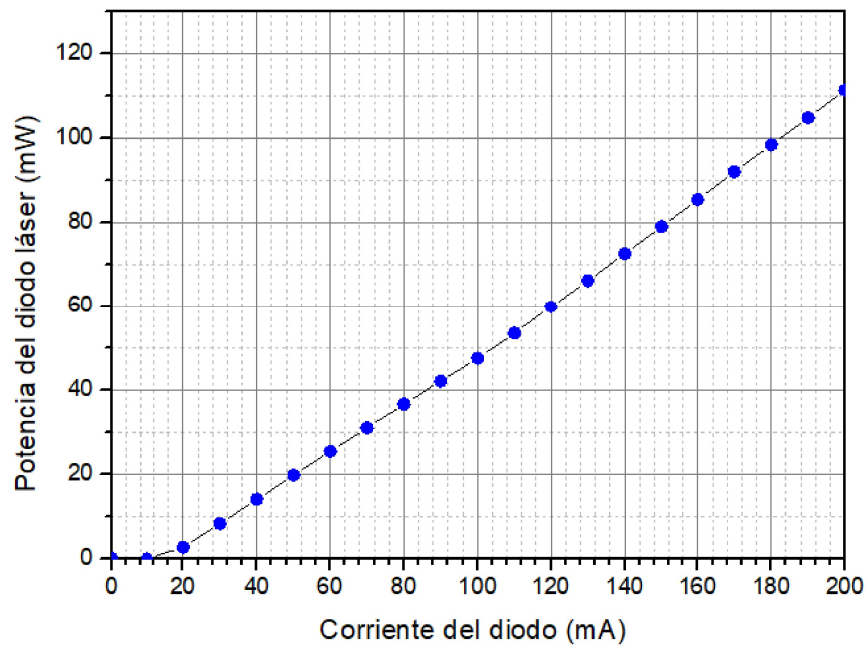


Figura 3.1: Curva característica de diodo láser JDSU modelo 27-8000-300.

En la gráfica se observa que la potencia es lineal a partir de la corriente de umbral de 13mA. Con base a los resultados previos en [3] y tomando en cuenta que se estará trabajando con muestras biológicas, en nuestros experimentos se aplicó una potencia óptica de entre 3-28mW como se menciona en la sección anterior.

Una vez caracterizado el láser y fabricadas las fibras ópticas taper se comprueba que hay transmisión de la radiación a través de éstas. En la Figura 3.2a se presenta el arreglo experimental para caracterizar la transmisión de la fibra óptica taper mientras en la Figura 3.2b muestra la fibra óptica taper y cómo parte de la radiación se encuentra fuera de la fibra.

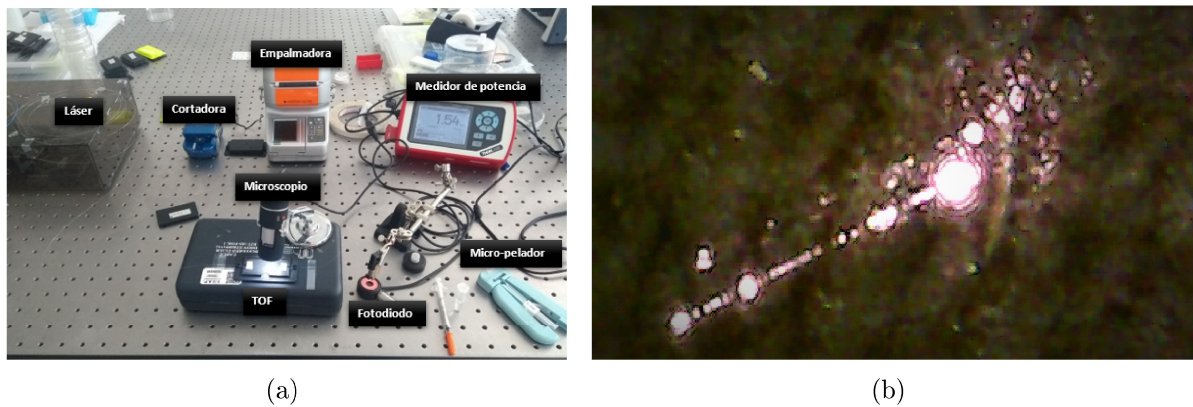


Figura 3.2: a)Arreglo experimental para la caracterización de la transmisión óptica se hace pasar radiación óptica a través de la TOF y se monitorea la potencia de salida con un medidor de potencia, y se ubica de la zona mas delgada de la TOF con un microscopio digital, b)acercamiento de la zona mas delgada de la TOF donde se observa radiación óptica q se encuentra fuera de la misma.

3.1.1. Deposición secuencial de nanopartículas y hormona hCG

Para la preparación de la solución de nanopartículas de oro, en 2 ml de agua desionizada se diluyen 0.5 ml de nanopartículas y se someten a ultrasonido durante 10 min. Después en 0.5 ml de agua desionizada agregamos un volumen de 0.098mm^3 (la obtención de este volumen se explica en el capítulo 2 sección 2.4).

Una vez preparadas las soluciones, se hace incidir radiación óptica a través de la TOF y se conecta el otro extremo al medidor de potencia. Con ayuda de una jeringa para insulina primero se deposita una gota de la solución de nanopartículas de oro sobre la zona más delgada de la TOF como se observa en la Figura 3.3.

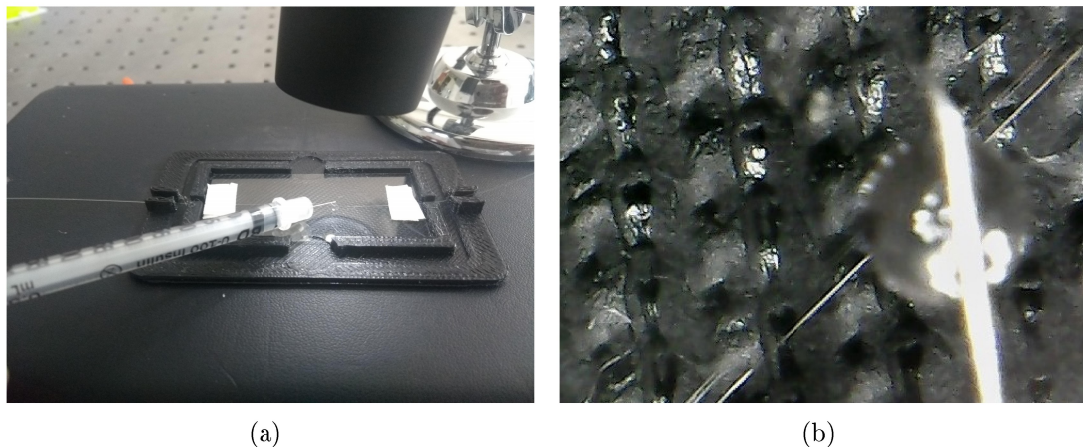


Figura 3.3: a)deposición de la solución en la TOF con ayuda de una jeringa para insulina, b)acercamiento de la zona mas delgada de la TOF donde es depositada la solución acuosa.

A través del medidor de potencia se monitorea continuamente el comportamiento de la potencia de salida desde el depósito de la gota hasta que ésta se evapora debido a la radiación

óptica que emana de la TOF. En este caso el tiempo que tarda en evaporarse la gota es de 8-14min. En la figura 3.4 se observa el comportamiento de la potencia óptica de salida de las muestras f32nps y f55nps. Una vez que la gota se evapora se monitorea la salida de potencia durante 15 minutos más, esto para poder observar si es que ocurre un cambio o la potencia se estabiliza.

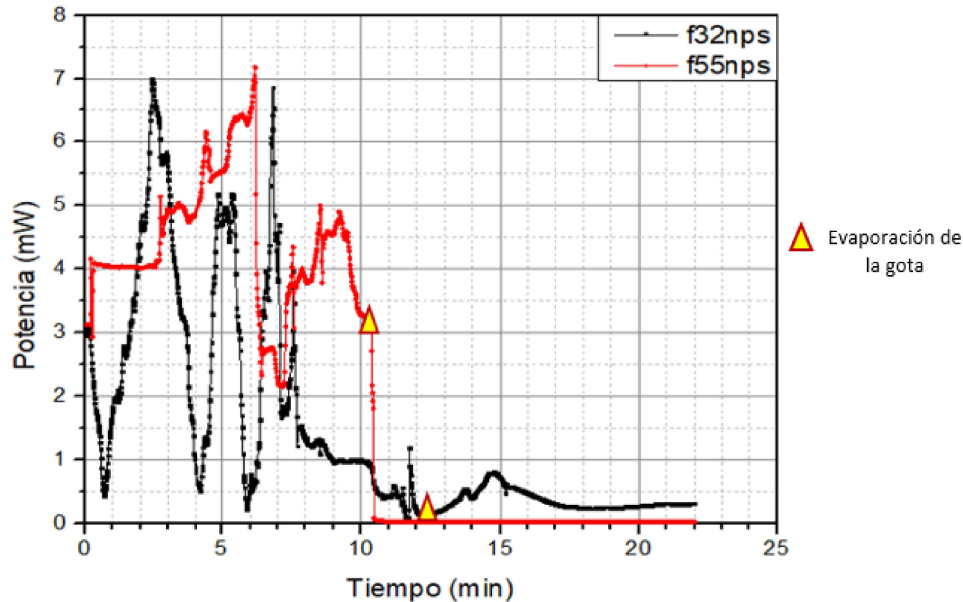


Figura 3.4: Comportamiento de la potencia óptica al depositar NPs.

En la figura 3.4 se presenta el comportamiento de la potencia de salida de dos muestras f32nps y f55nps en función del tiempo en el instante en el que se coloca la solución con NPs sobre la TOF hasta que la gota de solución se evapora (indicado con un triángulo). Durante este periodo se presenta un comportamiento inestable debido a que la deposición de las NPs ocurre de manera continua. Posteriormente cuando la gota se evapora, se observa un comportamiento más estable y la transmisión óptica disminuye casi a cero alrededor de los 10 minutos en f55nps y 12 minutos en f32nps.

Una vez que la gota de la solución de NPs se ha secado sobre la TOF, sin dejar de transmitir la radiación óptica, se procede a realizar el depósito de la solución de hCG sobre la misma zona donde fueron depositadas las NPs, colocando una gota con la ayuda de una jeringa para insulina. Se observa un incremento en la potencia óptica de salida con menos variaciones en comparación con el depósito de NPs. La potencia en f32hcg aumenta considerablemente a diferencia que en f55hcg. Consideramos que dicho incremento se debe a la interacción de la hCG con las NPs depositadas sobre la TOF, observándose una posterior reducción de la potencia hasta el momento de evaporación de la gota el cual tarda de 10 a 13 minutos (indicado por un triángulo). Después de que la gota se ha evaporado se sigue monitoreando la salida por 15 minutos más, obteniéndose una potencia casi estable y la transmisión óptica disminuye casi a cero. Una vez pasado ese tiempo se da por terminada la prueba y se detiene el monitoreo de datos. A continuación, en la Figura 3.5 se presenta la gráfica de potencia en función del tiempo durante la deposición de hCG.

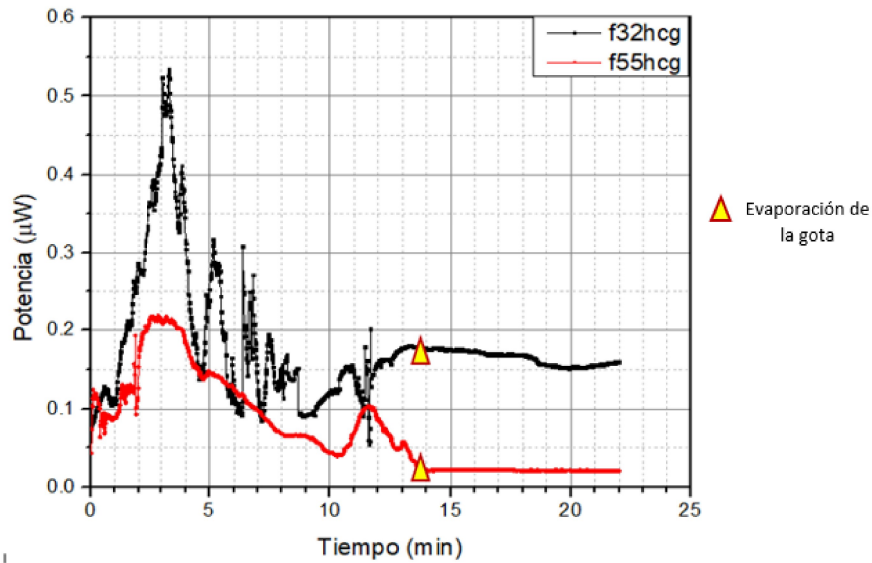


Figura 3.5: Comportamiento de la potencia óptica al depositar hCG.

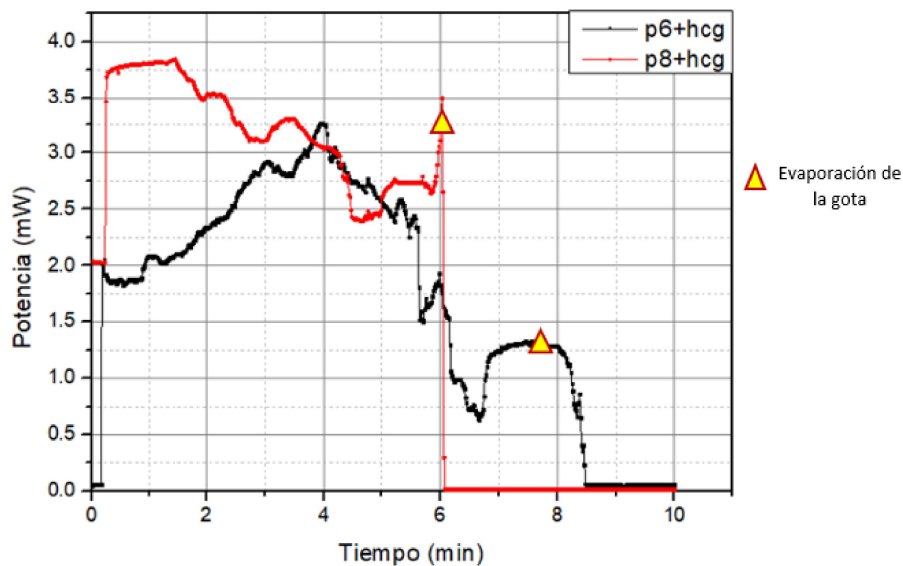


Figura 3.6: Comportamiento de la potencia óptica al depositar hCG con diferente concentración de NPs y potencia de entrada.

En la Figura 3.6 se presentan el comportamiento para otras muestras p6+hcg y p8+hcg en donde la concentración de la solución con NPs así como la potencia de entrada eran distintas a las condiciones de la fibra f32 y f55. En este caso, una vez depositadas las NPs se desconectó la fibra óptica taper del láser, por lo que se tuvo que realizar nuevamente la conexión al mismo para hacer el depósito de la hCG. Esto es importante de mencionar pues están cambiando las condiciones con respecto al experimento anterior para obtener las gráficas de la Figura 3.5.

Sin embargo, es importante remarcar que el comportamiento en las gráficas 3.5 y 3.6 es similar en el sentido que al colocar la gota con la hormona hCG sobre la TOF con NPs se observa un incremento en la potencia de salida que tiende a decaer hasta el momento en el que se evapora la gota con hCG (indicado por un triángulo), lo que implica que a pesar de tener diferentes condiciones experimentales se considera que se tiene un comportamiento similar de detección de hCG a través de la TOF con NPs depositadas como se puede observar en las gráficas 3.5 y 3.6.

La tabla 3.1 muestra los parámetros utilizados en los 4 experimentos secuenciales.

Tabla 3.1: Datos de deposición secuencial donde No: número de muestra, D: diámetro, P_{in} : potencia de entrada láser, P_{out} : potencia de salida, t_e : tiempo de evaporación.

No.	D(μm)	$P_{in}(mW)$	$P_{out}(mW)$	$t_{NPs}(min)$	$t_{hCG}(min)$
f32	7.5	24.56	3.2	13.5	13.9
f55	5	27.36	3.12	10.2	13.7
p6	5	9.58	2.06	7.8	7.6
p8	5	8.63	2.09	5.3	6.1

3.1.2. Deposición simultánea de NPs y hCG

En este caso para la preparación de la solución primero se prepara la la solución de NPs en 2ml de agua desionizada se diluyen 0.5ml de la solución de nanopartículas oro y se someten a ultrasonido durante 10min. Una vez que se tiene la solución de NPs se extraen 0.5ml y se colocan en otro recipiente. A esta nueva solución se agrega un volumen de hormona hCG de 0.098mm³ (la obtención del volumen de la hormona hCG se explica en el capítulo 2 sección 2.4). Una vez que se prepara la solución con la hCG esta se puede utilizar en un periodo de 36 horas antes de que se degrade.

Para hacer el depósito, se transmite radiación óptica a través de la TOF y se coloca una gota de la solución sobre la zona más delgada de la TOF monitoreando con el medidor de potencia el comportamiento de la potencia óptica de salida, hasta que la gota de la solución se evapora (indicado por un triángulo). En este caso el tiempo de secado de la gota fue de 2 a 10 min dependiendo de la potencia de entrada y del diámetro de la fibra.

En la Figura 3.7 se presenta el comportamiento de la potencia de salida en función del tiempo para 3 muestras diferentes. Se observa que en los 3 casos hay un ligero incremento en la potencia en el momento en el que se coloca la gota en la zona más delgada de la TOF. Las 3 muestras presentadas tienen una entrada igual a 10.5mW, sin embargo las fibras f27 y f6 tienen un tiempo mayor de secado en comparación con la fibra f20 debido a que esta última tiene un diámetro menor, lo que implica que la radiación en la superficie de la fibra óptica taper f20 es mayor provocando un tiempo de secado menor.

Es importante notar que los 3 casos presentan un comportamiento similar de la potencia de salida ya que una vez que se deposita la gota, la potencia empieza a decaer. En el momento en el que se evapora la gota se observa una región de transición de 12 segundos a 2.5 minutos antes de que continúe decayendo la potencia hasta llegar a cero.

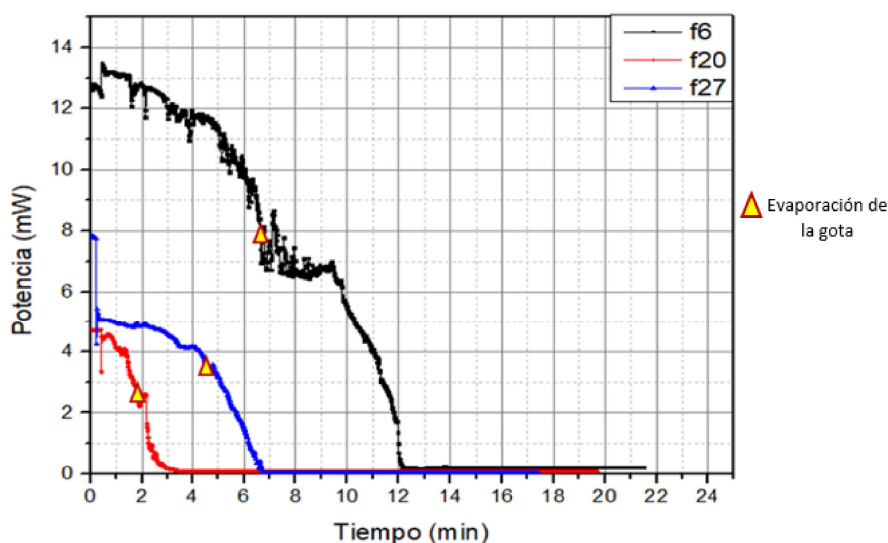


Figura 3.7: Gráficas de depósito de manera simultánea.

La tabla 3.2 se presentan las características de las TOF utilizadas.

Tabla 3.2: Datos de deposición simultánea donde No: número de muestra, D: diámetro, P_{in} : potencia de entrada láser, P_{out} : potencia de salida, t_e : tiempo de evaporación..

No.	D(μm)	$P_{in}(mW)$	$P_{out}(mW)$	$t_e(min)$
f6	7.5	10.5	13.78	6.5
f27	7.5	10.5	7.2	4.6
f20	5.5	10.5	3.13	2.3

3.2. Caracterización en microscopio óptico después de realizar los depósitos

Después de haber realizado los depósitos de las soluciones de nanopartículas y hormona hCG se manera secuencial y simultánea en las fibras ópticas taper, se procede a observar con la ayuda de un microscopio óptico metalográfico marca VELAB modelo VE-146 si se produjo un cambio en la fibra respecto a su forma original.

3.2.1. Fibras taper después de depósito de nanopartículas y hormona hCG de manera secuencial (separada).

En esta sección se presentan los resultados obtenidos respecto al depósito de manera secuencial las cuales fueron obtenidas mediante microscopio óptico para poder observar si se producían cambios respecto a la TOF limpia sin depósito (Figura 3.8).

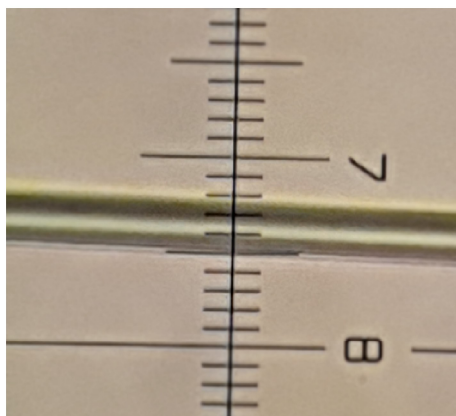
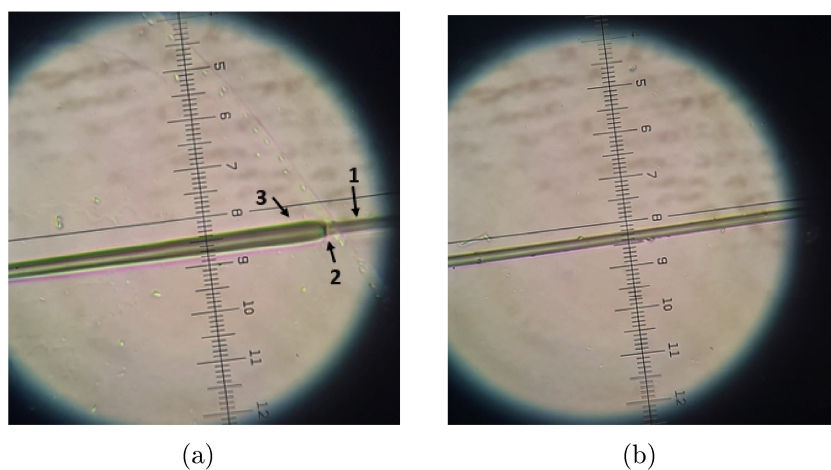


Figura 3.8: TOF limpia.



(a)

(b)

Figura 3.9: TOF con depósito de NPs a) zona de transición con depósito 1)TOF limpia, 2)zona de transición, 3)TOF con NPs, b)zona más delgada de TOF con NPs.

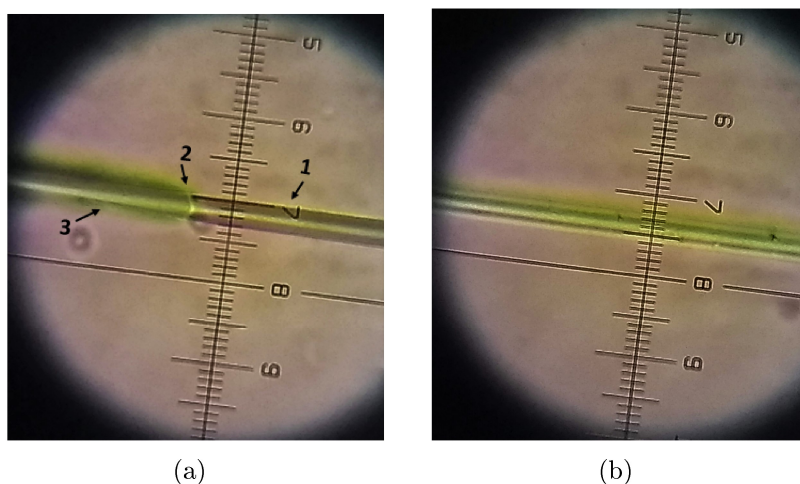


Figura 3.10: TOF con depósito de NPs y hCG a) zona de transición 1) TOF limpia, 2) zona de transición, 3) TOF con NPs y hCG, b) zona más delgada de TOF con NPs y hCG.

En la Figura 3.9a se muestra el límite del depósito de NPs donde se observa que el grosor formado de NPs en el límite de la gota es mayor que dentro de ella (Figura 3.10a) a que el diámetro de la TOF es de $5\mu\text{m}$ por lo tanto es mayor el tiempo de secado de la solución y mayor el campo evanescente. Posteriormente cuando se deposita la solución de hCG ya no se presenta un cambio en el grosor sino un cambio en el color del depósito esto se debe a que la hCG entra en interacción con las NPs depositadas sobre la TOF (Figura 3.9b y 3.10b).

3.2.2. Fibras ópticas taper después de depósito de nanopartículas y hormona hCG de manera simultánea (combinada).

Los resultados obtenidos con la ayuda de un microscopio óptico después de realizar el depósito de manera simultánea en la fibra óptica taper. La Figura 3.11 muestra los cambios producidos en las muestras f6, f20 y f227.

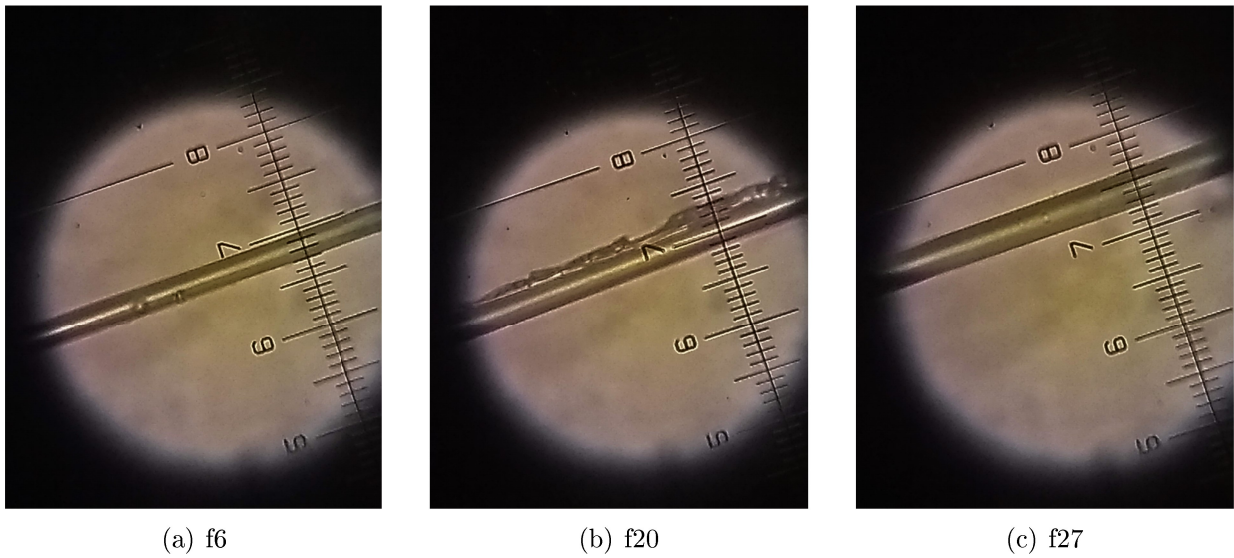


Figura 3.11: Imágenes obtenidas mediante microscopio óptico de fibras ópticas taper con depósito simultáneo

En las figuras 3.11 se comprueba el comportamiento de la gráfica 3.7: a menor diámetro es menor el tiempo de evaporación de la gota y mayor es el depósito de la solución como se observa en la Figura 3.11b debido a que es más intenso el campo evanescente. Por lo tanto, cuando se tiene mayor diámetro como en las Figuras 3.11a y 3.11c es mayor el tiempo de secado y menor el campo evanescente que presenta.

Capítulo 4

Conclusiones

La presente tesis tuvo como objetivo determinar la presencia de la hormona hCG a través de la fibra óptica taper por medio de la interacción del campo evanescente y nanopartículas de oro.

Para esto, se llevaron a cabo dos experimentos: deposición NPs y hCG sobre la TOF 1) de manera secuencial y 2) de manera simultánea.

El procedimiento experimental para depositar las NPs de oro y hormona hCG a lo largo de la región más delgada de las TOF emplea la técnica de goteo y la técnica de fotodeposición. Los experimentos realizados demuestran que la deposición de NPs y hCG depende en su mayor parte del diámetro de la TOF pues entre más pequeño es el diámetro más intenso el campo evanescente dando lugar a una mejor deposición de las NPs y hCG.

Con respecto a la deposición de manera secuencial, se observa que al realizar el depósito solamente de las NPs se produce un incremento en la potencia de salida y un comportamiento inestable. Esto se considera que es debido a que el campo evanescente de la TOF está interactuando con las NPs atrayéndolas ópticamente a la superficie de la misma, hasta la evaporación de la solución acuosa. A continuación, se deposita la solución con hCG sobre la TOF con NPs. Es importante remarcar, que independientemente del diámetro de la TOF, potencia de entrada y la concentración de hCG o NPs, se presenta inicialmente un incremento en la potencia de salida lo cual es indicador de que está ocurriendo una detección de la hCG en la TOF previamente funcionalizada con NPs. Observándose posteriormente un decaimiento suave hasta que la gota de la solución de hCG se evapora.

Para el caso de la deposición de NPs y hCG sobre las TOF de manera simultánea se observa que se puede llegar a un comportamiento similar que al depósito de manera secuencial. No obstante, esto solo es posible bajo ciertas condiciones de potencia de entrada, diámetro de la TOF, concentración de NPs y hCG. En caso contrario el comportamiento es ampliamente aleatorio.

Por lo tanto, podemos concluir que independientemente del método de deposición hay una respuesta en intensidad en presencia de hCG. Sin embargo, el método de deposición secuencial muestra mayor repetibilidad pues no le afecta el cambio de las condiciones experimentales haciéndolo más conveniente.

Capítulo 5

Trabajos futuros

Durante el desarrollo de esta tesis ha surgido una línea futura que se ha dejado abierta y que se espera atacar en un futuro; la cual está directamente relacionada con este trabajo de tesis y es el resultado de cuestiones que han ido surgiendo durante la realización de la misma.

A continuación se presenta un trabajo a futuro que puede desarrollarse como resultado de esta investigación.

Desarrollar un sensor de fibra óptica taper en conjunción con nanopartículas de oro, que detecte la hormona hCG en diferentes concentraciones. El cual sea capaz de utilizarse para la detección de uno o distintos tipos de cáncer.

Bibliografía

- [1] Sinclair Ian. Sensors and Transducers. Newness, Third Edition, (2001).
- [2] López Higuera, José M., Handbook of optical fibre Sensing Technology. University of Cantabria, (2002).
- [3] González Sierra, N. Diseño de un sensor fotónico para monitoreo de gases peligrosos empleando fibras ópticas micro y submicrométricas. (Tesis Maestría). BUAP, (2016).
- [4] Juan S. "Quantitative detection of human chorionic gonadotropin antigen via immunogold chromatographic test strips," *Analytical Methods*. 6, 450-455 (2014).
- [5] [En línea] (Consultado Noviembre 2018) Fibras ópticas en medicina, <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/cortina-de-luz-auroral-261/fibras-pticas-en-medicina-7882>.
- [6] Kress-Rogers E, Handbook of biosensors and electronics noses medicine, food, and the environment. Frankfurt Germany. CRC press, (1996).
- [7] [En línea] (Consultado Marzo 2019) Enzyme Technology. Calorimetric biosensors. <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/calorimetric.html>
- [8] Damborský P, Švitel J, Katrlík J, "Optical biosensors," *Essays Biochem*. 60, 91-100 (2016).
- [9] Mehvar M, Bis C, Scharer C M, Young M M and Luong J H, "Fiber-optic biosensor-Trends and Advances," *Analytical Sciences*. 16, 677-672 (2000).
- [10] Seitz W R, "Chemical sensors based on fibre optics," *Analytical Chemistry*. 56, 16-34 (1948).
- [11] Vaiano P, Carotenuto B, Pisco M, Cusano A, "Lab on Fiber Technology for biological sensing applications," *Laser Photonics Rev*. 6, 922-961 (2016).
- [12] Limin Tong M S, Subwavelength and Nanometer Diameter Optical Fiber, *Advanced Topics in Science and Tecnology in China*, (2010).
- [13] Sivacoumar M, Vinoth1, Zachariah C A, "Tapered Optical Fiber Bio-Sensor for Testosterone Detection," *The 14th International Meeting on Chemical Sensors, IMCS*, 821-825 (2012).

- [14] Huang Y, Tian Z, Sun L-P, Sun D, Li J, Ran Y, and Guan B-O, "High-sensitivity DNA biosensor based on optical fiber taper interferometer coated with conjugated polymer tentacle," *Optics Express*. 23, 26962-26968 (2018).
- [15] Hazli Rafis N, Irawati H A, Rafaie H, Ahmad S W, Harun R M Nor, "Detection of different concentrations of uric acid using tapered silica optical sensor coated with zinc oxide ZnO," *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 74, 55-580 (2015).
- [16] [En línea] (Consultado Noviembre 2018) Biosensors- A Global Market Overview. <http://industry-experts.com/verticals/files/articles/bt012-biosensors-a-global-market-overview-0.pdf>
- [17] Huang Y, Ding M, Guo T, Hu D, Cao Y, Guan Long J and B, "A fiber-optic sensor for neurotransmitters with ultralow concentration: near-infrared plasmonic electromagnetic field enhancement using raspberry-like meso-SiO₂ nanospheres," *Royal Society of Chemistry*. 9, 14929-14936. (2017).
- [18] Li H, Huang Y, Chen C, Xiao A, Hou G, Huang Y, Feng X, Guan B, "Real-Time Cellular Cytochrome C Monitoring through an Optical Microfiber: Enabled by a Silver-Decorated Graphene Nanointerface," *Advanced Science*. 5, 1-10.(2018).
- [19] Cole, L A, "Biological functions of hCG and hCG-related molecules, *Reproductive Biology and Endocrinology*. 8, 1-14. (2010).
- [20] Stenman, H-U, "The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG," *Human Reproduction Update*. 12, 769-784, (2006).
- [21] Schneider B H, "Highly sensitive optical chip immunoassays in human serum," *Biosensors and Bioelectronics*. 15, 13-22 (2000).
- [22] Su J, "Quantitative detection of human chorionic gonadotropin antigen via immunogold chromatographic test strips," *Anal. Methods* 6, 450-455 (2014).
- [23] Yan X, "Detection of HCG-antigen based on enhanced photoluminescence of hierarchical ZnO arrays," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 89, 86-92 (2012).
- [24] Chang C-C, "Colorimetric detection of human chorionic gonadotropin using catalytic gold nanoparticles and a peptide aptamer," *Chem. Commun.* 50, 14443 (2014).
- [25] [En línea] (Consultado Junio 2019) Sofia hCG FIA. www.quidel.com/sites/default/files/product/documents/sofia_hcg_pi_ef1241702en00.pdf
- [26] Coxca-Gutiérrez R G, "Caracterización de micro-nano fibras ópticas para el desarrollo de dispositivos fotónicos, Tesis de Maestría FCE BUAP (2016).
- [27] Ipohorski M, Bozzano P B, "Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales", *Ciencia e Investigación*. 63 (2013).
- [28] Gómez-Pavón L C, Lozano-Perera G J, Luis-Ramos A, Muñoz-Pacheco J M, Padilla-Martínez J P, Zaca-Morán P, "Influence on the saturable absorption of the induced losses by photodeposition of zinc nanoparticles in an optical fiber," *Opt. Express* 26, pp. 1556-1563 (2018).