



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA ELECTRÓNICA
DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN APLICADA
A LA INDUSTRIA

Biosensor para la detección de la hormona
hCG basado en tecnología nanofotónica

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
Doctor en investigación aplicada a la industria

PRESENTA:

David Saúl Villegas Cantorán*

ASESORA:

Dra. Luz del Carmen Gómez Pavón

Puebla, Pue

Julio, 2025

Becario SECIHTI*

Agradecimientos

A mis padres por su apoyo y motivación para la culminación de este trabajo.

A mi asesora de tesis la Dra. Luz del Carmen Gómez Pavón , ya que ha sido mi guía durante todos estos años de trabajo, por la confianza y por su apoyo.

Al Dr. Jesús Manuel Muñoz Pacheco por creer en mi y apoyarme en innumerables veces en la permanencia en este programa doctoral.

Al comité revisor el Dr. Arnulfo Luis Ramos, el Dr. J. Fermi Guerrero Castellanos y al Dr. Luis Abraham Sánchez Gaspariano , por su tiempo y dedicación en la revisión del documento, así como las observaciones brindadas para enriquecer el documento de tesis.

Al Dr. Placido Zaca Morán (responsable del laboratorio de fibras ópticas) y al Dr. Juan Pablo Padilla Martínez (responsable del laboratorio de biofotónica) ambos del Instituto de Ciencias-ICUAP, por su gran ayuda en el préstamo de sus laboratorios para la realización de los experimentos.

Especialmente a la Doctorado en investigación aplicada a la industria de la Facultad de Ciencias de la Electrónica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), así como al Cuerpo Académico y personal administrativo por haberme aceptado y apoyado en la realización y culminación de este trabajo de tesis.

Resumen

Según la organización mundial de la salud, el cáncer se encuentra en el segundo lugar de causas de muerte a nivel mundial, se espera que para 2025 un total de 21 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes alrededor del mundo. Especialmente en México, en 2024, el cáncer ocupó la tercera causa de muerte con 200 000 nuevos casos y 46 000 muertes.

Una forma para reducir los casos de muerte es el empleo de dispositivos que ayuden a detectar esta enfermedad de forma rápida, precisa y segura, por lo que un componente biológico que puede ser gran utilidad para indicar la presencia de diferentes tipos de cáncer de alta letalidad en el cuerpo humano es la hormona hCG.

En este trabajo se presenta un biosensor basado en una fibra óptica taper decorada con nanopartículas de oro a fin de detectar diferentes concentraciones de hCG diluida tanto en agua como en orina.

El biosensor de fibra óptica taper fue fabricado empleando la técnica flame-brushing con la ayuda de un sistema mecatrónico hasta obtener un diámetro en su cintura de $3.5 \mu\text{m}$. Se depositaron nanopartículas de oro con un diámetro de 100 nm sobre la cintura de la fibra taper, utilizando la técnica de fotodeposición, un láser de 1550 nm, a fin de generar plasmones que amplifiquen el campo evanescente emergiendo de la zona más delgada de la fibra óptica taper.

Con el biosensor se cuantificaron diferentes concentraciones de hCG diluidas en agua entre 1 a 100000 mIU/mL, midiendo su repuesta de potencia óptica de salida, realizando cinco veces cada una de las mediciones para cada una de las concentraciones, para determinar la repetibilidad del dispositivo en la detección de la hormona. Los resultados experimentales demostraron que al incrementar la concentración de hCG, la respuesta de potencia óptica de salida se reduce, mientras que, si se reducía la concentración de hormona, la respuesta de potencia óptica se incrementa.

Posteriormente, se realizó la detección de hCG diluida tanto en agua como en orina en un rango de concentraciones entre 1 a 180 mIU/mL, valores clínicamente relevantes para la detección de ciertos tipos de cáncer.

La cuantificación de estas concentraciones se llevó a cabo midiendo el corrimiento espectral de la longitud de onda central y su respuesta potencia óptica de salida, a partir de lo cual el biosensor mostró un desplazamiento de longitud de onda y un cambio en la potencia óptica de salida en función con la concentración de hormona hCG.

El rendimiento y funcionamiento del biosensor demostraron un límite de detección de 0.4

mIU/mL para la solución en agua tridestilada y de 0.03 mIU/mL para la solución de orina, con una sensibilidad de 0.012 nm/mIU.mL y 0.021 nm/mIU.mL respectivamente.

Cabe mencionar que , el biosensor mostró un buen rendimiento para medir un amplio rango de concentraciones de hCG. Además, presenta un potencial para aplicaciones biomédicas y en la industria farmacéutica, en el cual miles de pacientes se pueden beneficiar de un dispositivo que permita indicar la posible presencia de diferentes tipos de cáncer en etapa temprana de una forma rápida y oportuna.

Índice general

Lista de figuras	III
1. Estado del arte	1
1.1. Estadísticas del cáncer	1
1.2. Hormona hCG	4
1.3. Biosensores para la detección de la hormona hCG	8
1.3.1. Detección de hormona hCG usando sensores electroquímicos	9
1.3.2. Detección de hCG usando sensores basados en colorimetría	18
1.3.3. Detección de hormona hCG usando sensores ópticos	20
1.4. Patentes relacionadas con la detección de hormona hCG	26
1.4.1. Detección de hormona hCG en saliva	26
1.4.2. Detección de hormona hCG mediante inmunocromatografía	26
1.5. Hipótesis	27
1.6. Objetivos del trabajo	27
2. Fundamentos teóricos	29
2.1. Sensores biológicos	29
2.2. Sensores de fibra óptica	33
2.2.1. Fibra óptica taper	35
2.2.2. Campo evanescente	37
2.2.3. Resonancia de plasmones superficiales localizados	40
2.2.4. Configuraciones de sensores por fibra óptica	42
2.2.5. Fibra óptica de tipo U sin revestimiento	43
3. Desarrollo experimental	47
3.1. Fabricación del transductor (fibra óptica taper)	48
3.2. Preparación del receptor (nanopartículas de oro)	53
3.3. Sistema de transducción	54
3.3.1. Interacción de nanopartículas de oro y campo evanescente	55
3.4. Preparación y caracterización del analito (hormona hCG)	57
3.4.1. Preparación de la hormona hCG	57
3.4.2. Caracterización del analito (hormona hCG)	60
3.4.3. Caracterización de la hormona hCG para la detección de diferentes tipos de cáncer	61
3.4.4. Deposito de la hormona hCG sobre la fibra óptica taper decorada con Au-Nps	63
3.5. Características de rendimiento del biosensor	65

4. Resultados	67
4.1. Caracterización y detección del analíto	68
4.1.1. Detección de hormona hCG (1-100000 mIU/mL) diluida en agua tridestilada	69
4.1.2. Respuesta espectral al depositar hormona hCG diluida en agua (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL)	70
4.2. Análisis de repetibilidad para el caso de agua tridestilada	71
4.2.1. Repetibilidad para los valores de respuesta de potencia óptica	71
4.3. Caracterización de la hormona hCG para la detección del cáncer	73
4.3.1. Respuesta de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada	73
4.3.2. Respuesta espectral en función de la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada	75
4.3.3. Análisis de repetibilidad para hormona hCG diluida en agua	76
4.3.4. Respuesta de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG orina	79
4.3.5. Análisis de repetibilidad para la hormona hCG diluida en orina	81
4.4. Desempeño del biosensor	84
4.4.1. Figuras de mérito para el agua tridestilada	84
4.4.2. Figuras de merito para la orina	85
4.4.3. Tabla de general de figuras de merito	86
5. Conclusiones	87
6. Apéndice	89

Índice de figuras

1.1. Casos por cada tipo de cáncer a nivel mundial durante 2023 [4]	1
1.2. Mortalidad por cada tipo de cáncer a nivel mundial durante el 2023 [4]	2
1.3. Incremento de la incidencia de cáncer en hasta 77 % dentro de los próximos 30 años[4]	2
1.4. Incremento de la mortalidad de cáncer en los próximos 30 años[5]	3
1.5. Las 10 principales causas de muerte en México por género durante el 2023, según INEGI[6]	4
1.6. A)Subunidad α y β de la hormona hCG, B)Estructura completa de la hormona hCG [1]	5
1.7. hCG y el cáncer	7
1.8. Sensores más empleados para detectar cáncer a base de la hormona hCG.	9
1.9. A)Funcionalización del sensor B) Curva de calibración del sensor y grafica de nyquist donde se observa el incremento de la impedancia en función de la concentración de hormona hCG.[10]	10
1.10. A)Funcionalización del sensor, B) Espectros de fluorescencia en presencia de diferentes concentraciones de hormona hCG, C) Dependencia de la intensidad de la fluorescencia de la concentración de hCG.[11]	11
1.11. A)Diagrama de funcionalización, B) Curva de calibración del inmunosensor para diferentes concentraciones de hormona hCG. El recuadro muestra las respuestas de voltamperometría cíclica del inmunosensor electroquímico a diferentes concentraciones de hCG (0, 0,5, 2,5, 5, 10, 25, 40, 50 ng/mL).[12]	12
1.12. A)Curvas de resistencia de las cinco concentraciones depositadas en el FET, B)Voltaje de compuerta en función de la concentración de hCG.[13]	13
1.13. A) Configuración experimental, B)Curva de calibración de después de depositar diferentes concentraciones de hormona hCG.[14]	14
1.14. A)Funcionalización del sensor, B)Respuesta de voltaje contra corriente donde se observa que mientras que la concentración de hormona hCG aumenta, la corriente se reduce hasta llegar a la saturación.[15]	15
1.15. A) Inmovilización de anticuerpo,B)Inmovilización de antígeno, C)Curva de calibración en el cual se muestra que mientras se incrementa la concentración de hormona hCG en orina artificial, se reduce considerablemente la corriente de drenaje del transistor FET.[16]	16
1.16. A)Funcionalización de biosensor,B)Incremento de la impedancia en función de la concentración de hormona hCG.[17]	17
1.17. A)Preparación de sensor de colorimetría,B) Curva de calibración donde se muestra que al aumentar la concentración de hormona hCG, la absorbencia también se incrementa, lo cual es directamente proporcional.[18]	18

1.18. A)Preparación de sensor de colorimetria B)Desviación estándar de cada una de las muestras[19]	19
1.19. A)Inmovilización del sensor,B) Gráfica de conversión fototérmica en función de la concentración de hormona hCG, C) Gráfica de calibración de la temperatura en función de la concentración de hormona hCG [20]	20
1.20. A)Arreglo experimental del sensor,B)Espectros de desplazamientos para diferentes concentraciones de hormona hCG (0.05,5 y 500 mIU/ml).[21]	21
1.21. A)Arreglo experimental B) Desplazamientos de longitud de onda resonante, donde muestra que al reducir la concentración de hormona hCG, el desplazamiento de longitud de onda se decrementa, C)Curva de calibración cuando la hormona hCG interactua con el anticuerpo hCG, lo cual se muestra un aumento del desplazamiento de longitud de onda de hasta 6 fM en 10 nM [22]	22
1.22. (A) Arreglo experimental,B) cambio de longitud de onda frente al tiempo en diferentes concentraciones de solución de hormona hCG, C) reproducibilidad: cambio de longitud de onda frente a concentración de hormona hCG.[23]	23
1.23. A)Diferentes etapas de funcionalizacion de la fibra, B)cambio de longitud de onda con el aumento del tiempo en diferentes concentraciones de hormona hCG; (C) la barra de error de cambio de longitud de onda en diferentes concentraciones de hormona hCG([24]	24
1.24. Infografía de las principales características de varias configuraciones de fibra óptica[26]	25
1.25. Patente para detectar hormona hCG	27
2.1. Partes de un sensor biológico	30
2.2. Partes de una fibra óptica	33
2.3. Reflexión total interna en una fibra óptica	34
2.4. Fibra óptica taper fabricada empleando el sistema flame-brushing[36]	36
2.5. Vista longitudinal de una fibra óptica taper[36]	36
2.6. A) Campo evanescente interactuando en una muestra B)Profundad de penetración de una onda evanescente	38
2.7. Interfaz de núcleo-revestimiento con onda evanescente	38
2.8. Resonancia de plasmones superficiales localizados en una fibra óptica taper	41
2.9. Fibra óptica sin revestimiento	42
2.10. Geometría de la región de sensado de una fibra sin revestimiento tipo U, donde al doblarla en forma de U, el angulo critico es mas grande que el angulo incidente y en consecuencia aumentan las perdidas de potencia óptica[34]	43
2.11. A) Vista transversal de una fibra tipo D, B)Vista longitudinal de una fibra óptica tipo D cubierta por una película de oro, para provocar resonancia de plasmones superficiales.[34]	44
2.12. Vista transversal de una fibra reflexión de cara fina.[34]	45
2.13. Diagrama de una fibra óptica de rejilla tipo bragg.[35]	46
3.1. Diagrama a bloques del sensor de fibra óptica taper	48
3.2. Sistema mecatrónico de fabricación de fibra óptica taper (TOF)	49
3.3. Inicio de barrido con soplete empleando el sistema mecatrónico de fabricación de fibra óptica taper (TOF)	49
3.4. Microscopio óptico metalográfico vertical marca VELAB modelo VE-146	50

3.5. Imagen de microscopio óptico de TOFs fabricadas, con un diámetro de: A) $3\mu\text{m}$, B) $2.5\mu\text{m}$ y C) $3.5\mu\text{m}$	51
3.6. Micrografía de SEM de dos fibras ópticas taper recién fabricadas de diferentes diámetros A) $3\mu\text{m}$, B) $3.5\mu\text{m}$	52
3.7. Micrografías SEM de la fibra óptica cónica fabricada. El diámetro de la cintura es de $3,5\mu\text{m}$ y la región de transición es de aproximadamente 0.74 cm	52
3.8. Descripción gráfica de la preparación de las nanopartículas de oro (Au-Nps)	53
3.9. A) Nanopartículas de oro (Au-Nps) sin agitar, B) Extracción de nanopartículas de oro empleando una jeringa, C) Nanopartículas de oro después de agitarlas usando una tina ultrasónica, donde se observa su cambio de color.	54
3.10. A) Arreglo experimental, B) Esquema experimental implementado para el decorado de la fibra óptica taper con Au-NPs, C) Micrografía SEM de la TOF fabricada, D) Micrografía SEM de la TOF decorada con Au-NPs	55
3.11. Esquema del campo evanescente amplificado (E_{Amp}) alrededor de la cintura de la fibra óptica taper generado por el láser y el campo eléctrico generado cercano derivado por los plasmones de superficie localizados (E_{Nef}), la profundidad de penetración del campo evanescente (d_p) y el campo evanescente emergiendo de la fibra óptica taper (E_{lef})	56
3.12. Preparación de concentraciones de hormona hCG obtenidas a partir de la técnica de diluciones seriadas.	58
3.13. Esquema de secuencia de preparación de diluciones de hormona hCG	59
3.14. A) Lecturas mostradas de cada nivel disponible de embarazo en una prueba comercial digital, B) Gráfica de niveles de hormona hCG versus las primeras tres semanas de embarazo[70]	60
3.15. A) Espectro de FTIR característico de la hormona hCG, B) Espectro característico de fluorescencia de la hormona hCG	61
3.16. Espectro característico de fluorescencia de la hormona hCG	62
3.17. Configuración experimental de depósito de diferentes concentraciones de hCG sobre la fibra óptica taper funcionalizada con nanopartículas de oro	63
3.18. Configuración experimental del sensor de fibra óptica en tiempo real	64
4.1. Comportamiento de la respuesta potencia óptica de salida al depositar sobre la fibra óptica taper decorada con nanopartículas de oro la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada correspondiente a 100000 mIU/mL	68
4.2. Respuestas de potencia óptica de salida al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG ($1-100000\text{ mIU/mL}$) sobre la fibra óptica taper	69
4.3. Corrimiento espectral perteneciente entre la concentración más alta de hormona hCG y la más baja	70
4.4. Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en agua tridestilada ($1-100000\text{ mIU/mL}$) depositadas sobre la fibra óptica taper	71
4.5. Repetibilidad de los valores de la respuesta de potencia óptica en función de diferentes concentraciones de hormona hCG diluida en agua tridestilada	72
4.6. Respuestas de potencia óptica de salida al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG ($1-180\text{ mIU/mL}$) sobre el transductor	74
4.7. Respuestas espectrales al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG ($1\text{ y }180\text{ mIU/mL}$) sobre el transductor	75

4.8. Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en agua tridestilada entre 1 a 180 mIU/mL depositadas sobre la TOF	76
4.9. Repetibilidad de valores de potencia óptica de salida en función de diferentes concentraciones de hormona hCG de 1 a 180 mIU diluido en agua tridestilada	77
4.10. Repetibilidad de valores espectrales en función de diferentes concentraciones de hormona hCG de 1 a 180 mIU diluido en agua tridestilada	78
4.11. Respuestas de potencia óptica de salida al depositar 1,10,50,100,150 y 180 mIU/mL de hormona hCG diluida en orina	79
4.12. Respuestas espectral al depositar 1 y 180 mIU/mL de hormona hCG diluida en orina	80
4.13. Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en orina entre 1 a 180 mIU/ml depositados sobre la TOF	81
4.14. Gráfica de barras de error representando la repetibilidad de los valores calculados en la tabla 4.4	82
4.15. Gráfica de barras de error representando la repetibilidad de los valores calculados en la tabla 4.5	83
6.1. Artículo publicado	90
6.2. Artículo en revisión	91
6.3. Participación en congreso	92

Capítulo 1

Estado del arte

En este capítulo, se da a conocer el estado del arte con respecto a biomarcadores de hormona hCG, transductores de fibra óptica para detección de biológicos, y finalmente, transductores de fibra óptica taper para detección de la hormona hCG. Adicionalmente, se incorporan los objetivos generales, objetivos específicos, justificación y finalmente la descripción del trabajo

1.1. Estadísticas del cáncer

Según las estadísticas el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, debido a múltiples factores como es la mala alimentación, factores genéticos, exposición a químicos de alta peligrosidad, fumar, adquisición de oncovirus, entre otros más[3].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2023 se reportaron 20 millones de nuevos casos y 9.8 millones de muertes a causa del cáncer[4]. Los tipos de cáncer que representaron las mayores tasas de incidencia se presentan en la figura 1.1:

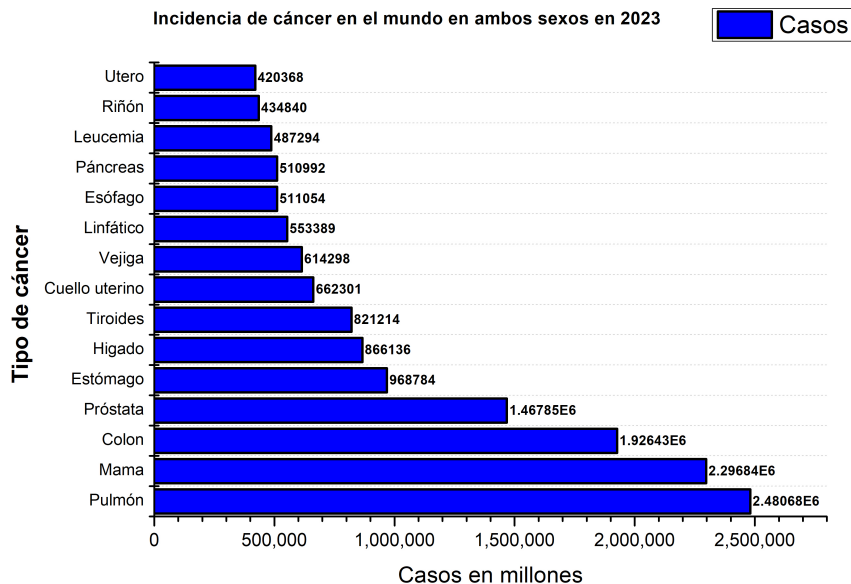


Figura 1.1: Casos por cada tipo de cáncer a nivel mundial durante 2023 [4]

En tanto que, la mortalidad por cada tipo de cáncer en el mundo se muestra en la figura 1.2, donde se observa que el cáncer de pulmón y de colon tiene las tasas mas altas de mortalidad[4].

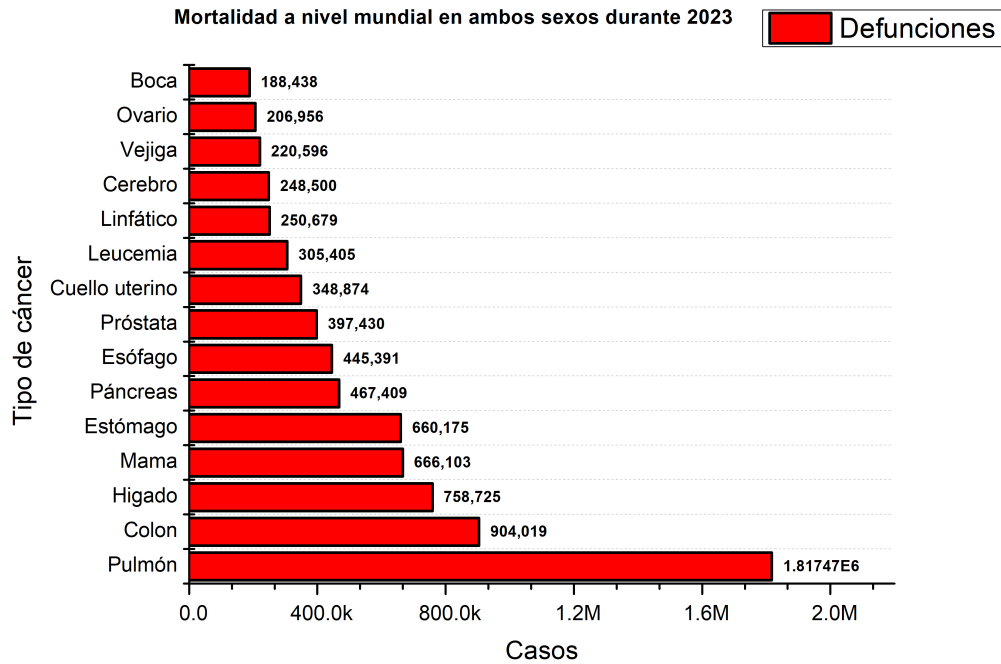


Figura 1.2: Mortalidad por cada tipo de cáncer a nivel mundial durante el 2023 [4]

Además, se pronostica que para el año 2050 los casos de cáncer a nivel mundial se incrementen en aproximadamente 77 %, el cual representan 35 millones de casos (15 millones de casos más en comparación de 2020)[4], como se muestra en la figura 1.3.

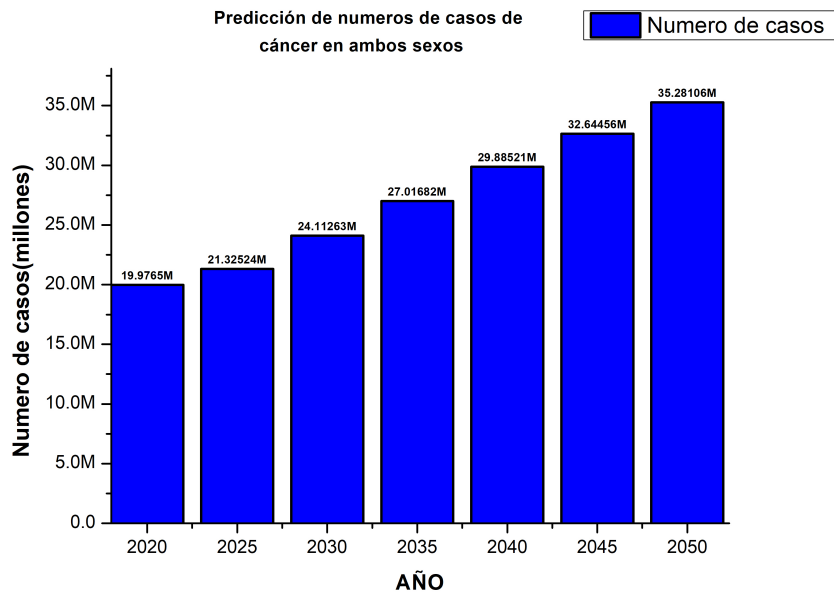


Figura 1.3: Incremento de la incidencia de cáncer en hasta 77 % dentro de los próximos 30 años[4]

Mientras que la mortalidad se elevará en un 60 % con 19 millones de muertes[5], como se muestra en la gráfica de la figura 1.4.

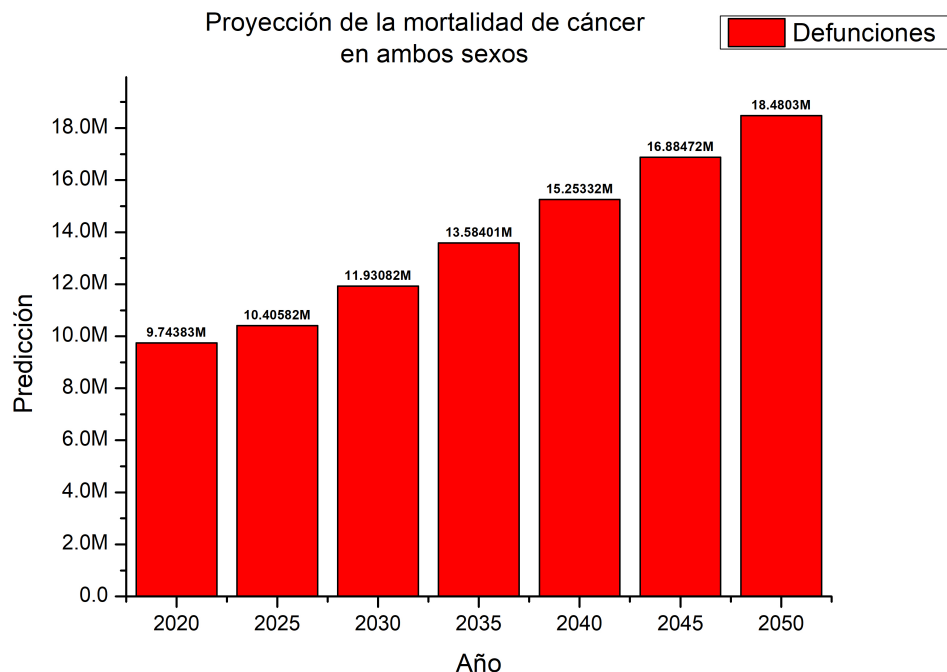


Figura 1.4: Incremento de la mortalidad de cáncer en los próximos 30 años[5]

En el contexto nacional, de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en 2023, el cáncer en México ocupó el tercer lugar de las principales causas de muerte, con 195 500 nuevos casos y un 46 % en defunciones, ya que 7 de cada 10 casos se detectan demasiado tarde (etapa 4 o metástasis). En la figura 1.5 se muestra una tabla con las 10 principales causas de muerte en México durante 2023, donde los tumores malignos ocuparon el tercer lugar en defunciones[6].

Rango	Total	Mujer	Hombre
1	Enfermedades del corazón 51 586	Enfermedades del corazón 24 032	Enfermedades del corazón 27 549
2	Diabetes <i>mellitus</i> 30 501	Diabetes <i>mellitus</i> 15 275	Diabetes <i>mellitus</i> 15 224
3	Tumores malignos 23 464	Tumores malignos 12 472	Tumores malignos 10 991
4	Influenza y neumonía 11 098	Influenza y neumonía 5 040	Enfermedades del hígado 7 388
5	Enfermedades del hígado 10 292	Enfermedades cerebrovasculares 4 463	Accidentes 7 345
6	Accidentes 9 480	Enfermedades del hígado 2 902	Agresiones (homicidios) 6 287
7	Enfermedades cerebrovasculares 9 237	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 2 809	Influenza y neumonía 6 056
8	Agresiones (homicidios) 7 137	Accidentes 2 129	Enfermedades cerebrovasculares 4 774
9	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 5 819	Insuficiencia renal 2 039	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas 3 010
10	Insuficiencia renal 4 563	Septicemia 1 034	Insuficiencia renal 2 524

■ Enfermedades transmisibles
 ■ ■ ■ Enfermedades no transmisibles
 ■ Externas

Figura 1.5: Las 10 principales causas de muerte en México por género durante el 2023, según INEGI[6]

Asimismo, el grupo de edades más vulnerables a este padecimiento fueron las personas con edades comprendidas entre los 60 años en adelante, debido al deterioro de sus órganos que provocan la mutación del ADN de las células y, por lo tanto, la formación de carcinomas y adenocarcinomas de muy alta mortalidad. Y finalmente, los tipos de cáncer más comunes en México en el año 2023 fueron el cáncer de mama, el de próstata, de útero, de colon y de pulmón[3].

Un biomarcador con potenciales aplicaciones para la detección temprana del cáncer es la hormona gonadotropina coriónica humana, la cual es una glucoproteína importante en la reproducción y está asociada con diversas condiciones patológicas, incluyendo neoplasias de células germinales y carcinomas de próstata, mama, páncreas, hígado y pulmón, lo que la convierte en un marcador clave en la detección y seguimiento de ciertas enfermedades oncológicas [referencias].

1.2. Hormona hCG

La hormona gonadotropina coriónica humana o también denominada “hCG”, es una glucoproteína producida por una variedad de órganos, pero en gran cantidad por la hipófisis, la cual es útil para la detección y mantenimiento del embarazo, detección del aborto, preeclampsia, síndrome de Down, coriocarcinoma (cáncer después del embarazo) y, así mismo, para detectar otros tipos de cáncer no gestacional (mama, páncreas, próstata, hígado, colon, etc), los cuales tienen altas tasas de mortalidad si no se detectan en etapas iniciales.[1]

Esta hormona se divide en dos subunidades enlazadas no covalentemente, α y β , donde α contiene 92 aminoácidos con una masa molecular de 14.5 kD (kilodaltons) y β contiene 145

aminoácidos con un peso de 22.2 kD, para hacer un total de 237 aminoácidos y una masa molecular de 37.7 kD. Al separarse α y β , la hormona hCG pierde su actividad biológica y finalmente no intercede en los demás órganos. Así mismo, la hormona hCG es procesada por el hígado y desechada por el riñón con una vida útil entre 33 y 36 horas en el exterior. En la figura 1.6 se muestra la estructura completa de la hormona hCG y sus subunidades α y β .

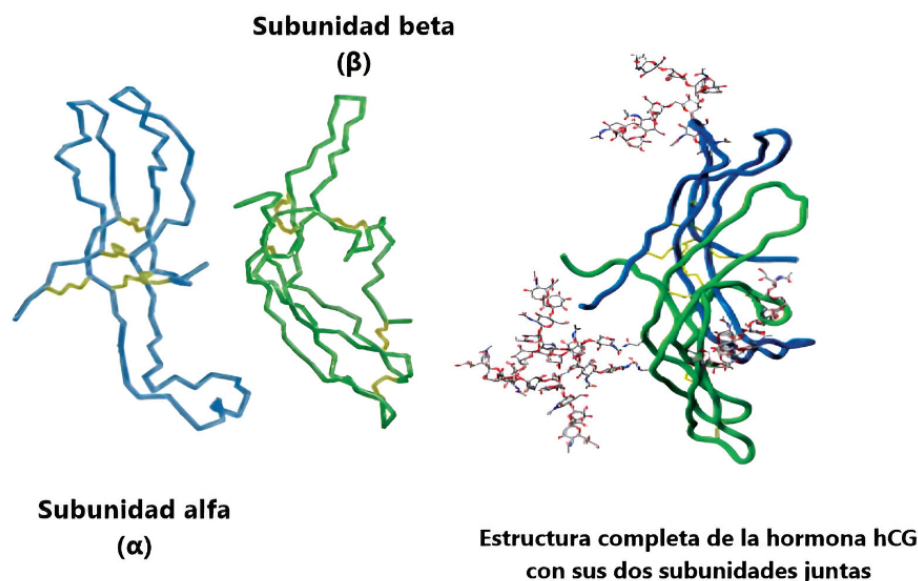


Figura 1.6: A) Subunidad α y β de la hormona hCG, B) Estructura completa de la hormona hCG [1]

De igual forma, la hormona hCG es un miembro de la familia de hormonas glicoproteicas que incluye la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y la hormona estimulante del folículo (FSH), que al interactuar con otras células de otros órganos producen progesterona, Interleucina-6, citoquinas entre otras hormonas y proteínas que mantienen al organismo en buen funcionamiento.

Además, la hormona hCG puede ser útil para la detección y monitoreo de diferentes enfermedades de tipo cancerígeno o derivados del embarazo, ya que esta hormona al producirse en diferentes órganos puede ser un biomarcador útil en laboratorio. La hormona hCG al estar compuesta por dos subunidades, la más empleada para la localización de diferentes enfermedades es la subunidad β , debido a que β interactúa o regula diferentes hormonas y células de diferentes órganos y al producir más glucoproteína de lo normal.

En el contexto histórico, el primer uso de la hormona hCG para detección y monitoreo de diferentes enfermedades fue destinado especialmente a la detección de embarazo en 1928, debido a que Aschheim y Zondek al inyectar orina de una mujer embarazada en una rata, esta se mostró en celo e inquieta debido a la interacción entre el estrógeno y la hormona hCG, mientras que si se inyectaba orina de una mujer no embarazada en la rata, esta no se mostró en celo y se mostró completamente tranquila.

Para los años 60, se empezaron a desarrollar diferentes dispositivos para detectar embarazo usando la hormona hCG como lo fueron los radioinmunoensayos, pero con unas desventajas, tal y como el empleo de elementos radiactivos como el yodo para el etiquetado de la hormona hCG, así como el no poder descartar las subunidades α y β

En los años 70, los métodos de detección mejoraron con respecto a la discriminación de las subunidades β y α que componen a la hormona hCG, la detección de diferentes concentraciones de la hormona hCG, así como el desarrollo de la primera prueba de embarazo moderna basada en tira flujo lateral (LFA), con una membrana fabricada de nitrocelulosa con gotero, la cual fue cubierta completamente de anticuerpos anti- β hCG para su uso exclusivo en casa.

Hacia 1974, la comunidad científica comenzó a investigar otras aplicaciones que se le pudieran dar a la hormona hCG (aparte del embarazo), debido a lo cual en un estudio realizado por Grift Ross y Judith Vaitukaitis, se estudiaron diferentes muestras de hormona hCG en orina y plasma de personas con carcinomas en estómago, páncreas, pulmón, próstata y mama, donde empleando un radioinmunoensayo se observó que estas tuvieron altas concentraciones de hormona hCG, ya que los tumores cancerosos segregaron grandes concentraciones de hormona hCG en etapas de cáncer tipo 4 (metástasis)[2]. Debido a lo anterior, esta hormona hCG tiene potencial como biomarcador, puesto que permite detectar embarazo, síndrome de Down, preeclampsia, y que en niveles anormales puede ser útil para la detección de diferentes tipos de cánceres como el de colon, mama, páncreas, pulmón, entre otros.

Así pues, a partir de las investigaciones realizadas por Ross y Vaitukaitis, la comunidad científica empezó a investigar más sobre el uso de la hormona hCG para detectar diferentes tipos de cáncer de alta mortalidad (colon, mama, páncreas, pulmón, entre otros), donde se dieron cuenta de que la subunidad β es la culpable de aumentar la agresividad de estos cánceres, debido a que es la hCG- β segrega enzimas y colágeno que aumentan el crecimiento de tumores cancerígenos.

Además, la hCG- β bloquea completamente el mecanismo de la muerte programada de las células (apoptosis), el cual evita que las células cancerosas mueran y así aumenten en mayor proporción hasta convertirse en metástasis. En otro estudio, altas concentraciones de hormona hCG- β en diversos cánceres como el de páncreas, son señales de cánceres de alta agresividad como los adenocarcinomas y además estas concentraciones tan altas de hormona hCG- β liberan enzimas y proteínas que protegen al tumor y los convierten altamente resistentes a las radioterapias, quimioterapias e inmunoterapias. Debido a lo anterior, los niveles altos de subunidad β y los pronósticos de supervivencia de cáncer son de muy baja probabilidad (figura 1.7).

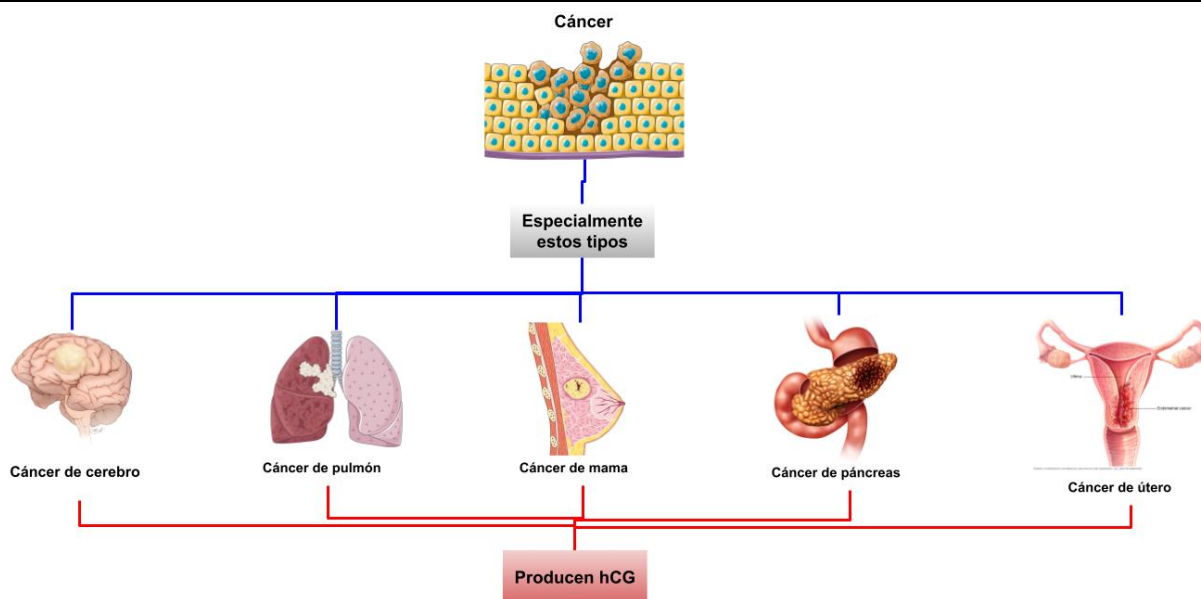


Figura 1.7: hCG y el cáncer

Además, otro estudio indica que los niveles elevados de hormona hCG β son bastante comunes en el 72-86 % de los pacientes con cáncer pancreático y biliar [19,47]. También, se han observado concentraciones elevadas de hCG β en el 25-40 % de los pacientes con cáncer de ovario, riñón, vejiga, mama y cabeza y cuello, ya que, en los tipos de cáncer anteriores, una concentración elevada se asocia con una supervivencia corta.

En la tabla 1.1, se muestran algunos datos acerca de el porcentaje de positividad de cáncer empleando la hormona hCG subunidad β en orina y sus concentraciones en etapa 1.

Tipo de cáncer	Número de casos	Porcentaje de detección	Concentración de hCG (mIU/mL)
Ovario	207	68 %	94
Útero	410	48 %	40
Páncreas	29	55 %	150
Vejiga	102	48 %	55
Pulmón	122	24 %	16
Mama	100	34 %	172

Tabla 1.1: Tabla de positividad de diferentes cánceres usando la hCG y sus concentraciones

En consecuencia, de acuerdo a lo anteriormente señalado, en este trabajo se propone aprovechar la hormona hCG para detectar diferentes tipos de cáncer, debido a que es mediador en varios órganos y hormonas del cuerpo humano, en especial para la detección temprana de diversos adenocarcinomas, lo cuales son tumores de gran rápida mutación y de gran agresividad que se propagan por vía sanguínea o linfática de modo que provocan metástasis en todo el organismo.

1.3. Biosensores para la detección de la hormona hCG

El tipo de sensores que pueden ayudar a detectar la hormona hCG son los llamados biosensores, debido a que permiten detectar diferentes tipos de variables biológicas como virus, bacterias, hormonas, entre otras más, en una forma rápida, precisa, económica, así como en la de facilitar el monitoreo de estas variables biológicas en tiempo real[8].

Los principales biosensores empleados para detectar hormona hCG, para facilitar la detección de cáncer en sus etapas tempranas son los sensores electroquímicos, colorimétricos y ópticos, sin embargo, cada uno de ellos tienen sus ventajas y desventajas, las cuales se nombran a continuación[9]:

En el caso de los sensores electroquímicos, su principal fortaleza consiste en la detección en bajos límites, amplio rango dinámico y una alta sensibilidad al detectar diferentes elementos biológicos. También, los sensores electroquímicos ofrecen un bajo consumo eléctrico, una instrumentación económica para medir los cambios electroquímicos entre la unión antígeno-anticuerpo en tiempo real, como los amperímetros y voltímetros. Sin embargo, las desventajas en este tipo de sensores son el largo proceso de funcionalización, la fabricación y diseño de las placas se tiene que realizar en ambientes controlados como en laboratorios específicos.

El segundo tipo de sensado más común para detectar la hormona hCG es el de química colorimetría, donde su proceso de preparación es relativamente sencillo, ya que se mezcla el bioreceptor de interés como un aptámero, así como también nanopartículas de oro o plata para acelerar la reacción catalítica del aptámero y hormona hCG. Aunque, la principal desventaja de estos sensores radica en la de proporcionar muy bajos límites de detección que auxilien en la detección de diferentes tumores cancerígenos.

El tercer grupo más empleado para detectar cáncer es la del uso de sensores ópticos, los cuales ofrecen diversas ventajas con respecto a los otros grupos de sensores, tal y como su alta sensibilidad, el uso de nanopartículas metálicas que posibilitan el incremento de la sensibilidad del sensor, fabricación fácil y económica, monitoreo en tiempo real, su alta precisión y su empleo en lugares compactos y de alta peligrosidad (figura 1.8).

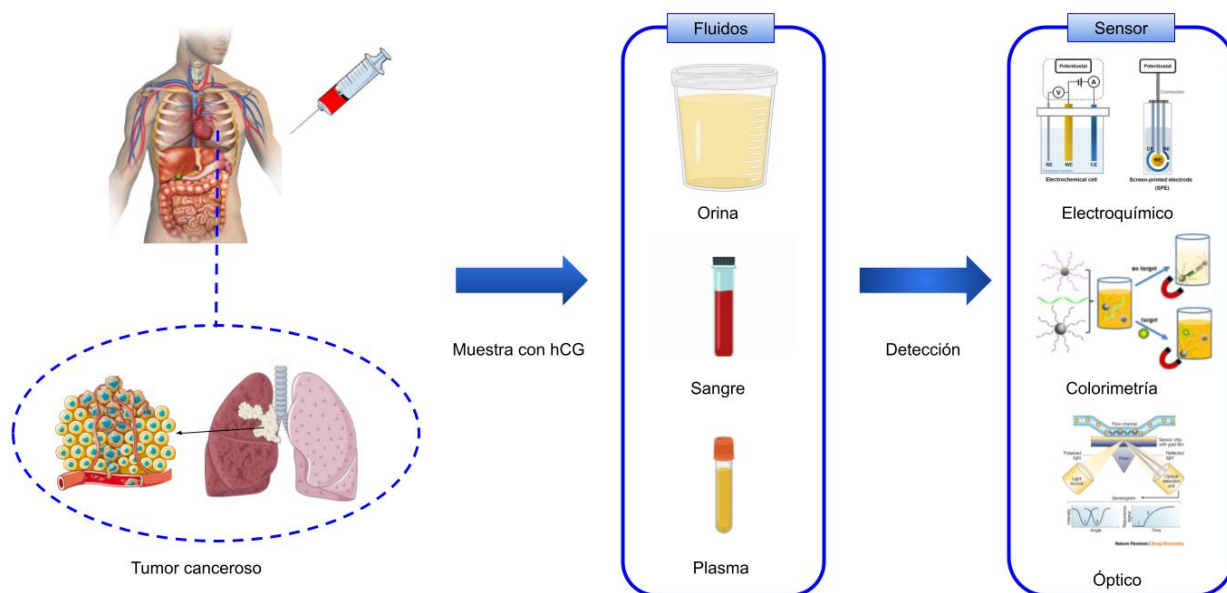


Figura 1.8: Sensores más empleados para detectar cáncer a base de la hormona hCG.

Enseguida, se presentan algunos reportes acerca de los biosensores más empleados para la detección de la hormona hCG:

1.3.1. Detección de hormona hCG usando sensores electroquímicos

En 2014, Sofía Teixeira y Robert S. Conlan, diseñaron un inmunosensor electroquímico para detectar la hormona hCG presente en orina a bajas concentraciones. El inmunosensor electroquímico estuvo compuesto principalmente de una capa de polianilina la cual es altamente conductora y con gran estabilidad química. Enseguida, se le añade una capa de grafeno, la cual fungirá como electrodos de tres terminales, donde se depositará la hormona y el anticuerpo hCG, y finalmente, se deposita un buffer de suero bovino para descartar algunas proteínas y aminoácidos de la orina, con el fin de que el sensor sea altamente selectivo a la hormona hCG. con respecto a la respuesta obtenida por el sensor al depositar diferentes concentraciones de hCG presentes en orina que oscilan entre 0.001 a 100 ng/mL, se tiene que al analizar las gráficas de Nyquist adquiridas empleando espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), se observa un incremento lineal de la impedancia conforme se va incrementando la concentración de hormona hCG, donde el sensor tuvo un límite de detección de 0.286 pg/mL, el cual tiene un potencial de detección a límites muy bajos de hCG para detectar etapas tempranas de algunas comorbilidades como el cáncer[10].

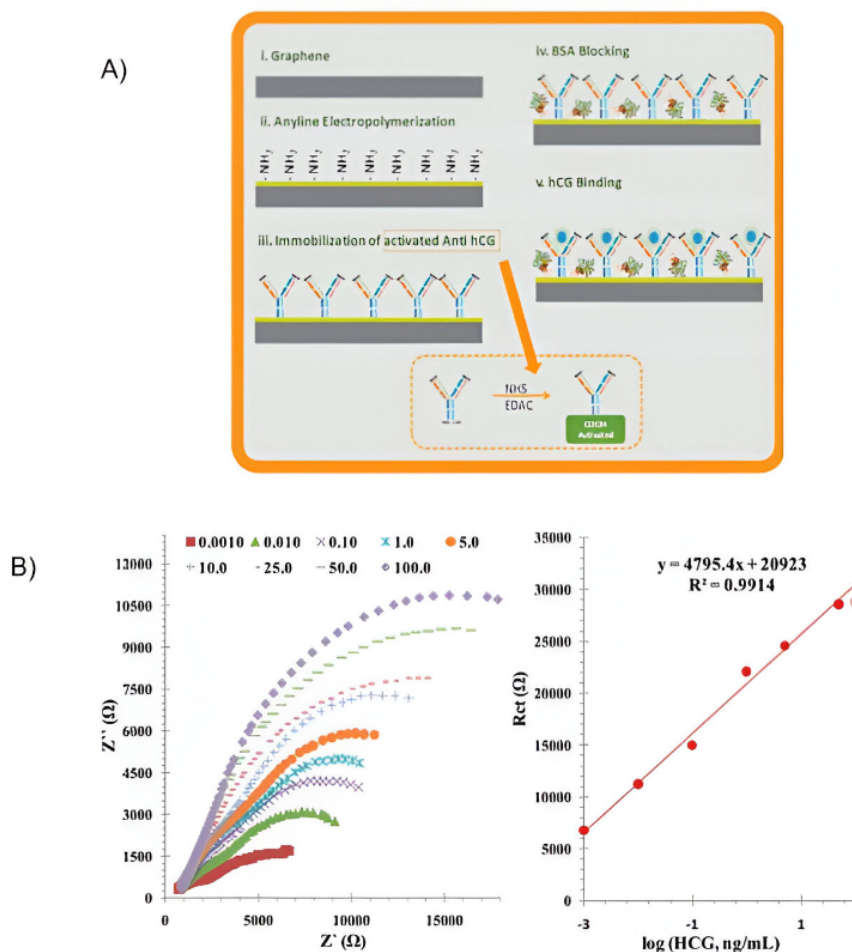


Figura 1.9: A)Funcionalización del sensor B) Curva de calibración del sensor y grafica de nyquist donde se observa el incremento de la impedancia en función de la concentración de hormona hCG.[10]

Por otra parte, Ning Xia y Xin Wang en 2016 diseñaron un sensor basado en etiquetado fluorescente, un aptámero peptídico como bioreceptor y como sustrato una capa de óxido de grafeno para detectar diferentes concentraciones de hormona hCG. El procedimiento de funcionalización consistió en depositar sobre la placa de óxido de grafeno el aptámero fluorescente denominado isotiocianato de fluoresceína, el cual su papel en este sensor está en la de detectar la hormona hCG adecuadamente. Luego, ya depositado el aptámero sobre la placa de óxido de grafeno, se depositan diferentes concentraciones de hormona hCG entre 0.05 y 20 IU/mL. Entonces, cuando la hormona hCG interactúe con el aptámero, la intensidad de la luz de fluorescencia aumentará o disminuirá conforme la concentración de hormona hCG cambie. Finalmente, los resultados obtenidos al detectar diferentes concentraciones de hormona hCG fue que la intensidad de fluorescencia se incrementó conforme la concentración de hormona hCG aumenta, por lo que la intensidad fue directamente proporcional a la concentración de hormona hCG con un límite de detección de 20 mIU/mL, lo cual lo hace ideal para el campo industrial y médico[11].

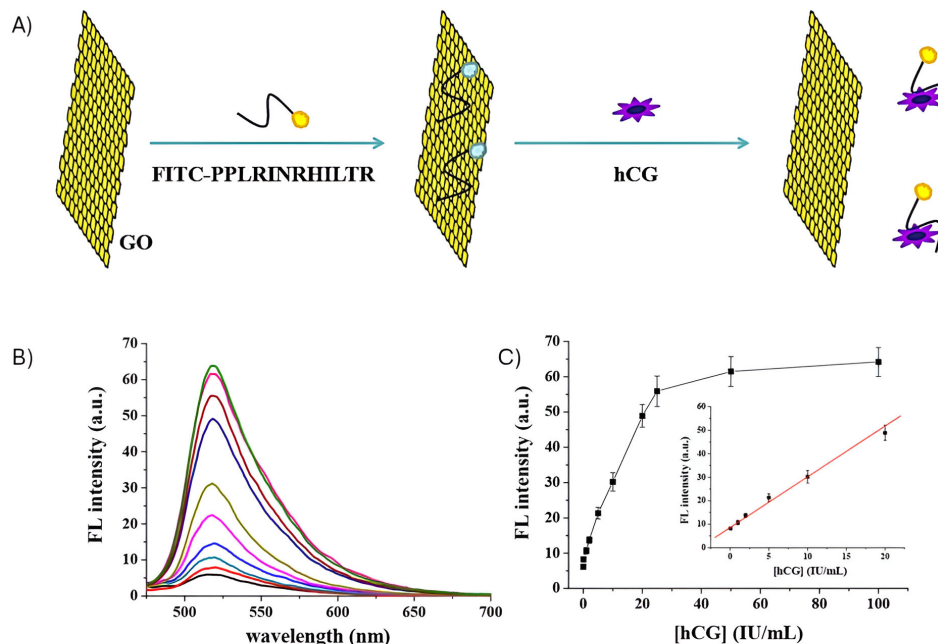


Figura 1.10: A) Funcionalización del sensor, B) Espectros de fluorescencia en presencia de diferentes concentraciones de hormona hCG, C) Dependencia de la intensidad de la fluorescencia de la concentración de hCG.[11]

Otro ejemplo de sensor electroquímico para la detección de hormona hCG, fue el reportado por Hejie Wang y Wenjuan Guo en 2017, el cual consiste en un sándwich con múltiples materiales metálicos con alta conductancia eléctrica que aumentan la sensibilidad del sensor como lo son las nanopartículas de oro y los carbones porosos a base de lignina. La funcionalización del inmunosensor electroquímico se fundamentó principalmente en depositar sobre la placa de carbón poroso una película de nanopartículas de oro y se dejó secar durante 12 horas, con el fin de que las nanopartículas quedaran bien distribuidas por toda la placa de carbón poroso. Luego se depositaron en conjunto anti-HCG (bioreceptor) y buffer de suero bovino para descartar algunas proteínas y aminoácidos y finalmente las diferentes concentraciones de hCG que oscilan entre 0.5 y 50 ng/mL. En consecuencia, los resultados obtenidos que emplearon voltamperometría cíclica fueron que al incrementar la concentración de hormona hCG, la corriente se decrementó debido al bloqueo de caminos de la transferencia de electrones. Además, se presenta la curva de calibración del sensor en general. Finalmente, el límite de detección de este inmunosensor fue de 6.4 pg/mL con un potencial de empleo en el área médica.[12].

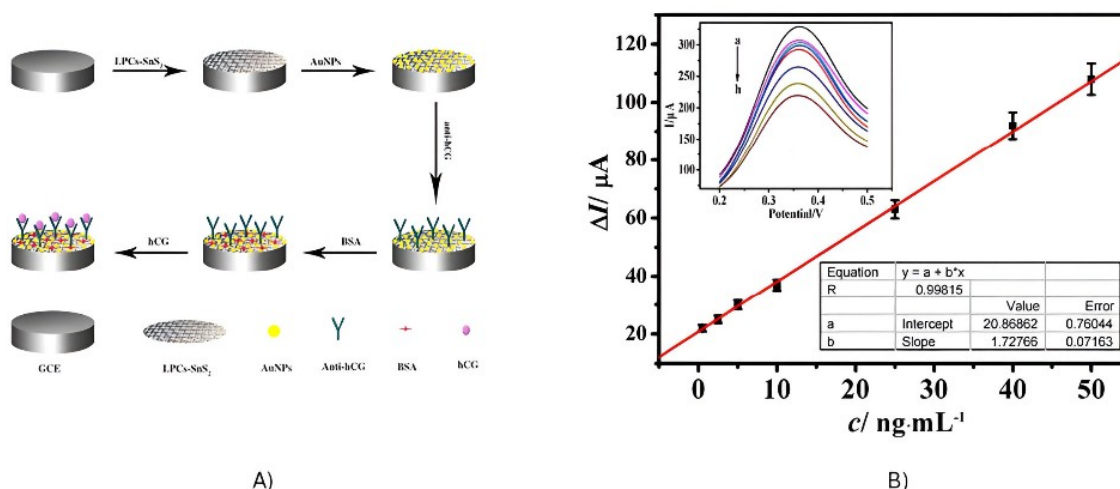


Figura 1.11: A) Diagrama de funcionalización, B) Curva de calibración del inmunosensor para diferentes concentraciones de hormona hCG. El recuadro muestra las respuestas de voltamperometría cíclica del inmunosensor electroquímico a diferentes concentraciones de hCG (0, 0,5, 2,5, 5, 10, 25, 40, 50 ng/mL).[12]

En otro reporte de 2017, los doctores Kamrul Islam y Ahmed Suhail, presentaron el diseño de un biosensor basado en un transistor de efecto de campo o mejor conocido transistor FET para la detección del biomarcador de hCG. Este biosensor basado en un transistor FET se compuso principalmente de dos diferentes capas semiconductoras. La compuerta estuvo compuesta por óxido de silicio y grafeno, el drenaje y la fuente estuvieron compuestos de oro para dar mejor conductividad al transistor. El grafeno es un elemento que al ser expuesto a antígenos o anticuerpos se une rápidamente a los átomos que conforman al grafeno e inmediatamente cambia la corriente que está circulando sobre el transistor y por ende aumenta su sensibilidad. Luego, se hizo la detección de hCG a diferentes concentraciones (1 pg/mL, 10 pg/mL, 100 pg/mL, 1 ng/mL, 100 ng/mL) en la compuerta del transistor de grafeno y, en consecuencia, se detectaron los cambios de resistencia en la compuerta. Finalmente, al aumentar la concentración de hCG, hubo desplazamientos en la curva de resistividad y de voltaje, además que el transistor de grafeno fue capaz de detectar la concentración más baja de hCG que fue de 1 pg/mL a una sensibilidad de 0.30 W/ng/mL, la cual supera a las pruebas comerciales de detección de hCG, donde su límite más bajo de detección es de 5 ng/mL[13].

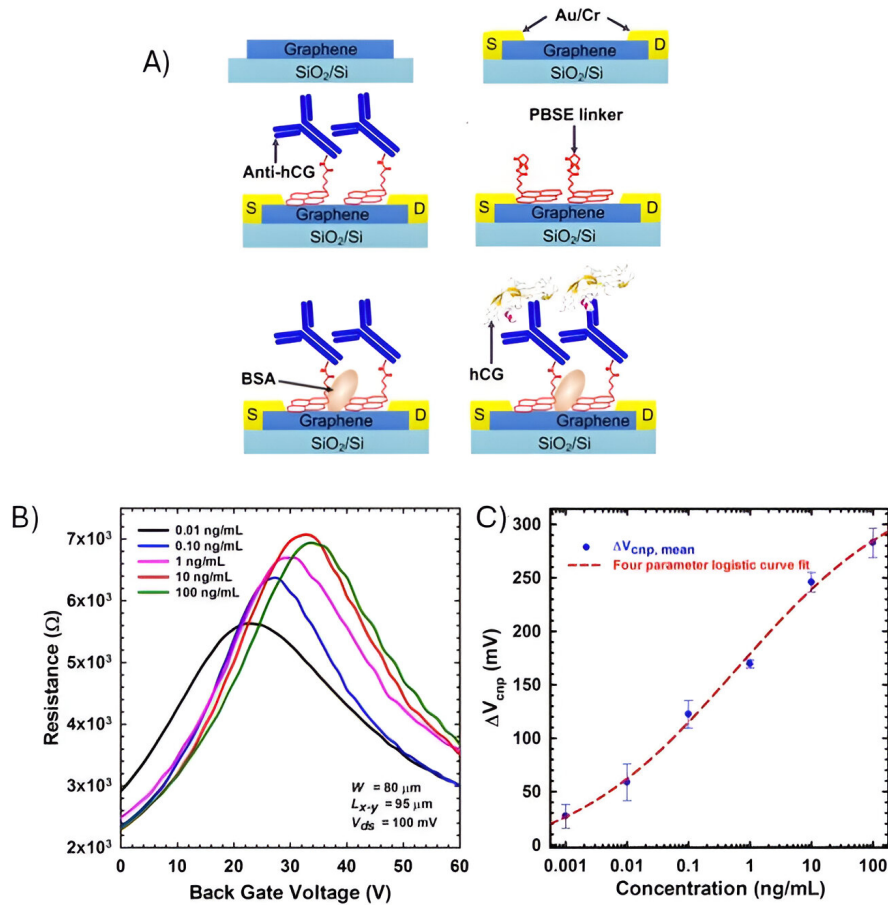


Figura 1.12: A)Curvas de resistencia de las cinco concentraciones depositadas en el FET, B)Voltaje de compuerta en función de la concentración de hCG.[13]

También en 2018, los investigadores Eyad M. Hamad y Ghadeer Hawamdeh desarrollaron un dispositivo capaz de detectar hormona hCG con la interacción de antígenos-anticuerpos con ayuda de unas tiras llamadas LFA (análisis de flujo lateral) y un transductor electroquímico. El trabajo experimental consistió en usar dos electrodos de cobre unidos a las tiras LFA. Sobre las tiras de LFA se vierte la hormona hCG junto con NaCl como solución para calibrar el sistema. Enseguida se toman los valores de los voltajes por medio de los electrodos conectados a las tiras y se obtiene análisis de resultados. Los resultados obtenidos fueron primero la calibración de las tiras LFA usando cloruro de sodio, con el fin de obtener una mejor posición de los electrodos para detectar hormona hCG. Luego, se deposita hormona hCG sobre las tiras de LFA en diferentes concentraciones (25, 100, 200, 1000, 5000 y 10000 mIU/mL) y se obtiene una gráfica concentración versus voltaje promedio, el cual incrementa en función de la concentración de hCG.[14].

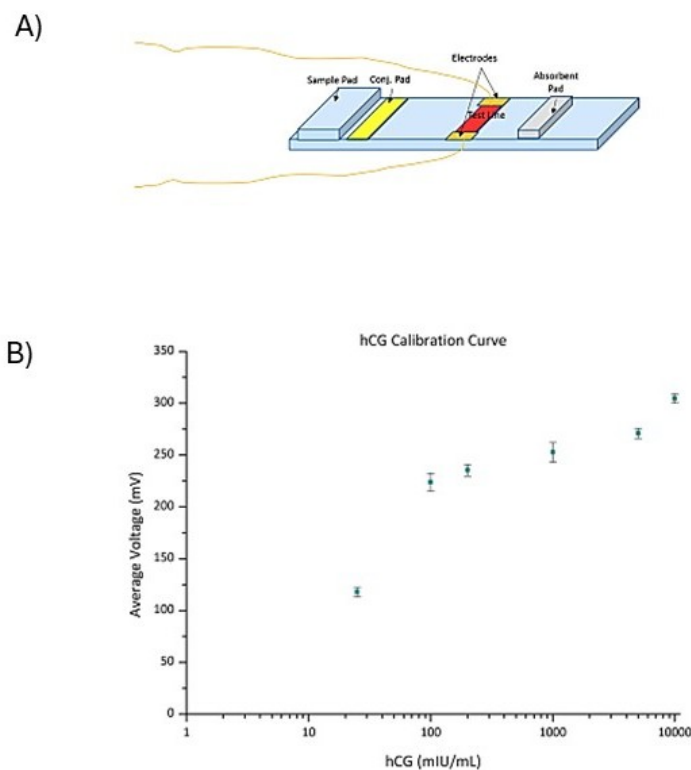


Figura 1.13: A) Configuración experimental, B) Curva de calibración de después de depositar diferentes concentraciones de hormona hCG.[14]

Se tiene otro reporte del año 2019 donde Mohammad Rizwan y Muhammad Hazmi llevaron a cabo la detección de hCG a muy bajas concentraciones empleando un sensor electroquímico elaborado principalmente de nanocompuestos metálicos, con el fin de convertir el sensor en uno ultrasensible a concentraciones muy bajas de hormona. El proceso de funcionalización consistió principalmente en tomar la punta o electrodo empleado en voltametría cíclica y cubrirla de nanocarbón (CON), nanopartículas de oro (AuNP) y polietilenglicol (PEG), los cuales son nanocompuestos capaces de amplificar la respuesta de salida y acelerar la transferencia de electrones. Luego, depositados los nanocompuestos sobre la punta del electrodo de carbón, se procede a depositar anticuerpo anti-hCG, el cual se encargará de reconocer la hormona hCG. Enseguida, para transformar al sensor más selectivo a la hormona hCG, se corresponde a depositar sobre el anticuerpo buffer de suero bovino y finalmente se deposita la hormona hCG en concentraciones dentro del rango de 0-1000 pg/mL. En relación con los resultados obtenidos por medio de Técnica de voltametría de onda cuadrada, se observó una reducción de la corriente de salida al incrementar la concentración de hormona hCG, debido a las interacciones electrostáticas repulsivas al interactuar la hormona con los electrones presentes en el electrodo[15].

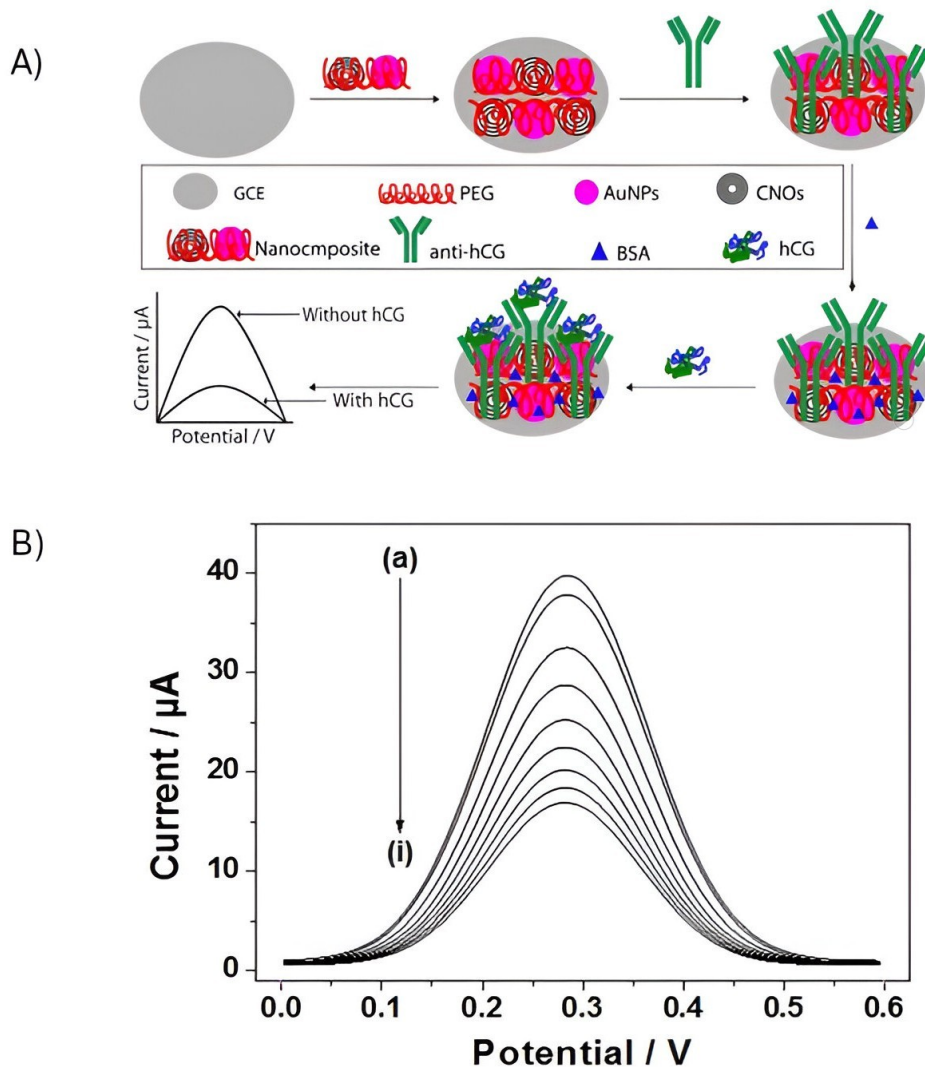


Figura 1.14: A)Funcionalización del sensor, B)Respuesta de voltaje contra corriente donde se observa que mientras que la concentración de hormona hCG aumenta, la corriente se reduce hasta llegar a la saturación.[15]

En otro reporte más reciente, fabricaron un biosensor portable basado en un transistor FET, para detectar concentraciones de hormona hCG desde los 0.5 a 100 ng/mL en el año 2021. Por otro lado, el proceso de fabricación del sensor consistió en colocar una doble capa de polímeros orgánicos como polimetilmetacrilato junto con dimetilsiloxano, a fin de aumentar la sensibilidad del transistor. Luego, se colocan electrodos de oro en las compuertas del transistor, donde uno es tomado y el otro en el que se depositaron las diferentes concentraciones de hormona hCG. Por lo tanto, el procedimiento de funcionalización consistió en cubrir el electrodo de oro conectado en la compuerta de anticuerpo monoclonal hCG y enseguida se depositan las concentraciones de hormona hCG, donde las respuestas que presenten al interactuar la hormona hCG y anticuerpo con la compuerta se monitorearan empleando un osciloscopio. Con respecto a los resultados, se obtuvo que al incrementar cada vez más la concentración de hCG (0.5, 5, 25, 50 y 100 ng/ml), el voltaje de compuerta aumentaba y la corriente de drenaje se reducía, además de que al hacer

con pruebas de orina con la hormona hCG, el sensor aumentó más su sensibilidad. Finalmente, el sensor mostró un rango dinámico en 0.5–100 ng/ml y un límite de detección de 0.5 ng/ml[16].

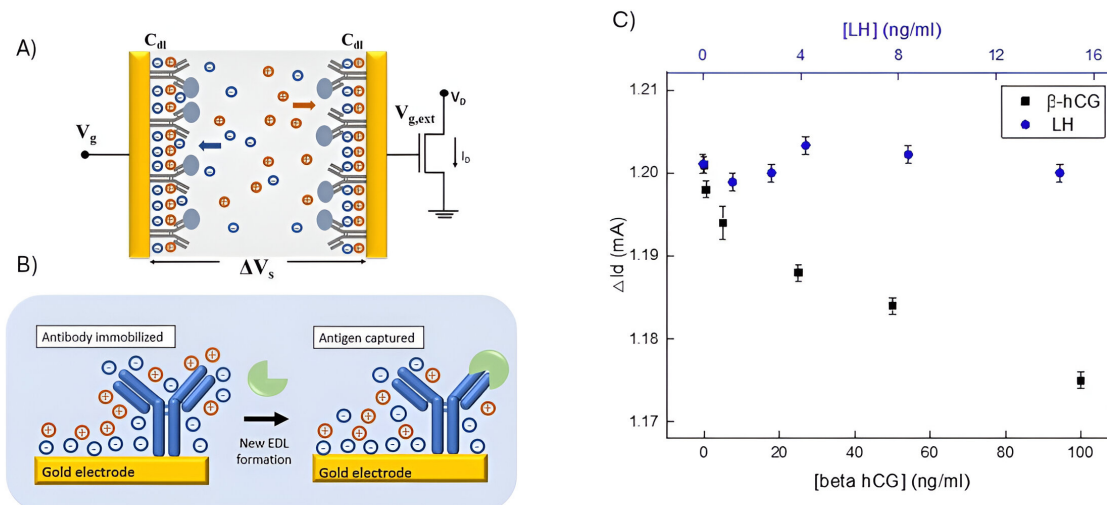
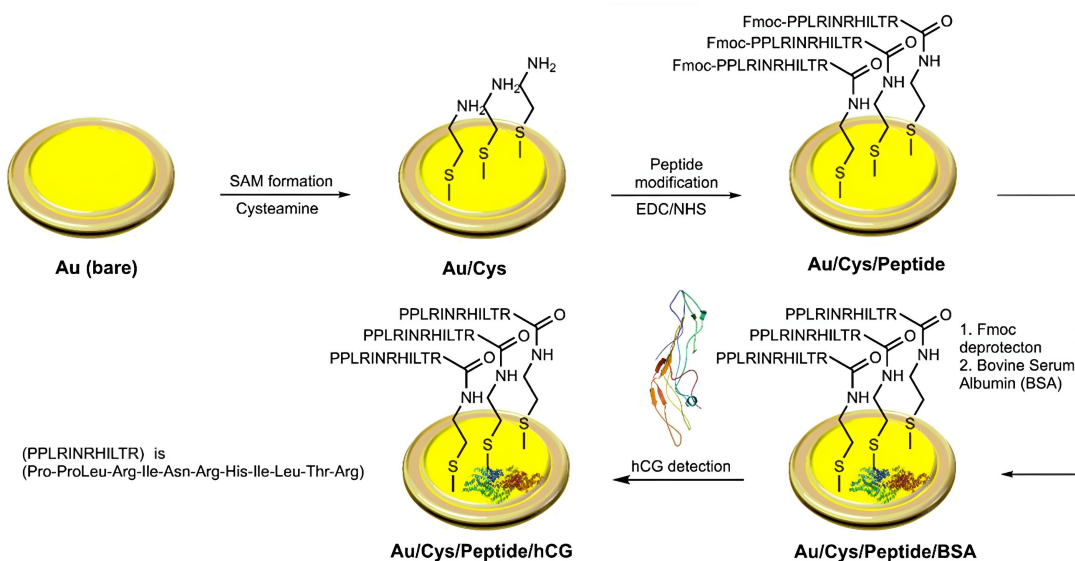
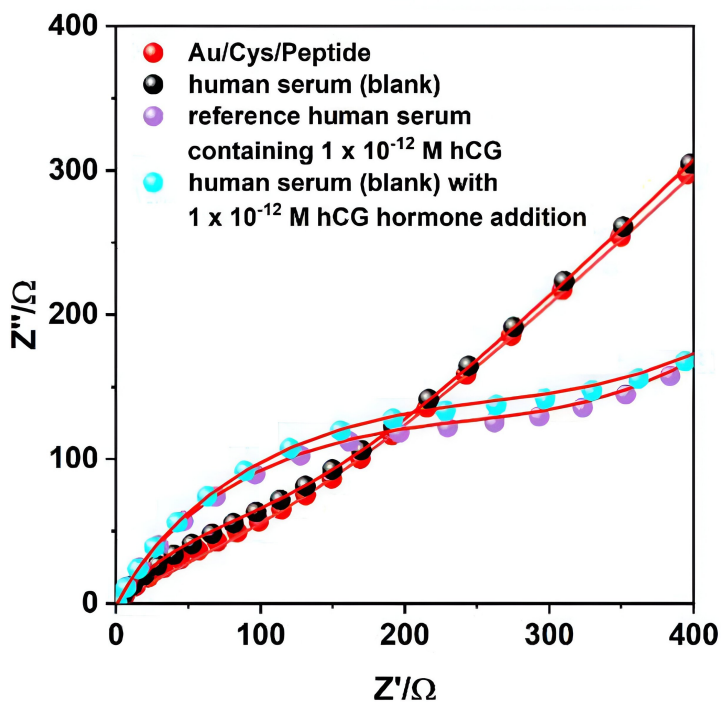


Figura 1.15: A) Inmovilización de anticuerpo, B) Inmovilización de antígeno, C) Curva de calibración en el cual se muestra que mientras se incrementa la concentración de hormona hCG en orina artificial, se reduce considerablemente la corriente de drenaje del transistor FET.[16]

Finalmente, en un reporte más reciente de 2023, Adrian Koterwa y Magdalena Bojko reportan la fabricación de biosensor electroquímico basado principalmente la modificación de un electrodo de oro con cisteamina y oligopéptido, con el fin de aumentar la sensibilidad del sensor y detectar concentraciones bajas de hormona hCG. Con respecto a la funcionalización del sensor, se procedió a depositar sobre el electrodo de oro cisteamina y dos horas después se colocó oligopéptido. Más tarde, con el objetivo de bloquear proteínas y otros elementos biológicos, se depositan 10 μ L de buffer de suero bovino durante 45 minutos y pasado ese tiempo se depositan las diferentes concentraciones entre 0.5 mIU/mL y 50 000 mIU/mL. Los resultados obtenidos fueron que, al realizar un análisis de espectroscopía de impedancia electroquímica en la salida del sensor, la impedancia se incrementaba conforme la concentración de hCG también aumentaba. Por último, el biosensor fue capaz de detectar concentraciones entre 0.5 mIU/mL–50 000 mIU/mL y un límite de detección entre 0.0095 mIU/mL[17].



A)



B)

Figura 1.16: A)Funcionalizacion de biosensor,B)Incremento de la impedancia en función de la concentración de hormona hCG.[17]

1.3.2. Detección de hCG usando sensores basados en colorimetría

En 2014, se reporta la detección de hCG usando colorimetría por Chia-Chen Chang y Chie-Pein Chen. El proceso de construcción del sensor consistió en usar un aptámero confeccionado principalmente para detectar hormona hCG en concentraciones que van de 0, 5, 15, 40, 100, 250, 750, 1000, y 2000 mIU/mL y nanopartículas de oro, donde se miden sus respuestas de absorción empleando espectroscopia de ultravioleta a 400 nm. Los resultados obtenidos al mezclar en un tubo eppendorf, las nanopartículas de oro, el aptámero y las diferentes concentraciones de hormona hCG fueron que al aumentar la concentración de hCG, el espectro de absorción también aumentó, el cual el sensor muestra una respuesta directamente proporcional a la concentración de hormona hCG. Además, el sensor mostró una saturación de la medición en concentraciones más altas de 1000 mIU/mL. Finalmente, el sensor consiguió un límite de detección de 15 mIU/mL y rango dinámico entre 0 a 1000 mIU/mL[18].

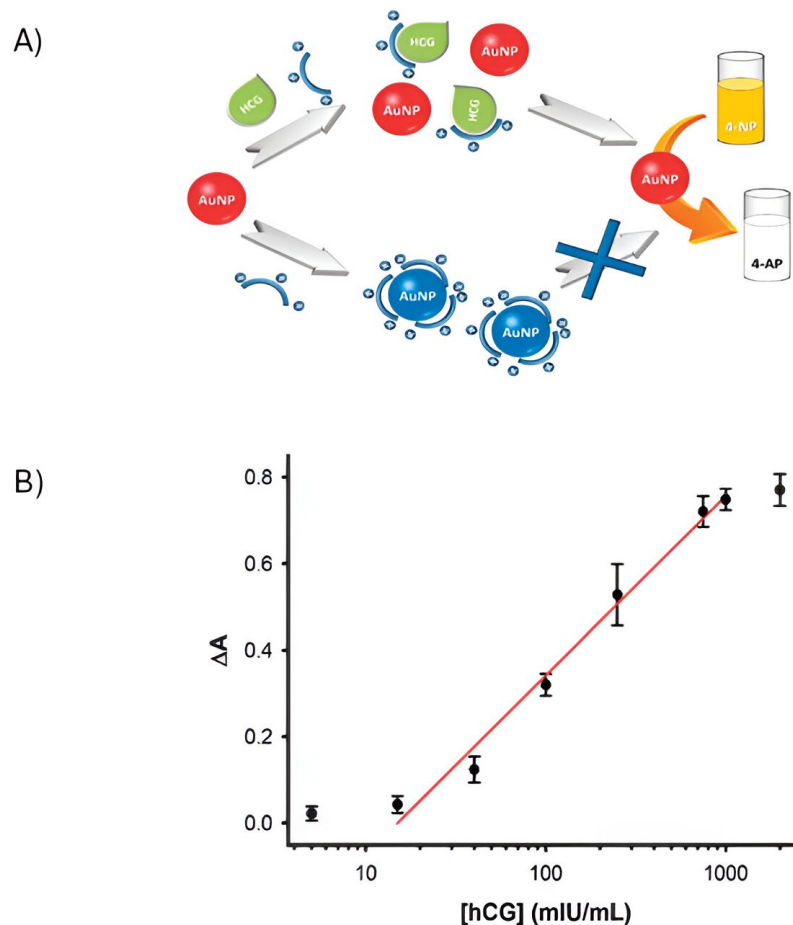
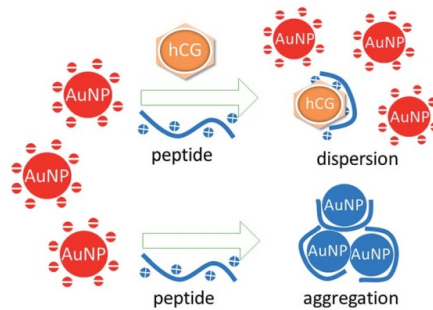


Figura 1.17: A) Preparación de sensor de colorimetría, B) Curva de calibración donde se muestra que al aumentar la concentración de hormona hCG, la absorbancia también se incrementa, lo cual es directamente proporcional.[18]

Además, en 2015 se presenta un sensor basado en colorimetría diseñado por Chia-Chen Chang y Chie-Pein Chen para detectar hormona hCG. El procedimiento de fabricación de este sensor fue el mezclar el aptámero con nombre PPLRINRHILTR (el cual está confeccionado para detectar exclusivamente a la hormona hCG), nanopartículas de oro y las diferentes concentraciones de hormona hCG que van de 0, 10, 50, 100, 500, 750, 1000, y 2500 mIU/mL en un tubo eppendorf. Los resultados obtenidos al realizar un estudio de absorción de ultravioleta en 420 nm, fue que la absorción con aptámero y nanopartículas de oro, el pico de absorción se ubicó en 600 nm, pero cuando se agregó la hormona hCG a la solución con aptámero y nanopartículas de oro, el pico de absorción se ubicó en 525 nm, donde la longitud de onda se desplazó 75 nm. Finalmente, el límite de detección de este sensor fue de 25 mIU/mL y un rango de detección entre 50 a 1000 mIU/mL[19].

A)



B)

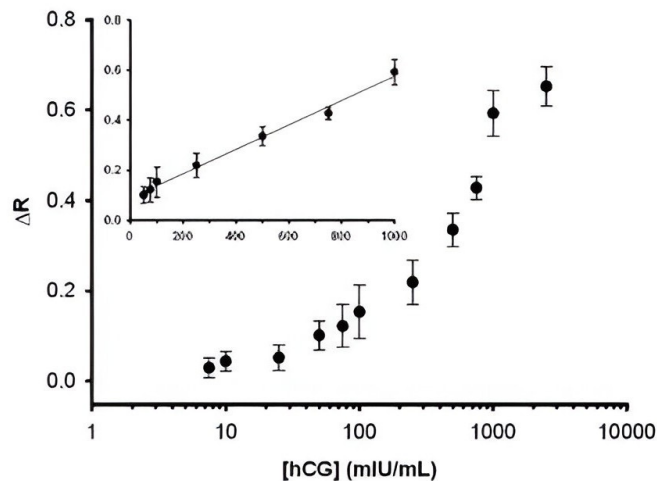


Figura 1.18: A)Preparación de sensor de colorimetría B)Desviación estándar de cada una de las muestras[19]

1.3.3. Detección de hormona hCG usando sensores ópticos

Con respecto a los métodos ópticos, se reporta en el año 2019 el diseño de un inmunosensor fototérmico, el cual está basado en nanopartículas azules prusianas que tienen una fuerte absorción en el infrarrojo, anticuerpos monoclonales anti-hCG de conejo y ratón, y finalmente la hormona hCG. En relación con el proceso de funcionalización, primero se procede a depositar en un microplato 50 μg de anti-hCG monoclonal de ratón y se espera 24 horas para su distribución completa. Después, se deposita la hormona hCG e inmediatamente se encierra la hormona hCG con otros 50 μg de anticuerpos monoclonales de conejo. Finalmente, se depositan las nanopartículas azules prusianas sobre los anticuerpos monoclonales de conejo y se incide luz infrarroja a 980 nm, en el cual los cambios de temperatura que se presenten al interaccionar los anticuerpos y las nanopartículas prusianas serán monitoreados empleando un termómetro. Con respecto a los resultados obtenidos al monitorear la temperatura, se observó que al incrementar la concentración de hCG, la temperatura también se incrementó de 25 a 76 ° con un límite de detección de 5.8 pg/mL y rango de dinámico entre 0.01 y 100 ng/mL[20].

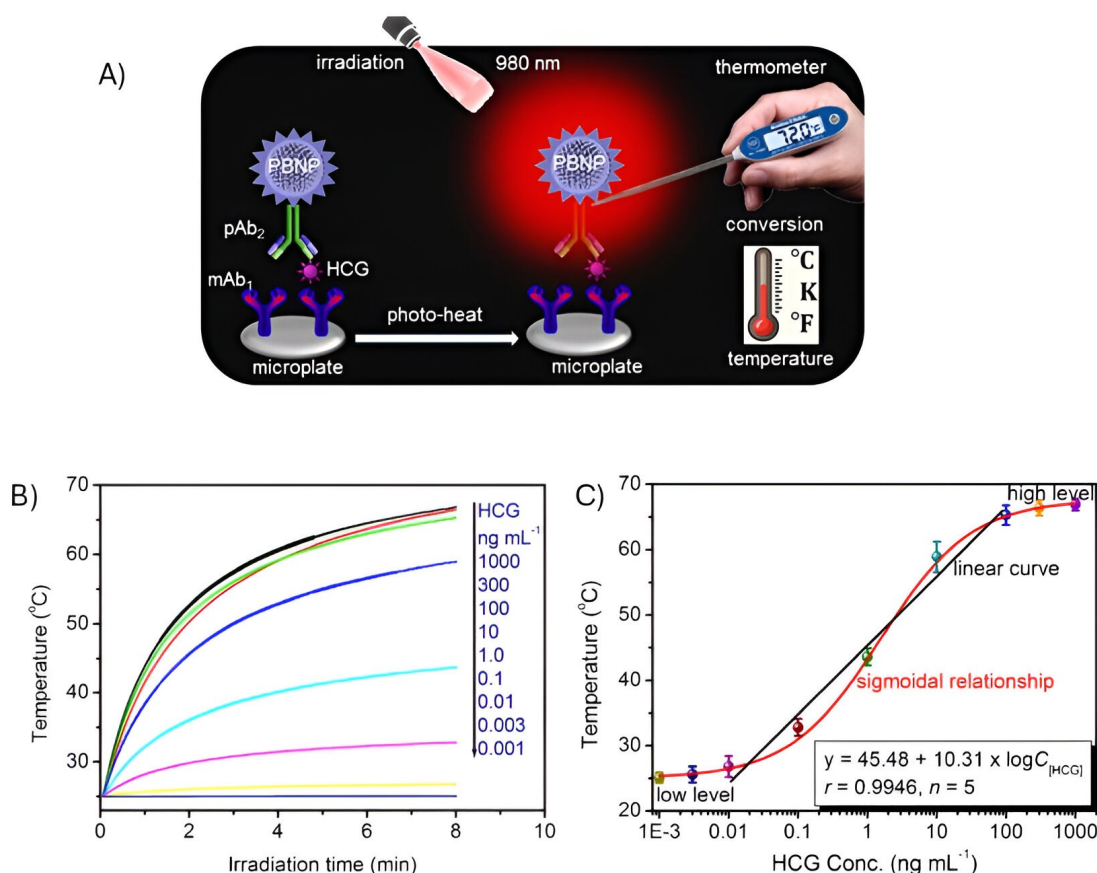


Figura 1.19: A) Inmobilización del sensor, B) Gráfica de conversión fototérmica en función de la concentración de hormona hCG, C) Gráfica de calibración de la temperatura en función de la concentración de hormona hCG [20]

Se tiene otro reporte del año 2019, donde Rahul Kumar y Yuankui Leng diseñaron un sensor basado en un interferómetro de fibra óptica taper, a fin de detectar bajas concentraciones de hormona hCG. Por otro lado, el diseño del sensor consistió en el acoplamiento de una fibra óptica monomodo con una fibra óptica sin núcleo con un diámetro de 7 μm . Después, sobre la cintura de la fibra óptica sin núcleo, se depositan anticuerpos monoclonales y enseguida se deposita buffer de suero bovino para descartar proteínas y otros elementos biológicos indeseados. Mas tarde se depositan las diferentes concentraciones de hormona hCG (0.05, 0.5, 5, 50, 500 mIU/mL) y luego se vuelve a depositar anticuerpos monoclonales anti-hCG sobre la hormona hCG, y finalmente se depositan las microesferas magnéticas con el fin de amplificar la respuesta óptica de salida del sensor. En consecuencia, la respuesta óptica de salida obtenida por analizador de espectros óptico, mostró que mientras más se incrementa la concentración de hormona hCG, la longitud de onda se desplazaba a longitudes más grandes, por lo que los desplazamientos de cada concentración fueron 0.27, 1.27 y 2.17 nm. Para concluir, el límite de detección logrado hasta el momento empleando este tipo de sensores fue de 0.0001 mIU/mL[21].

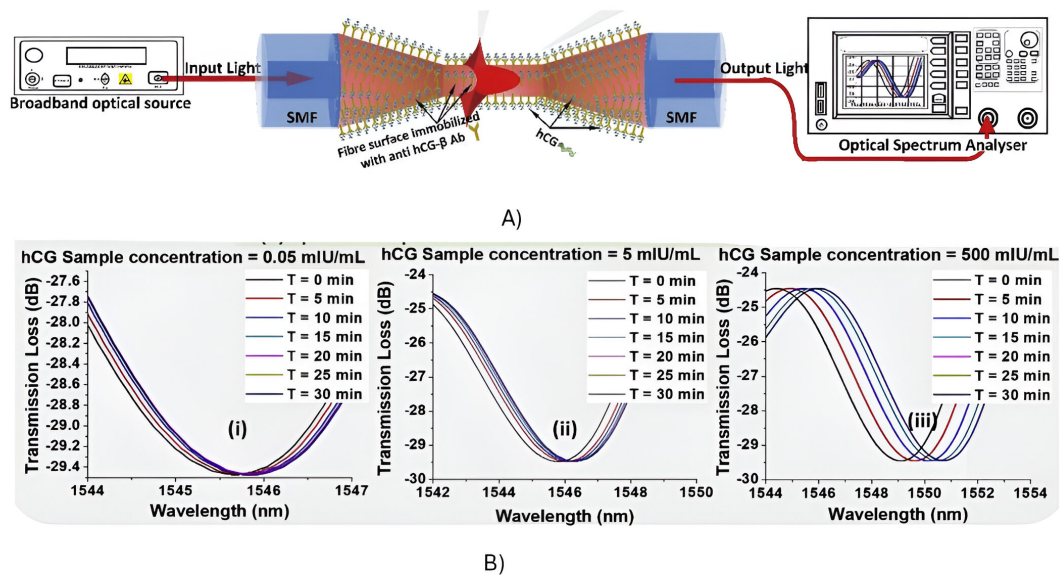


Figura 1.20: A)Arreglo experimental del sensor,B)Espectros de desplazamientos para diferentes concentraciones de hormona hCG (0.05,5 y 500 mIU/ml).[21]

Asimismo, se tiene otro reporte del año 2020, donde Erol Ozgur y Kara Ellen Roberts llevaron a cabo la detección de hormona hCG en orina en órdenes de los femtomolares empleando resonadores ópticos microtoroides bloqueados por frecuencia. Respecto al proceso de funcionalización, consistió en remojar por 5 minutos el toroide con anticuerpos anti-hCG y enseguida se enjuaga con agua, con el propósito de que esté listo para depositar la hormona hCG en presentación de orina simulada. En consecuencia, la respuesta en tiempo real del microtoroide al interactuar la anti-hCG y la orina simulada oscilando en concentraciones entre 100 aM a 10 nM fueron monitoreados por un analizador de espectros, donde se observó que el sensor fue capaz de detectar concentraciones cercanas a los 3 fM y en el cual no requiere etiquetado de la molécula objetivo, eliminando así la necesidad de etiquetas fluorescentes o radiactivas que aumentan la complejidad y el costo del ensayo[22].

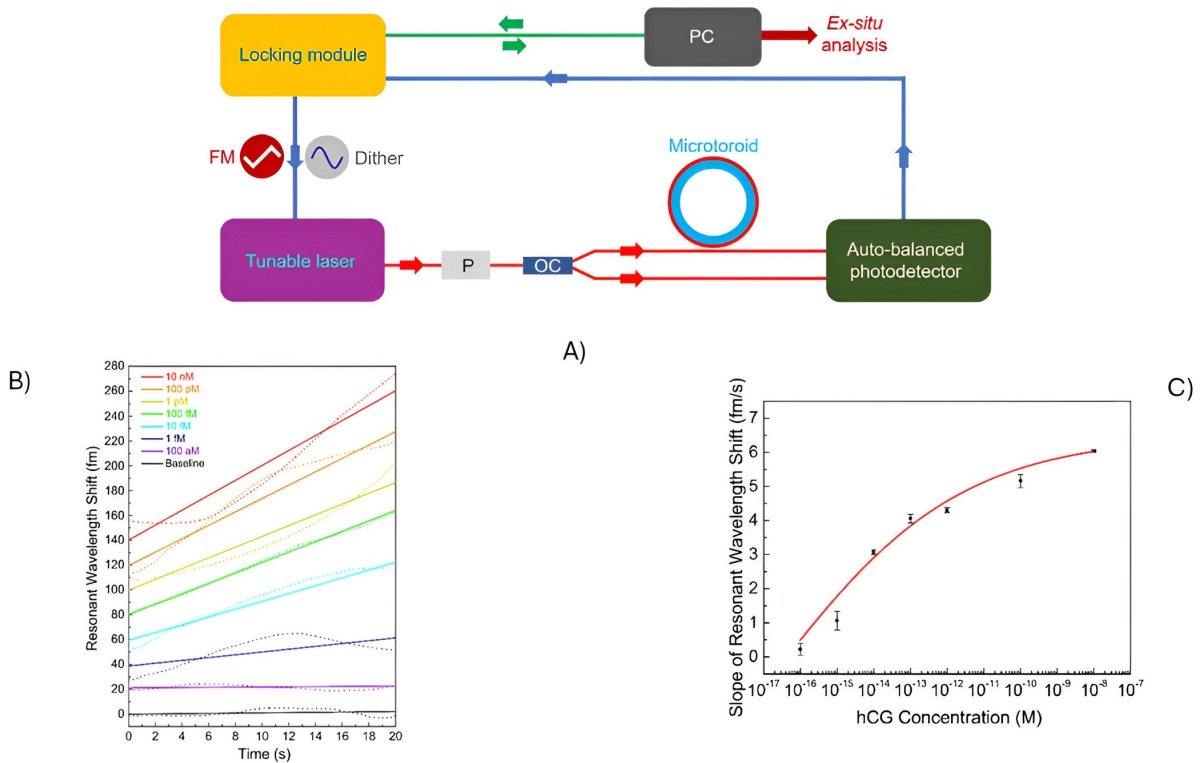


Figura 1.21: A) Arreglo experimental B) Desplazamientos de longitud de onda resonante, donde muestra que al reducir la concentración de hormona hCG, el desplazamiento de longitud de onda se decrementa, C) Curva de calibración cuando la hormona hCG interactúa con el anticuerpo hCG, lo cual se muestra un aumento del desplazamiento de longitud de onda de hasta 6 fM en 10 nM [22]

En otro reporte que data del año 2020, donde Ling Chen y Sheng Peng Wan reportan la detección de la hormona hCG, usando como transductor una fibra óptica de hueco cónico monomodo pulida en forma de D. Se decidió usar una fibra óptica con el núcleo hueco debido a que este tipo de fibras han detectado diferentes variables tanto físicas como biológicas gracias a su gran sensibilidad al sensar y precisión si se usa como interferómetro. Por lo tanto, se fabricó un sistema de fibra óptica pulida en forma de D que está conformado en dos de sus extremos por 2 fibras ópticas monomodo y fusionado en la parte de en medio por una fibra óptica de hueco en el núcleo monomodo. Enseguida, se pule la fibra de hueco en el núcleo hasta un diámetro de $26.5\mu\text{m}$ y así finalmente la fibra queda en forma de D. A continuación, se funcionaliza la fibra óptica taper de hueco cónico al depositar primero trietoxisililpropilo, el cual creara grupos carboxilos que unan adecuadamente al bioreceptor (anti- β hCG). Luego se deposita el anticuerpo anti- β hCG y después la fibra se sumerge en 3 diferentes concentraciones de hormona hCG (5 mIU/ml, 50 mIU/ml y 100 mIU/ml) y se monitorea su respuesta a través de un espectrómetro. Los resultados obtenidos al realizar cuatro veces el experimento al depositar hormona hCG en tres concentraciones fueron (5 mIU/ml, 50 mIU/ml y 100 mIU/ml) que al aumentar la concentración de hormona hCG, el desplazamiento de frecuencia aumento en alrededor de 0.82 nm hasta llegar a 100 mIU/mL. Finalmente, su límite de detección fue de 0.058 mIU/mL, lo cual significa que el sensor fue capaz de detectar concentraciones menores a 5 mIU/ml en un buen desempeño, que le permite en un futuro ser empleado en instalaciones clínicas para el monitoreo de diferentes enfermedades[23].

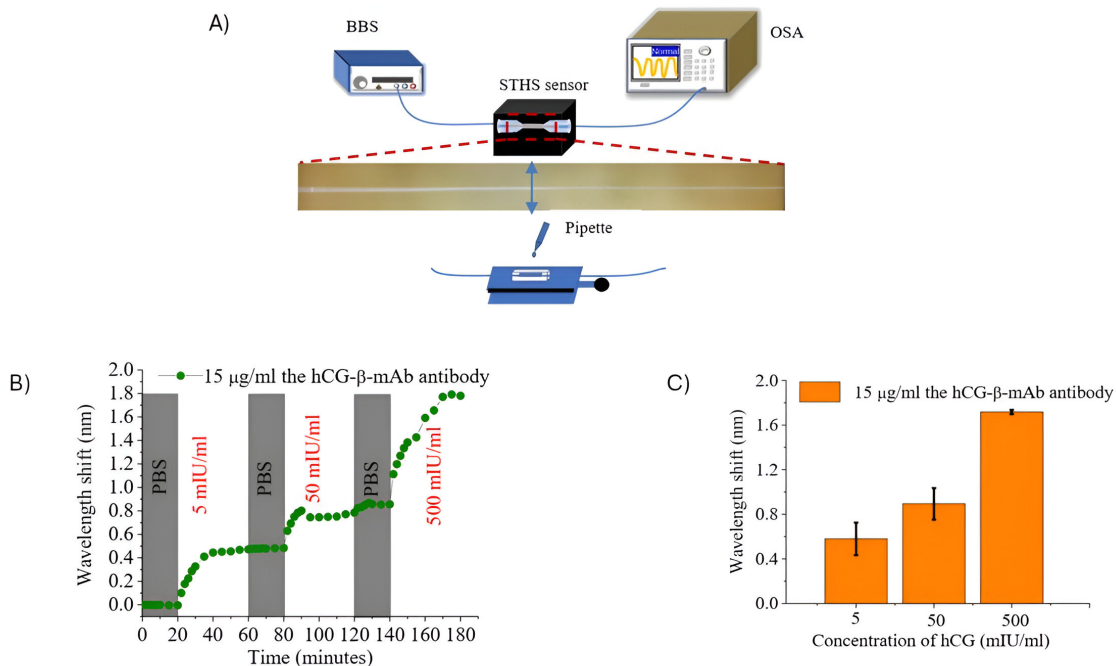


Figura 1.22: (A) Arreglo experimental, B) cambio de longitud de onda frente al tiempo en diferentes concentraciones de solución de hormona hCG, C) reproducibilidad: cambio de longitud de onda frente a concentración de hormona hCG.[23]

De igual forma, los científicos Wei Luo y Bin Liu reportan en 2022 el diseño de un biosensor basado en una fibra óptica monomodo SMF-28, donde su geometría fue modificada, primero puliendo una sección de la fibra hasta que quedara en forma de D y luego la sección de en medio de la fibra se adelgazó con un sistema equipado con estiramiento y barrido con soplete la cual redujo su diámetro entre $6\mu\text{m}$ a $10\mu\text{m}$. El motivo de modificar de dos maneras la geometría de la fibra fue en la de amplificar su sensibilidad debido a que el campo evanescente al salir en mayor proporción de la zona delgada de la fibra óptica, esta será muy sensible a los cambios de índice de refracción del exterior y en consecuencia detectará la hormona hCG en una concentración muy pequeña. Por otra parte, el proceso de funcionalización de la fibra consistió en sumergirla primero en trietoxisilano, la cual creara grupos carboxilos que se adaptaran a la anti-hCG β (bioreceptor) y así la hormona hCG sea detectada. Las concentraciones medidas por la fibra óptica de hCG fueron 5, 50 y 500 mIU/ml y su respuesta fue monitoreada mediante un espectrómetro[24].

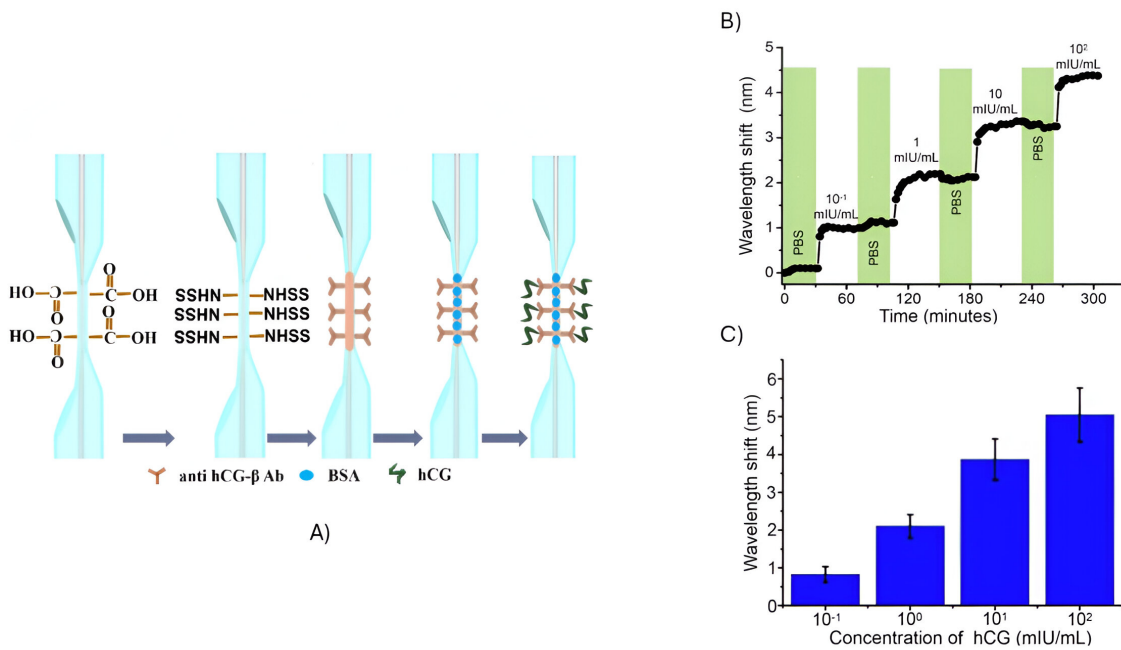


Figura 1.23: A)Diferentes etapas de funcionalizacion de la fibra, B)cambio de longitud de onda con el aumento del tiempo en diferentes concentraciones de hormona hCG; (C) la barra de error de cambio de longitud de onda en diferentes concentraciones de hormona hCG([24])

Por último, se tiene un reporte de 2024, en el cual se describe la detección de hormona hCG usando un cristal líquido y nanopartículas de oro para amplificar la sensibilidad del sensor por Xue Wang y Huanyuan Wang. Acerca del proceso de funcionalización, se compuso fundamentalmente remojar la placa de cristal líquido en solución piraña con el fin de quitar los contaminantes de esta. Después, se crean grupos carboxilos depositando APTES sobre la placa de cristal y enseguida se deposita el anticuerpo anti hCG β . Luego, se fijan las nanopartículas de oro y finalmente se depositan las diferentes concentraciones de hormona hCG que abarcan entre 1, 10, 50, 100, y 500 mIU/mL. Por lo tanto, los resultados obtenidos al hacer incidir luz ultravioleta fue que sin hormona hCG, el pico de resonancia se estableció en 520 nm y con hCG el pico de resonancia se desplazó a 531 nm, con un desplazamiento total de 11 nm. Finalmente, el sensor mostró un límite de detección de 0.00196 mIU/mL[25].

Finalmente, en la tabla comparativa de la figura 1.8, se muestran distintas clases de configuraciones de sensores de fibra óptica, donde se observa que la fibra óptica taper tiene mayores ventajas que en comparación que las otras configuraciones como lo es su costo, producción y su pequeña capacidad[26].

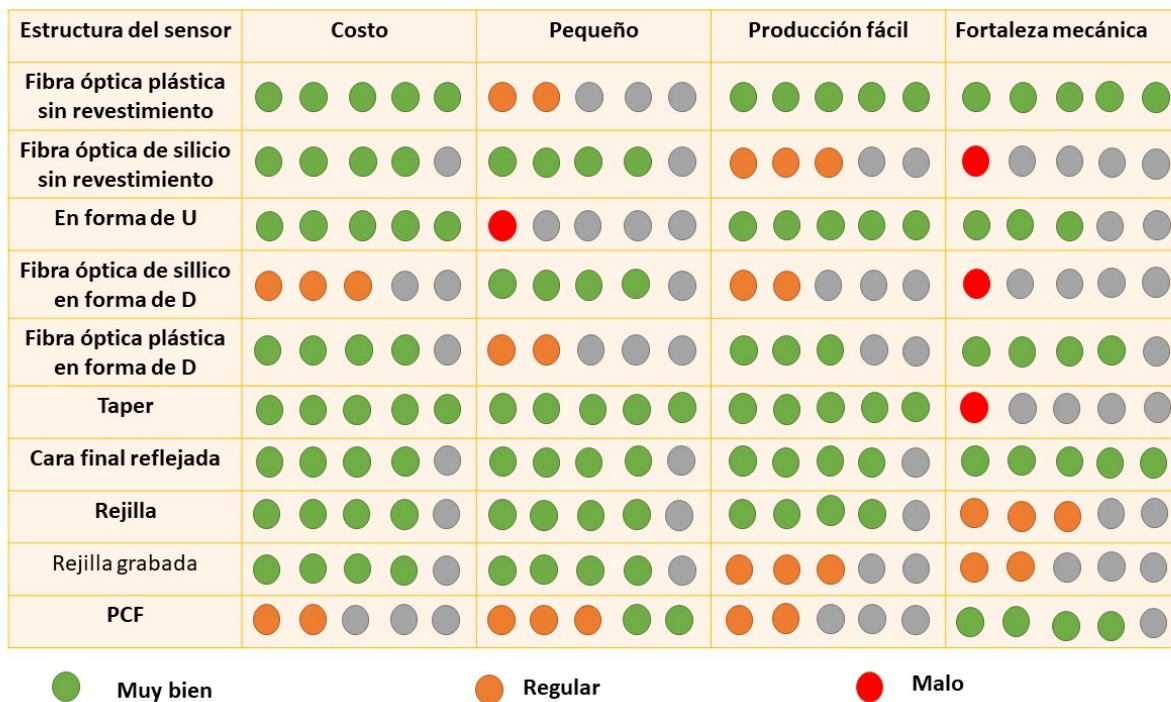


Figura 1.24: Infografía de las principales características de varias configuraciones de fibra óptica[26]

Con respecto a los sensores ópticos, los que han llamado la atención en la comunidad científica para detectar variables biológicas son los sensores basados en fibra óptica taper, debido a sus múltiples fortalezas tal y como su inmunidad a la interferencia electromagnética, bajos límites de detección, son rápidos y precisos, su monitoreo en tiempo real y finalmente su costo muy bajo.

Adicionalmente, con el fin de aumentar la sensibilidad del sensor de fibra óptica taper, se emplean nano materiales metálicos, debido a sus diversas ventajas como lo es su biocompatibilidad con la muestra biológica a sensor, su gran área/ volumen, la amplificación de los campos evanescentes emergiendo la cintura de la fibra óptica taper en el espectro infrarrojo y su fácil funcionalización en la fibra óptica.

1.4. Patentes relacionadas con la detección de hormona hCG

Llevando a cabo una revisión bibliográfica del registro de patentes relacionadas con la detección de hormona hCG empleando fibra óptica taper, se encontró que aún no existen hasta 2024 registros de detección de esta hormona empleando métodos ópticos como lo son el empleo de interferómetros, fibras ópticas, resonadores ópticos entre otros.

Las únicas patentes que se encontraron para la detección de hormona hCG fueron para detectar embarazo con dos patentes, los cuales usan métodos electroquímicos para su detección. En la siguiente sección se presentan las características principales de estas patentes y el dibujo de la patente.

1.4.1. Detección de hormona hCG en saliva

En 2016, la empresa Wuhan HealthCare Biotecnología Co con sede en Wuhan, China, registró un dispositivo para detectar hormona hCG a partir de saliva con modelo de patente CN106370871A. El dispositivo está compuesto de una capa de nitrocelulosa (capa de control), la fibra de ácido nítrico, placa base y papel reactivo de fibra de vidrio. Su funcionamiento consiste principalmente el método de inmunocromatografía, donde un filtro de nitrocelulosa está recubierto de anticuerpos de ratón anti-hCG y que al interactuar con la saliva del paciente diluida en 0.2 mL de agua destilada, el papel reactivo mostrará las siguientes leyendas si la persona está o no embarazada. Con la leyenda en el reactivo +++ representa embarazada y - representa no embarazada[27].

1.4.2. Detección de hormona hCG mediante inmunocromatografía

Para 2022, la empresa Biotime Biotechnolog radicada en Xiamen, China, registró una patente de un dispositivo capaz de detectar embarazo de una forma muy precisa y más rápida que una prueba de digital de embarazo basada en el método de detección de inmunocromatografía. El dispositivo está constituido por una placa base de reacción, almohadillas de muestra, almohadillas de neutralización, almohadillas de oro, línea de detección, línea de control de calidad, línea de película de reacción y almohadilla de absorción de agua.

La ventaja de este dispositivo es su capacidad de discriminar los otros componentes de la hormona hCG como lo es la subunidad LH y la FSH, lo cual puede provocar una reacción

cruzada con la subunidad β que se usa comúnmente para detectar el embarazo y de como resultado en la línea de control un falso positivo.

Por lo tanto, el modo de funcionamiento consiste en una almohadilla de oro rociada con anticuerpos de ratón anti-hCG, la línea de control esta cubierta de IgG anti-ratón de cabra y una almohadilla de neutralización cubierta de anticuerpo monoclonal anti-LH y anti-FSH de conejo, donde al depositar orina de mujer embarazada en la almohadilla de prueba, la hCG se adapta al anticuerpo de ratón y las subunidades LH y FSH se neutralizan con los anticuerpos monoclonales LH y FSH, con el fin de evitar falsos positivos.

En la figura 1.24 se presenta la patente del dispositivo con 1) placa base de reacción 2) almohadillas de muestra 3) almohadillas de neutralización 4) almohadillas de oro 5) línea de detección 6) Línea de control de calidad Línea 7) Película de reacción y 8) Almohadilla de absorción de agua[28].

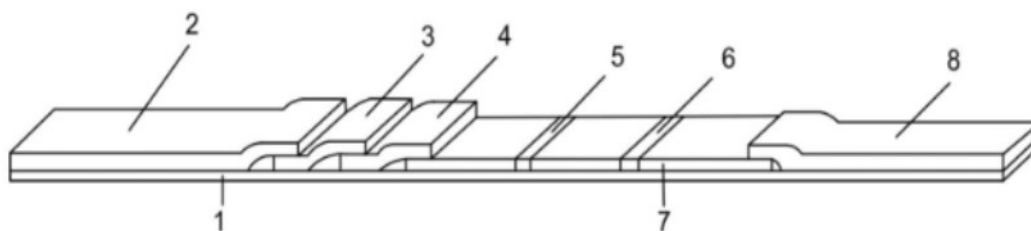


Figura 1.25: Patente para detectar hormona hCG

1.5. Hipótesis

Empleando un sensor basado en una fibra óptica taper con un diámetro aproximado de $3\mu\text{m}$, la cual es funcionalizada con nanopartículas de oro, se depositarán diferentes concentraciones de hormona hCG entre 1-100000 mIU/mL, donde se obtendrán diferentes respuestas de potencia óptica de salida en función a cada una las concentraciones de hormona previamente mencionadas, poniendo mayor énfasis en el intervalo de concentraciones que ayuden a detectar diferentes tipos cáncer en etapa 1 (16 a 175 mIU/mL).

1.6. Objetivos del trabajo

Objetivo General

Desarrollo de un biosensor para la detección del biomarcador hCG basado en un sensor de fibra óptica taper funcionalizada con nanopartículas de oro.

Objetivos Específicos

1. Revisión del estado del arte de biomarcadores de hormona hCG y biosensores de fibra óptica.

2. Fabricación del biosensor de fibra óptica taper funcionalizada con nanopartículas de oro
3. Análisis de la respuesta óptica de las nanopartículas/fibra óptica taper para detección biológica, utilizando la hormona hCG a diferentes concentraciones diluida en agua desionizada (Caracterización base del biomarcador de hCG).
4. Analizar los cambios de intensidad óptica que presenta la fibra óptica taper (TOF), al variar las concentraciones de hormona hCG.
5. Análisis de la respuesta óptica de las nanopartículas/fibra óptica taper para detección biológica, empleando orina y/o sangre.
6. Análisis de la respuesta óptica de las nanopartículas/fibra óptica taper para detección biológica, usando la hormona hCG a diferentes concentraciones diluida en orina y/o sangre (Caracterización del biomarcador de hCG).
7. Análisis del biomarcador y comparación con biomarcadores reportados.
8. Diseño y propuesta de materiales del producto.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

En este capítulo se describirán los conceptos más importantes que caracterizan a nuestro trabajo, como la definición de sensores biológicos, campo evanescente, sensores de fibra óptica, especialmente los de fibra óptica taper y finalmente plasmones superficiales.

2.1. Sensores biológicos

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, los sensores biológicos 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[29].

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

1. El analíto (la muestra o elemento que se desea medir) deberá ser estable
2. El sensor debe de ser exacto, preciso y mostrar una alta sensibilidad.
3. Deberá ser pequeño, portable y de costo razonable.
4. 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.

Asimismo, las partes mas importantes de un sensor biológico se muestran en la figura 2.1:

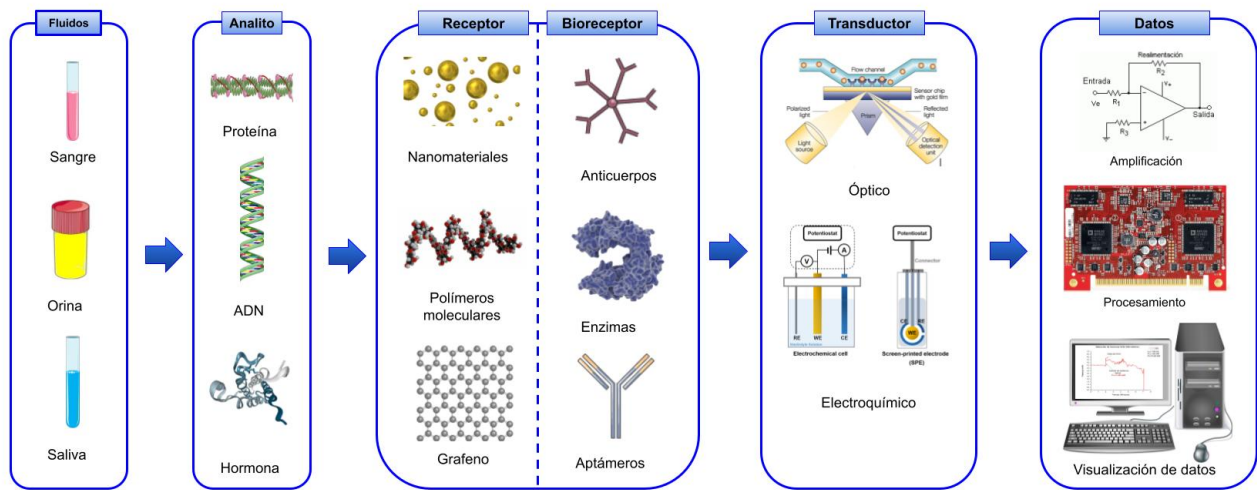


Figura 2.1: Partes de un sensor biológico

A continuación se realiza un resumen de cada uno de ellos:

1. Fluidos corporales

Un fluido corporal son todas las secreciones o líquidos biológicos, fisiológicos o patológicos que se producen en el organismo, los cuales facilitan el transporte de nutrientes o expulsan desechos de las células, debido a que el cuerpo humano está compuesto principalmente por agua en un 67.85 %, además de que otros órganos también tienen ciertas cantidades de agua como por ejemplo el cerebro y el corazón tienen el 73 %, la piel 65 %, los pulmones 84 %, los riñones 79 %, el hígado por 71 %, el cerebro 73 % y el páncreas por 73 %.

Por lo tanto, el cuerpo al estar compuesto por agua, las células también tienen cierta cantidad de agua, que al liberarse por orina o por el sudor, se pueden encontrar diferentes componentes biológicos como sodio, potasio, urea, glucosa, hormonas, ácidos que al cambiar sus concentraciones nominales, pueden ser empleados como biomarcadores para la detección de diferentes enfermedades.

En particular, los fluidos corporales se pueden dividir en categorías como saliva, bilis, semen, secreciones vaginales, leche humana, líquido amniótico, orina y sangre, entre otros, dependiendo de su variación en la apariencia física, propiedades, tipos de células y número de células.

2. Analito

El analito son las sustancias biológicas de interés a sensar como lo son hormonas, proteínas, glucosa, ADN, virus, parásitos, bacterias, enzimas, entre otros, los cuales se detectan a través de su interacción con un receptor específico.

3. Bioreceptor y receptores

Son elementos de naturaleza biológica o sintética que son afines al analito, en el cual ayudan a detectarlo muy fácilmente, además de que son elementos responsables 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.

- **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.

- **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.

- **Receptores sintéticos**

Los receptores 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 y 1000 nm. 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.

4. Transductor

Es la parte más elemental del biosensor, ya que convierte los cambios relacionados entre el analito y el bioreceptor a señales eléctricas u ópticas y así mismo convierte la información en un efecto medible. Además, 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 [65][67]. Los transductores se dividen en 3 tipos, los cuales son:

- **Electroquímicos**

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 su alta especificidad, sensibilidad y selectividad, tienen un tiempo de respuesta reducido y son rentables.

- **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 cólera, hepatitis 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.

- **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, la 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 ultraalta 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.

5. Amplificación

En esta etapa se detecta la señal óptica o eléctrica proveniente del transductor, en la que para ser interpretada por una computadora, es necesario primero pasar por un amplificador debido a que la señal del transductor comúnmente es muy débil. Luego, al ser amplificada, debe ingresar por una tarjeta de adquisición de datos, donde la señal analógica amplificada se muestrea y se convierte a digital, que, en consecuencia, se manda a una computadora y finalmente estos datos son interpretados y visualizados.

Por lo tanto, el elemento clave para medir cualquier elemento biológico de interés, son los transductores, debido a que estos se encargan de convertir todos los procesos fisicoquímicos que ocurran en el transductor en una señal medible. Los transductores que han tomado mayor relevancia en los últimos años son los transductores ópticos, a causa de que estos tienen ciertas ventajas, tal y como su ultraalta sensibilidad a los cambios del exterior, son económicos, rápidos y se pueden instalar en cualquier lugar por su tamaño compacto, en comparación de los sensores electroquímicos u piezoeléctricos que necesitan laboratorios especializados para su fabricación. En la siguiente sección, se habla principalmente de los tipos de sensores de fibra óptica y sus características[26].

2.2. Sensores de fibra óptica

Desde la invención de la fibra óptica moderna por Narinder Singh Kapany en 1955, las fibras ópticas se enfocaron solamente en el campo de las telecomunicaciones para transmitir imágenes y datos, debido a su rapidez e inmunidad a la interferencia electromagnética. Sin embargo, para 1960, con la invención del láser de rubidio por Theodore Maiman, las aplicaciones de la fibra óptica crecieron cada vez más, las cuales serían empleadas también en la industria y en la medicina.

No obstante, para 1977, la tecnología basada en fibra óptica comenzó a medir diferentes magnitudes físicas tal y como presión, temperatura, presión, monitoreo ambiental, entre otras más. Adicionalmente, los sensores basados en fibra óptica comenzaron a enfocarse en detectar variables biológicas como enzimas o ADN.

En consecuencia, las fibras ópticas comenzaron a usarse cada vez más para sensado debido a las ventajas que ofrecen como lo son por su inmunidad a la interferencia electromagnética gracias a que los materiales con los que está constituida la fibra óptica son aislantes o no conducen electricidad (el vidrio, óxido de silicio o plástico). Otra ventaja que ofrece es su tamaño compacto que le permite instalarse en lugares peligrosos y complejos, como lo son por ejemplo los complejos petroleros y laboratorios de bioseguridad 3 y 4. Asimismo, ofrece una alta sensibilidad a la detección de cualquier variable de interés (gas, bacterias, presión, químicos, etc.) y, por último, permite monitorear en tiempo real los elementos de interés a sensar en otro sitio en que se realice el experimento[33].

La fibra óptica emplea diferentes mecanismos para sensar diferentes variables de interés como lo es el campo evanescente, cambios en el índice de refracción y resonancia de superficie de plasmón y resonancia de superficie de plasmón localizada.

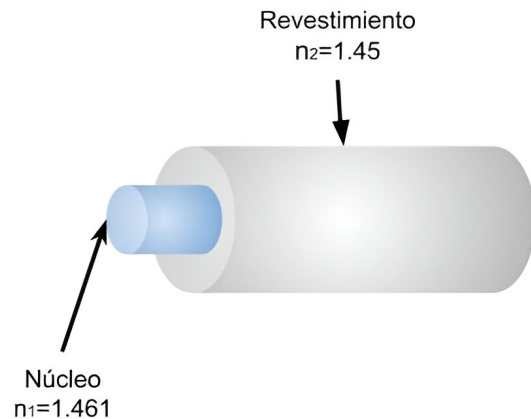


Figura 2.2: Partes de una fibra óptica

CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.2. SENSORES DE FIBRA ÓPTICA

Con respecto al funcionamiento de la fibra óptica, una fibra óptica está compuesta por tres partes, las cuales son núcleo, recubrimiento y revestimiento (figura 2.2). Con el fin de que la luz sea transmitida eficientemente a lo largo de la fibra óptica, el índice de refracción del núcleo debe ser un poco más alto que del revestimiento para que se cumpla la reflexión total interna (RTI).

La reflexión total interna es cuando un rayo de luz pasa de un índice de refracción mayor a uno menor, la luz es totalmente reflejada y cambia de dirección. Luego, cuando ese rayo de luz vuelva a encontrarse con un índice de refracción más denso, el rayo de luz cambia de dirección y se vuelve a reflejar y así sucesivamente hasta el final de la fibra óptica [30].

Se considera una onda incidente desde un medio más denso (núcleo) y golpeando a uno menos denso (revestimiento), el cual la reflexión total interna de la onda incidente ocurrirá en ciertos ángulos de incidencia igual o más grandes que un ángulo conocido como **ángulo crítico**.

En la figura 2.3 se muestra la reflexión total interna en una fibra óptica donde n_1 índice de refracción de el núcleo y n_2 es el índice de refracción del revestimiento.

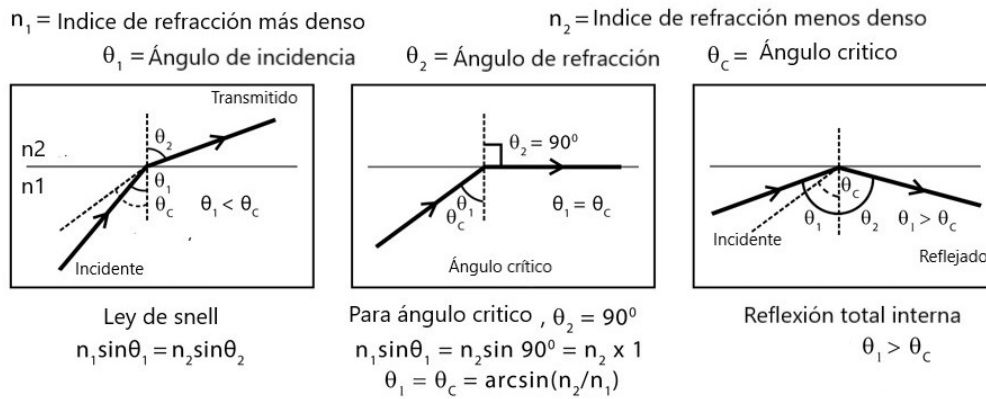


Figura 2.3: Reflexión total interna en una fibra óptica

2.2.1. Fibra óptica taper

Los sensores de fibra óptica taper nacieron en 1976 cuando los japoneses Takeshi Ozeki y Kawasaki del Centro de Investigación de Comunicaciones de Ottawa, Canadá las fabricaron a través de una técnica llamada fresado químico e inmersión en ácido fluorhídrico y en consecuencia se logró alcanzar en la parte adelgazada un diámetro de $20\mu\text{m}$.

Las fibras ópticas taper 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. También ofrecen monitoreo en tiempo real a grandes distancias debido a que las fibras ópticas monomodo tienen bajas pérdidas en transmisión a varios kilómetros desde la medición.

El mecanismo de detección que usan las fibras ópticas taper es el campo evanescente, el cual es la luz que se confina entre el núcleo y revestimiento gracias a la reflexión total interna (RTI). En una fibra óptica no es fácil acceder a la luz que se confina entre las dos interfaces (núcleo-revestimiento), la única forma es 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[36].

Al interactuar el campo evanescente con el medio exterior, permite la medición de elementos biológicos debido a que este campo evanescente es muy sensible a los cambios de índice de refracción que se encuentren en el medio externo.

Asimismo, cuando el campo evanescente interactúa con el bioreceptor (ayuda a enlazar o a pegar el elemento biológico) y el elemento biológico, la luz del campo evanescente es absorbida por los elementos antes mencionados y provocan desplazamientos de longitud de onda o cambios de índice de refracción del medio exterior que en consecuencia cambian la potencia óptica de salida.

Existen varios métodos de fabricación de fibras ópticas taper, no obstante los principales son por el uso de químicos que van adelgazando o puliendo la fibra óptica hasta que el recubrimiento o el revestimiento en los mismos diámetros. El químico más empleado es el ácido fluorhídrico o el ácido clorhídrico, que son elementos químicos muy fuertes que deben ser utilizados de forma muy cuidadosa y tiene el potencial de degradar el vidrio o el silicio. El segundo método más empleado es el usar una máquina o dispositivo que emplea técnicas de estiramiento y de calentado por soplete (gas), grabado por láser o descarga eléctrica para reducir el núcleo o revestimiento en mismas proporciones.

El proceso por estiramiento y calentamiento con soplete consiste cortar una fibra óptica de aproximadamente 70 a 75 cm de largo. Luego se remueve el recubrimiento de la mitad de la fibra óptica (aproximadamente 5 cm) y se limpia con alcohol y pañuelo para quitar los restos de plástico. Enseguida la fibra se coloca en los sujetadores de los motores a pasos que se encargaran de estirar a la fibra en sentido contrario. Más tarde se programa el sistema y se coloca el soplete en la parte media de la fibra y se inicia el proceso de adelgazamiento de la fibra.

En la figura 2.4 y 2.5 , se muestra la geometría de la fibra óptica taper y sus partes fundamentales:

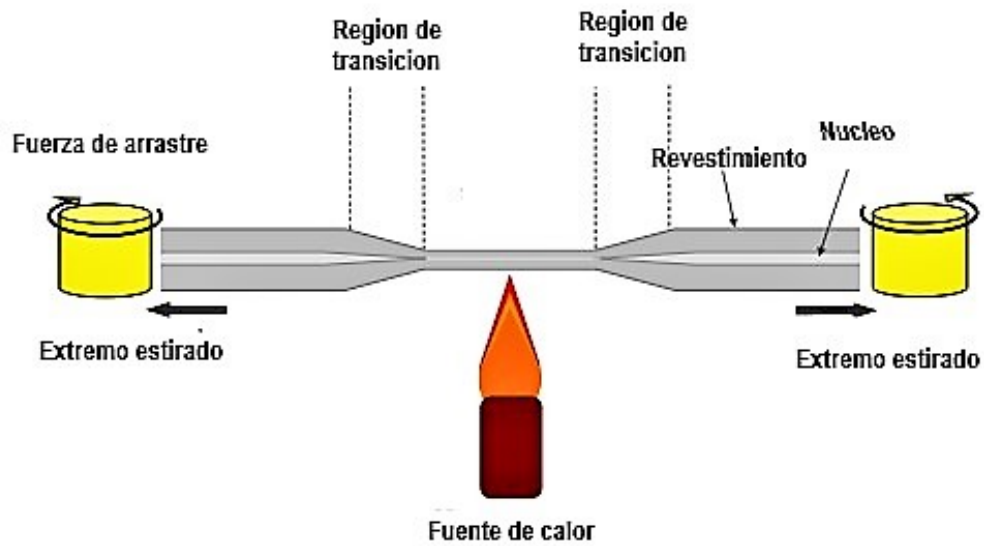


Figura 2.4: Fibra óptica taper fabricada empleando el sistema flame-brushing[36]

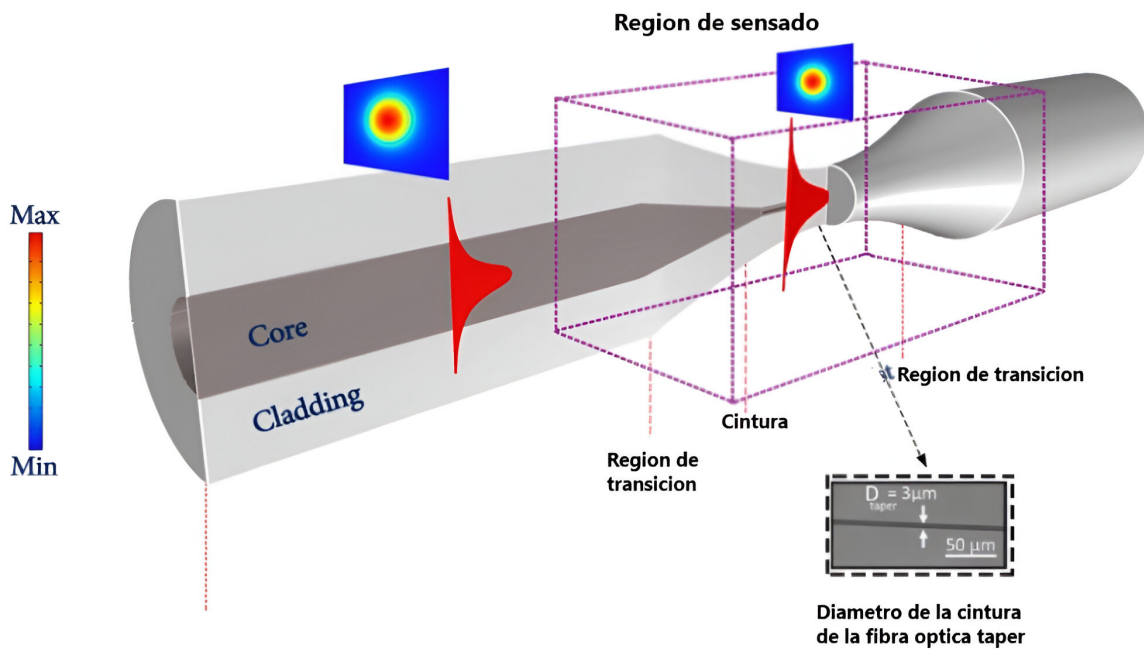


Figura 2.5: Vista longitudinal de una fibra óptica taper[36]

2.2.2. Campo evanescente

El mecanismo de detección que usan las fibras ópticas taper es el campo evanescente, el cual es la luz que se confina entre el núcleo y revestimiento gracias a la reflexión total interna (RTI). En una fibra óptica no es fácil acceder a la luz confina entre las dos interfaces núcleo y revestimiento), la única forma es 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[37].

Al interaccionar el campo evanescente con el medio exterior, permite la medición de elementos biológicos debido a que este campo evanescente es muy sensible a los cambios de índice de refracción que se encuentren en el medio externo.

Asimismo, cuando el campo evanescente interacciona con el bioreceptor (ayuda a enlazar o a pegar el elemento biológico) y el elemento biológico, la luz del campo evanescente es absorbida por los elementos antes mencionados y provocan desplazamientos de longitud de onda o cambios de índice de refracción del medio exterior que en consecuencia cambian la potencia óptica de salida. Finalmente, la luz es totalmente modulada y se comporta como sistema no lineal.

En la figura 2.6 A) se muestra como el campo evanescente sale de una fibra óptica, la cual al interactuar con la muestra de interés a sensar, ocurren diferentes fenómenos físicos como dispersión, absorción, difracción, entre otros, que en consecuencia modulan la señal transmitida completamente, y, por lo tanto, se cambian parámetros de la luz como la es la potencia óptica de salida o la intensidad.

En figura 2.6 B), se observa una onda estacionaria golpeando la interfaz, la interfaz entre el núcleo con índice de refracción (n_1) y el revestimiento (n_2), donde si se reduce el revestimiento y el núcleo en sus mismas proporciones, la profundidad de penetración del campo evanescente se amplifica considerablemente y, por lo tanto, este campo interactúa con más facilidad con la muestra biológica a sensar.

Mientras más aumente la profundidad de penetración, el campo evanescente saldrá del revestimiento y en consecuencia el sensor de fibra óptica se vuelve más sensible a los cambios de índice de refracción del exterior.

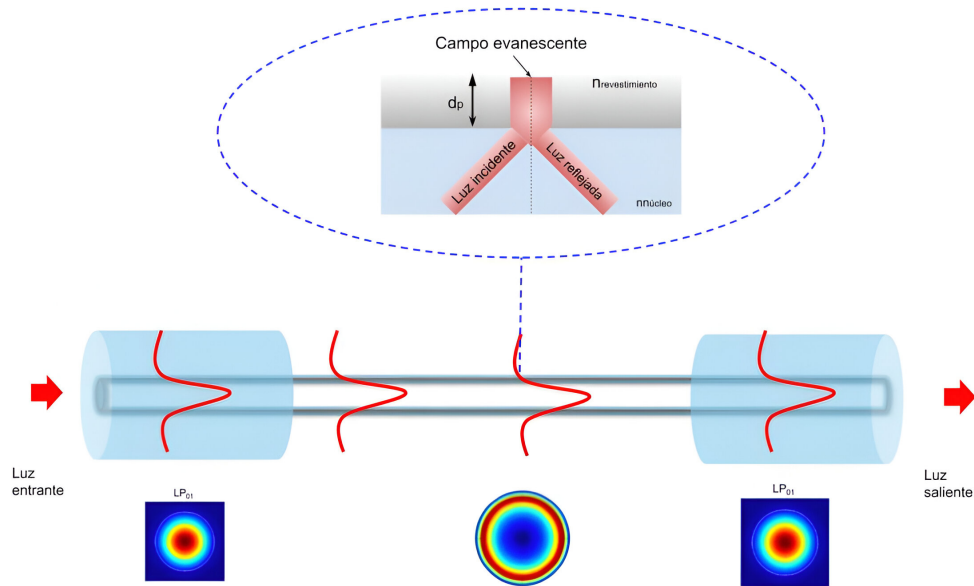


Figura 2.6: A) Campo evanescente interactuando en una muestra B) Profundidad de penetración de una onda evanescente

Ahora, realizando un análisis del campo evanescente, se tiene el siguiente el perfil de profundidad del campo evanescente que es el siguiente:

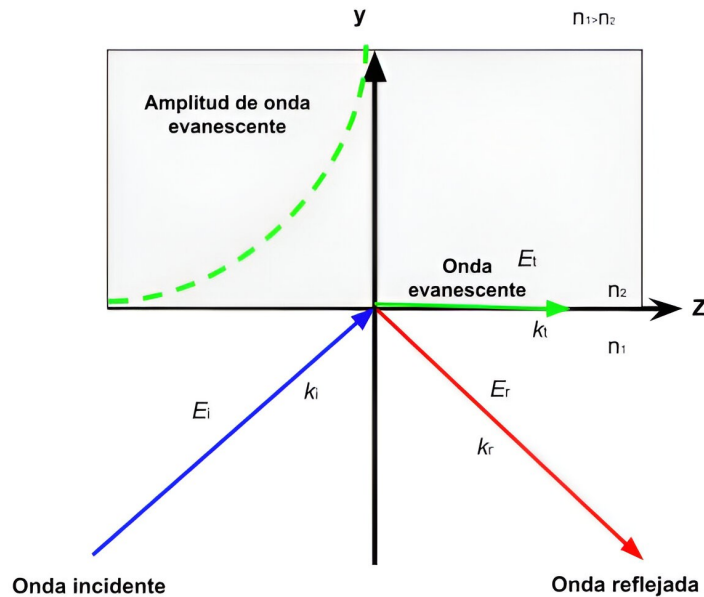


Figura 2.7: Interfaz de núcleo-revestimiento con onda evanescente

Ahora, la profundidad de penetración es equivalente a la amplitud de la onda evanescente, por

lo que es necesario analizar la onda transmitida como se observa en la figura 2.13. Partiendo de la ley de snell se tiene que:

$$n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_t \quad (2.1)$$

Ahora, empleando una identidad trigonométrica, se tiene que :

$$\cos \theta_t = \sqrt{1 - \sin^2 \theta_t} \quad (2.2)$$

Quitando el lado negativo de la función seno de la ecuación 2.2 se obtiene lo siguiente:

$$\cos \theta_t = j\sqrt{\sin^2 \theta_t - 1}$$

Luego, el campo eléctrico de la onda transmitida o de la onda evanescente esta dada por:

$$E_t = E_{to} \exp(j\omega t - j\mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r}) \quad (2.3)$$

y

$$\bar{\mathbf{r}} = y\hat{\mathbf{y}} + z\hat{\mathbf{z}}$$

donde E_{to} = Amplitud del campo transmitido, \mathbf{r} =Vector posición y k_t =Vector de onda transmitido.

Es el vector $\hat{\mathbf{z}}$ y $\hat{\mathbf{y}}$, donde luego se hace un producto punto y se tiene que :

$$E_t = E_{to} e^{j(\omega t - k_t \cos \theta_t y - k_t \sin \theta_t z)} \quad (2.4)$$

Ahora sustituyendo la identidad trigonométrica de la ecuación 2.2 en la ecuación 2.4 del producto punto se obtiene que:

$$E_t = E_{to} e^{j(\omega t + jk_t \sqrt{\sin^2 \theta_t - 1} y - k_t \sin \theta_t z)} \quad (2.5)$$

Separando por la parte real y compleja se obtiene:

$$E_t = E_{to} e^{-k_t \sqrt{\sin^2 \theta_t - 1} y} e^{j(\omega t - k_t \sin \theta_t z)} \quad (2.6)$$

Luego se tiene que:

$$\sin \theta_t = \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_i \quad (2.7)$$

y la velocidad de propagación transmitida:

$$k_t = \frac{2\pi}{\lambda} n_2 \quad (2.8)$$

Enseguida, sustituyendo 2.7 y 2.8 en 2.6 en se tiene finalmente que:

$$E_t = E_o e^{n_2 \frac{-2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{n_1^2}{n_2^2} \sin^2 \theta_i - 1} y} e^{j(\omega t - \frac{(2\pi)n_1}{\lambda} \sin \theta_i z)} \quad (2.9)$$

Ahora, el campo eléctrico polarizado transversalmente que se propaga en la dirección z, el cual es el campo evanescente que se propaga en dirección z se denota como:

$$E_{t,\perp}(y, z, t) = \infty e^{-\alpha z} \exp(j\omega t - jk_{iz} z) \quad (2.10)$$

Ahora comparando la ecuación 2.9 y 2.10 ,se tiene que el coeficiente de atenuación en el medio 2 esta dado por:

$$\alpha_2 = \frac{n_2 2\pi}{\lambda} \sqrt{\left[\frac{n_1^2}{n_2} \sin^2 \theta_i - 1 \right]} \quad (2.11)$$

Luego para conocer la profundidad de penetración del campo evanescente, se tiene que:

$$y = \frac{1}{\alpha_2} = d_p \quad (2.12)$$

Finalmente, despejando de 2.11 se obtiene que:

$$d_p = \frac{\lambda}{n_1 2\pi \sqrt{\sin^2 \theta_i - \frac{n_1^2}{n_2}}} \quad (2.13)$$

Donde λ =Longitud de onda de la luz incidente, n_1 =Índice de refracción del medio más denso, n_2 =Índice de refracción del medio más denso y θ_i =Angulo incidente.

2.2.3. Resonancia de plasmones superficiales localizados

En los últimos años, las nanopartículas metálicas han sido empleadas para aumentar la sensibilidad de los sensores ópticos y electroquímicos. Además, se han empleado como bioreptores, los cuales ofrecen una alta biocompatibilidad (no destruyen la muestra biológica a analizar) y una alta selectividad (son muy precisos al detectar el analito o antígeno) y aumenta la transferencia de electrones que convierte a los sensores más precisos.

Sin embargo al emplear las nanopartículas metálicas al emplearlas en sensores ópticos, ofrecen ventajas muy importantes como lo son el aumento de la absorción y dispersión de la luz tanto en el espectro visible como en el infrarrojo, aumenta los campos electromagnéticos de la luz y en consecuencia aumenta la sensibilidad del sensor óptico .

Para explotar las propiedades ópticas de las nanopartículas metálicas, es necesario que la luz interactúe con ellas, donde la luz al ser una electromagnética (contiene ondas eléctricas y magnéticas), en especial las ondas eléctricas de la luz cuando interacciona con las nanopartículas metálicas, los electrones de la banda de conducción se polarizan y empiezan a resonar conforme a la misma frecuencia de la luz incidente. Por lo tanto, la resonancia creada al interactuar las nanopartículas y la luz se les denominan resonancia de plasmones superficiales localizados. Debido a lo anterior, la resonancia de plasmones superficiales localizados se da principalmente cuando la luz interacciona con nanopartículas más pequeñas que la longitud de onda de la luz incidente (400-700 nm), donde las nanopartículas pueden absorber mucha luz como la pueden dispersar significativamente[38].

Ahora, al usar este fenómeno en una fibra óptica taper, lo que sucede es que cuando el campo evanescente interacciona con las nanopartículas de oro, se crean oscilaciones colectivas de la banda de conducción (llamados plasmones), donde la frecuencia de la luz incidente entra en resonancia con las nanopartículas y, por lo tanto, amplifica los campos eléctricos de la luz transmitida. Así mismo, al amplificar los campos eléctricos de la luz transmitida, el sensor va a ser demasiado sensible a los cambios de índice de refracción que estén sucediendo en la cintura de la fibra óptica taper.

Además, al aumentar el campo eléctrico del campo evanescente, se exhibe una fuerte absorción de luz en el espectro visible e infrarrojo, lo cual al interactuar las nanopartículas con un elemento biológico de interés, la muestra biológica se absorbe con mayor facilidad y en consecuencia la luz transmitida se modula, el cual tanto la potencia óptica de salida como su intensidad pueden incrementar o reducirse dependiendo de la concentración de la muestra biológica a detectar(figura2.8)

Resumiendo, el sensado basado en resonancia de plasmones superficiales localizados se cambio de la longitud de onda absorbida de la luz que se propaga a través de las nanoparticulas depositadas en superficies sólidas. Una vez que se producen cambios de indice de refracción en el área que se encuentra rodeando las naoparticulas, la longitud de onda resonante cambia . Además, la frecuencia de resonancia depende en gran medida del entorno dieléctrico, la distancia entre las partículas y las propiedades intrínsecas de las NP metálicas como su composición, el tamaño, la forma, la geometría y la relación de aspecto.

Finalmente, los nanomateriales empleados principalmente para generar resonancias de plasmon son las nanoparticulas de oro y la plata. El oro demuestra un cambio mayor del pico de resonancia, mientras que la plata tiene menos pérdidas ópticas. Sin embargo, la plata se oxida fácilmente una vez que se expone a un ambiente acuoso, a diferencia del oro, que es químicamente inerte y, por lo tanto, mucho más estable y así no destruye las composiciones químicas que tiene los elementos biológicos a sensar.

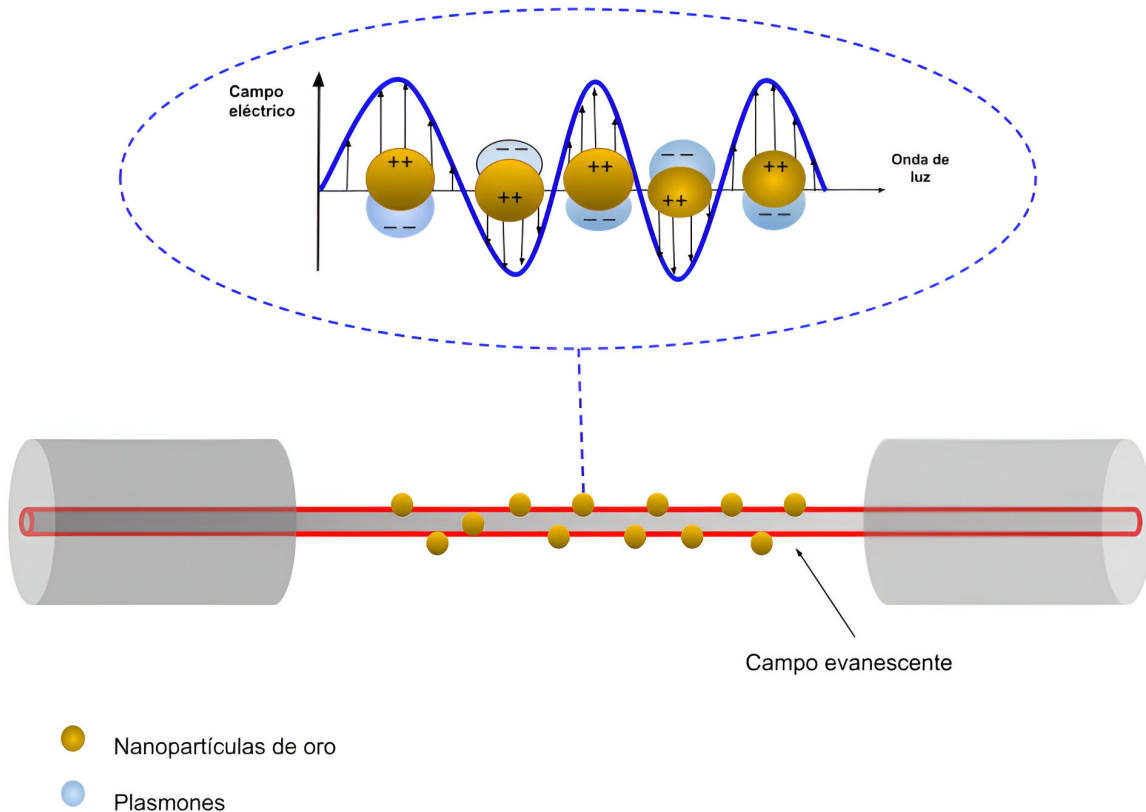


Figura 2.8: Resonancia de plasmones superficiales localizados en una fibra óptica taper

2.2.4. Configuraciones de sensores por fibra óptica

Entre 1975 y 1980, se diseñaron diferentes tipos de configuraciones de sensado por fibra óptica como el de la fibra óptica de rejilla tipo bragg en 1978, la fibra óptica tipo D en 1979, la fibra óptica tipo U en 1980, y finalmente la fibra óptica taper en 1976.

Por lo que, las configuraciones de fibra óptica son esenciales para el sensado de fibra óptica, debido a que al modificar la geometría de la misma, la materia puede interactuar más fácilmente con la luz que emerge de la fibra óptica. Además, los modos de propagación de la fibra pueden ser modificados y en consecuencia, aumentar la sensibilidad de la fibra óptica, aumentar las pérdidas de la misma, se amplifica la respuesta del sensor al medir los elementos de interés y aumenta su precisión.

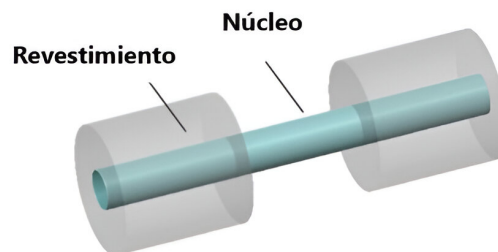
Las principales configuraciones de fibra óptica se dividen en dos clases, en configuración tipo transmisión y de tipo reflexión. En la configuración de tipo transmisión en general es un sensor intrínseco, donde el mecanismo de detección está dentro de la fibra óptica, en el cual la luz transmitida por toda la fibra interactúa directamente con elemento biológico de interés[35].

Mientras que la configuración de tipo reflexión, comúnmente es un sensor de tipo extrínseco, en el que se necesitan elementos externos a la fibra óptica para completar el sistema de detección. Un ejemplo de estos sistemas son la implementación de espejos e interferómetros al final de la fibra, con el fin de detectar la señal modulada.

A continuación se muestran las características de cada una de las configuraciones:

Fibra óptica tipo sin revestimiento

Este tipo de fibra óptica principalmente se le remueve el recubrimiento con una peladora, y enseguida la fibra se somete a procesos químicos o mecánicos para remover el revestimiento, a fin de que solamente quede expuesto el núcleo de la fibra. Al quedar solamente el núcleo, el campo evanescente que salga del núcleo puede interactuar fácilmente con la variable de interés a medir, el cual provocara cambios en el índice de refracción del medio exterior y en consecuencia cambiara la frecuencia de la luz transmitida o las pérdidas de potencia aumentaran más[27].



Fibra sin revestimiento

Figura 2.9: Fibra óptica sin revestimiento

2.2.5. Fibra óptica de tipo U sin revestimiento

Para esta clase de fibra, se forma a partir de quitar una parte del recubrimiento con una peladora y con métodos químicos o mecánicos se quita una parte del revestimiento y se deja expuesto el núcleo, con el fin de sensar en esa parte los elementos de interés. Además, para aumentar la sensibilidad de la fibra y el campo evanescente, la fibra óptica se va doblando lentamente hasta formar una U[34].

Adicionalmente, su principio de funcionamiento consiste en doblar la fibra de U y en consecuencia las pérdidas que tiene al curvarla aumentan el índice de refracción de la interfaz núcleo-revestimiento de la fibra óptica. Además, se aumenta el ángulo crítico de la interfaz del revestimiento en la región U, lo cual puede conducir a un aumento en las pérdidas de potencia óptica y tener picos más altos en la transmisión de luz.

En la figura 2.9, se muestra la geometría de esta clase de configuración:

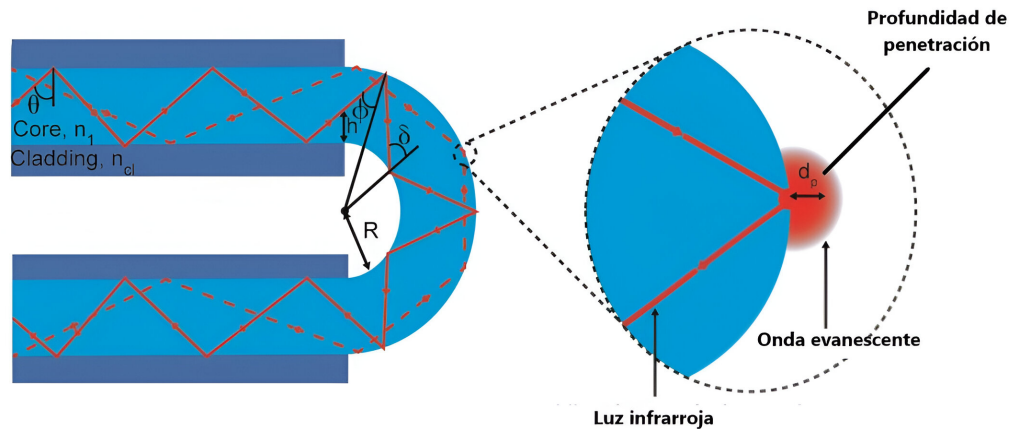


Figura 2.10: Geometría de la región de sensado de una fibra sin revestimiento tipo U, donde al doblarla en forma de U, el ángulo crítico es mas grande que el ángulo incidente y en consecuencia aumentan las perdidas de potencia óptica[34]

Fibra óptica de tipo D

Con respecto a las fibras ópticas D, estas fibras se fabrican solamente por procesos de manufactura especiales, debido a que se necesitan máquinas especiales que pulan en una forma uniforme y cuidadosa el revestimiento, hasta llegar a exponer ligeramente el núcleo.

El objetivo principal de este tipo de fibras ópticas es exponer el núcleo, con el fin de que la luz salga e interaccione con las variables biológicas a medir. Al salir la luz de la fibra, se provocan campos evanescentes, los cuales se vuelven muy útiles cuando estos interaccionan con nanopartículas de oro y en consecuencia provocan oscilaciones coherentes llamadas resonancia de plasmones superficiales[35].

Provocando la resonancia de plasmones superficiales en la fibra tipo D, se aumenta la sensibilidad de la fibra óptica, donde los elementos biológicos de interés son atraídos con mayor fuerza y son detectados con mayor facilidad.

En la figura 2.10, se muestra la geometría de este tipo de configuración:

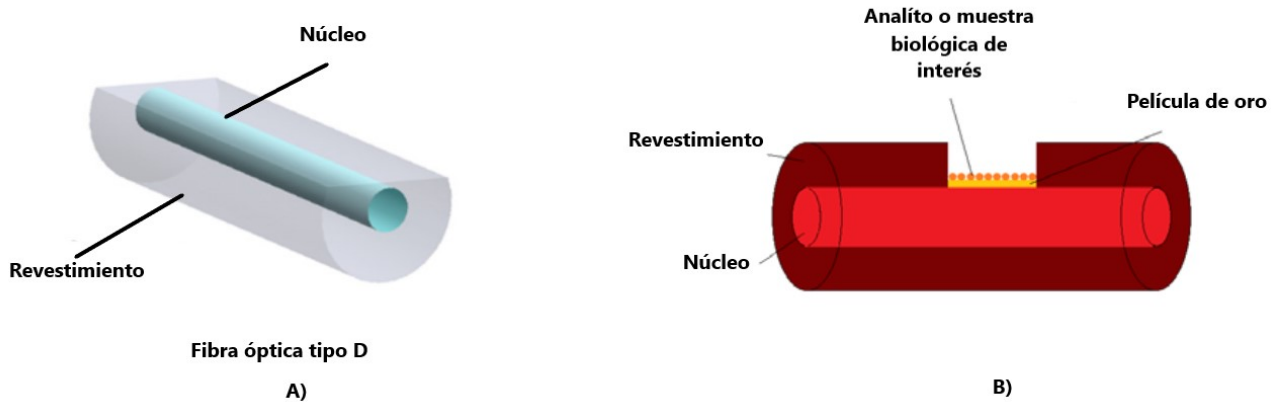


Figura 2.11: A) Vista transversal de una fibra tipo D, B) Vista longitudinal de una fibra óptica tipo D cubierta por una película de oro, para provocar resonancia de plasmones superficiales.[34]

Fibra ópticas de reflexión de cara final

La fibra óptica de reflexión de cara final es un tipo de sensor extrínseco que depende de dispositivos externos para modular la señal de salida. Además, dependen fuertemente de la reflexión final de la fibra óptica, el cual para amplificar la sensibilidad del sensor y también reflejar la luz, normalmente se cubre la parte final de metales nobles como lo son el oro, la plata o el óxido de zinc. Por lo tanto, cuando la luz alcanza la parte final de la fibra, la luz es reflejada de vuelta gracias a la capa de materiales nobles que cubren la punta de la fibra y en consecuencia, la señal óptica se dobla y mejora la respuesta de la región de sensado[34].

La fabricación de estas fibras es bastante sencilla, ya que se suelen utilizar cutter que permiten cortar la fibra con cierta facilidad. Finalmente, para realizar la medición de las variables biológicas de interés, se acostumbra a sumergir la punta de la fibra en tubos Eppendorf o en tejidos humanos, por lo cual, aventaja a los demás sensores, gracias a su manejo sencillo, su gran fortaleza mecánica y su gran flexibilidad a cualquier entorno.

En la imagen 2.12, se muestra la geometría de la fibra de cara final:

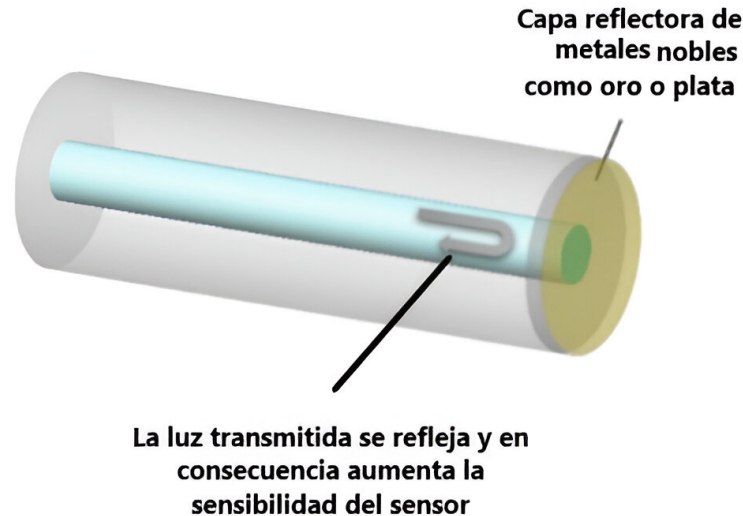


Figura 2.12: Vista transversal de una fibra reflexión de cara fina.[34]

Fibra óptica basada en rejilla bragg

En el año de 1978 el científico Ken Hill reportó el diseño de filtros ópticos destinados a telecomunicaciones. Este dispositivo permitió la separación de varios canales de transmisión en una sola fibra óptica gracias a que las rejillas impresas en el núcleo de la fibra óptica dividen la longitud de onda de la luz en varias frecuencias. Las rejillas impresas en la fibra se le denomina Fibra óptica basada en rejilla. Una Fibra óptica basada en rejilla es un dispositivo el cual permite sensor diferentes elementos de interés como lo es la temperatura, humedad, presión, entre otros[35].

La fibra óptica basada en rejilla ofrece diversas ventajas en comparación con los demás tipos de sensores basados en fibra como lo son:

- Son inmunes a la interferencia electromagnética debido a los materiales que está fabricada la fibra óptica (plástico o vidrio).
- Alta resolución, rango, sensibilidad y resistencia a la humedad y al agua.
- Permiten medir varios parámetros de interés en una sola fibra debido a que se pueden grabar hasta 30 rejillas en el núcleo de la fibra óptica

El modo de funcionamiento de una fibra óptica basada en rejilla consiste en grabar con luz ultravioleta (que ronda entre los 228 a 253 nm) una rejilla o franjas en el núcleo de la fibra óptica. Al crear estas rejillas en el núcleo de la fibra óptica, se varía su índice de refracción y en consecuencia, al incidir luz visible o infrarroja, la fibra óptica se comporta como filtro o espejo

donde algunas longitudes de onda de luz son transmitidas u otras son reflejadas o regresan al medidor. Especialmente, la longitud de onda reflejada depende de las propiedades con las que fue construida la fibra y su índice de refracción.

Por otra parte, al medir un elemento de interés como lo es la presión, temperatura o elemento biológico sobre la fibra basada en rejilla o al estirar la misma fibra, se alterara la longitud de separación de las rejillas o el índice de refracción del núcleo y, por lo tanto, la longitud de onda reflejada se desplazara o cambiara completamente. Además, estos cambios de longitud de onda desplazada convierte a la fibra sensible a los cambios de índice de refracción al medir del elemento de interés.

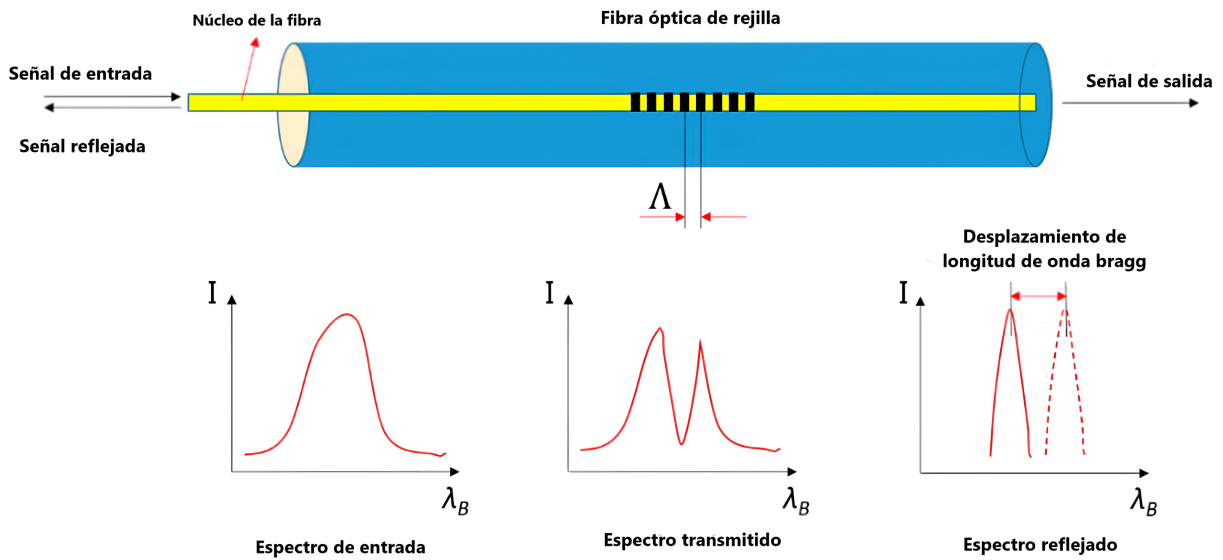


Figura 2.13: Diagrama de una fibra óptica de rejilla tipo bragg.[35]

Capítulo 3

Desarrollo experimental

En este capítulo se explica detalladamente las principales partes del biosensor, comenzado con la fabricación del transductor a partir del adelgazamiento de una fibra óptica taper estándar SMF-28 usando el sistema flame-brushing hasta alcanzar un diámetro entre 3 y $3.5\mu\text{m}$. Luego, se realiza la preparación del receptor (nanopartículas de oro) al agitarlas en una tina ultrasonido a 180 segundos a 35 W y enseguida se depositan sobre la cintura del transductor a una potencia de óptica de salida de 5.5 mW. Después, se realiza la preparación y caracterización del analito (hormona hCG), la cual se lleva a cabo siguiendo la fórmula de diluciones seriadas para elaborar 1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL diluida en agua y 1,10,50,100,150 y 180 mIU/mL diluida en orina, en el cual dichas concentraciones de hormona hCG se validan empleando pruebas de embarazo digitales comerciales. Para la caracterización del analito, se utiliza la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la espectroscopia de fluorescencia a fin de saber si la hormona hCG se encuentra en las muestras preparadas y que otros elementos se encuentra en ella. Más tarde, se realiza la cuantificación del biosensor al depositar sobre el transductor decorado con nanopartículas de oro las concentraciones de hormona hCG (1-100000 mIU/mL) diluido en agua y 1 a 180 mIU/mL diluida en orina midiendo la respuesta óptica y espectral usando un medidor de potencia óptica de salida y un analizador de espectros. Finalmente, se calculan las figuras de merito a partir de los resultados obtenidos al medir diferentes concentraciones de hormona hCG diluido tanto en agua como orina con la finalidad de determinar el desempeño del biosensor de fibra óptica taper. En la figura 3.1, se muestra el diagrama a bloques del biosensor de fibra óptica taper.

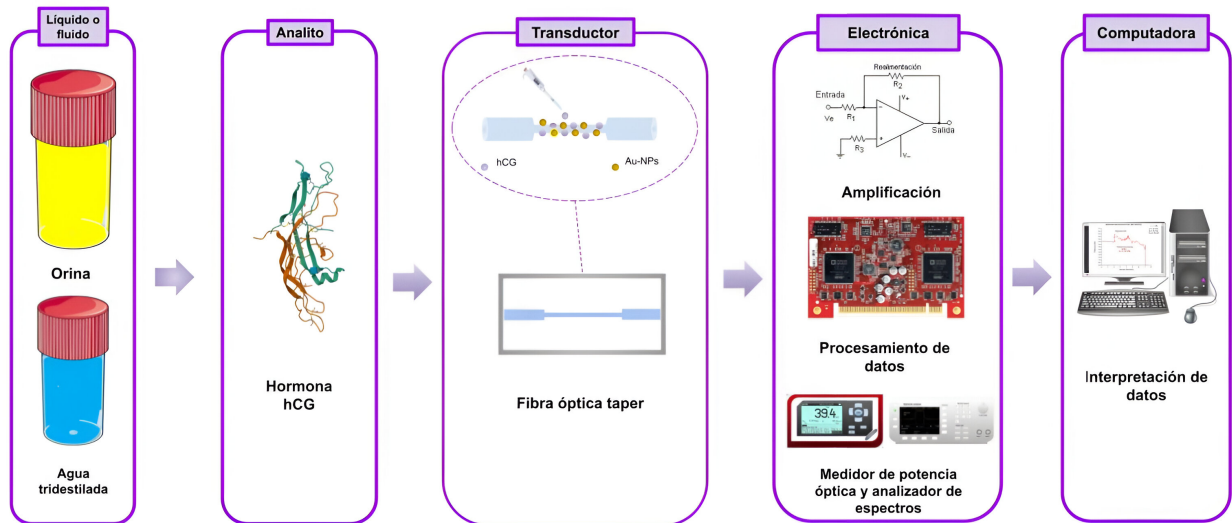


Figura 3.1: Diagrama a bloques del sensor de fibra óptica taper

3.1. Fabricación del transductor (fibra óptica taper)

Con respecto a la fabricación de la fibra óptica taper, se dispone a seguir los siguientes pasos:

1. Tomar 75 cm de fibra óptica monomodo SMF 28 de la marca Thorlabs y con una micropeladora de fibra óptica, se quita alrededor de 3 cm de recubrimiento de la parte media de la fibra óptica.
2. Se eliminan los restos de recubrimiento con ayuda de un pañuelo para fibra óptica, el cual se remoja con alcohol isopropílico.
3. Enseguida, se toma un soplete marca krypton y se procede a rellenarlo con gas sin impurezas hasta su máxima capacidad.
4. Más tarde, se coloca la fibra óptica sin recubrimiento en los magnetos para fibra óptica pegados a cada una de las bases del sistema de adelgazamiento flame brushing, la cual se muestra en la figura 3.2.

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. FABRICACIÓN DEL TRANSDUCTOR (FIBRA ÓPTICA TAPER)

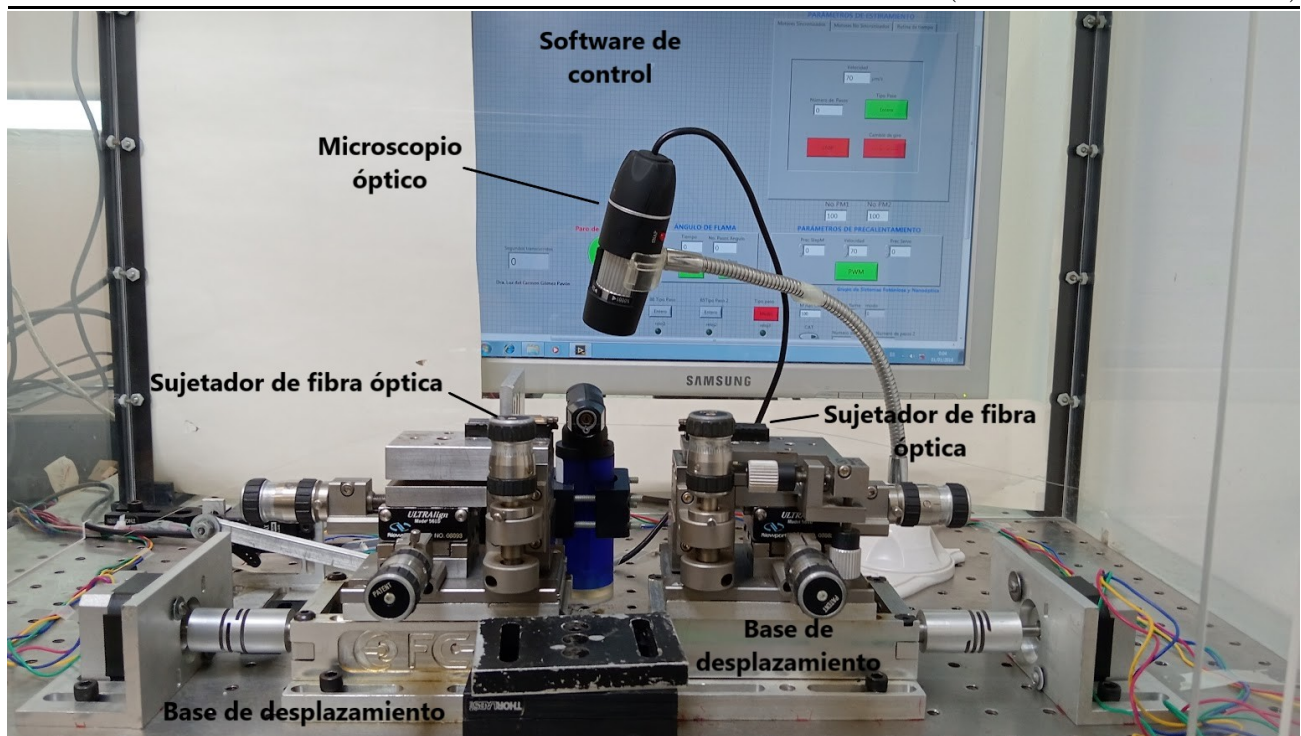


Figura 3.2: Sistema mecatrónico de fabricación de fibra óptica taper (TOF)

5. Posteriormente, se pone el soplete a una flama media en el servomotor del sistema, el cual se encargará de realizar el barrido a la fibra en la sección sin recubrimiento mientras esta también se va estirando de forma uniforme, como se observa en la figura 3.3.

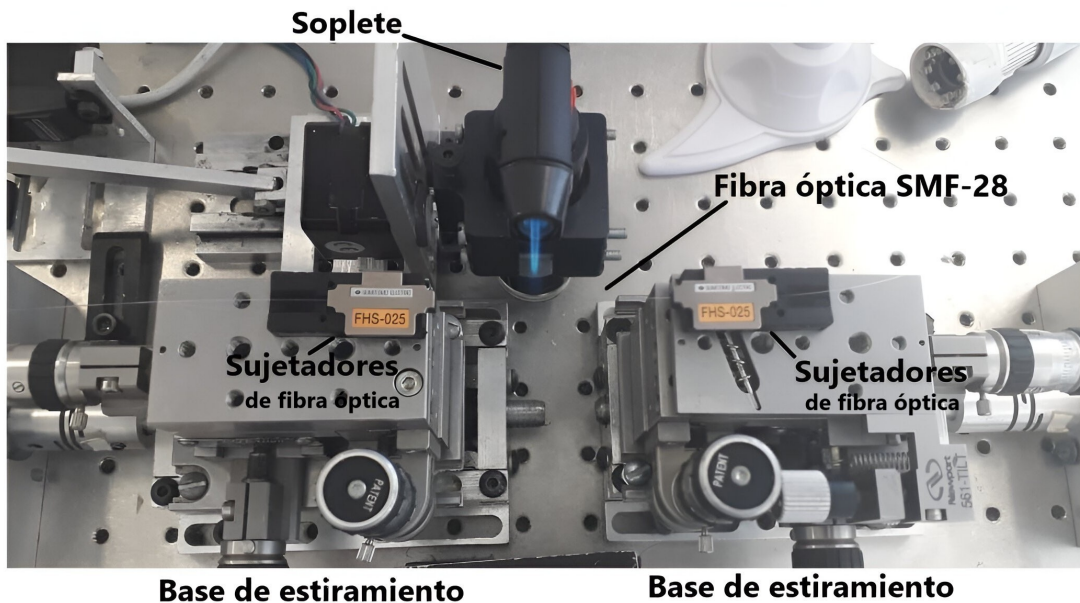


Figura 3.3: Inicio de barrido con soplete empleando el sistema mecatrónico de fabricación de fibra óptica taper (TOF)

6. Inmediatamente, se programa el sistema de adelgazamiento flame-brushing, utilizando la

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. FABRICACIÓN DEL TRANSDUCTOR (FIBRA ÓPTICA TAPER)

interfaz labView 2014, donde los parámetros requeridos para fabricar una fibra de alrededor de $3.5\mu\text{m}$ son:

- a) Velocidad: $12\mu\text{m}$ por segundo.
 - b) Número de pasos: 750 pasos.
 - c) Cambio de giro: hacia afuera.
 - d) Parámetro de precalentamiento: 35 segundos.
 - e) Velocidad de precalentamiento: 160.
7. Una vez fabricada la fibra óptica taper, se coloca un cubreobjetos en medio de las bases y con una espátula se pega la fibra al portaobjetos en cada uno de los extremos de la misma.
8. Luego, se mide el diámetro de la fibra óptica de una forma cualitativa empleando un microscopio metalográfico vertical de la marca velab VE 146 como se observa en la figura 3.4, el cual debe de oscilar entre $2.5\mu\text{m}$ y $3\mu\text{m}$, debido a que las fibras de este diámetro proporcionan un campo evanescente que es capaz de detectar concentraciones de hormona hCG más pequeñas.



Figura 3.4: Microscopio óptico metalográfico vertical marca VELAB modelo VE-146

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. FABRICACIÓN DEL TRANSDUCTOR (FIBRA ÓPTICA TAPER)

Ahora, el diámetro de la fibra se midió con un microscopio óptico utilizando un aumento de 40X, en donde cada subdivisión equivale a $2.5\mu\text{m}$., mediante la cual se realiza un estimado del diámetro de la fibra óptica taper fabricada. En la figura 3.5 se muestran algunas fibras ópticas fabricadas.

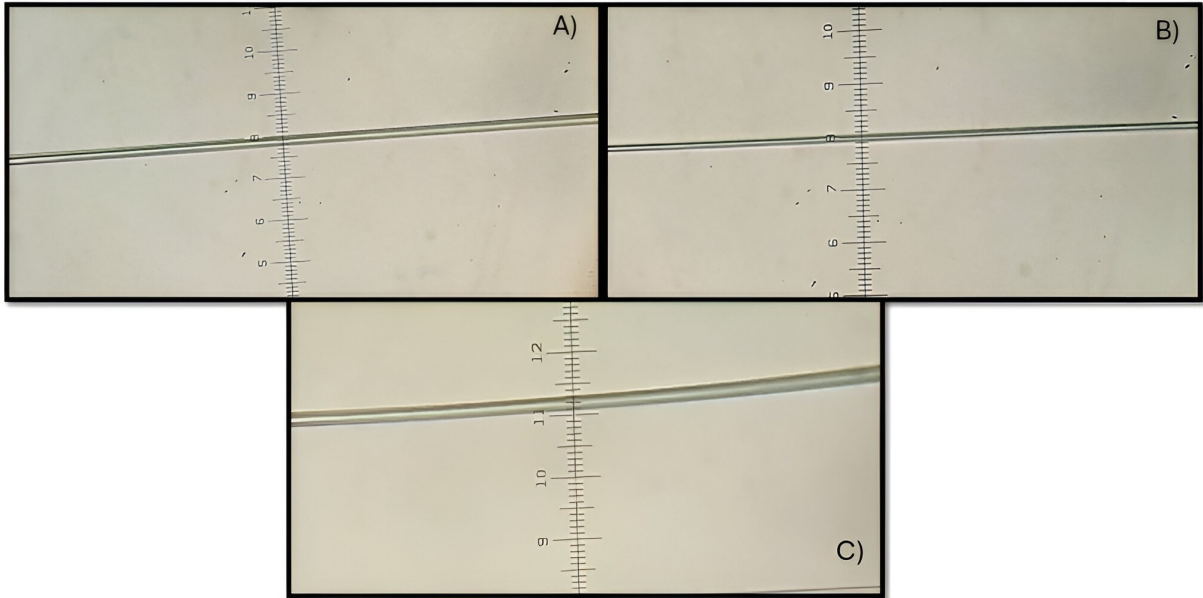


Figura 3.5: Imagen de microscopio óptico de TOFs fabricadas, con un diámetro de: A) $3\mu\text{m}$, B) $2.5\mu\text{m}$ y C) $3.5\mu\text{m}$

Finalmente, para examinar la superficie de la fibra óptica taper recién fabricada se encuentra completamente limpia y sin algún otro elemento que interfiera en la medición, se realizó microscopio electrónico de barrido (SEM) en forma tridimensional de la superficie. El equipo empleado y sus características para obtener SEM de dichas fibras fueron:

- Microscopio electrónico de barrido modelo TS5136SB, marca Vega@Tescan
- Voltaje de cañón de electrones: 25 kV
- Detector: BSE
- Vacío: Bajo vacío
- Velocidad de barrido: 6

En la figura 3.6 se muestran dos muestras de SEM de dos fibras ópticas taper recién fabricadas de $3\mu\text{m}$ y $3.5\mu\text{m}$.

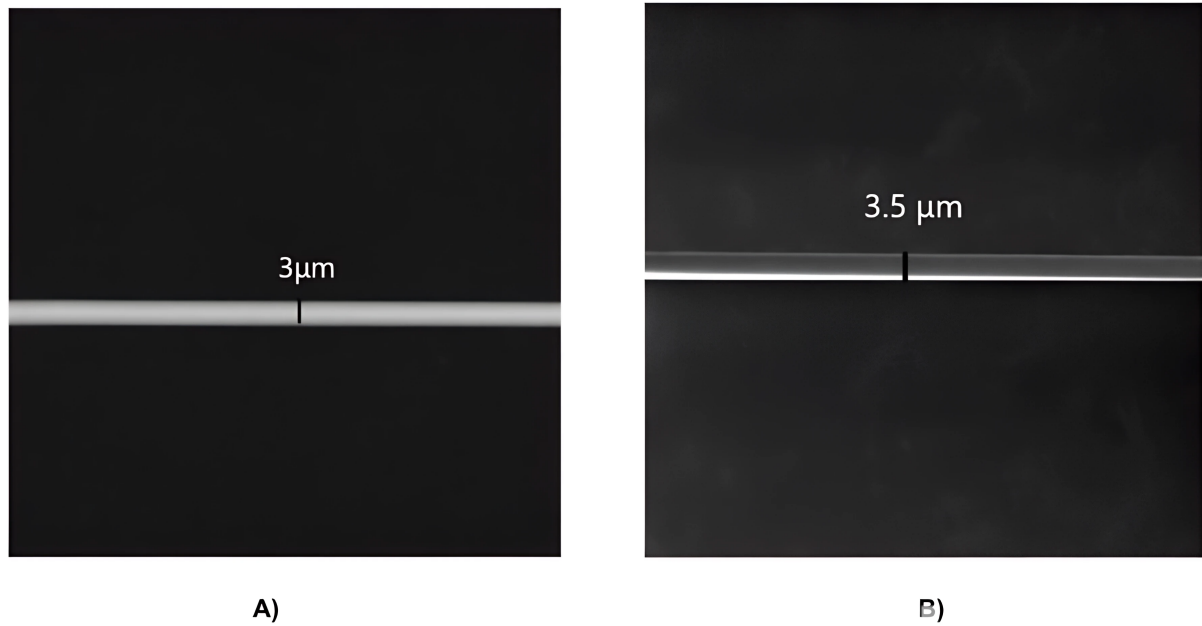


Figura 3.6: Micrografía de SEM de dos fibras ópticas taper recién fabricadas de diferentes diámetros A) $3\mu\text{m}$, B) $3.5\mu\text{m}$

En la figura 3.7, se muestra una micrografía de microscopía electrónica de barrido (SEM) del TOF obtenido. Se observa un diámetro uniforme de $3,5\mu\text{m}$. La longitud de transición cónica fue de $0,74\text{ cm}$ y la longitud del TOF fue de aproximadamente 2 cm .

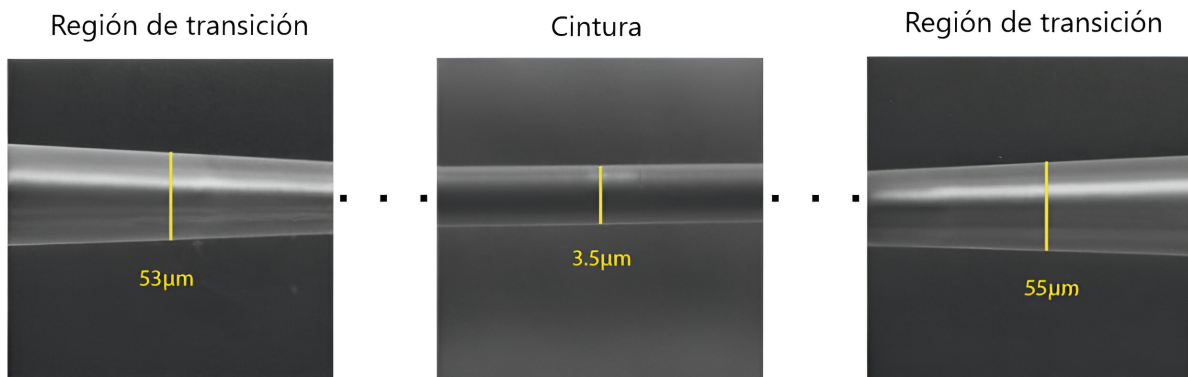


Figura 3.7: Micrografías SEM de la fibra óptica cónica fabricada. El diámetro de la cintura es de $3,5\mu\text{m}$ y la región de transición es de aproximadamente 0.74 cm .

3.2. Preparación del receptor (nanopartículas de oro)

Para la preparación de las nanopartículas de oro, se corresponde a tomar el frasco de nanopartículas de oro de la marca sigma-aldrich (742031, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) de un diámetro de 100 nm con un pico de absorción entre 564 y 574 nm suspendidas en buffer de citrato[55], en el cual con una jeringa de 0.3 mL se extraen alrededor de 0.1 mL del frasco de nanopartículas y se colocan en un tubo de eppendorf. Luego, el tubo eppendorf se coloca en la tina de ultrasonido, la cual contiene agua tridestilada y se programa a una potencia de 35W a 180 segundos, con el fin de que la hormona se homogeneice y no se destruya. En la figura 3.7 se muestra la preparación de las nanopartículas de oro de forma gráfica. Por otro lado, como se observa en la figura 3.8, cuando las nanopartículas de oro se someten a agitación empleando una tina ultrasonido, cambian de color al pasar de un rosa más intenso a uno menos intenso, debido a que al agitar las nanopartículas de oro (Au-Nps), estas se juntan y entran en estado de agregación que en consecuencia cambian su tamaño, los átomos presentes en las nanopartículas reflejan la luz de manera diferente y cambian su apariencia.

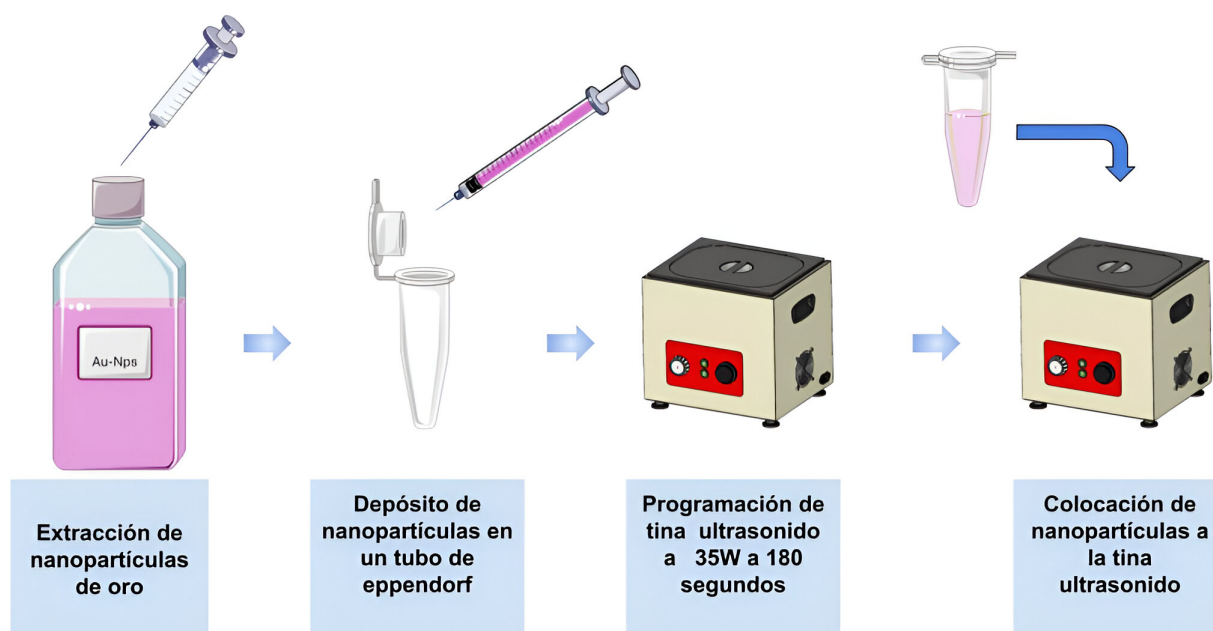


Figura 3.8: Descripción gráfica de la preparación de los nanopartículas de oro (Au-Nps)

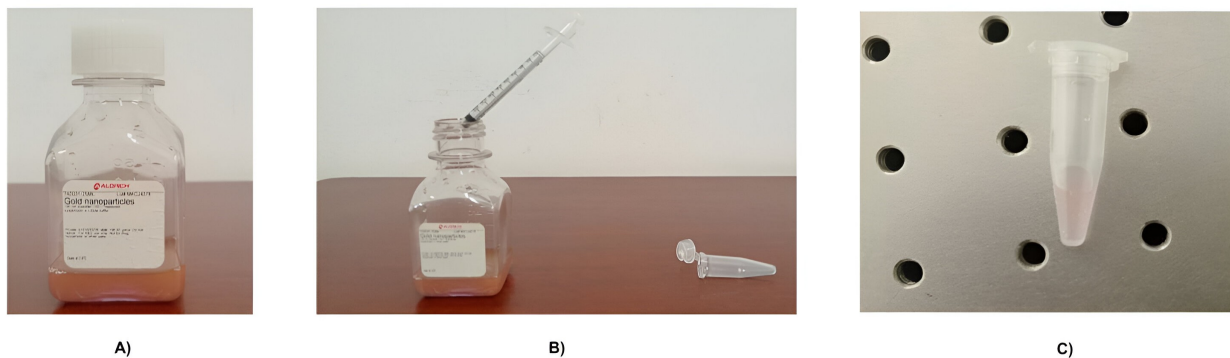


Figura 3.9: A) Nanopartículas de oro (Au-Nps) sin agitar, B) Extracción de nanopartículas de oro empleando una jeringa, C) Nanopartículas de oro después de agitarlas usando una tina ultrasonido, donde se observa su cambio de color.

3.3. Sistema de transducción

El sistema de transducción es la columna vertebral del sensor, ya que esta parte se encargará de convertir todos los cambios fisicoquímicos que sucedan entre el campo evanescente interactuando con el receptor (nanopartículas de oro) y el analito (hormona hCG). A continuación se presenta la configuración experimental para la decoración de la fibra óptica taper con nanopartículas de oro como se muestra en la figura 3.10, la cual está constituido por una fibra óptica SMF-28 Thorlabs(modelo SMF-28, Newton, NJ, EUA) [58] reducido con el sistema flame-brushing hasta llegar a un diámetro aproximado de $3\mu\text{m}$, la cual está cubierta con nanopartículas de oro (Au-Nps) de un diámetro de 100 nm [55].

Ahora, la fibra óptica taper decorada con nanopartículas de oro (Au-Nps) está conectada en uno de sus extremos a una fuente diodo láser infrarrojo de 1550 nm (Modelo FPL1009S, Thorlabs, Newton, NJ, USA)[59], el cual está adaptado a un controlador de temperatura (Modelo CLD1015, Thorlabs, Newton, NJ, USA)[60]. En la salida del sensor de fibra óptica taper, se encuentra conectado un acoplador de fibra óptica el cual permitió observar los cambios de potencia óptica de salida y de espectro óptico. A su vez en una salida del acoplador está conectado un medidor de potencia óptica de salida (Thorlabs, modelo PM100D, Newton, NJ, EUA)[61], y en la otra salida del acoplador se conecta un analizador de espectros óptico (Anritsu, modelo MS9710A, Kanagawa, Japón)[62].

Con respecto al depósito de nanopartículas de oro (Au-Nps) sobre la fibra óptica taper, primero se programa el controlador del diodo láser a una potencia óptica entre 30 y 38 mW , luego se extrae una gota de Au-Nps ($0.7\mu\text{L}$) de la solución y se aplica cuidadosamente sobre la superficie de la cintura de la TOF colocada en un portamuestras de vidrio. Una vez que la gota se seca completamente, la potencia óptica de salida es 5.5 mW a una longitud de onda de 1536 nm . El arreglo experimental se puede observar en la figura 3.9.

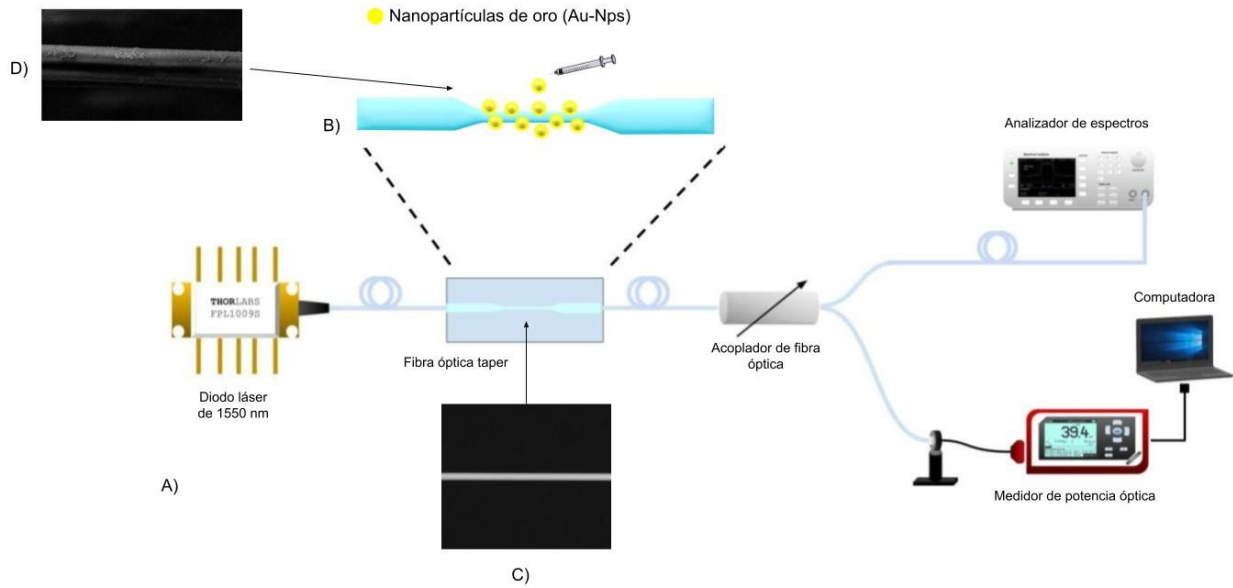


Figura 3.10: A) Arreglo experimental, B) Esquema experimental implementado para el decorado de la fibra óptica taper con Au-NPs, C) Micrografía SEM de la TOF fabricada, D) Micrografía SEM de la TOF decorada con Au-NPs

3.3.1. Interacción de nanopartículas de oro y campo evanescente

El método de detección que emplea el sensor de fibra óptica taper es el de campo evanescente, el cual emerge de la cintura de esta, donde al depositar las nanopartículas de oro (Au-Nps) en dicha zona, el campo evanescente interactúa con estas y en consecuencia se crean los plasmones de superficie localizados.

Por otro lado, como se observa en el esquema de la figura 3.11, se nota el campo eléctrico generado por el láser, así como el campo evanescente emergiendo de la zona más delgada de la fibra óptica taper, la cual está denotada como (E_{lef}) . El campo eléctrico cercano a las nanopartículas de oro (Au-Nps) (E_{Nef}) es denotado en amarillo, el cual surge al interactuar el campo evanescente con las nanopartículas que, en consecuencia, se crean los llamados plasmones de superficie localizados. Ahora, si hay interacción constructiva entre ambas, se produce un campo eléctrico amplificado (E_{Amp}) . Además, al producirse este campo amplificado, el sensor de fibra óptica taper mejora su sensibilidad y aumenta su profundidad de penetración (d_p) que en consecuencia, hace que el sistema sea capaz de detectar concentraciones más pequeñas de hormona hCG.

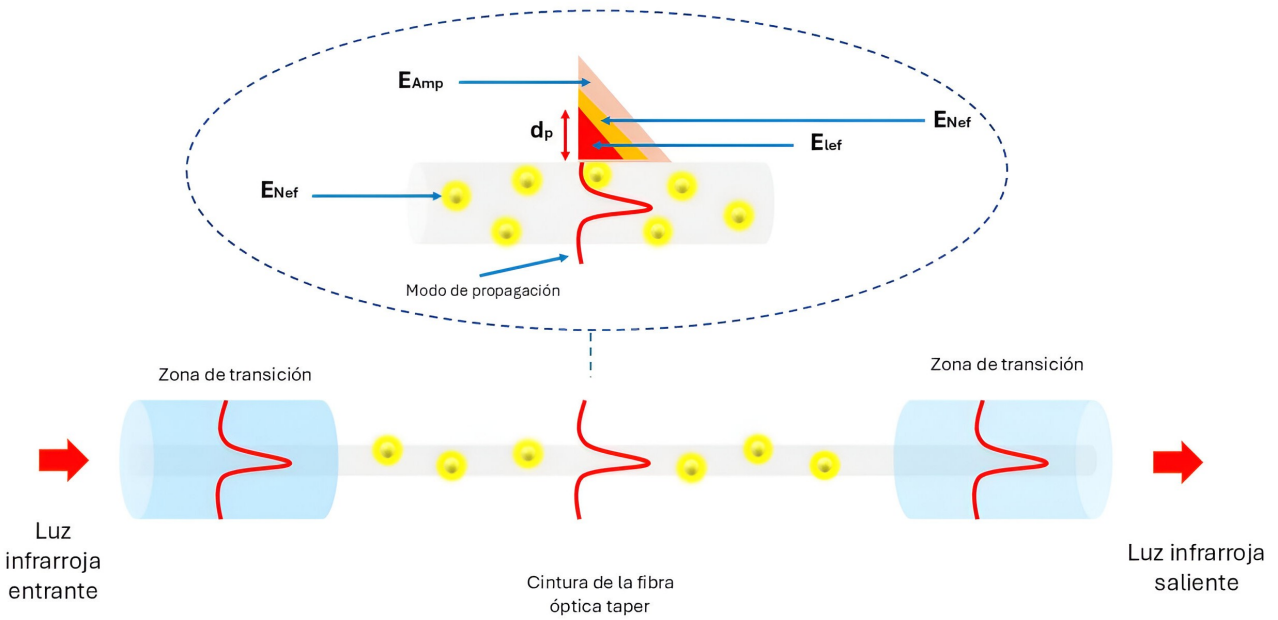


Figura 3.11: Esquema del campo evanescente amplificado (E_{Amp}) alrededor de la cintura de la fibra óptica taper generado por el láser y el campo eléctrico generado cercano derivado por los plasmones de superficie localizados (E_{Nef}), la profundidad de penetración del campo evanescente (d_p) y el campo evanescente emergiendo de la fibra óptica taper (E_{lef})

3.4. Preparación y caracterización del analíto (hormona hCG)

3.4.1. Preparación de la hormona hCG

Antes de la caracterización de la hormona hCG, primero se menciona la hormona empleada en los experimentos la cual fue la hormona *Human Chorionic Gonadotropin* (hCG) en presentación en polvo liofilizado, sin color, C1063, con dial de 2500 IU de la marca Sigma-Aldrich, la cual debe mantenerse a una temperatura de -20° para su conservación[56].

La preparación de las concentraciones de hCG empleando la técnica de diluciones seriadas, se dispone a preparar seis concentraciones de hCG (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL) diluidas en agua y para el caso de la orina se preparan (1,10,50,100,150 y 180 mIU/mL), ya que se quiere validar con una prueba de embarazo digital que las concentraciones preparadas corresponden a las semanas de embarazo respectivas[70].

Preparación de la solución madre

Para la preparación de las seis concentraciones de hormona hCG, la cual consiste en que a partir de una solución madre se diluye en agua tridestilada como en orina con el fin de ir preparando las demás concentraciones de hormona hCG en un factor de 1/10.

Para calcular las concentraciones, se emplea la siguiente fórmula de diluciones, la cual está dada por:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

donde C_1 es la concentración inicial, V_1 es el volumen inicial, C_2 es la concentración final, V_2 es el volumen final.

A partir de los cálculos llevados a cabo, se tiene que 1 mIU/mL de hCG es equivalente a 1 IU/L, lo que es igual a 0.0001 gramos o 0.1 mg de hormona hCG, entonces para preparar 100000 mIU/mL de hormona hCG se necesitan 10 mL de agua tridestilada, por lo tanto, la solución madre estará compuesta de la siguiente forma: 0.1 mg de hormona hCG diluida en 10 mL de agua tridestilada.

Partiendo de la solución madre descrita previamente, la preparación de las concentraciones de hormona hCG (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL) correspondientes estará dada por el factor de dilución el cual consiste en un orden en el que se va diluyendo la solución madre para preparar las otras concentraciones de hormona hCG, lo que significa que un factor más grande de dilución, corresponde a una concentración de hormona hCG más pequeña mientras que un factor más pequeño corresponde a la concentración más grande de hormona. Asimismo, se varían las concentraciones de agua tridestilada para cada factor de la solución madre hasta preparar todas las concentraciones de hCG. En la tabla 3.1 se muestra el factor y las cantidades necesarias para preparar dichas concentraciones de hCG de tal manera que la suma del agua tridestilada con el factor de la solución madre debe de coincidir con los 10 mL calculados previamente.

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.4. PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ANALÍTO (HORMONA HCG)

Finalmente, en la figura 3.12, se muestra cómo deben de quedar los tubos de centrifuga con la solución madre de hormona hCG mezclados con agua tridestilada.

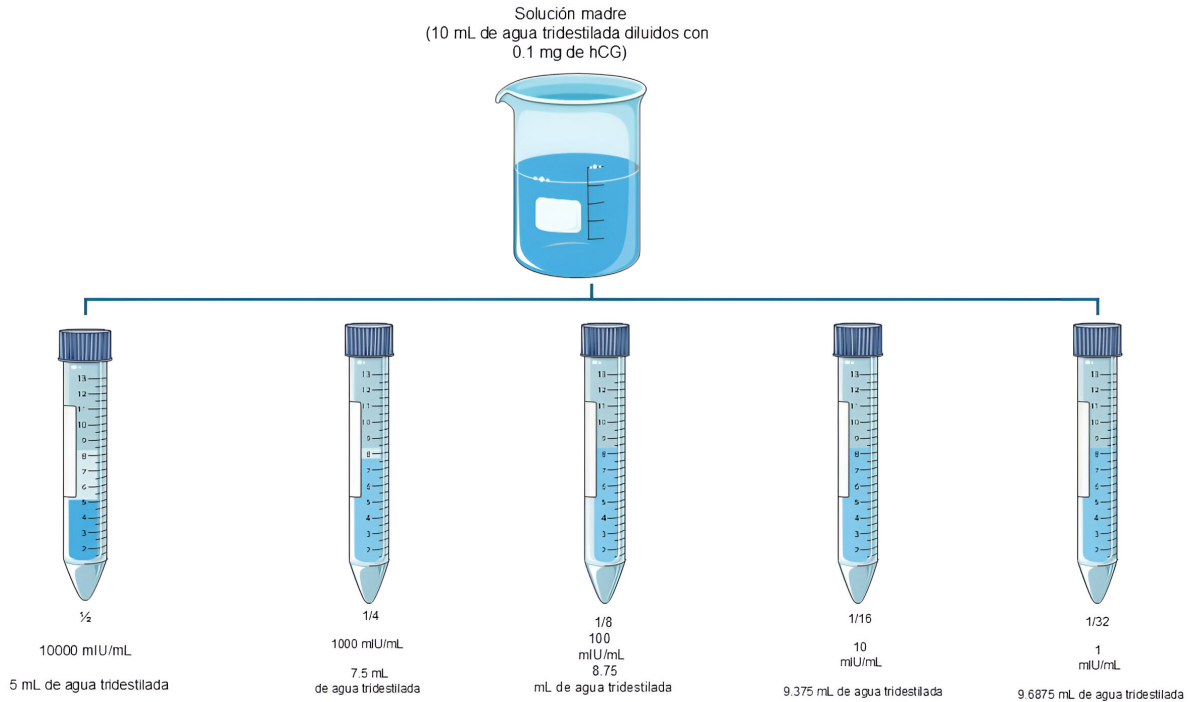


Figura 3.12: Preparación de concentraciones de hormona hCG obtenidas a partir de la técnica de diluciones seriadas.

Factor	solución madre (mL)	Agua tridestilada (mL)	Concentración de hCG obtenida (mIU/mL)
1	10	0	100000
1/2	5	5	10000
1/4	2.5	7.5	1000
1/8	1.25	8.75	100
1/16	0.625	9.375	10
1/32	0.3125	9.6875	1
<i>10 mL debe de dar la suma de la solución madre y la agua tridestilada a diluir</i>			

Tabla 3.1: Tabla de preparaciones de hormona hCG

Con los cálculos llevados a cabo, se siguen los siguientes pasos de preparación de la solución madre:

1. Se toman 50 mL de agua tridestilada con un vaso precipitado y se dejan 10 mL para la solución madre y 40 mL para ir preparando los tubos centrifuga para cada concentración.

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.4. PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ANALÍTO (HORMONA HCG)

2. Se pesa la hormona hCG en una balanza analítica digital con modelo VELAB VE-210, la cual debe marcar un peso de aproximadamente 0.0001 g.
3. Los 0.1 mg de hormona se depositan en un vaso precipitado con aproximadamente 10 mL de agua tridestilada (la cual será la solución madre), donde finalmente se coloca en una tina de ultrasonido y se procede a agitarse a una potencia de 35W por 3 minutos, a fin de que se mezcle adecuadamente.
4. Siguiendo el factor de dilución de la tabla 3.1, se reduce la solución madre en ese factor y se mezcla con la cantidad de agua tridestilada señalada ahí, a fin de preparar cada una de las concentraciones de hormona hCG.
5. Se colocan los tubos de centrifuga con las concentraciones ya preparadas en la tina ultrasonido a una potencia de 35W por 3 minutos, con el fin de que se homogeneice las soluciones.
6. Más tarde, con el objetivo de validar las concentraciones de hormona hCG empleando una prueba de embarazo comercial, se toman cada una de las concentraciones preparadas de hCG y se depositan en la punta de prueba de embarazo (membrana), en el cual se esperan alrededor de 3 minutos que el circuito electrónico de la misma detecte la concentración de hormona hCG.
7. Se validan los rangos de concentración de hormona hCG con respecto a las diferentes semanas de embarazo mostradas en la gráfica 3.10.

En la figura 3.13, se muestra la secuencia de preparación de las concentraciones de hCG en forma esquemática:

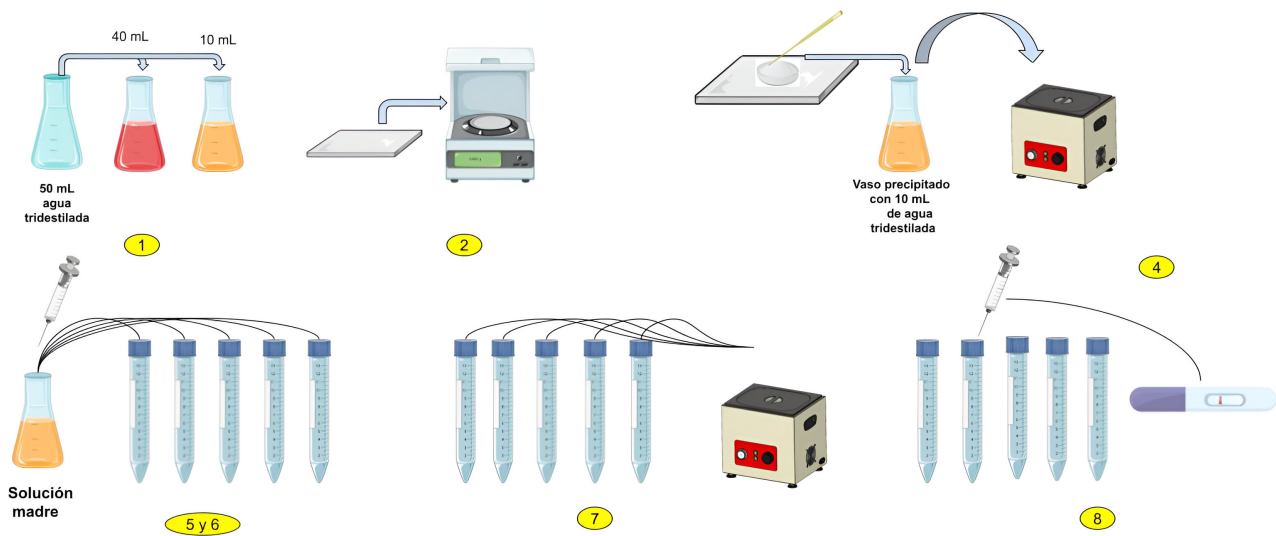
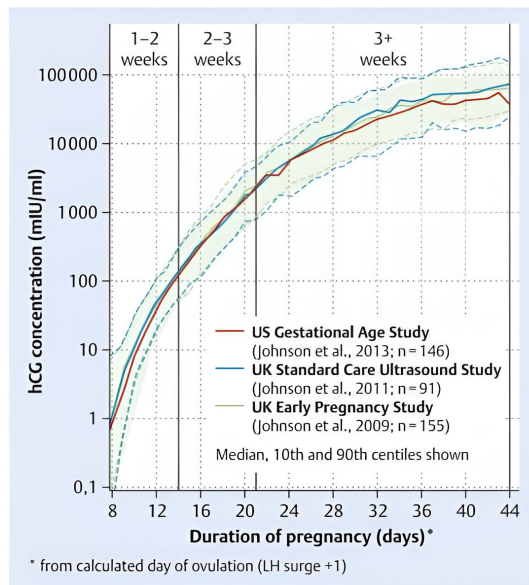


Figura 3.13: Esquema de secuencia de preparación de diluciones de hormona hCG

Finalmente, se verifica en la figura 3.14, lo mostrado en las lecturas de la prueba con la gráfica de niveles de embarazo proporcionada por el fabricante de las pruebas de embarazo digitales clearblue [70].



A)



B)

Figura 3.14: A) Lecturas mostradas de cada nivel disponible de embarazo en una prueba comercial digital, B) Gráfica de niveles de hormona hCG versus las primeras tres semanas de embarazo[70]

3.4.2. Caracterización del analíto (hormona hCG)

Para verificar la presencia de la hormona hCG en las muestras preparadas previamente, se realizó Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) en un rango entre 4000 a 500 cm^{-1} , la cual es una técnica que emplea luz infrarroja para detectar diferentes elementos químicos y espectroscopia de fluorescencia empleando un espectrómetro de modo de reflexión total atenuada (ATR) (Bruker Vertex 70, Ettlingen, DEU).

Muestra el espectro característico de las muestras, revelando la presencia de bandas relacionadas con grupos funcionales, como $\text{C}=\text{O}$ (1630 cm^{-1}), asociado a proteínas y lípidos, característico de los componentes de la hormona hCG. Además, se identificó una banda de alrededor de 2348 cm^{-1} correspondiente al enlace $\text{O}=\text{C}=\text{O}$, junto con bandas ligadas a grupos CH_2 y CH_3 a aproximadamente 2850 y 2910 cm^{-1} , respectivamente, lo que indica la presencia de lípidos. Además, se detectó una banda intensa alrededor de 3362 cm^{-1} (figura 3.15 A)), correspondiente a una combinación de enlaces OH y NH relacionados con aminoácidos. Todos los enlaces identificados corresponden a los componentes principales de la hormona hCG[57]. Además, se realizó un análisis mediante espectroscopia de fluorescencia en un rango de longitud de onda de 350 a 1050 nm con un espectrofotómetro (Ocean Optics) equipado con una lámpara de excitación de 365 nm . Para este análisis, se emplearon $500\mu\text{L}$ de la solución de hCG. En el espectro de fluorescencia (Figura 3.15 B)), se observó una banda distintiva de alrededor de 543 nm , lo que indica la presencia de la hormona hCG en las soluciones analizadas.

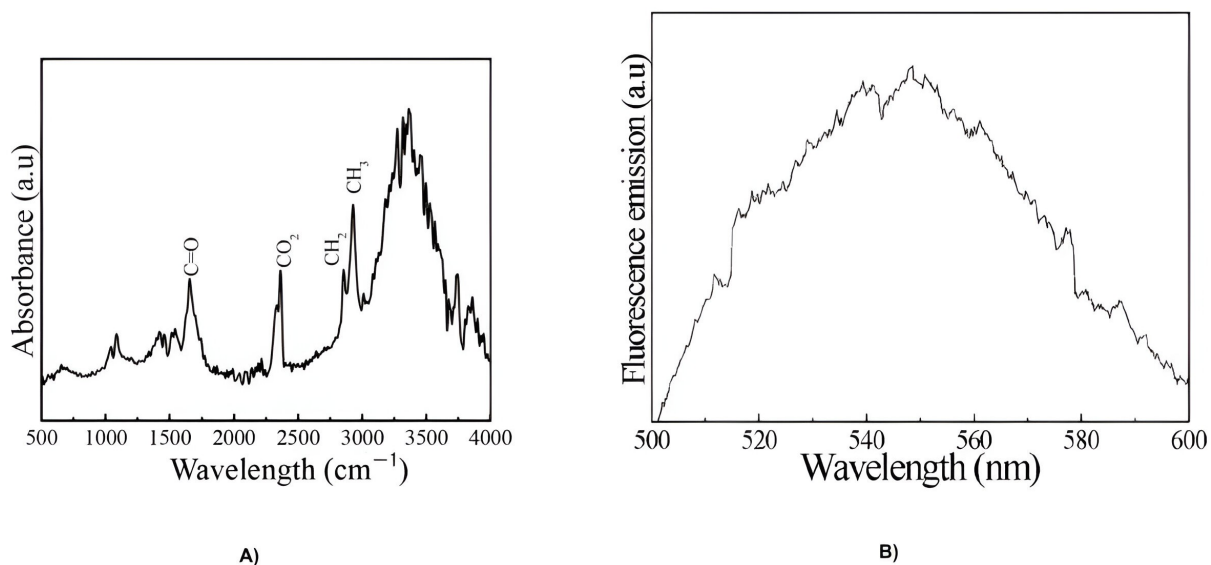


Figura 3.15: A) Espectro de FTIR característico de la hormona hCG, B) Espectro característico de fluorescencia de la hormona hCG

3.4.3. Caracterización de la hormona hCG para la detección de diferentes tipos de cáncer

Para la caracterización de las concentraciones clínicamente relevantes a diferentes tipos de cáncer, primero se prepararon las siguientes concentraciones de hormona hCG (50, 150 y 180 mIU/mL) diluidas tanto en agua como en orina. La referencia para la caracterización a dichas concentraciones de hormona hCG es la realizada en la subsección 3.4.2, cuyo espectro de FTIR se muestra en la figura 3.15 A).

En la figura 3.16 A) muestra los espectros característicos de la hormona hCG en los diferentes solventes utilizados, de manera representativa a una concentración de 150 mIU/mL; así mismo presenta el espectro de la hormona hCG liofilizada tomada como referencia. Cabe mencionar que se realizó la caracterización de todas las soluciones de hCG diluida en agua tridestilada y orina, observándose un comportamiento similar en todos los espectros FTIR. El espectro de la hormona hCG diluida en agua tridestilada (Figura 3.16 B)) mostró señales en 3362 cm^{-1} , 2910 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} , asociadas a grupos funcionales correspondientes a proteínas y lípidos; estas señales fueron observadas en todas las soluciones de la hormona hCG [63].

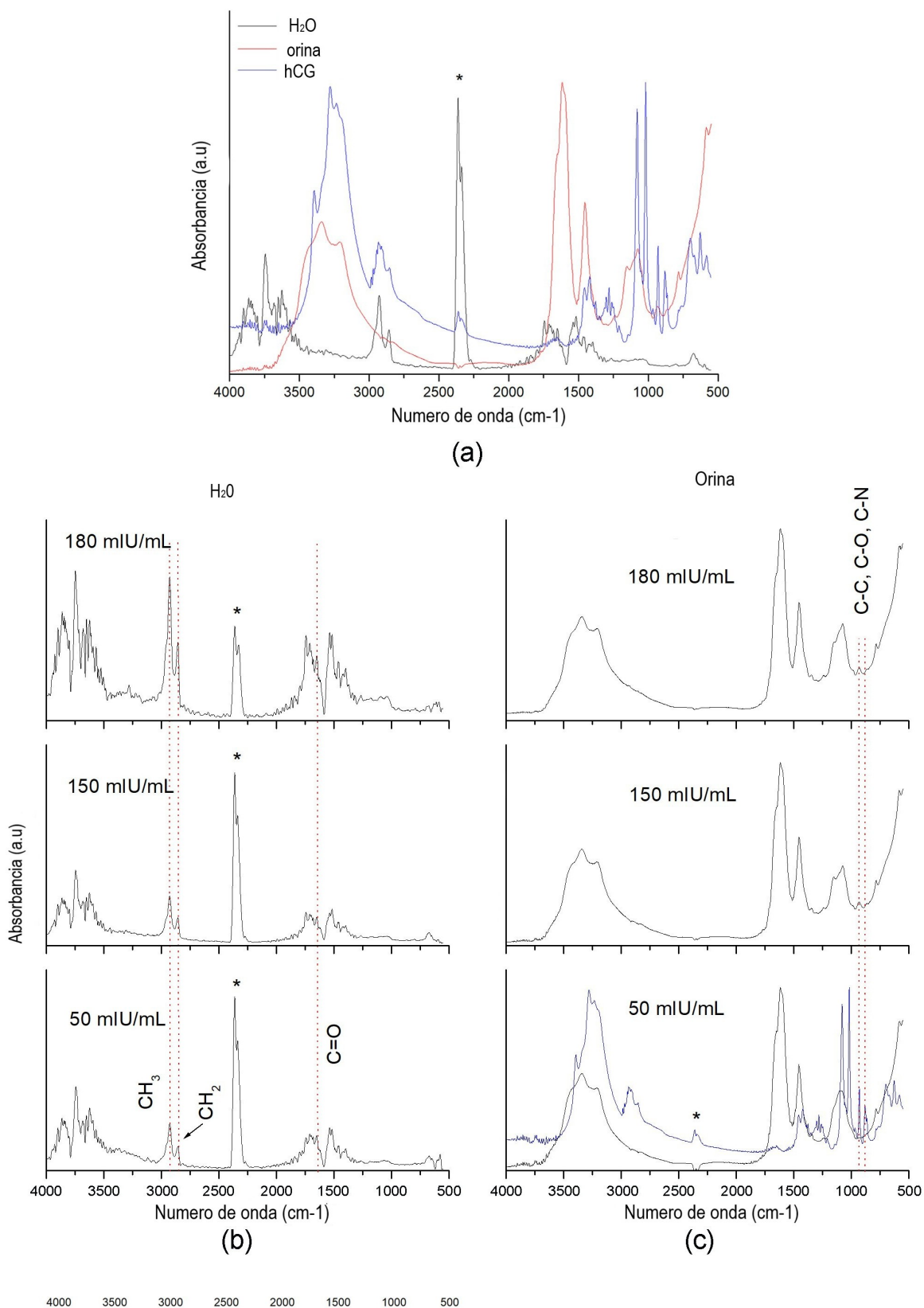


Figura 3.16: Espectro característico de fluorescencia de la hormona hCG

El análisis FTIR permitió identificar señales espectrales características en las muestras de hormona hCG diluida en orina (figura 3.16 C)), localizadas en 3341.09 cm^{-1} , 1617.42 cm^{-1} , 1454.34 cm^{-1} , 1096.74 cm^{-1} y 788.13 cm^{-1} , las cuales corresponden a grupos funcionales N-H y C-H de la urea y el ácido úrico[64]. En todas las soluciones analizadas la señal predominante fue la de la urea, ya que es el principal componente de la orina. Además, se detectaron señales asociadas al grupo C-N del ácido úrico en 1340.99 cm^{-1} y 1243 cm^{-1} . Se observó que el espectro de la hormona hCG liofilizada mostró señales características de los grupos C-C, C-O y C-N en 929.93 cm^{-1} y 864.12 cm^{-1} , asignadas a proteínas y carbohidratos las cuales fueron observadas en todas las soluciones de hCG diluida en orina, incluso en las de concentraciones bajas que son de interés en este trabajo: 50 mIU/mL, 150 mIU/mL y 180 mIU/mL.

3.4.4. Deposito de la hormona hCG sobre la fibra óptica taper decorada con Au-Nps

Con la caracterización de la hormona hCG diluida tanto en agua como en orina ya realizada, se deposita las siguientes concentraciones de hormona sobre la hCG en la fibra óptica taper decorada en con nanopartículas de oro (Au-Nps), en el cual la potencia óptica de salida se debe encontrar entre 5 y 5.5 mW previo al depósito de hormona. En la figura 3.17, se muestra la configuración experimental en relación al deposito de hormona hCG sobre la fibra óptica taper cubierta con nanopartículas de oro (Au-Nps).

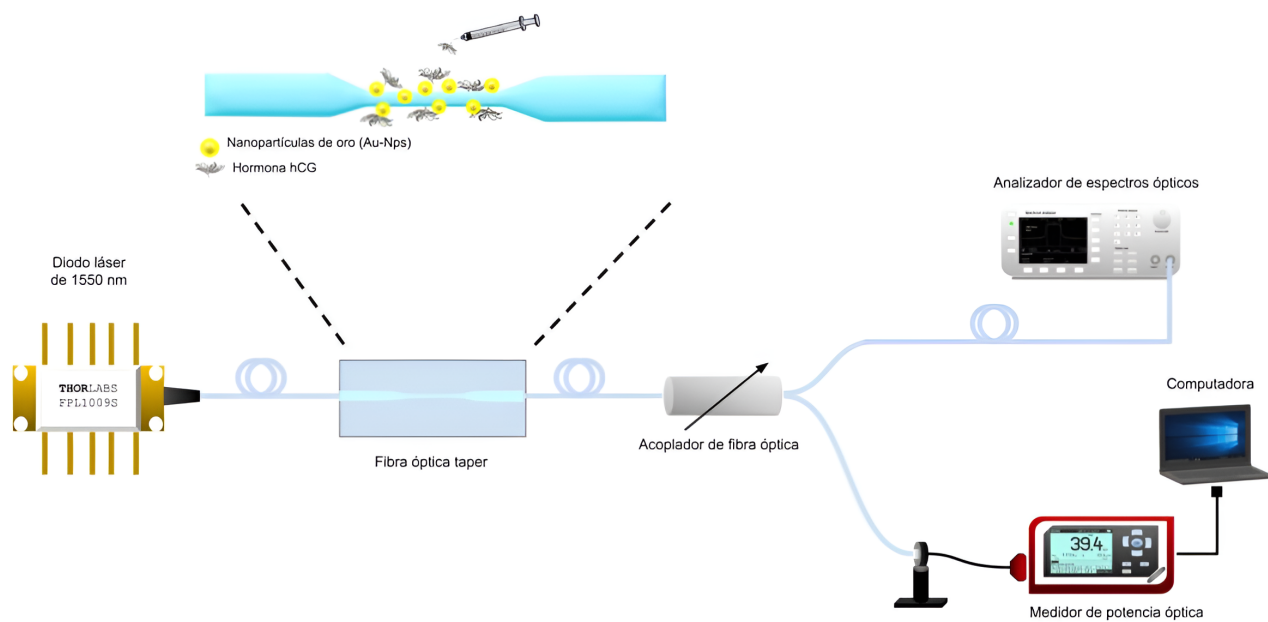


Figura 3.17: Configuración experimental de deposito de diferentes concentraciones de hCG sobre la fibra óptica taper funcionalizada con nanopartículas de oro

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.4. PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ANALÍTO (HORMONA HCG)

Con respecto al espectro óptico, la longitud de onda central antes del depósito de nanopartículas de oro se encontraba en 1549 nm, donde al depositar posteriormente las nanopartículas de oro, la longitud de onda central se estableció en 1538 nm con un desplazamiento de longitud de onda central de 11 nm.

En la figura 3.18, se muestra la configuración experimental en tiempo real del sensor de fibra óptica al depositar la concentración de 180 mIU/ml de hormona hCG.

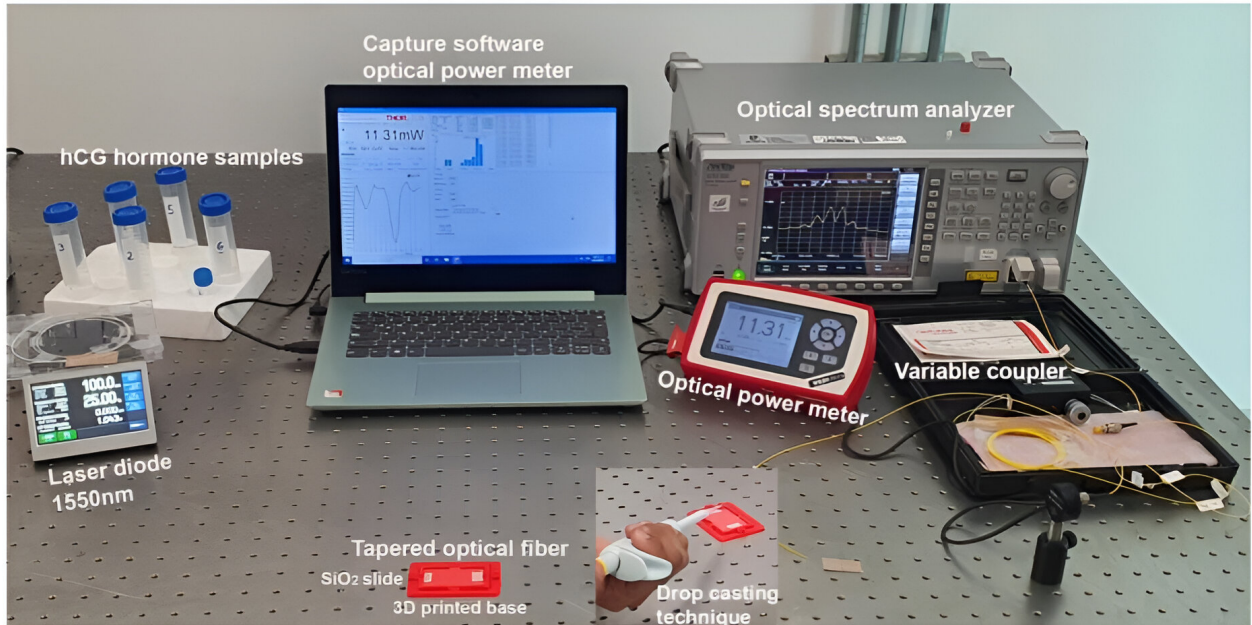


Figura 3.18: Configuración experimental del sensor de fibra óptica en tiempo real

3.5. Características de rendimiento del biosensor

Los componentes más importantes para el proceso de validación y consolidación de la calidad de los resultados obtenidos por el sensor al medir diferentes elementos biológicos son las figuras de mérito[65].

Una figura de mérito es una cantidad usada para caracterizar el rendimiento y desempeño de un dispositivo, sistema o método, que, en el caso de este trabajo, se determinara el rendimiento y desempeño del sensor de fibra óptica taper al medir la hormona hCG diluida tanto en agua como en orina en diferentes concentraciones[65].

El rendimiento y desempeño del biosensor fueron evaluados a partir de los resultados de la caracterización espectral, calculando los valores de las figuras de mérito más importantes. Los parámetros analizados incluyen la repetibilidad (σ), la sensibilidad (S), el límite de detección (LoD) y el rango dinámico (DR).

1. La *Repetibilidad* (R) del biosensor indica su capacidad para generar respuestas consistentes en mediciones sucesivas utilizando el mismo biosensor y analito bajo condiciones de prueba idénticas. La evaluación de este parámetro se basa en el análisis estadístico de la dispersión de los resultados, representado mediante la desviación estándar[66]. Para observar el grado de repetibilidad en cada una de las concentraciones de hormona hCG, se calcula la desviación estándar por:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (3.1)$$

donde n es el número de muestras, \bar{x} es el promedio de las muestras y x_i es el número de muestra.

2. La *Sensibilidad* (S) es una de las figuras de mérito más importantes debido a que implica la cantidad de analito que puede ser encontrada en el menor número de pasos con un mínimo de concentración de analito en la muestra a analizar. Además, la sensibilidad es la respuesta obtenida por el sensor a un estímulo o influencia externa, sin embargo, en términos generales, la definición más común es la relación del cambio en la señal de respuesta por unidad de cambio en la concentración del analito[67]. La sensibilidad del biosensor se calcula a través de:

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta_{[Analito]}} \quad (3.2)$$

donde $\Delta_{[Analito]}$ es la variación de la concentración de hormona hCG y $\Delta\lambda$ es la variación de la longitud de onda para la concentración de hormona hCG en agua y en orina.

3. El *Límite de detección del biosensor (LoD)*, es la concentración más pequeña que se puede medir con un cierto nivel de confianza, el cual no está relacionada con el ruido[68]. además, es único para cada método analítico. Se calcula por la siguiente:

$$LoD = \frac{3,3\sigma}{S} \quad (3.3)$$

siendo S la sensibilidad y σ la desviación estándar, los cuales se han calculado previamente.

4. *Limite de cuantificación(LoQ)* determina la concentración de analíto más baja que puede ser cuantificada con un grado aceptable de certidumbre[68]:

$$LoQ = \frac{10\sigma}{S} \quad (3.4)$$

siendo S la sensibilidad y σ la desviación estándar, los cuales se han calculado previamente.

5. En el caso del *Rango dinámico (RD)*, determina el rango en el cual el analíto puede ser cuantificado. El limite de parada es generosamente el limite mas bajo.El limite superior (L_{sup}) es tomado como la concentración en el cual la pendiente de la curva de calibración se desvía por una cantidad especifica ,usualmente el 5 %, este valor es tomado como el limite superior .En el caso de RD, determina el rango en el cual el analito puede ser cuantificado[69].

$$RD = (L_{sup} + 5L_{sup}) - LOD \quad (3.5)$$

Capítulo 4

Resultados

En este capítulo se presentan los análisis de las respuestas tanto potencia óptica de salida como espectral a partir de los resultados obtenidos tanto al depositar hormona hCG en diferentes concentraciones diluidas tanto en agua como en orina sobre el biosensor propuesto. Primero se presenta la tendencia de las respuestas de potencia óptica de salida como la espectral al depositar las concentraciones de hormona hCG diluidas en agua tridestilada (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL) cinco veces cada una sobre la fibra. Posteriormente, se realiza la caracterización de repetibilidad en función a dichas concentraciones de hormona hCG. Luego, se obtienen las respuestas tanto espectrales como de potencia óptica de salida al detectar las concentraciones de hormona hCG clínicamente relevantes para la detección temprana de diferentes tipos de cáncer diluidas en orina (1,10,50,100,150 y 180 mIU/mL) , cinco veces cada una sobre la fibra. Así mismo, se lleva a cabo la caracterización de repetibilidad de tales concentraciones de hormona hCG. Finalmente, se calculan las figuras de mérito a partir de las respuestas obtenidas por el sensor de tanto potencia óptica de salida como espectral.

4.1. Caracterización y detección del analíto

Una vez llevado a cabo el decorado del transductor (fibra óptica taper) con nanopartículas de oro (Au-Nps), se caracteriza el comportamiento de potencia óptica de salida como lo señala el trabajo de Villegas-Cantorán, D.S [71], la potencia óptica de entrada ideal debe encontrarse entre 30 y 38 mW y una potencia óptica de salida entre 5 y 5.5 mW debido a que es necesario que el campo evanescente se propague con mayor fuerza a través del transductor decorado con nanopartículas y sea suficiente para atraer la hormona hCG a la superficie de la fibra óptica taper. Luego, con los parámetros establecidos se deposita la hormona hCG sobre la cintura de la fibra óptica taper y se espera hasta que se evapore completamente.

En la figura 4.1 se muestra la respuesta de potencia óptica de salida a un depósito de hormona hCG diluida en agua tridestilada, en el cual se explica paso a paso la interpretación de esta.

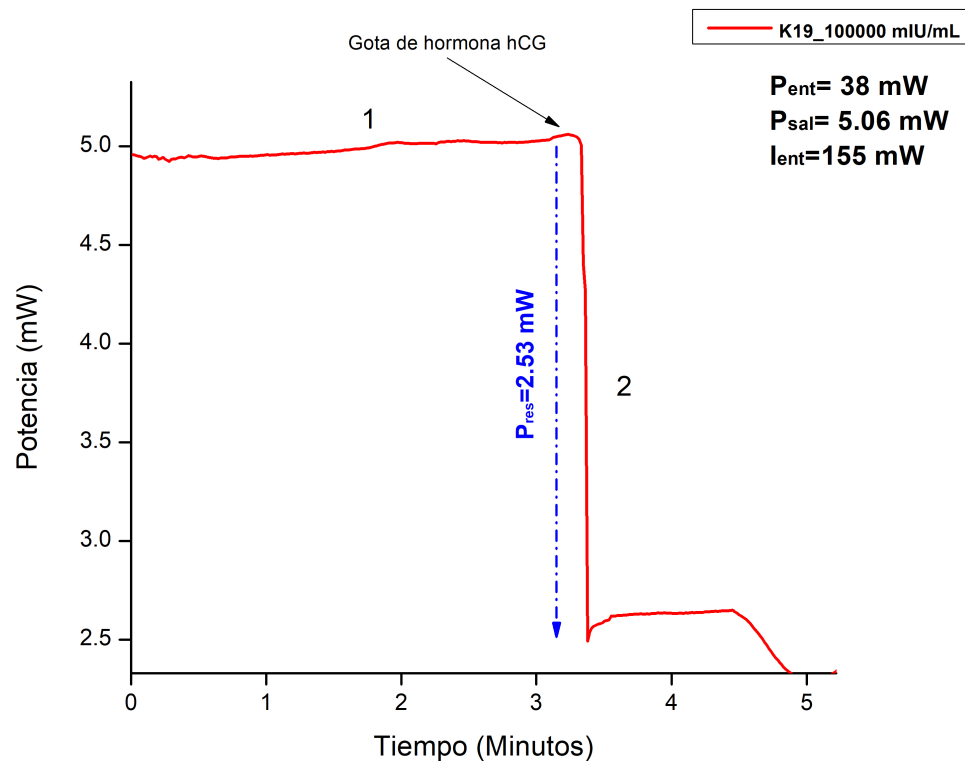


Figura 4.1: Comportamiento de la respuesta potencia óptica de salida la depositar sobre la fibra óptica taper decorada con nanopartículas de oro la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada correspondiente a 100000 mIU/mL

Como se observa en la figura 4.1, se tiene el comportamiento de la respuesta de potencia óptica de salida, donde en el paso 1, se establece una referencia de potencia óptica de salida en el cual se encuentra 5.02 mW. Luego, en el paso 2 se observa una reducción de la potencia óptica de salida, debido a que en el momento de interactuar la gota de hormona hCG con el campo evanescente amplificado por las nanopartículas de oro (Au-Nps), se da una inmediata respuesta de potencia óptica de salida (como escalón).

4.1.1. Detección de hormona hCG (1-100000 mIU/mL) diluida en agua tridestilada

Estableciendo la respuesta de potencia óptica de salida (paso 2), se depositan las concentraciones de hormona hCG diluida en agua (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL) sobre la cintura de la fibra óptica taper.

A continuación, en la figura 4.2 se presenta las respuestas de potencia óptica de salida final a dichas concentraciones de hormona hCG:

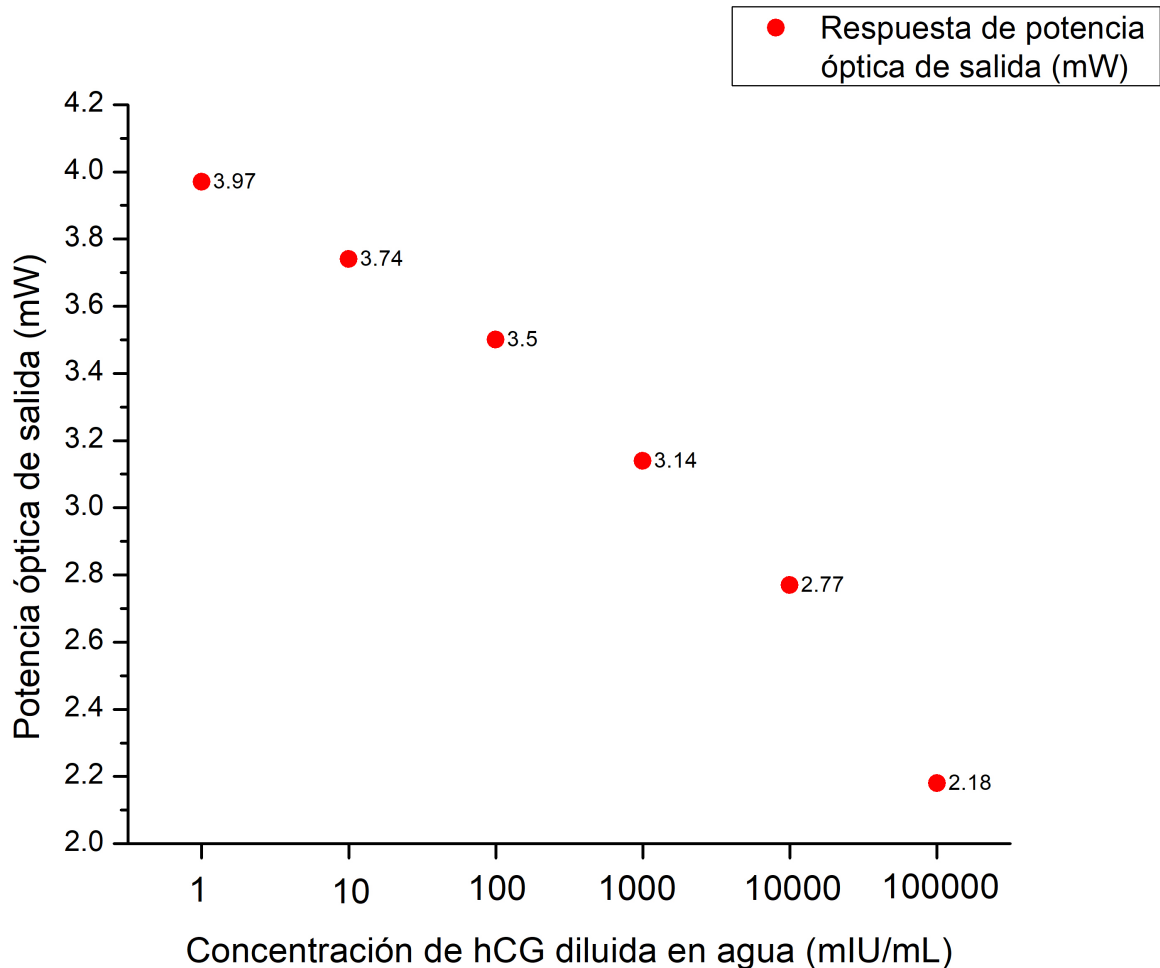


Figura 4.2: Respuestas de potencia óptica de salida al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG (1-100000 mIU/mL) sobre la fibra óptica taper

Como se observa en la figura 4.2, si la concentración de hormona hCG aumenta, la potencia óptica de salida disminuye mientras que si la concentración de hormona hCG disminuye, la respuesta óptica de salida incrementa, debido a que cuando hay altas concentraciones de hormona hCG, el campo evanescente absorbe con más fuerza la hormona hCG y en consecuencia la respuesta óptica de salida se reduce considerablemente y viceversa.

4.1.2. Respuesta espectral al depositar hormona hCG diluida en agua (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL)

Otra de las caracterizaciones realizadas al sensor de fibra óptica taper, la cual permite conocer la distribución de la potencia óptica de la señal en función de la frecuencia y de la longitud de onda central. A continuación, se muestran los corrimientos espectrales pertenecientes de cada una de las concentraciones de hormona hCG diluida en agua tridestilada (1,10,100,1000,10000 y 100000 mIU/mL), donde previamente al depósito de hormona hCG, la longitud de onda central con la fibra óptica taper decorada con nanopartículas de oro se encuentra en 1538 nm. En la figura 4.3 se muestran el corrimiento espectral entre la primera concentración de hormona hCG (1 mIU/mL) y la concentración más alta de hormona hCG (100000 mIU/mL).

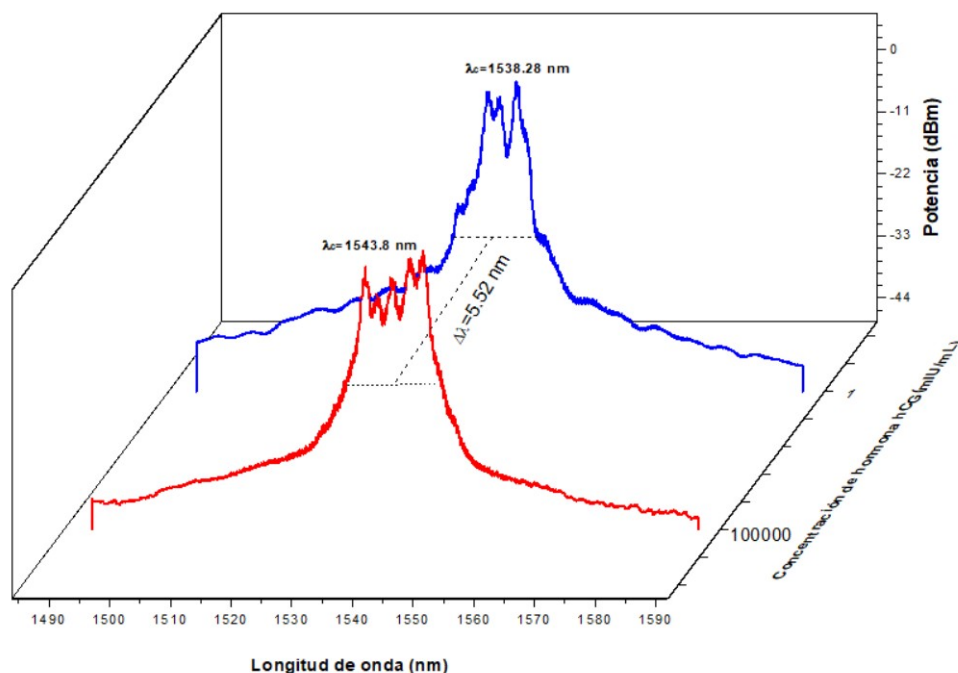


Figura 4.3: Corrimiento espectral perteneciente entre la concentración más alta de hormona hCG y la más baja

En la figura 4.3, se tienen los desplazamientos espectrales relativos entre la concentración de hormona hCG más baja, con una longitud de onda central para 1 mIU/mL la $\lambda_c = 1538.28$ nm y la más alta para 100000 mIU/mL $\lambda_c = 1543.8$ nm, donde se observa un corrimiento espectral entre la primera concentración de hormona hCG (1 mIU/mL) y la última de (100000 mIU/mL) de $\Delta\lambda_{total} = 5.52$ nm. El corrimiento espectral se debe a que tiene el mismo comportamiento que la respuesta en potencia óptica a medida que la concentración de la hormona hCG aumenta. La interacción entre la hormona y el campo amplificado se intensifica con concentraciones más altas de hormona hCG, lo que provoca una mayor absorción de energía en el sistema. Como resultado, la potencia óptica de salida disminuye y se observa un corrimiento espectral hacia longitudes de onda mayores, correspondientes a menores energías.

4.2. Análisis de repetibilidad para el caso de agua trides-tilada

4.2.1. Repetibilidad para los valores de respuesta de potencia óptica

A continuación, en la figura 4.4 se presentan los rangos de respuesta brindados por el sensor de fibra óptica taper en función de cada concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada, en particular, de la respuesta de la potencia.

Rangos de detección al medir diferentes	
Concentración de hCG (mIU/mL)	Respuesta de potencia óptica de salida (mW)
	Rango de detección
1	3.89 - 4.06
10	3.66 - 3.88
100	3.49 - 3.54
1000	2.98- 3.14
10000	2.68- 2.96
100000	2.17- 2.5

Figura 4.4: Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en agua tridestilada (1-100000 mIU/mL) depositadas sobre la fibra óptica taper

A partir de los valores de la tabla de la figura 4.4 se analiza la repetibilidad de las muestras, debido a que es importante tener un dispositivo que permita obtener las mismas mediciones al realizar varios experimentos una y otra vez bajo las mismas condiciones al sensor cualquier biológico de interés. Por lo tanto, con el fin de dar mayor certeza a los datos obtenidos al medir diferentes concentraciones de hCG, se calcula la repetibilidad de los resultados a partir de la fórmula de la desviación estándar, la cual está dada de la siguiente forma[31]:

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (4.1)$$

donde:

N=Número de pruebas realizadas

\bar{x} = Promedio de las respuestas obtenidas

x_i = Valor de cada una de las respuestas obtenidas

Por lo tanto, se llevan a cabo los cálculos de correspondientes para obtener el valor de la desviación estándar para cada concentración como se muestran en la tabla 4.1:

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	Coefficiente de variabilidad (%)
1	0.069	1.51
10	0.095	1.70
100	0.02	0.56
1000	0.062	1.94
10000	0.12	3.89
100000	0.163	6.98

Tabla 4.1: Tabla de repetibilidad y variabilidad de los valores de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG (mIU/mL) diluida en agua tridestilada.

Ahora, la repetibilidad de la respuesta óptica de salida se representa en una gráfica de tipo barra como se muestra en la figura 4.5, donde se graficaron un grupo de cinco datos para cada concentración de hormona hCG.

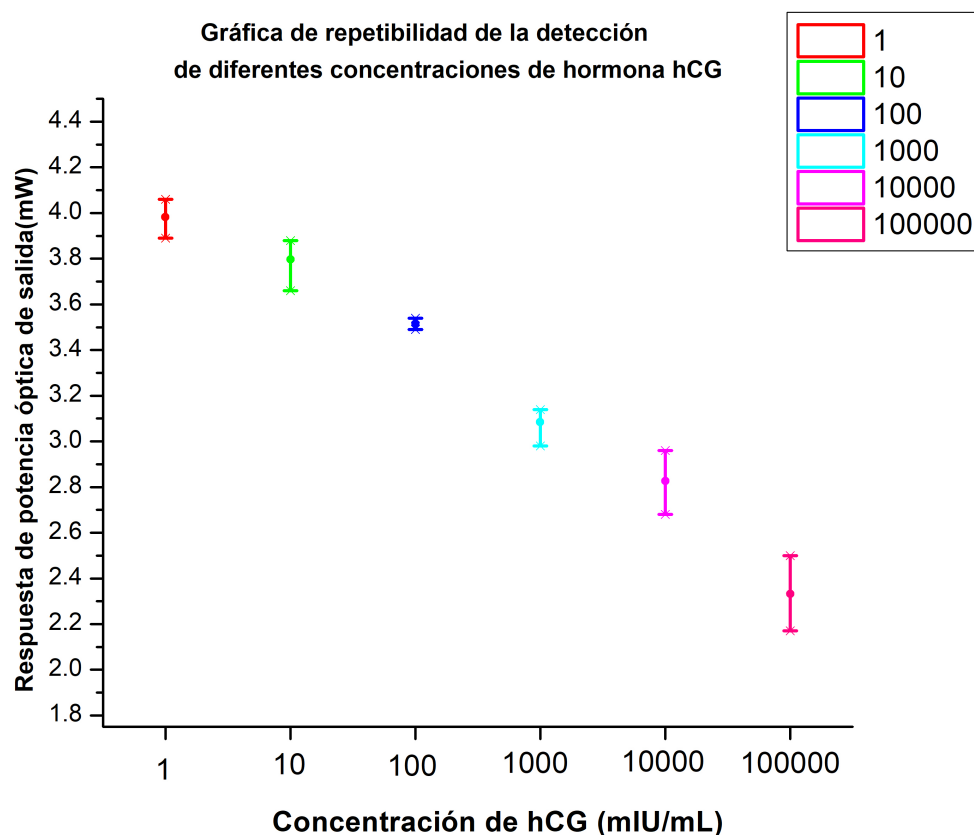


Figura 4.5: Repetibilidad de los valores de la respuesta de potencia óptica en función de diferentes concentraciones de hormona hCG diluida en agua tridestilada

Como se observa en la figura 4.5, las barras más largas representan una repetibilidad más baja, mientras que las barras más cortas simbolizan una alta repetibilidad. Por lo tanto, las concentraciones de 1, 10 y 100 mIU/mL tienen una alta repetibilidad debido a que sus barras de error son más pequeñas que en comparación de las otras concentraciones de hCG. Además, el valor de desviación estándar para 1, 100 y 1000 mIU es 0.02, 0.069 y 0.06, lo que significa que, al ser una desviación estándar pequeña, los datos tienden a ser menos dispersos y a ser más similares entre ellos. Sin embargo, para los casos de 10, 10000 y 100000, los datos muestran una baja repetibilidad, ya que sus barras son más cortas, por lo que sus valores tienden a ser más dispersos, y son más propensos a tener mayor error. Finalmente, se logra observar que las barras de error no se cruzan, lo que significa que los datos correspondientes a cada concentración son totalmente independientes mutuamente.

4.3. Caracterización de la hormona hCG para la detección del cáncer

Con la finalidad de detectar diferentes tipos de cáncer en etapas iniciales se prepararon cinco concentraciones de hormona hCG diluida tanto en agua tridestilada como en orina, las cuales oscilan en el rango de concentraciones clínicamente relevantes (1 a 180 mIU/mL)[72, 83].

Por lo tanto, las concentraciones de hormona hCG evaluadas en esta sección corresponden a 1 mIU/mL, 10 mIU/mL, 50 mIU/mL, 100 mIU/mL, 150 mIU/mL y 180 mIU/mL.

4.3.1. Respuesta de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada

Estableciendo nuevamente el comportamiento de potencia óptica de salida y obteniendo la respuesta de potencia óptica de salida, se repiten 5 veces cada una de las concentraciones de hormona hCG diluida en agua (1, 10, 50, 100, 150 y 180 mIU/mL) sobre la cintura de la fibra óptica taper. A continuación, en la figura 4.6 se presentan las respuestas de potencia óptica de salida a dichas concentraciones:

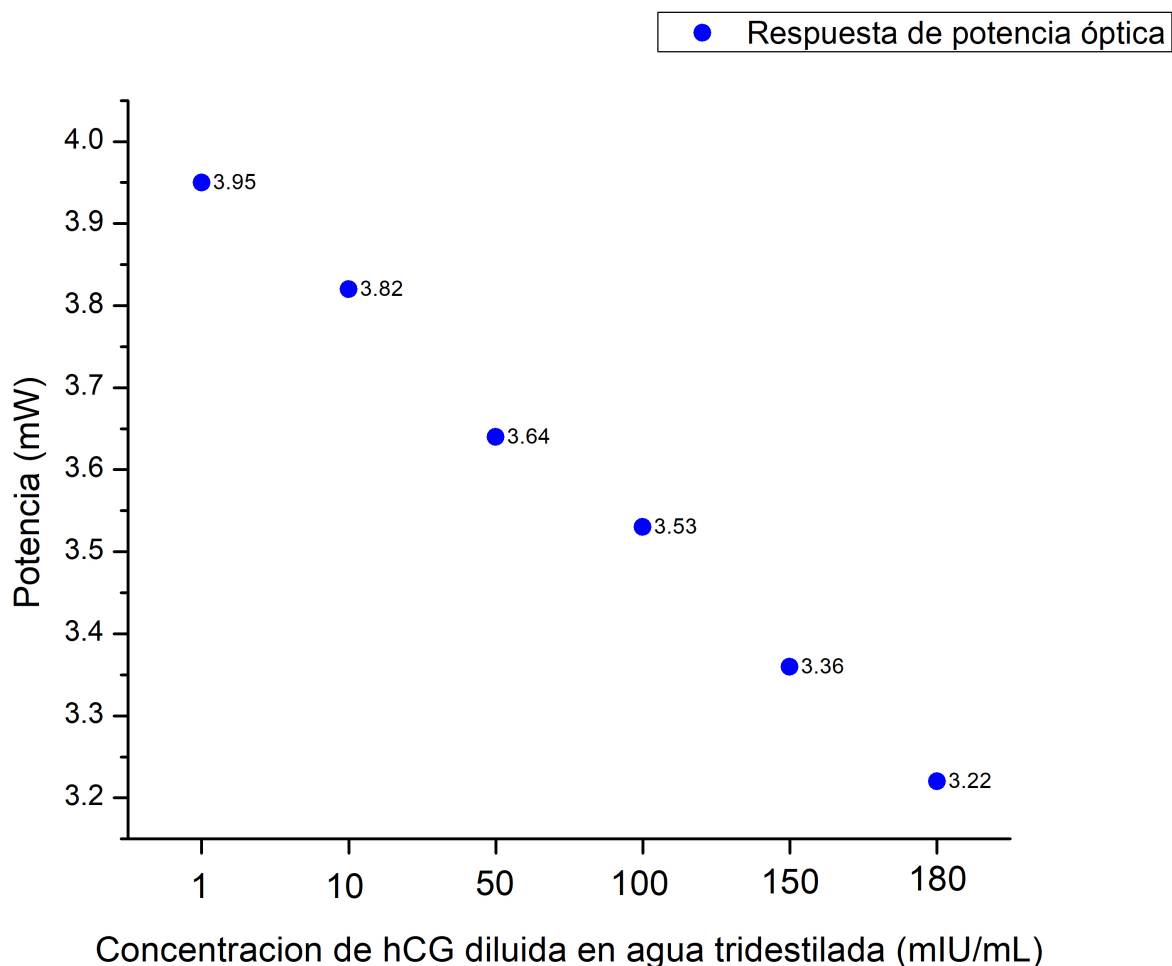


Figura 4.6: Respuestas de potencia óptica de salida al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG (1-180 mIU/mL) sobre el transductor

En la figura 4.6 se observa que la respuesta de potencia óptica del biosensor disminuye conforme aumenta la concentración de hormona hCG. Este comportamiento se asocia a que parte del campo eléctrico amplificado está siendo absorbido por las moléculas alrededor de la cintura de la fibra óptica taper, generando que la potencia óptica de salida sea disminuida. Por lo que al aumentar la concentración de hormona hCG en las soluciones, la absorción del campo amplificado es mayor y se refleja con una menor potencia óptica de salida.

4.3.2. Respuesta espectral en función de la concentración de hormona hCG diluida en agua tridestilada

En la figura 4.7 se presentan las respuestas espectrales al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG clínicamente relevantes a la detección de cáncer a sus primeras etapas (1-180 mIU/mL). Especialmente, se grafican la concentración más alta de hormona hCG y la más baja.

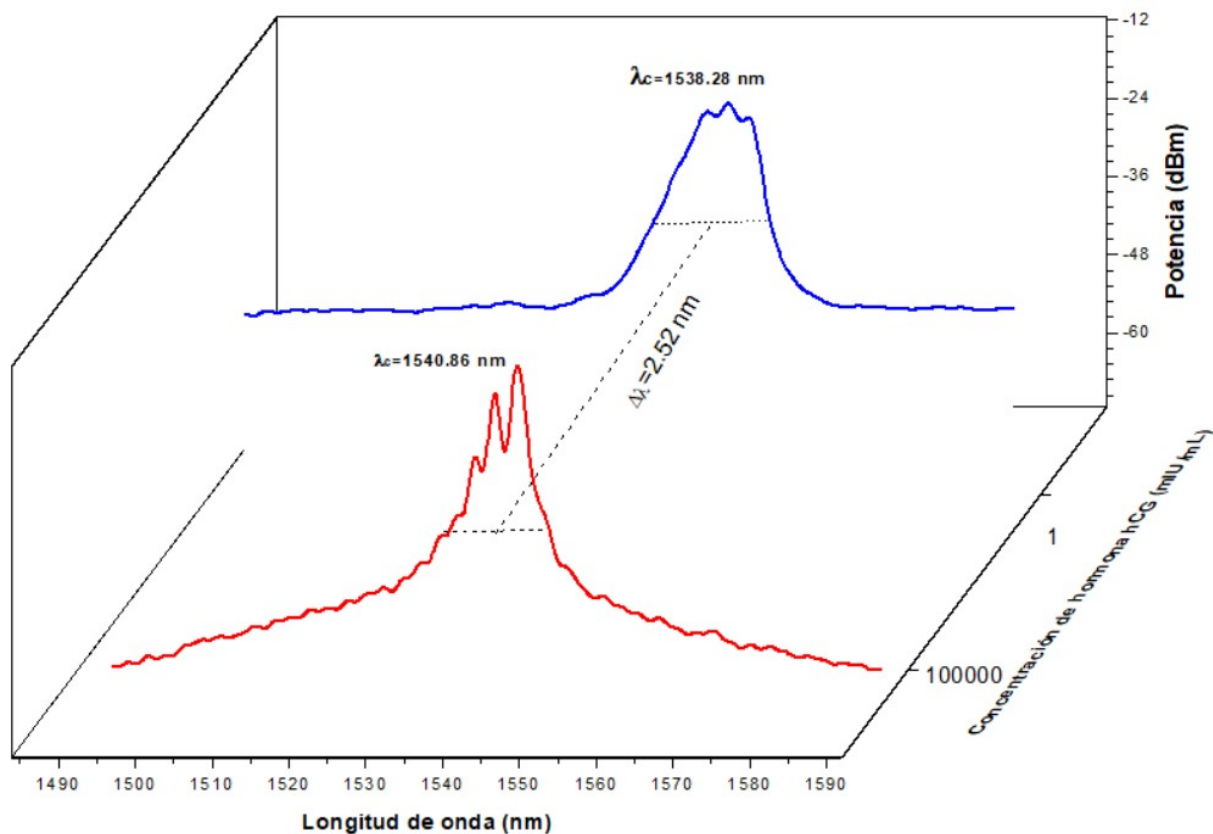


Figura 4.7: Respuestas espectrales al depositar diferentes concentraciones de hormona hCG (1 y 180 mIU/mL) sobre el transductor

Tal como se observa en la figura 4.7, hay dos desplazamientos espectrales en los cuales la longitud de onda central de cada uno de ellos se situó para 1 mIU/mL en $\lambda_c = 1538.30 \text{ nm}$ y para 180 mIU/mL en $\lambda_c = 1540.82 \text{ nm}$ con un desplazamiento de longitud de onda central total de $\Delta\lambda_{total} = 2.52 \text{ nm}$.

4.3.3. Análisis de repetibilidad para hormona hCG diluida en agua

A continuación, en la figura 4.8 se presentan los rangos de respuesta del sensor de fibra óptica taper en función a cada concentración de hormona hCG diluida tanto en agua tridestilada en un rango entre 1 a 180 mIU/mL. En particular, de la respuesta de la potencia óptica y longitud de onda central.

Rangos de detección al medir diferentes concentraciones de hormona hCG diluida en agua tridestilada		
Concentración de hCG (mIU/mL)	Respuesta de potencia óptica de salida (mW)	λ_c (nm)
	Rango de detección	
1	3.89-4.06	1538.28 - 1538.80
10	3.66 - 3.88	1538.98 - 1539.07
50	3.6 - 3.64	1539.14 - 1539.24
100	3.49 - 3.54	1539.25-1540.7
150	3.14-3.37	1540.75-1540.80
180	3.21-3.24	1540.82-1540.86

Figura 4.8: Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en agua tridestilada entre 1 a 180 mIU/mL depositadas sobre la TOF

Ahora, siguiendo la fórmula de desviación estándar, se calculan los valores de repetibilidad para cada concentración y se tiene que:

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	Coefficiente de variabilidad (%)
1	0.06	1.51
10	0.06	1.70
50	0.01	0.41
100	0.02	0.56
150	0.04	1.43
180	0.015	0.43

Tabla 4.2: Tabla de repetibilidad y variabilidad de los valores de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG entre 1 a 180 mIU/mL diluida en agua tridestilada

Representando en una gráfica de barras de error la repetibilidad de las muestras analizadas a partir de los datos mostrados en la tabla 4.2.

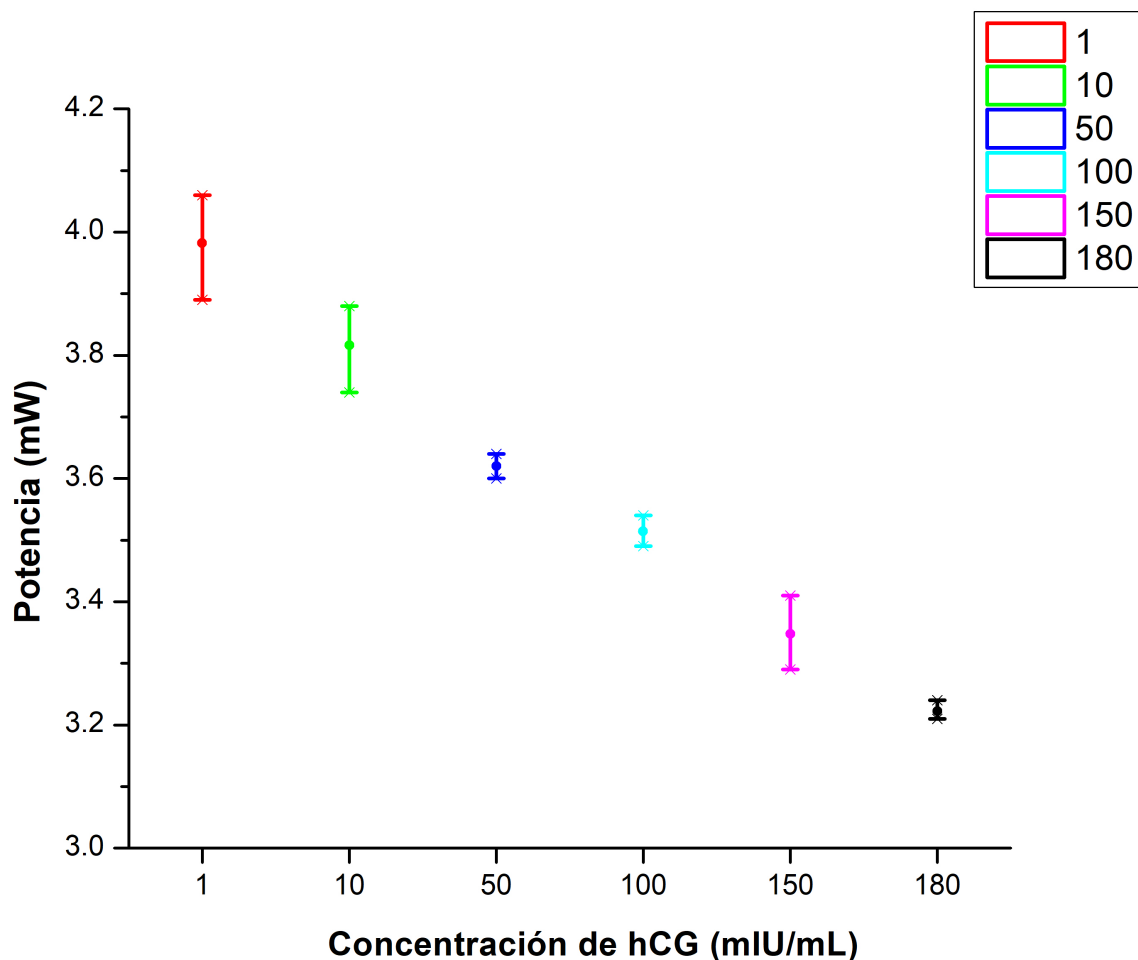


Figura 4.9: Repetibilidad de valores de potencia óptica de salida en función de diferentes concentraciones de hormona hCG de 1 a 180 mIU diluido en agua tridestilada

Como se muestra en la figura 4.9, las barras de error representan la repetibilidad que hay entre los datos obtenidos por el sensor. Lo que se observa en la figura es que los datos de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG a 50, 100 y 180 mIU/mL son los que obtienen una alta repetibilidad debido a que, si la barra de error es más pequeña, entonces los datos entre sí son similares.

Para el caso de la repetibilidad con respecto a la respuesta espectral, se tiene que, siguiendo nuevamente la fórmula de desviación estándar, se calculan los valores de repetibilidad en función de cada concentración de hCG de 1 a 180 mIU/ml diluido en agua tridestilada. Se tiene que:

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA HCG PARA LA DETECCIÓN DEL CÁNCER

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	Coefficiente de variabilidad (%)
1	0.36	0.02
10	0.06	0.001
50	0.07	0.002
100	0.38	0.06
150	0.03	0.001
180	0.02	0.003

Tabla 4.3: Repetibilidad y variabilidad de los valores de corrimiento espectral, en función de diferentes concentraciones de hormona hCG diluido en agua tridestilada

Ahora, con una gráfica de barras de error se representa la repetibilidad a partir de los datos obtenidos por el sensor de fibra óptica taper y se tiene que:

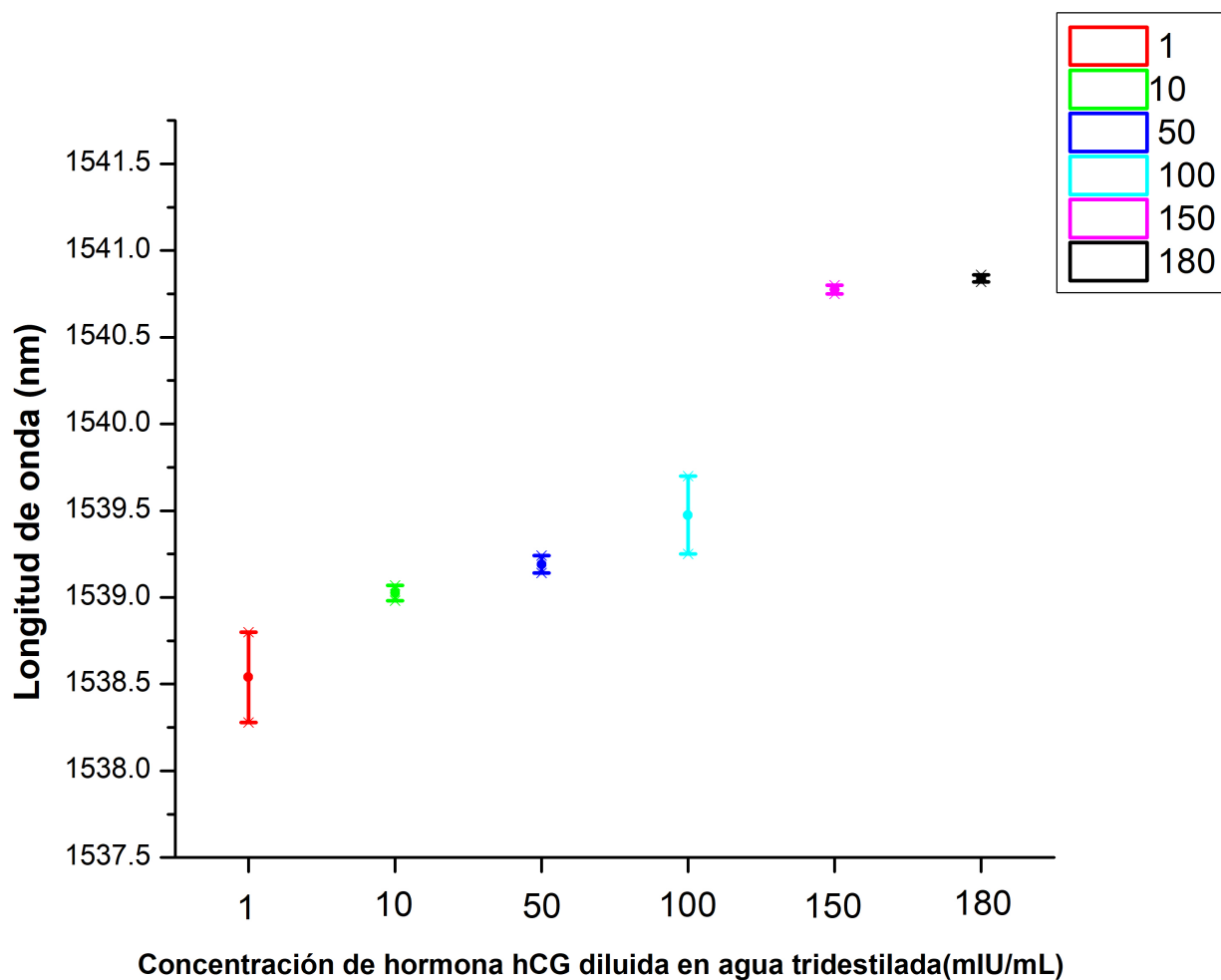


Figura 4.10: Repetibilidad de valores espectrales en función de diferentes concentraciones de hormona hCG de 1 a 180 mIU diluido en agua tridestilada

4.3.4. Respuesta de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG orina

En esta sección se muestran los resultados obtenidos al depositar orina diluida a diferentes concentraciones de hCG que van de 1 a 180 mIU/mL sobre el transductor funcionalizado con nanopartículas de oro. Finalmente, se presenta la repetibilidad de dichas concentraciones depositadas sobre la fibra óptica taper. En la figura 4.11 se muestra las respuestas de potencia óptica de salida al depositar dichas concentraciones de hormona hCG.

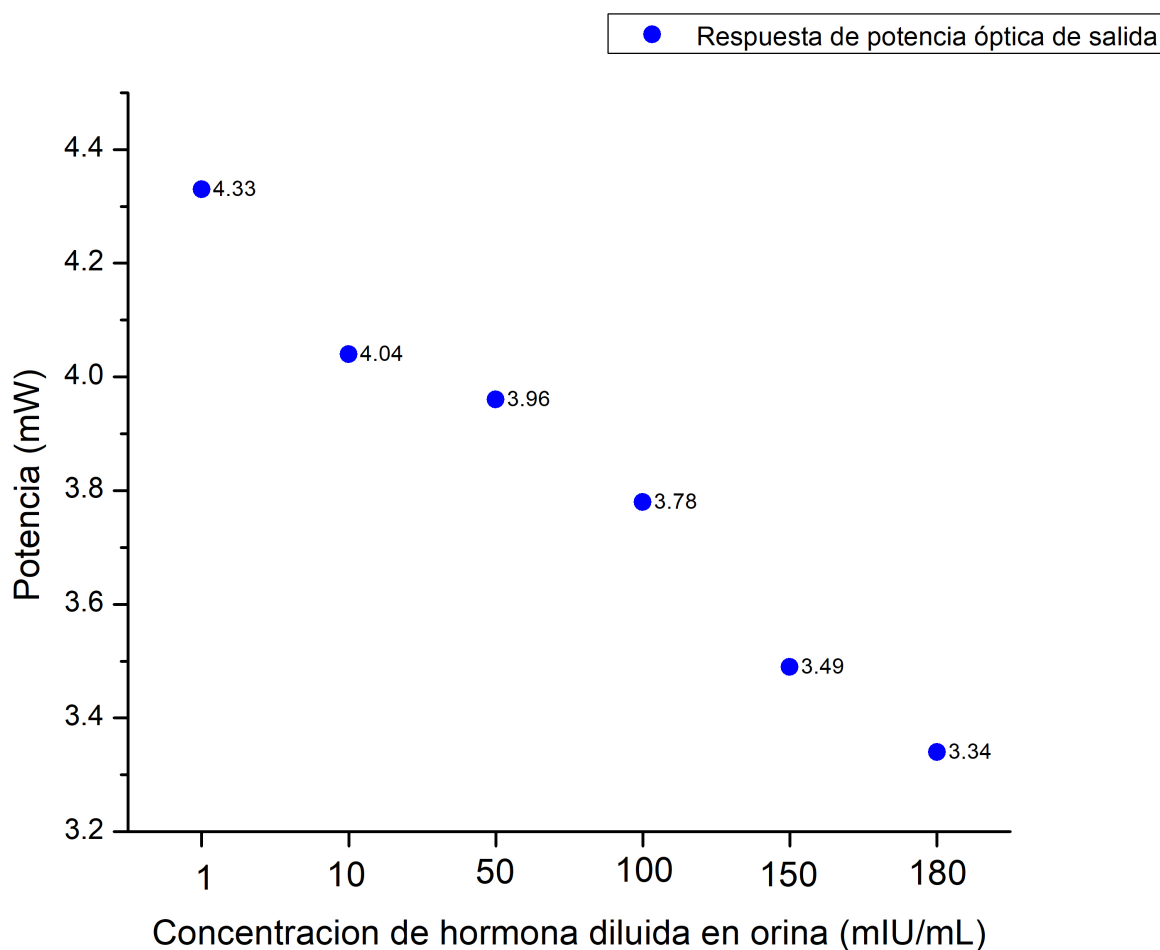


Figura 4.11: Respuestas de potencia óptica de salida al depositar 1,10,50,100,150 y 180 mIU/mL de hormona hCG diluida en orina

Como se observa en la figura 4.14, la respuesta de potencia óptica tiene la misma tendencia que las respuestas presentadas para la hormona diluida en agua tridestilada, lo que significa que mientras la concentración de hormona hCG aumenta, la respuesta óptica de salida disminuye y viceversa.

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA HCG PARA LA DETECCIÓN DEL CÁNCER

Para el caso de la respuesta espectral, en la figura 4.15 se muestran los espectros en función a cada dos concentraciones de hormona hCG (1 y 180 mIU/mL).

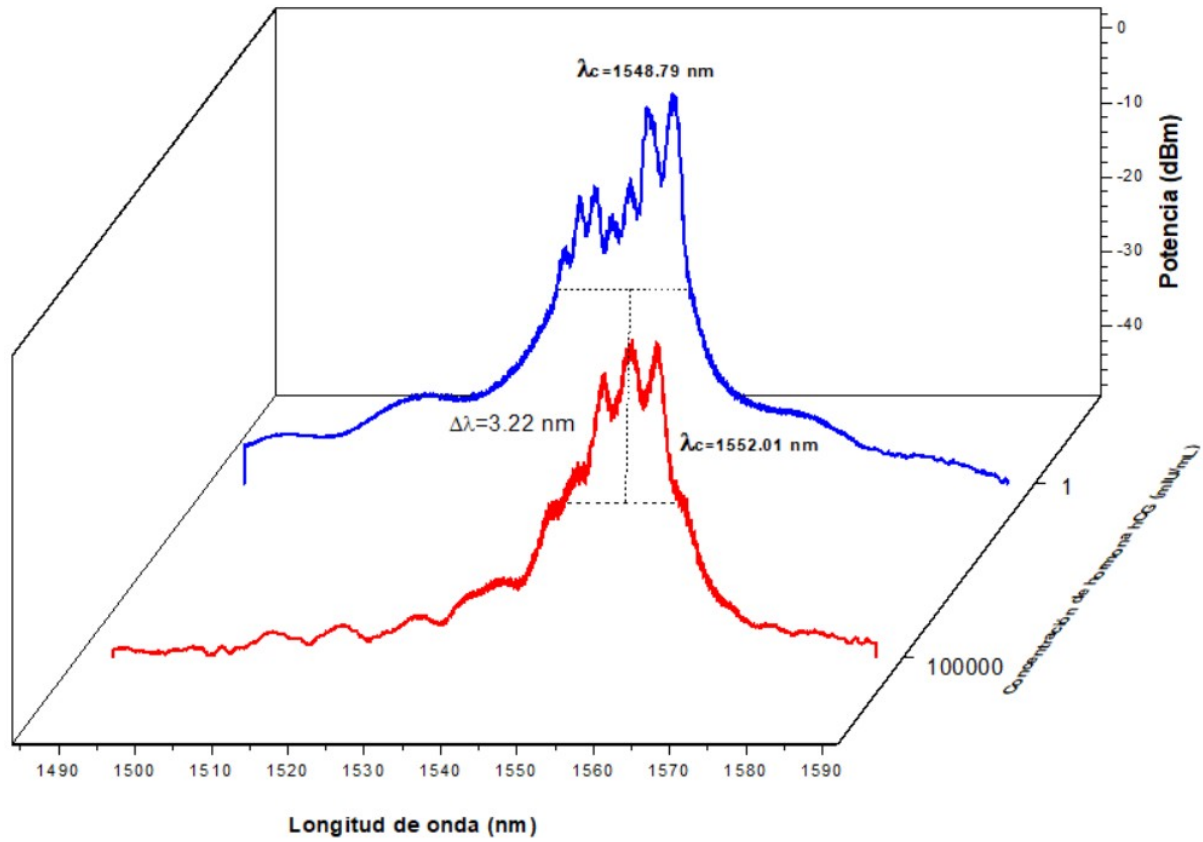


Figura 4.12: Respuestas espectral al depositar 1 y 180 mIU/mL de hormona hCG diluida en orina

Tal como se observa en la figura 4.12, hay dos desplazamientos espectrales en los cuales la longitud de onda central de cada uno de ellos se situó para 1 mIU/mL en $\lambda_c = 1548.79$ nm y para 180 mIU/mL en $\lambda_c = 1552.01$ nm con un desplazamiento de longitud de onda central total de $\Delta\lambda_{total} = 3.22$ nm

4.3.5. Análisis de repetibilidad para la hormona hCG diluida en orina

En la figura 4.13 se presentan los rangos de respuesta del sensor de fibra óptica taper en función a cada concentración de hormona hCG diluida en orina en un rango entre 1 a 180 mIU/mL. En particular, de la respuesta de la potencia óptica y longitud de onda central.

Rangos de detección al medir diferentes concentraciones de hormona hCG		
Concentración de hCG (mIU/mL)	Respuesta de potencia óptica de salida (mW)	λ_c (nm)
	Rango de detección	
1	4.21-4.33	1547.69-1548.79
10	4.04-4.15	1549.09-1549.16
50	3.96-3.99	1549.53-1549.98
100	3.78-3.80	1550.02-1550.32
150	3.37-3.49	1551.06-1551.71
180	3.33-3.34	1551.87-1552.03

Figura 4.13: Rangos de detección para las diferentes concentraciones de hCG diluidas en orina entre 1 a 180 mIU/ml depositados sobre la TOF

A partir de los datos mostrados en la figura 4.13, se calcula la repetibilidad de cada una de las concentraciones de hormona hCG (1-180 mIU/mL) empleando la fórmula de desviación estándar, los cuales se muestran en la tabla 4.5:

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	Coefficiente de variabilidad (%)
1	0.06	1.40
10	0.07	1.71
50	0.01	0.42
100	0.01	0.29
150	0.06	1.74
180	0.005	0.14

Tabla 4.4: Tabla de repetibilidad y variabilidad de los valores de potencia óptica de salida en función de la concentración de hormona hCG entre 1 a 180 mIU/mL diluida en orina

En consecuencia, en la figura 4.14 se muestra la gráfica de barras representando la repetibilidad de las respuestas de potencia óptica de salida en función de la hormona diluida en orina.

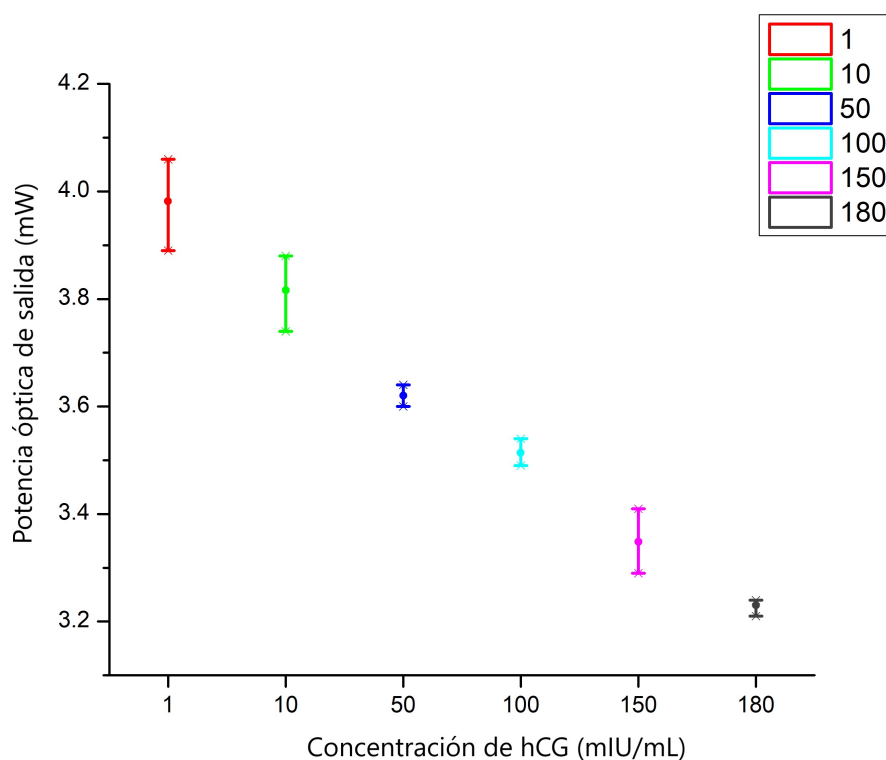


Figura 4.14: Gráfica de barras de error representando la repetibilidad de los valores calculados en la tabla 4.4

Como se observa en la figura 4.14, las barras de error representan que los datos son menos similares entre sí, mientras que las barras más cortas representan que los datos son más similares entre sí. Entonces, las concentraciones de hormona hCG diluida en orina tal y como 50, 100 y 180 mIU/mL sus datos son similares entre sí y tienen una alta repetibilidad.

Para el caso de la respuesta espectral se tiene en la tabla 4.6 los valores de repetibilidad a partir de los datos obtenidos por el sensor al medir 1,10,50,100 ,150 y 180 mIU/mL de hormona hCG diluida en orina.

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	Coefficiente de variabilidad (%)
1	0.56	0.05
10	0.03	0.001
50	0.22	0.02
100	0.15	0.01
150	0.32	0.02
180	0.08	0.01

Tabla 4.5: Tabla de repetibilidad y variabilidad de los valores espectrales en función de la concentración de hormona hCG entre 1 a 180 mIU/mL

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA HCG PARA LA DETECCIÓN DEL CÁNCER

En consecuencia, en la figura 4.15 se muestra la gráfica de barras representando la repetibilidad de las respuestas de espectrales en función de la hormona diluida en orina.

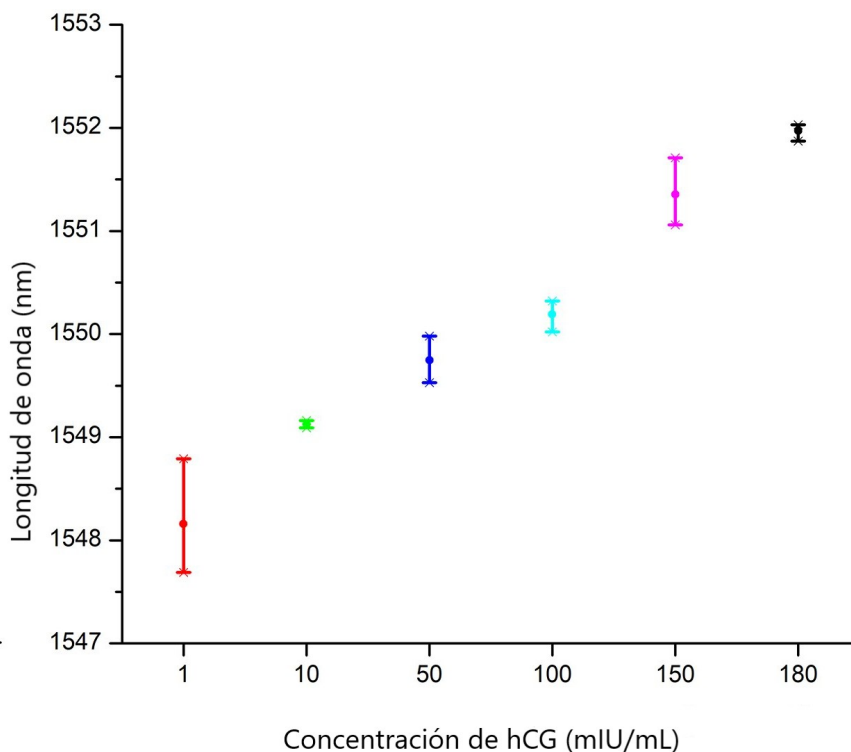


Figura 4.15: Gráfica de barras de error representando la repetibilidad de los valores calculados en la tabla 4.5

Como se observa en la figura 4.15, las barras de error representativas a las concentraciones de hormona hCG 10, 100 y 180 mIU/mL, son las más pequeñas, lo que significa que los datos entre ellos tienen alta repetibilidad y son similares entre sí. Por el contrario, los datos de las concentraciones 1 y 150 mIU/mL, sus barras de error son más largas y, por lo tanto, sus datos tienen una baja repetibilidad y son menos similares entre sí.

4.4. Desempeño del biosensor

En esta sección se describen los valores de las figuras de mérito más importantes para la validación y consolidación de la calidad de los resultados obtenidos por el sensor al medir las diferentes concentraciones de hormona hCG diluida tanto en agua tridestilada como en orina en el rango clínicamente relevante para la detección de cáncer tal y como *Repetibilidad (R)*, *Sensibilidad (S)*, *Límite de detección (LoD)*, *Límite de cuantificación (LoQ)* y *Rango dinámico (RD)*. A partir de la ecuación de repetibilidad (3.1) fueron calculados los valores de (R), considerando cinco mediciones por cada concentración de hormona hCG diluida tanto en agua como en orina. En la tabla 4.6 se presentan los valores obtenidos de la respuesta espectral del biosensor a dichas concentraciones.

Concentración de hCG (mIU/mL)	Repetibilidad (σ)	
	Agua tridestilada (H2O)	Orina
1	0.36	0.56
10	0.06	0.03
50	0.07	0.22
100	0.38	0.15
150	0.03	0.32
180	0.02	0.08

Tabla 4.6: Tabla de repetibilidad como una función de la concentración de la hormona hCG diluida tanto en agua como en orina

4.4.1. Figuras de mérito para el agua tridestilada

Cálculo de sensibilidad (S)

Para calcular la sensibilidad con respecto a los cambios de longitud de onda al medir agua tridestilada diluida en diferentes concentraciones de hCG entre 1 a 180 mIU/ml se tiene que empleando la ecuación 3.2 :

$$\Delta\lambda = \lambda_{180\text{mIU/mL}} - \lambda_{1\text{mIU/mL}} = 1540,84\text{nm} - 1538,54\text{nm} = 2,3\text{nm} \quad (4.2)$$

Luego, se calcula el cambio con respecto a la concentración y se tiene que:

$$\Delta[\text{Analito}] = 180\frac{\text{mIU}}{\text{mL}} - 1\frac{\text{mIU}}{\text{mL}} = 179\frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.3)$$

A continuación , sustituyendo los datos en la ecuación para la sensibilidad da el siguiente resultado:

$$S = 0,012\frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}} \quad (4.4)$$

Cálculo de límite de detección (LoD)

Empleando la ecuación 3.3 se tiene que:

$$\sigma = 0.188 \text{ mW y } S = 0,012 \frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}}$$

Sustituyendo en 4.5 se tiene que:

$$LoD = 0,04 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.5)$$

Cálculo de límite de cuantificación (LoQ)

Empleando la ecuación 3.4 se tiene que:

$$\sigma = 0.188 \text{ mW y } S = 0,012 \frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}}$$

Sustituyendo en 4.6 se tiene que:

$$LoQ = 0,14 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.6)$$

Cálculo de rango dinámico (RD)

Empleando la ecuación 3.5 se tiene que:

$$RD = 178 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \pm 1,24 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.7)$$

$$RD = 179 \text{mIU/mL} \quad (4.8)$$

4.4.2. Figuras de merito para la orina

Cálculo de sensibilidad (S)

Para calcular la sensibilidad con respecto a los cambios de longitud de onda al medir agua tridestilada diluida en diferentes concentraciones de hCG entre 1 a 180 mIU/ml se tiene que empleando la ecuación 3.2 :

$$\Delta\lambda = \lambda_{180 \text{mIU/mL}} - \lambda_{1 \text{mIU/mL}} = 1551,97 \text{nm} - 1548,16 \text{nm} = 3,81 \text{nm} \quad (4.9)$$

Luego, se calcula el cambio con respecto a la concentración y se tiene que:

$$\Delta [\text{Analito}] = 180 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} - 1 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} = 179 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.10)$$

A continuación , sustituyendo los datos en la ecuación para la sensibilidad da el siguiente resultado:

$$S = 0,021 \frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}} \quad (4.11)$$

Cálculo de límite de detección (LoD)

Empleando la ecuación 3.3 se tiene que:

$$\sigma = 0.19 \text{ mW y } S = 0,021 \frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}}$$

Sustituyendo en 4.12 se tiene que:

$$LoD = 0,033 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.12)$$

Cálculo de límite de cuantificación (LoQ)

Empleando la ecuación 3.4 se tiene que:

$$\sigma = 0.19 \text{ mW y } S = 0,021 \frac{\text{nm}}{\text{mIU.mL}}$$

Sustituyendo en 4.13 se tiene que:

$$LoD = 0,11 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.13)$$

Cálculo de rango dinámico (RD)

Empleando la ecuación 3.5 se tiene que:

$$RD = 178 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \pm 1,24 \frac{\text{mIU}}{\text{mL}} \quad (4.14)$$

$$RD = 179 \text{mIU/mL} \quad (4.15)$$

4.4.3. Tabla de general de figuras de merito

En la tabla se presenta el resumen de las figuras de merito que describe el rendimiento del biosensor desarrollado y caracterizado.

Figura de merito	Hormona hCG diluida en agua	Hormona hCG diluida en orina
Sensibilidad (S) [nm/mIU.mL]	0.012	0.021
Límite de detección (LoD) [mIU/mL]	0.04	0.03
Límite de cuantificación (LoQ) [mIU/mL]	0.14	0.11
Rango dinamico [mIU/mL]	179.2	179.2

Tabla 4.7: Figuras de merito del biosensor para detección de hormona diluida en orina y agua tridestilada

Capítulo 5

Conclusiones

En este trabajo, se llevó a cabo la cuantificación de diferentes concentraciones de hCG con sus respectivas respuestas de tanto potencia óptica como de respuesta espectral empleando un biosensor de fibra óptica taper, con un diámetro en su cintura de aproximadamente 3μ decorada con nanopartículas de oro de un diámetro de 100 nm. Al emplear nanopartículas de oro, se amplía el rango de detección de hormona hCG (1 a 100000 mIU/mL) diluida en agua, debido a la amplificación de los campos evanescentes y de la fuerza de absorción de la hormona.

Las repuestas tanto de potencia óptica, así como de ancho espectral, demuestran que son inversamente proporcionales al incremento de concentración de hormona hCG, debido al fenómeno fisicoquímico denominado plasmones superficiales, en el cual los campos eléctricos del campo evanescente se amplifican y, en consecuencia, al sensor lo hacen más sensible a los cambios de índice de refracción del medio.

La caracterización óptica y espectral del sensor de fibra óptica, permitió detectar los rangos de respuesta para cada concentración de hormona hCG, demostrando que existe repetibilidad en las mediciones. A través de la caracterización de los valores de las figuras de merito son calculados a partir de las respuestas en potencia y en corrimiento en longitud de onda enfocado en las concentraciones que podrían indicar la posible presencia de diferentes tipos de cáncer, los cuales en base a la literatura reportada se encuentran típicamente entre 6 mUI/mL y 180 mUI/mL de hCG.

Los resultados mostraron diferencias significativas entre las muestras diluidas en agua y en orina, destacando la capacidad del biosensor para ajustarse a las propiedades específicas de cada medio. La evaluación de la respuesta del biosensor en presencia de muestras de agua y orina sin hormona hCG, demostraron que la longitud de onda del biosensor se encuentra fuera del rango de detección para las soluciones con concentraciones de hormona.

Es importante mencionar que este sensor de fibra óptica taper ofrece múltiples ventajas en comparación con otro tipo de transductores, tal y como lo es su tamaño compacto, su fácil funcionalización de la variable biológica de interés a medir y su alta sensibilidad, ya que otros tipos de transductores como los electroquímicos o piezoeléctricos necesitan de laboratorios complejos y con temperatura controlada tanto para la construcción de estos transductores, así como de la funcionalización de las variables biológicas, que a veces tardan de horas a días en realizarse el proceso completo.

Con respecto a los trabajos a futuro derivados a esta investigación, surge la posibilidad de convertir este sensor de fibra óptica taper en reutilizable, ya que este tipo de sensores no permiten depositar la concentración de hCG varias veces en una sola fibra óptica taper.

Finalmente, la capacidad del biosensor para detectar la hormona hCG en un rango de 1 a 180 mUI/ml es de gran relevancia clínica, dado que se han reportado concentraciones dentro de este rango en diversas afecciones clínicas, como cáncer de vejiga, riñón, estómago, mama, pulmón, páncreas, ovario y cuello uterino. Este rango de detección abarca valores críticos para facilitar el diagnóstico y el seguimiento temprano de estos tipos de cáncer, lo que posiciona al biosensor basado en fibra óptica cónica decorada con nanopartículas de Au como una herramienta novedosa para la detección biomédica de la hormona hCG con alta sensibilidad y especificidad.

Capítulo 6

Apéndice



Communication

Quantification of hCG Hormone Using Tapered Optical Fiber Decorated with Gold Nanoparticles

David Saúl Villegas-Cantoran ¹, Celia Lizeth Gómez ², Luz del Carmen Gómez-Pavón ^{1,*}, Plácido Zaca-Morán ², Dulce Natalia Castillo-López ¹, Arnulfo Luis-Ramos ¹ and Jesús Manuel Muñoz-Pacheco ¹

- ¹ Grupo de Sistemas Fotónicos y Nanoóptica, Facultad de Ciencias de la Electrónica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla 72570, Mexico; david.villegasc@alumno.buap.mx (D.S.V.-C.); dulce.castillo@correo.buap.mx (D.N.C.-L.); arnulfo.luis@correo.buap.mx (A.L.-R.); jesusm.pacheco@correo.buap.mx (J.M.M.-P)
- ² Instituto de Ciencias, Ecomcampus Valsequillo, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla 72570, Mexico; celia.gomez@correo.buap.mx (C.L.G.); placido.zaca@correo.buap.mx (P.Z.-M.)
- * Correspondence: luz.gomez@correo.buap.mx

Abstract: In this study, a novel technique for the quantification of the human chorionic gonadotropin (hCG) hormone using localized surface plasmons and a tapered optical fiber decorated with gold nanoparticles (Au-NPs) is reported. The tapered optical fiber fabrication process involves stretching a single-mode optical fiber using the flame-brushing system. The waist of the tapered optical fiber reaches a diameter of 3 μm . Decoration of the taper is achieved through the photodeposition of 100 nm Au-NPs using the drop-casting technique and a radiation source emitting at 1550 nm. The presence of the hCG hormone in the sample solutions is verified by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), revealing the presence of bands related to functional groups, such as C=O (1630 cm^{-1}), which are associated with proteins and lipids, components of the hCG hormone. Quantification tests for hormone concentrations were carried out by measuring the optical power response of the tapered optical fiber with Au-NPs under the influence of hCG hormone concentrations, ranging from 1 mIU/mL to 100,000 mIU/mL. In the waist of the tapered optical fiber, the evanescent field is amplified because of localized surface plasmons generated by the nanoparticles and the laser radiation through the optical fiber. Experimental results demonstrated a proportional relationship between measured radiation power and hCG concentration, with the optical power response decreasing from 4.45 mW down to 2.5 mW, as the hCG hormone concentration increased from 1 mIU/mL up to 100,000 mIU/mL. Furthermore, the spectral analysis demonstrated a spectral shift of 14.2 nm with the increment of the hCG hormone concentration. The measurement system exhibits promising potential as a sensor for applications in the biomedical and industrial fields.

Keywords: evanescent field; tapered optical fiber; hCG hormone; gold nanoparticles



Citation: Villegas-Cantoran, D.S.; Gómez, C.L.; Gómez-Pavón, L.d.C.; Zaca-Morán, P.; Castillo-López, D.N.; Luis-Ramos, A.; Muñoz-Pacheco, J.M. Quantification of hCG Hormone Using Tapered Optical Fiber Decorated with Gold Nanoparticles. *Sensors* **2023**, *23*, 8538. <https://doi.org/10.3390/s23208538>

Academic Editor: Jesús M. Corres

Received: 18 September 2023

Revised: 4 October 2023

Accepted: 13 October 2023

Published: 18 October 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The measurement of different concentrations of the hCG hormone plays a significant role in detecting various stages of pregnancy and serves as a potential biomarker for the detection and localization of different types of cancers, such as breast [1–3], prostate [4–6], and pancreatic cancer [7–10], which have high mortality rates due to their detection at advanced stages of the disease. Typically, hCG hormone detection is carried out using electrochemical sensors [11–14]. However, these types of sensors require a large volume of biological samples for analysis, are susceptible to high electromagnetic interference that can result in false positives, and are expensive to manufacture. Additionally, there are piezoelectric sensors that offer high sensitivity and a compact size, but have drawbacks, such as a very low output response, requiring amplification stages for proper interpretation [15].

Quantification and detection systems, especially those based on optical fiber, are gaining significant importance in hCG hormone detection [16–18]. These sensors offer several

Biosensors and Bioelectronics

Biosensor for human chorionic gonadotropin detection using gold nanoparticles-decorated tapered optical fiber

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Full Length Article
Section/Category:	Bioelectronics
Keywords:	Tapered optical fiber; Gold nanoparticles; Biosensor; hCG hormone
Corresponding Author:	Luz del Carmen Gómez-Pavón, Ph.D. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Puebla, Puebla MEXICO
First Author:	Luz del Carmen Gómez-Pavón
Order of Authors:	Luz del Carmen Gómez-Pavón David Saúl Villegas-Cantoran Plácido Zaca-Morán Celia Lizeth Gómez Arnulfo Luis-Ramos Dulce Natalia Castillo-López Orlando Zaca-Morán
Abstract:	This work presents a biosensor based on a tapered optical fiber decorated with gold nanoparticles for the detection of human chorionic gonadotropin hormone in water and urine. The tapered optical fiber, fabricated by flame-brushing technique, has a waist diameter of approximately 3.5 μm , where gold nanoparticles with a size of 100 nm are deposited through photodeposition using a continuous-wave 1550 nm laser. Detection was performed for hCG hormone solutions prepared in tri-distilled water and human urine, covering a concentration range from 1 mIU/mL to 180 mIU/mL, which is clinically relevant for cancer detection. The biosensor showed a spectral shift in output wavelength and a variation in output optical power as a function of hCG hormone concentration, enabling a quantifiable, repeatable, and specific detection. The limits of detection were 0.04 mIU/mL for the solution in tri-distilled water and 0.03 mIU/mL for the solution in urine, with sensitivity of 0.012 nm/mIU-mL and 0.021 nm/mIU-mL, respectively. These results demonstrate the potential of optical fiber non-functionalized biosensors decorated with metallic nanoparticles for developing highly sensitive biosensors with biomedical applications, opening new possibilities for the early diagnosis of diseases associated with abnormal expression of the hCG hormone.

Figura 6.2: Artículo en revisión



August 2024

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Placido Zaca Moran, Celia Lizeth Gomez Muñoz, Luz del Carmen Gómez Pavón, David Saúl Villegas Cantorán, Fabián Galindo Ramírez, Laura Guadalupe Hernandez Aragón, Orlando Zaca Moran* presented the contribution: **FABRICATION OF MICROFIBERS FOR THE DETECTION AND QUANTIFICATION OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL COMPOUNDS** as **Poster** modality, in the *E1. Biomaterials for Highly Performing Biosensors: Challenges and Perspective* Symposium at the **32nd International Materials Research Congress** held in Cancun, Mexico from August 18th to 23th, 2024.

Sincerely,

Jesús González Hernández
President



SE1-P016

Figura 6.3: Participación en congreso

Bibliografía

- [1] Cole, L. A. (2010). Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reproductive Biology And Endocrinology*, 8(1), 102. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-102>
- [2] Vaitukaitis J. Human chorionic gonadotropin as a tumor marker. *PubMed*. 1974;4(4):276-280. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4376658>.
- [3] Vineis P, Wild CP. Global cancer patterns: causes and prevention. *The Lancet*. 2013;383(9916):549-557. doi:10.1016/s0140-6736(13)62224-2
- [4] World Health Organization: WHO. Cáncer. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Publicado 3 de febrero de 2025.
- [5] Cancer today. <https://gco.iarc.fr/today/en>.
- [6] <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2024/EDR/EDR2023En-Jn>
- [7] Nwabuobi, C., Arlier, S., Schatz, F., Guzeloglu-Kayisli, O., Lockwood, C. J., and Kayisli, U. A. (2017). hCG: Biological Functions and Clinical Applications. *International journal of molecular sciences*, 18(10), 2037. <https://doi.org/10.3390/ijms18102037>
- [8] Pandey CM, Malhotra BD. *Biosensors: Fundamentals and Applications*; 2017. <https://openlibrary.org/books/OL29423155M/Biosensors>.
- [9] Sisinni, L., and Landriscina, M. (2015). The Role of Human Chorionic Gonadotropin as Tumor Marker: Biochemical and Clinical Aspects. *Advances in experimental medicine and biology*, 867, 159-176. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215>
- [10] Teixeira, Sofia and Conlan, Robert and Guy, O.J. and Sales, Maria Goreti. (2014). Label-free human chorionic gonadotropin detection at picogram levels using oriented antibodies bound to graphene SPEs. *Journal of Materials Chemistry*. 2. 1852-1865. 10.1039/C3TB21235A.
- [11] Song Y, Luo Y, Zhu C, Li H, Du D, Lin Y. Recent advances in electrochemical biosensors based on graphene two-dimensional nanomaterials. *Biosensors And Bioelectronics*. (2015);76:195-212. doi:10.1016/j.bios.2015.07.002
- [12] Wang, He, Wenjuan Guo and Mei-shan Pei. "A novel label-free electrochemical immunosensor based on the composite of LPCs-SnS2 and AuNPs for the detection of human chorionic gonadotropin." *New Journal of Chemistry* 41 (2017): 11600-11606.

-
- [13] Islam, K., Suhail, A., and Pan, G. (2017). A Label-Free and Ultrasensitive Immunosensor for Detection of Human Chorionic Gonadotrophin Based on Graphene FETs. *Biosensors*, 7(3), 27. <https://doi.org/10.3390/bios7030027>
- [14] Hamad, E. M., Hawamdeh, G., Jarrad, N. A., Yasin, O., Al-Gharabli, S. I., and Shadfan, R. (2018). Detection of Human Chorionic Gonadotropin (hCG) Hormone using Digital Lateral Flow Immunoassay. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference*, 2018, 3845–3848. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2018.8513355>
- [15] Rizwan, Mohammad and Hazmi, Muhammad and Lim, Syazana and Ahmed, Minhaz. (2018). A highly sensitive electrochemical detection of human chorionic gonadotropin on a carbon nano-onions/gold nanoparticles/polyethylene glycol nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 833. [10.1016/j.jelechem.2018.12.031](https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.12.031)
- [16] Liao, L. W., Chen, P. H., Tsai, S. Y., Tripathi, A., Paulose, A. K., Chang, S. J., and Wang, Y. L. (2021). Rapid beta-human chorionic gonadotropin detection in urine with electric-double-layer gated field-effect transistor biosensors and a handheld device. *Biomicrofluidics*, 15(2), 024106. <https://doi.org/10.1063/5.0042522>
- [17] Niedzialkowski, Pawel and Koterwa, Adrian and Bojko, Magdalena and Ryl, Jacek and Lukaszuk, Krzysztof and Kozłowska, Kornelia and Sieklicki, Wiktor and Rodziewicz-Motowidło, Sylwia. (2023). An electrochemical biosensor for the determination of hormone Human Chorionic Gonadotropin (hCG) in human serum. *Electroanalysis*. [10.1002/elan.202300095](https://doi.org/10.1002/elan.202300095)
- [18] Chang, Chia-Chen et al. “Colorimetric detection of human chorionic gonadotropin using catalytic gold nanoparticles and a peptide aptamer.” *Chemical communications (Cambridge, England)* vol. 50,92 (2014): 14443-6.
- [19] Chang, Chia-Chen and Chen, Chen-Yu and Chen, Chie-Pein and Lin, Chii-Wann. (2014). Facile colorimetric detection of human chorionic gonadotropin based on the peptide-induced aggregation of gold nanoparticles. *Anal. Methods*. 7. [10.1039/C4AY01429D](https://doi.org/10.1039/C4AY01429D)
- [20] Hong, Guolin and Zhang, Dongdong and He, Yinghao and Yang, Yuanyuan and Chen, Ping and Yang, Huijing and Zhou, Zhiyang and Liu, Yinhuan and Wang, Yan. (2019). New photothermal immunoassay of human chorionic gonadotropin using Prussian blue nanoparticle-based photothermal conversion. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 411. [10.1007/s00216-019-02049-w](https://doi.org/10.1007/s00216-019-02049-w).
- [21] Kumar, R., Leng, Y., Liu, B., Zhou, J., Shao, L., Yuan, J., Fan, X., Wan, S., Wu, T., Liu, J., Binns, R., Fu, Y. Q., Ng, W. P., Farrell, G., Semenova, Y., Xu, H., Xiong, Y., He, X., and Wu, Q. (2019). Ultrasensitive biosensor based on magnetic microspheres enhanced microfiber interferometer. *Biosensors And Bioelectronics*, 145, 111563. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111563>
- [22] Ozgur, E., Roberts, K. E., Ozgur, E. O., Gin, A. N., Bankhead, J. R., Wang, Z., and Su, J. (2019). Ultrasensitive Detection of Human Chorionic Gonadotropin Using Frequency Locked Microtoroid Optical Resonators. *Analytical Chemistry*, 91(18), 11872-11878. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02630>
-

-
- [23] Chen, L., Liu, B., Liu, J., Wan, S., Wu, T., Yuan, J., Zhou, X., Long, K., Shao, L., Fu, Y. Q., He, X., and Wu, Q. (2020). Novel Microfiber Sensor and Its Biosensing Application for Detection of hCG Based on a Singlemode-Tapered Hollow Core-Singlemode Fiber Structure. *IEEE Sensors Journal*, 20(16), 9071-9078. <https://doi.org/10.1109/jsen.2020.2986327>
- [24] Luo, W., Liu, B., Liu, J., Wu, T., Liu, Q., Wang, M., Wan, S., Yuan, J., Lu, P., Wang, D., He, X., and Wu, Q. (2022). Tapered Side-Polished Microfibre Sensor for High Sensitivity hCG Detection. *IEEE Sensors Journal*, 22(8), 7727-7733. <https://doi.org/10.1109/jsen.2022.3156284>
- [25] Wang, X., Wang, H., Sun, Y., Liu, Z., and Wang, N. (2023). Liquid crystal biosensor based on AuNPs signal amplification for detection of human chorionic gonadotropin. *Talanta*, 266, 125025. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125025>
- [26] Soares, M.S.; Vidal, M.; Santos, N.F.; Costa, F.M.; Marques, C.; Pereira, S.O.; Leitão, C. Immunosensing Based on Optical Fiber Technology: Recent Advances. *Biosensors* (2021), 11, 305. <https://doi.org/10.3390/bios11090305>
- [27] Consultado y disponible el día 09 de julio del 2024 en: <https://patents.google.com/patent/CN106370871A/>
- [28] Consultado y disponible el día 09 de julio del 2024 en: <https://patents.google.com/patent/CN115754310A/>
- [29] Monošík, R., Stredánský, M., and Šturdík, E. (2012). Biosensors - classification, characterization and new trends. *Acta Chimica Slovaca*, 5(1), 109-120. <https://doi.org/10.2478/v10188-012-0017-z>
- [30] De Acha, N., Socorro-Lerános, A. B., Elosúa, C., and Matías, I. R. (2021). Trends in the Design of Intensity-Based Optical Fiber Biosensors (2010–2020). *Biosensors*, 11(6), 197. <https://doi.org/10.3390/bios11060197>
- [31] Joint Committee for Guides in Metrology. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM. 2008;100.
- [32] Shrivastava, Alankar. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*. 2. 21-25. 10.4103/2229- 5186.79345.
- [33] Senior, J., and Kazovsky, L. (1987). Optical Fiber Communications: Principles and Practice. *Physics Today*, 40(10), 128. <https://doi.org/10.1063/1.2820238>
- [34] Soares, M. S., Vidal, M., Santos, N. F., Costa, F. M., Marques, C., Pereira, S. O., and Leitão, C. (2021). Immunosensing Based on Optical Fiber Technology: Recent Advances. *Biosensors*, 11(9), 305. <https://doi.org/10.3390/bios11090305>
- [35] Leitão, C., Pereira, S. O., Marques, C., Cennamo, N., Zeni, L., Shaimerdenova, M., Ayupova, T., and Tosi, D. (2022). Cost-Effective Fiber Optic Solutions for Biosensing. *Biosensors*, 12(8), 575. <https://doi.org/10.3390/bios12080575>
- [36] Ozeki, T., and Kawasaki, B. S. (1976). Optical directional coupler using tapered sections in multimode fibers. *Applied Physics Letters*, 28(9), 528-529. <https://doi.org/10.1063/1.88844>
-

- [37] Nanomaterials for Biosensors: Fundamentals and Applications by Bansi Dhar Malhotra and Md. Azahar Ali. (2019). *MRS Bulletin*, 44(4), 317. <https://doi.org/10.1557/mrs.2019.93>
- [38] Jarzebinska, R., Korposh, S., James, S., Batty, W., Tatam, R., and Lee, S. (2012). Optical Gas Sensor Fabrication Based on Porphyrin-Anchored Electrostatic Self-Assembly onto Tapered Optical Fibers. *Analytical Letters*, 45(10), 1297-1309. <https://doi.org/10.1080/00032719.2012.673097>
- [39] Gnoth, C., and Johnson, S. (2014). Strips of Hope: Accuracy of Home Pregnancy Tests and New Developments. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 74(7), 661–669. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368589>
- [40] Consultada el 09 de julio del 2014 y disponible en: <https://www.quansysbio.com/support/dilutions-explanations-and-examples/>
- [41] Ogino, H., Shibamoto, Y., Takanaka, T., Suzuki, K., Ishihara, S., Yamada, T., Sugie, C., Nomoto, Y., and Mimura, M. (2005). CNS germinoma with elevated serum human chorionic gonadotropin level: Clinical characteristics and treatment outcome. *International Journal Of Radiation Oncology*Biology*Physics*, 62(3), 803-808. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.10.026>
- [42] Gu, W., Gu, W., Gu, Y., Li, J., Yang, G., Guo, Q., Zang, L., Du, J., Pei, Y., Ba, J., Lv, Z., Dou, J., and Mu, Y. (2018). A Craniopharyngioma Associated With Elevated Cerebrospinal Fluid HCG Concentrations Misdiagnosed as a Germinoma. *Frontiers In Neurology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00449>
- [43] Iles, R., Persad, R., Trivedi, M., Sharma, K., Dickinson, A., Smith, P., and Chard, T. (1996). Urinary concentration of human chorionic gonadotrophin and its fragments as a prognostic marker in bladder cancer. *British Journal Of Urology*, 77(1), 61-69. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.1996.82910.x>
- [44] Iles, R. K., and Chard, T. (1991). Human chorionic gonadotropin expression by bladder cancers: biology and clinical potential. *The Journal of urology*, 145(3), 453–458. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)38367-2](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)38367-2)
- [45] Fukutani, K., Libby, J. M., Panko, W. B., and Scardino, P. T. (1983). Human chorionic gonadotropin detected in urinary concentrates from patients with malignant tumors of the testis, prostate, bladder, ureter and kidney. *The Journal of urology*, 129(1), 74–77. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)51926-6](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)51926-6)
- [46] Hotakainen, K., Ljungberg, B., Paju, A., Rasmuson, T., Alfthan, H., and Stenman, U. H. (2002). The free beta-subunit of human chorionic gonadotropin as a prognostic factor in renal cell carcinoma. *British journal of cancer*, 86(2), 185–189. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600050>
- [47] Marcillac, I., Troalen, F., Bidart, J. M., Ghillani, P., Ribrag, V., Escudier, B., Malassagne, B., Droz, J. P., Lhommé, C., and Rougier, P. (1992). Free human chorionic gonadotropin beta subunit in gonadal and nongonadal neoplasms. *Cancer research*, 52(14), 3901–3907.
-

-
- [48] Wong, Y. P., Tan, G. C., Aziz, S., Pongprakyun, S., and Ismail, F. (2015). Beta-human Chorionic Gonadotropin-secreting Lung Adenocarcinoma. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS*, 22(4), 76–80.
- [49] Bepler, G., Jaques, G., Oie, H. K., and Gazdar, A. F. (1991). Human chorionic gonadotropin and related glycoprotein hormones in lung cancer cell lines. *Cancer letters*, 58(1-2), 145–150. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(91\)90037-i](https://doi.org/10.1016/0304-3835(91)90037-i)
- [50] Mustafa, A., Bozdog, Z., Tepe, N. B., and Ozcan, H. C. (2016). An unexpected reason for elevated human chorionic gonadotropin in a young woman. Cervical squamous carcinoma. *Saudi medical journal*, 37(8), 905–907. <https://doi.org/10.15537/2016.8.14529>
- [51] Abney, T. O., Teran, A. Z., Mahesh, V. B., Mullins, W. B., and Greenblatt, R. B. (1988). Fibrocystic breast disease: the significance of beta-human chorionic gonadotropin and other polypeptides in breast cyst fluid. *Fertility and sterility*, 49(4), 638–643. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)59832-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)59832-x)
- [52] Komarnicki, P., Gut, P., Cieślęwicz, M., Musiałkiewicz, J., Maciejewski, A., Czupińska, M., Mastorakos, G., and Ruchała, M. (2024). Serum beta-hCG as a Biomarker in Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Rethinking Single-Analyte Approach. *Cancers*, 16(11), 2060. <https://doi.org/10.3390/cancers16112060>
- [53] Grossmann, M., Hoermann, R., Gocze, P. M., Ott, M., Berger, P., and Mann, K. (1995). Measurement of human chorionic gonadotropin-related immunoreactivity in serum, ascites and tumour cysts of patients with gynaecologic malignancies. *European journal of clinical investigation*, 25(11), 867–873. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1995.tb01697.x>
- [54] Gong, C., Vikash, F., Silberstein, J., White, S., and Kotler, D. (2024). Serum beta-hCG as a prognostic marker for colorectal adenocarcinoma in women of reproductive age: A case report and literature review. *Medicine international*, 5(1), 8. <https://doi.org/10.3892/mi.2024.207>
- [55] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en :<https://www.sigmaaldrich.com/specification-sheets/521/923/742031-BULK.pdf>
- [56] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en :
<https://www.sigmaaldrich.com/specification-sheets/288/685/C1063.pdf>
- [57] Zandbaaf, S., Khorrani, M. R. K., Garmarudi, A. B., and Rashidi, B. H. (2019). Diagnosis of pregnancy based classification of embryo culture medium samples by infrared spectrometry and chemometrics. *Infrared Physics and Technology*, 104, 103069. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2019.103069>
- [58] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en :
<https://www.thorlabs.com/drawings/caa6a552339e2ae4-78975A25-F07A-C575-C98E299C0CDC2142/SMF-28-100-SpecSheet.pdf>
- [59] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en :
<https://www.thorlabs.com/drawings/caa6a552339e2ae4-78975A25-F07A-C575-C98E299C0CDC2142/FPL1009S-SpecSheet.pdf>
-

-
- [60] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en : <https://www.thorlabs.com/drawings/caa6a552339e2ae4-78975A25-F07A-C575-C98E299C0CDC2142/CLD1015-EnglishManual.pdf>
- [61] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en : <https://www.thorlabs.com/drawings/caa6a552339e2ae4-78975A25-F07A-C575-C98E299C0CDC2142/PM100D-Manual.pdf>
- [62] Consultado el 11 de mayo del 2025 y disponible en : <https://dl.cdn-anritsu.com/en-au/test-measurement/files/Manuals/Operation-Manual>
- [63] Villegas-Cantorán, D. S., Gómez, C. L., Del Carmen Gómez-Pavón, L., Zaca-Morán, P., Castillo-López, D. N., Luis-Ramos, A., and Muñoz-Pacheco, J. M. (2023). Quantification of hCG Hormone Using Tapered Optical Fiber Decorated with Gold Nanoparticles. *Sensors*, 23(20), 8538. <https://doi.org/10.3390/s23208538>
- [64] Sarigul, N., Kurultak, İ., Uslu Gökceoğlu, A., and Korkmaz, F. (2021). Urine analysis using FTIR spectroscopy: A study on healthy adults and children. *Journal of biophotonics*, 14(7), e202100009. <https://doi.org/10.1002/jbio.202100009>
- [65] Alejandro C. Olivieri, Graciela M. Escandar, Chapter 6 - Analytical Figures of Merit, Editor(s): Alejandro C. Olivieri, Graciela M. Escandar, Practical Three-Way Calibration, Elsevier, 2014, Páginas 93-107.
- [66] Joint Committee for Guides in Metrology. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM. 2008;100
- [67] De Acha, N., Socorro-Leránoz, A. B., Elosúa, C., and Matías, I. R. (2021). Trends in the Design of Intensity-Based Optical Fiber Biosensors (2010–2020). *Biosensors*, 11(6), 197. <https://doi.org/10.3390/bios11060197>
- [68] Shrivastava, Alankar. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*. 2. 21-25. 10.4103/2229- 5186.79345.
- [69] Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., and Crouch, S. R. (2014). Skoog and West's fundamentals of analytical chemistry. En Cengage Learning eBooks. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BB19657781>
- [70] Gnoth, C., and Johnson, S. (2014). Strips of Hope: Accuracy of Home Pregnancy Tests and New Developments. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 74(7), 661–669. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368589>
- [71] Villegas-Cantorán, D. S., (2021), DISEÑO DE UN SENSOR FOTÓNICO BIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE LA HORMONA hCG, [Tesis de maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla], repositorio institucional. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/11831>
- [72] Ogino, H., Shibamoto, Y., Takanaka, T., Suzuki, K., Ishihara, S., Yamada, T., Sugie, C., Nomoto, Y., and Mimura, M. (2005). CNS germinoma with elevated serum human chorionic gonadotropin level: clinical characteristics and treatment outcome. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 62(3), 803–808. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.10.026>
-

-
- [73] Iles, R., Persad, R., Trivedi, M., Sharma, K., Dickinson, A., Smith, P., and Chard, T. (1996b). Urinary concentration of human chorionic gonadotrophin and its fragments as a prognostic marker in bladder cancer. *British Journal Of Urology*, 77(1), 61-69. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.1996.82910.x>
- [74] Iles, R. K., and Chard, T. (1991). Human chorionic gonadotropin expression by bladder cancers: biology and clinical potential. *The Journal of urology*, 145(3), 453-458. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)38367-2](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)38367-2)
- [75] Fukutani, K., Libby, J. M., Panko, W. B., and Scardino, P. T. (1983). Human chorionic gonadotropin detected in urinary concentrates from patients with malignant tumors of the testis, prostate, bladder, ureter and kidney. *The Journal of urology*, 129(1), 74-77. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)51926-6](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)51926-6)
- [76] Hotakainen, K., Ljungberg, B., Paju, A., Rasmuson, T., Alfthan, H., and Stenman, U. H. (2002). The free beta-subunit of human chorionic gonadotropin as a prognostic factor in renal cell carcinoma. *British journal of cancer*, 86(2), 185-189. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600050>
- [77] Marcillac, I., Troalen, F., Bidart, J. M., Ghillani, P., Ribrag, V., Escudier, B., Malassagne, B., Droz, J. P., Lhommé, C., and Rougier, P. (1992). Free human chorionic gonadotropin beta subunit in gonadal and nongonadal neoplasms. *Cancer research*, 52(14), 3901-3907.
- [78] Wong, Y. P., Tan, G. C., Aziz, S., Pongprakyun, S., and Ismail, F. (2015). Beta-human Chorionic Gonadotropin-secreting Lung Adenocarcinoma. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS*, 22(4), 76-80.
- [79] Mustafa, A., Bozdogan, Z., Tepe, N. B., and Ozcan, H. C. (2016). An unexpected reason for elevated human chorionic gonadotropin in a young woman. *Cervical squamous carcinoma. Saudi medical journal*, 37(8), 905-907. <https://doi.org/10.15537/2016.8.14529>
- [80] Bepler, G., Jaques, G., Oie, H. K., and Gazdar, A. F. (1991). Human chorionic gonadotropin and related glycoprotein hormones in lung cancer cell lines. *Cancer letters*, 58(1-2), 145-150. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(91\)90037-i](https://doi.org/10.1016/0304-3835(91)90037-i)
- [81] Abney, T. O., Teran, A. Z., Mahesh, V. B., Mullins, W. B., and Greenblatt, R. B. (1988). Fibrocystic breast disease: the significance of beta-human chorionic gonadotropin and other polypeptides in breast cyst fluid. *Fertility and sterility*, 49(4), 638-643. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)59832-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)59832-x)
- [82] Grossmann, M., Hoermann, R., Gocze, P. M., Ott, M., Berger, P., and Mann, K. (1995). Measurement of human chorionic gonadotropin-related immunoreactivity in serum, ascites and tumour cysts of patients with gynaecologic malignancies. *European journal of clinical investigation*, 25(11), 867-873. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1995.tb01697.x>
- [83] Komarnicki, P., Gut, P., Cieślewicz, M., Musiałkiewicz, J., Maciejewski, A., Czupińska, M., Mastorakos, G., and Ruchała, M. (2024). Serum beta-hCG as a Biomarker in Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Rethinking Single-Analyte Approach. *Cancers*, 16(11), 2060. <https://doi.org/10.3390/cancers16112060>
-