TRANSDUCTOR DE FIBRA ÓPTICA CON POTENCIAL USO COMO BIOSENSOR

Modalidad: Exploratorio

KATHERIN GARCÉS MONTOYA

Trabajo de grado para optar al título de ingeniera biomédica

Dr. Yeison Javier Montagut Ferizzola Dr. Yamile Cardona Maya



UNIVERSIDAD EIA INGENIERÍA BIOMÉDICA ENVIGADO 2019

AGRADECIMIENTOS

A Yeison por confiar en mí e incluirme en este proyecto, por comprometerse con este trabajo de grado y por su arduo conocimiento. Gracias por su motivación y su apoyo y por halagar tanto este trabajo, nada me hizo más feliz que escucharlo decir que las gráficas estaban hermosas.

A Yamile por enseñarme con tanta paciencia y mostrarme un poquito de su mundo. Gracias por su dedicación y constancia.

A Jackeline por ser tan servicial y dispuesta.

A mi familia y amigos por apoyarme y hacerme reír cuando del estrés solo quería llorar.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	12
PRELIMINARES	14
1.1 Planteamiento del problema	14
1.1.1 Formulación del problema	14
1.1.2 Justificación del problema	16
1.2 Objetivos del proyecto	17
1.2.1 Objetivo General	17
1.2.2 Objetivos Específicos	17
1.3 Marco de referencia	17
1.3.1 Antecedentes	17
1.3.2 Marco teórico	19
1.3.2.1. Biosensores	19
1.3.2.2. Biosensores de fibra óptica	21
1.3.2.2.1. Fibra óptica	22
Composición de la fibra óptica	22
Tipos de fibra óptica	23
Interferometría y principio de funcionamiento	24
Leyes básicas de la óptica	24
Campo evanescente	29
■ Interferómetro	30
1.3.2.2.2. Adelgazamiento de fibra óptica	31

	■ Por	desbaste	31
	1.3.2.3.	Grados Brix	32
	1.3.2.4.	Crecimiento bacteriano	32
	1.4. Hip	ótesis	33
2.	METOD	OLOGÍA	34
	2.1. Dis	eño y fabricación del transductor	34
	2.1.1.	Empalme de la fibra (SMS)	34
	2.1.2.	Fabricación de la celda de trabajo	38
	2.1.3.	Posicionamiento de la fibra sobre la celda de trabajo	39
	2.1.4.	Adelgazamiento de la fibra	41
	2.2. Car	acterización óptica y dimensional	41
	2.2.1.	Caracterización óptica	41
	2.2.1.1.	Preparación soluciones	41
	2.2.1.2.	Visualización del espectro óptico	43
	2.2.1.3.	Análisis de datos	45
	2.2.2.	Caracterización dimensional	46
	2.2.2.1.	Montaje de la fibra sobre pin del SEM	46
	2.2.2.2.	Visualización y almacenamiento de imágenes obtenidas en el SEM	47
	2.2.2.3.	Análisis de datos	48
	2.3. Fur	ncionamiento como biosensor	48
	2.3.1.	Grados Brix	48
	2.3.1.1.	Preparación de soluciones	49
	2.3.1.2	Sensor de grados Brix	50

	2.3.1.3.	Visualización del espectro óptico	. 50
	2.3.1.4.	Análisis de datos	. 51
	2.3.2.	Crecimiento bacteriano	. 51
	2.3.2.1.	Fabricación y caracterización de fibras	. 51
	2.3.2.2.	Obtención de medio de cultivo	. 51
	2.3.2.3.	Medición de espectros	. 51
	2.3.2.4.	Análisis de datos	. 52
	2.4. Rep	petibilidad	. 52
	2.4.1.	Fabricación de transductores	. 52
	2.4.2.	Caracterización óptica y dimensional	. 52
	2.4.3.	Análisis de datos	. 53
3.	. PRESEI	NTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	. 54
	3.1. Disc	eño y fabricación del transductor:	. 54
	3.2. Car	acterización óptica y dimensional	. 58
	3.3. Fun	cionamiento como biosensor	. 68
	3.3.1.	Grados Brix	. 68
	3.3.2.	Crecimiento bacteriano	. 71
	3.4. Rep	petibilidad	. 75
1	CONCL	ISIONES Y CONSIDERACIONES FINALES	70

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Límites de detección de algunos sensores o pruebas	15
Tabla 2. Características estructurales fibra multimodo	23
Tabla 3. Características estructurales fibra monomodo.	24
Tabla 4. Especificaciones técnicas fibra SM.	35
Tabla 5. Especificaciones técnicas fibra MM no core.	35
Tabla 6. Índice de refracción de las soluciones de cloruro de sodio	42
Tabla 7. Parámetros para la toma de imágenes en el SEM.	48
Tabla 8. Soluciones de glicerina.	49
Tabla 9. Grados Brix de las soluciones de glicerina utilizadas.	50
Tabla 10. Tiempo de adelgazamiento vs. Sensibilidad	62
Tabla 11. Tiempo de adelgazamiento vs. Diámetro	65
Tabla 12. Valores de sensibilidad y diámetro obtenidos para evaluar repetibilidad	76

LISTA DE FIGURAS

pág.
Figura 1. Funcionamiento básico de un biosensor (Regatos Gómez , 2012) 20
Figura 2. Composición sensor de fibra óptica (Castrellon Uribe)
Figura 3. Composición de la fibra óptica.
Figura 4. Fibra multimodo (Senior, 2009)
Figura 5. Fibra monomodo (Senior, 2009)
Figura 6.(a) Rayo de luz incidente en un medio denso $(n_1 < n_2)$. (b) Rayo de luz incidente en un medio menos denso $(n_1 > n_2)$ (Towhidul Islam)
Figura 7. Haz de luz entrando a la fibra óptica (Towhidul Islam)
Figura 8. Paso del haz de luz por la fibra óptica (Towhidul Islam)
Figura 9. Ensanchamiento del pulso causado por dispersión (Towhidul Islam) 27
Figura 10. Interferencia constructiva (Goff, 2002)
Figura 11. Interferencia destructiva (Goff, 2002)
Figura 12. Campo evanescente en una fibra monomodo (Marrujo García , 2015) 30
Figura 13. Ejemplo de una fibra óptica adelgazada (Marrujo García , 2015) 31
Figura 14. Curva de crecimiento bacteriano (Universidad Nacional Autónoma de México).
Figura 15. Configuración de la fibra a adelgazar
Figura 16. (a) Eliminar el recubrimiento plástico de la fibra, (b) Retirar los residuos (PROMAX, 2019)
Figura 17. Clivado de la fibra (PROMAX, 2019)
Figura 18. Posición de los extremos sobre la empalmadora (PROMAX, 2019) 37
Figura 19.Diseño de celda de trabajo

Figura 20. Ubicación de la fibra sobre la celda de trabajo	39
Figura 21. Fibra empalmada y posicionada sobre la celda de trabajo	40
Figura 22. Montaje para medir espectro óptico.	43
Figura 23. Desplazamiento de la señal debido al cambio de índice de refracción	44
Figura 24. Medición de longitud de onda.	45
Figura 25. Implementos necesarios para el montaje de muestras (a) Pinzas Almohadillas.	
Figura 26. Manipulación del pin.	47
Figura 27. Fibra adelgazada 50 minutos (MM con núcleo)	55
Figura 28. Espectro fibra adelgazada 35 minutos.	56
Figura 29. Espectro fibra adelgazada 40 minutos.	57
Figura 30. (a) Porción de espectro fibra adelgazada 35 minutos. (b) Porción de esp fibra adelgazada 40 minutos.	
Figura 31. (a) Superficie de la fibra después del adelgazamiento (b) Superficie de la con medidas.	
Figura 32. Espectro fibra adelgazada 45 minutos.	50
	00
Figura 33. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1520 y 1530 nm)	
Figura 33. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1520 y 1530 nm) Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm)	60
	60 60
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm)	60 60 61
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm) Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos	60 61 61
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm) Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos Figura 36. Regresión lineal fibra adelgazada 30 minutos	60 61 61 62
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm) Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos Figura 36. Regresión lineal fibra adelgazada 30 minutos Figura 37. Regresión lineal fibra adelgazada 55 minutos	60 61 61 62
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm) Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos Figura 36. Regresión lineal fibra adelgazada 30 minutos Figura 37. Regresión lineal fibra adelgazada 55 minutos Figura 38. Relación tiempo vs. Sensibilidad de las fibras adelgazadas	60 61 61 62 63
Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm) Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos Figura 36. Regresión lineal fibra adelgazada 30 minutos Figura 37. Regresión lineal fibra adelgazada 55 minutos Figura 38. Relación tiempo vs. Sensibilidad de las fibras adelgazadas Figura 39. Imagen del SEM fibra óptica sin adelgazar	60 61 61 63 63

Figura 42. Relación entre diámetro y sensibilidad	66
Figura 43. Espectro fibra adelgazada 75 minutos.	66
Figura 44. Imagen del SEM fibra óptica adelgazada 75 minutos	67
Figura 45. Espectro de fibra 5 con cambios de concentración en una solución de glice	
Figura 46. Relación entre °Bx y Longitud de onda fibra 5	70
Figura 47. Espectro de fibra 7 con cambios de concentración en una solución de glice	
Figura 48. Relación entre °Bx y Longitud de onda fibra 7	71
Figura 49. Espectro fibra adelgazada para prueba de crecimiento bacteriano	72
Figura 50. Toma 1 crecimiento bacteriano (17 horas)	72
Figura 51. Toma 2 crecimiento bacteriano (22 horas)	73
Figura 52. Toma 3 crecimiento bacteriano (25 horas)	73
Figura 53. Desplazamiento debido al crecimiento bacteriano.	74
Figura 54. Relación desplazamiento vs. tiempo.	74
Figura 55. Espectro fibra adelgazada 45 minutos (Fibra 6)	75
Figura 56. Dispersión de valores de sensibilidad obtenidos	77
Figura 57. Dispersión de valores de diámetro obtenidos	77
Figura 58. Dispersión sensibilidad v diámetro fibras adelgazadas 45 minutos	78

RESUMEN

El desarrollo de nuevos dispositivos médicos como biosensores, atiende a la necesidad de detectar enfermedades de manera sencilla y eficiente con el fin de facilitar su diagnóstico y dar paso a su oportuno tratamiento. Actualmente, la prueba que se utiliza con más frecuencia para cumplir está función es el E.L.I.S.A (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - Ensayo inmunosorbente ligado a enzimas) que se ha probado cuenta con alto nivel de sensibilidad y efectividad al momento de realizar estas evaluaciones; sin embargo, la implementación de esta prueba es costosa y requiere equipo especializado y personal capacitado. Otra aplicación particular que hace parte del área de los biosensores está relacionada con la detección de bacterias en medios de cultivo o productos, prueba que es altamente aplicada en el área de alimentos y salud, sin embargo, los métodos usados en la actualidad cuentan con la desventaja de requerir demasiado tiempo para la obtención de resultados, lo que limita la detección a tiempo y el tratamiento eficaz del producto afectado. Con el fin de mejorar estos dispositivos, se estudia el desarrollo de nuevos transductores con un alto nivel de sensibilidad.

Una alternativa que ha mostrado resultados eficientes y se ha empezado a estudiar es la implementación de transductores de fibra óptica en el desarrollo de sensores. Actualmente, existen diferentes técnicas de fabricación y desarrollo que han ido ampliando el campo de estudio hacia el tema de aplicaciones relacionadas con biosensores.

Teniendo en cuenta esto, se diseñó un transductor de fibra óptica que puede ser utilizado como biosensor; este se desarrolló a partir del adelgazamiento por medios químicos de una configuración de fibra óptica SingleMode-MultiMode-SingleMode (SMS). Posterior a la fabricación del transductor, se probó su funcionamiento como sensor a partir de la visualización de su espectro óptico y su desplazamiento correspondiente cuando se somete al transductor a diferentes soluciones con un índice de refracción conocido, esto además permitió determinar la sensibilidad del transductor. Adicionalmente, se midió el diámetro final de las fibras adelgazadas.

Finalmente, se realizó una prueba que permitió evaluar su aplicabilidad como biosensor realizando la medición de °Bx en una solución de glicerina. Esto permitió concluir que los transductores de fibra óptica pueden ser utilizados en aplicaciones de biosensores y presentan una ventaja considerable respecto a los tiempos de medición y al personal necesitado para llevar a cabo las pruebas; sin embargo, son un área con mucho potencial que debe ser estudiada a mayor profundidad.

Palabras clave: dispositivos médicos, biosensores, fibra óptica, diagnóstico, detección, tratamiento y adelgazamiento.

ABSTRACT

The development of new medical devices as biosensors, addresses the need to detect diseases in a simple and efficient way in order to facilitate its diagnosis and give way to its timely treatment. Currently, the test that is most frequently used to fulfill this function is the E.L.I.S.A (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) that has been proven to have a high level of sensitivity and effectiveness at the time of performing these evaluations; however, the implementation of this test is expensive and requires specialized equipment and trained personnel. Another particular application that is part of the area of biosensors is related to the detection of bacteria in culture media or products, proof that it is highly applied in the area of food and health, however, the methods used today have the disadvantage of requiring too much time to obtain results, which limits the detection in time and the effective treatment of the product concerned. In order to improve these devices, the development of new transducers with a high level of sensitivity is studied.

An alternative that has shown efficient results and has begun to study is the implementation of fiber optic transducers in the development of sensors. Currently, there are different manufacturing and development techniques that have expanded the field of study towards the topic of applications related to biosensors.

A fiber optic transducer was designed that can be used as a biosensor; this was developed from the chemical thinning of a SingleMode-MultiMode-SingleMode (SMS) fiber optic configuration. After the manufacture of the transducer, its operation as a sensor was tested from the visualization of its optical spectrum and its corresponding displacement when the transducer is subjected to different solutions with a known refractive index, this also allowed to determine the sensitivity of the transducer. Additionally, the final diameter of the thinned fibers was measured.

Finally, a test was carried out that allowed to evaluate its applicability as a biosensor by measuring °Bx in a glycerin solution. This allowed us to conclude that fiber optic transducers can be used in biosensor applications and have a considerable advantage over the measurement times and personnel needed to carry out the tests; however, they are an area with a lot of potential that must be studied in greater depth.

Keywords: medical devices, biosensors, fiber optics, diagnosis, detection, treatment and weight loss.

INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo de grado se expone el desarrollo de un transductor de fibra óptica y su posterior evaluación para determinar su funcionamiento como biosensor. Actualmente, aunque existen varias alternativas con un alto nivel de sensibilidad para realizar diagnóstico de enfermedades o detección de factores biológicos, se presentan inconvenientes relacionados con el alto costo de las pruebas (debido a los costos de los equipos utilizados y a la necesidad de personal muy calificado) y tiempos de espera muy extensos. Para dar solución a este problema, se planteó el desarrollo de una nueva alternativa de sensor que ha sido estudiada brevemente y que ha mostrado resultados favorables.

La alternativa solución propuesta consiste en desarrollar un transductor de fibra óptica a partir de un método de adelgazamiento químico que puede ser potencialmente utilizado como biosensor. Se escoge esta alternativa porque ha sido estudiada como un tipo de transductor con un alto potencial de sensibilidad que puede ser utilizado en aplicaciones variadas. De acuerdo con los antecedentes encontrados, se han evaluado los sensores de fibra óptica a partir de métodos de fabricación diferentes en aplicaciones de sensores relacionados con el área de alimentos, control ambiental, etc., por lo tanto, se considera que a partir de un método de fabricación químico puede encontrarse un transductor que puede ser evaluado en aplicaciones de biosensores.

Inicialmente se presenta un despliegue bibliográfico que permite entender el problema y que muestra diferentes métodos de diagnóstico y detección actuales, además, se presentan algunas alternativas de solución que han sido evaluadas y han mostrado una mejoría favorable comparada con los métodos actuales y sus inconvenientes particulares. Encabezando la lista de dispositivos sensitivos alternativos se encuentran los sensores de fibra óptica que han mostrado un límite de detección similar a los de las pruebas actuales y un gran potencial de desempeño en el área de biosensores.

Con el fin de evaluar la factibilidad de uso de los transductores de fibra óptica como potenciales biosensores, este trabajo de grado se dividió en tres etapas principales. Inicialmente, se abordó el tema de fabricación y desarrollo del transductor, en esta etapa se definen variables fundamentes como el tipo de fibra óptica a utilizar y el protocolo de fabricación de esta, además, se evalúa su funcionamiento modificando los valores de diferentes variables que afectan directamente factores como la sensibilidad del transductor. De este modo, se presenta un protocolo de fabricación de los transductores.

La segunda etapa consiste en evaluar el funcionamiento de los diferentes sensores fabricados, esto se realiza a partir de una caracterización óptica y dimensional que permite encontrar la sensibilidad de los transductores dadas en nm/RIU y relacionar este valor con el diámetro obtenido posterior al adelgazamiento de la fibra. Este proceso se lleva a cabo a partir de la medición del espectro óptico de las fibras cuando se someten a soluciones con índices de refracción conocido y utilizando una regresión lineal para determinar

particularmente la sensibilidad. Para medir el diámetro de las fibras se presenta el protocolo de montaje de las muestras para ser evaluadas en un microscopio electrónico de barrido.

Con estas dos primeras etapas, es posible encontrar una relación entre el tiempo de adelgazamiento, la sensibilidad y el diámetro obtenido. A partir de esto, se plantea un protocolo de evaluación que permite determinar si efectivamente el transductor desarrollado puede ser utilizado como biosensor. El protocolo se lleva a cabo fabricando fibras con una relación de sensibilidad y diámetro apropiadas que permitan la medición y faciliten la manipulación de las fibras.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, finalmente se presenta la tercera etapa que consiste en evaluar el desempeño del transductor en aplicaciones particulares. Inicialmente, se presenta una aplicación básica que permite medir los grados Brix en una solución de glicerina con diferentes concentraciones. Los resultados obtenidos evidencian un desplazamiento de los espectros a medida que varía la concentración de sacarosa en las soluciones; lo que evidencia que, el transductor puede ser utilizado en una aplicación básica de biosensores.

Esta prueba presentada como una aplicación potencial de biosensores es en sí misma una prueba de concepto pues no arroja un valor específico sobre los °Bx de cada solución, sin embargo, permiten evidenciar cambios en la señal debido al aumento de la concentración de sacarosa en la solución.

Como segunda prueba y aplicada directamente al área de biosensores se presenta un protocolo usado para evaluar crecimiento bacteriano en un medio inoculado. Los resultados presentados evidenciar un crecimiento bacteriano exponencial con el paso del tiempo en el medio inoculado.

Finalmente, se presenta una prueba de repetibilidad desarrollada a partir de la comparación de los datos de sensibilidad y diámetro obtenidas cuando se fabrican 10 fibras bajo las mismas condiciones. Con las pruebas realizadas, se presentan conclusiones relacionadas con el desarrollo de esta alternativa de solución y se muestran algunas sugerencias para investigaciones futuras que permitirán perfeccionar los métodos de fabricación y evaluación.

PRELIMINARES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 Formulación del problema

Actualmente, el desempeño de los biosensores en aplicaciones como diagnóstico de enfermedades o detección de crecimiento bacteriano presentan variadas complicaciones debido a los métodos utilizados con este propósito, ya sea por los altos costos de implementación o por los largos tiempos de espera que estos requieren.

En el área de diagnóstico de enfermedades y patologías, el principal problema se encuentra en que los métodos de diagnóstico existentes son altamente costos y requieren de personal muy calificado para ser llevados a cabo. Ejemplo de este es la prueba E.L.I.S.A (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - Ensayo inmunosorbente ligado a enzimas), esta se empezó a implementar como una alternativa muy favorable de ensayos radioinmunes y permite estimar cuantitativamente anticuerpos específicos; una de sus principales ventajas es la posibilidad de uso para la detección de antígenos circulantes, por esto es la prueba más utilizada con este propósito (World Health Organization, 1976). En el área de la salud se ha implementado para realizar seguimiento de enfermedades infecciosas de tipo bacteriana (sífilis, tuberculosis, cólera, etc.), parasitaria (malaria, oncocercosis, amebiasis, etc.), viral (hepatitis B, herpes, influenza, etc.) y micótica (candidiasis, etc.) (Buxton, Crockett, & Rissing, 1979).

ELISA ha sido por mucho tiempo el estándar en pruebas inmunológicas debido a su comprobada aplicabilidad, sin embargo, se ha tratado de continuar desarrollando nuevos sensores que cuenten con mejores características de sensibilidad, tiempo de detección entre otros (March, y otros, 2015).

En detección de crecimiento bacteriano el método más utilizado consiste en la identificación bacteriana por medio de métodos convencionales basado en características fenotípicas, es decir, características observables de las bacterias como su morfología, desarrollo, etc., este es el método más implementado debido a que es el más económico y el que requiere menos equipos especializados para su implementación, sin embargo, su principal inconveniente radica en los largos tiempos de espera necesarios para la obtención de resultados (Bou, Fernández-Olmos, García, Sáez-Nieto, & Valdezate, 2011). Estos tiempos de espera representan grandes costos para las diferentes industrias. Para esta aplicación particular también se ha buscado desarrollar nuevos tipos de sensores, sin embargo, aunque se ven reducidos los tiempos de espera, los costos aumentan, ejemplo de esto son los métodos moleculares.

Por otro lado, un biosensor puede definirse como un dispositivo capaz de detectar analitos usando un reconocimiento molecular rápido, directo y específico. Generalmente los biosensores están compuestos por dos elementos fundamentales: (1) un receptor biológico (como proteínas, ADN, células, entre otros) que detecta de manera específica una sustancia (analito); y (2) un transductor o sensor capaz de interpretar la reacción de

reconocimiento biológico que produce el receptor y transducirla en una señal cuantificable. Además de la sensibilidad y selectividad, una de las características fundamentales que hace tan potenciales a la mayoría de los biosensores es la posibilidad de realizar el análisis de la sustancia a determinar en tiempo real y de forma directa (sin necesidad de la intervención de un marcador) (Regatos Gómez , 2012).

Entre las diferentes técnicas que son objeto de estudio en el campo de los biosensores se destacan los biosensores electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos, termométricos y nanomecánicos. Los biosensores ópticos han demostrado ser una solución poderosa para la detección y el análisis en aplicaciones de investigación biomédica (Betancur Ochoa, 2015). Con el fin de determinar el nivel de sensibilidad de un sensor, se utiliza el término límite de detección (LOD), que evidencia cuál es la concentración mínima de analito que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico.

Con el objetivo de desarrollar técnicas alternativas de diagnóstico y detección que resuelva algunos de los problemas que tienen los métodos convencionales de diagnóstico, se han desarrollado diferentes tipos de biosensores en los cuales varían las condiciones de desarrollo y materiales del transductor y se ha evaluado la sensibilidad obtenida con cada una de estas alternativas (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Límites de detección de algunos sensores o pruebas

Sensor o prueba	Límite de detección	Molécula
E.L.I.S.A (Rodriguez	n a/ml	HBsAg
Pelier, y otros, 2017)	ng/mL	HIDSAY
Biosensores SPR		
(Treviño Castrillo,	ng/mL	hGH
2009)		
HFF QCM (100MHz)		
(Buitrago Mejía,	μg/mL	BSA
2017)		
QCM (10MHz)		
(Ocampo, Jaramillo,	μg/mL	BSA-TS1
March, & Montoya,		DOATOT
2011)		

De los biosensores mostrados, se evidencia un aumento en el orden del límite de detección cuando se varía el tipo de transductor y su funcionamiento (material y frecuencia). Esto indica que la variación de la sensibilidad se ve directamente relacionada con el transductor, concretamente con el principio de funcionamiento de este.

Si existiera un transductor con un nivel de sensibilidad comparable con los obtenidos con el método estándar ELISA, pero con tiempos de detección más cortos y costos más reducidos, será posible mejorar la eficiencia y eficacia de los procesos de evaluación, diagnóstico y detección de enfermedades.

En la bibliografía se ha encontrado que las fibras ópticas cuentan con un alto potencial en el tema de desarrollo de sensores, por lo tanto, se consideran una alternativa favorable para el desarrollo de transductores que permitirán evaluar diferentes variables con sensibilidades altas.

¿Cómo diseñar un nuevo tipo de transductor óptico?

1.1.2 Justificación del problema

Los sensores son dispositivos que transforman información física en una señal que pueda ser procesada y analizada digitalmente, facilitando la adquisición de datos de interés sin necesidad de realizar procesos de evaluación muy complejos (Ruíz, 2006). Debido a esto y a los grandes avances tecnológicos que soportan estos dispositivos, son ahora un área de gran interés para la industria.

Los biosensores particularmente tienen un amplio campo de acción en evaluación y mejora de procesos industriales (González Rumayor, García Iglesias, Ruiz Galán, & Gago Cabezas, 2005), monitoreo del ambiente (García Balboa, Costas, & López Rodas, 2012), control alimenticio (González Rumayor, García Iglesias, Ruiz Galán, & Gago Cabezas, 2005) y cuidado de la salud a partir de muestras de sangre evaluación de fluidos biológicos, iones, metabolitos y otras características más que puedan mostrar el estado de los pacientes (Mendoza Madrigal, y otros, 2013); la efectividad de los sensores en las aplicaciones mencionadas está relacionada con la sensibilidad de este (Eggins, 2002). Actualmente, existen múltiples sensores con aplicaciones específicas en el ámbito industrial, sin embargo, en el área de la salud no se cuenta con dispositivos que puedan cumplir con estas funciones en periodos de tiempo cortos y a bajo costo.

A partir del desarrollo de dispositivos sensitivos con un alto nivel de sensibilidad se hace posible la detección de enfermedades en fase temprana y en tiempo real y se facilita la realización de diagnósticos médicos como: glucosa, urea, lactato, hepatitis B, candida albicans, colesterol, penicilina, sodio, potasio, calcio, oxígeno y pH (Eggins, 2002).

Con el desarrollo de nuevos métodos de diagnósticos, más sensibles y efectivos, se evita la utilización de pruebas de detección de altos costos que, además, son difíciles de trasladar entre diferentes zonas geográficas, especialmente las que no cuentan con acceso al sistema de salud, debido al gran tamaño de sus equipos, a la tecnología requerida y a las personas que deben ser expertas en el manejo de estas. Mejorando, no sólo los procesos de evaluación que se dan actualmente, sino facilitando el acceso a un número más alto de población con costos menores. Además, si se cuenta con medios diagnósticos rápidos, es posible llevar a cabo los tratamientos en tiempos oportunos, mejorando la esperanza de vida de los pacientes y disminuyendo las posibles muertes debido a diagnostico incorrecto.

1.2 OBJETIVOS DEL PROYECTO.

1.2.1 Objetivo General

Desarrollar un transductor de fibra óptica que pueda ser utilizado en aplicaciones de biosensores del tipo inmunosensores.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Construir un transductor de fibra óptica de tipo interferómetro modal, utilizando las condiciones más adecuadas de tiempo y concentración de reactivo.
- Establecer las propiedades ópticas y dimensionales mediante caracterización.
- Evaluar el funcionamiento del interferómetro como transductor para biosensor a partir de la sensibilidad del índice de refracción obtenido.

1.3 MARCO DE REFERENCIA

1.3.1 Antecedentes

Debido a sus propiedades, las fibras ópticas sirven de base para el desarrollo de sensores de diversas variables físicas, detección de sustancias químicas y bioquímicas y otros dispositivos fotónicos en el procesamiento de señales. Al realizar un sistema de adelgazamiento de fibras ópticas cilíndricas monomodo con diámetros de cintura de 18 a 3 µm, se determinó que es posible obtener tapers con baja pérdida de conversión de modo, sin embargo, algunos presentaron resonancia en su respuesta espectral, lo que puede ser particularmente útil en el desarrollo de sensores de fibra óptica (Marrujo García , 2015). Con esta fundamentación teórica, es posible concluir que las fibras ópticas poseen capacidades óptimas para su implementación como sensor y que los resultados obtenidos pueden ser cuantificables y analizables.

Con el objetivo de encontrar el principio óptico más adecuado para trabajar con fibras ópticas y determinar a qué se pueden aproximar, se diseñó un láser de fibra óptica compuesto por cavidades acopladas y se evalúo su funcionamiento como sensor. El principio que se tuvo en cuenta fueron las rejillas de Bragg, estas poseen varias aplicaciones en áreas de investigación diversas como comunicaciones ópticas, sensores y lásers de fibra óptica debido a sus características intrínsecas; a partir de esto, se construye un láser basado en tres rejillas de Bragg. Debido a su configuración y diseño, el arreglo puede ser usado como sensor de dos puntos y modificando determinados aspectos se pueden medir variables como la tensión o temperatura (Vázquez Sánchez, y otros, 2004). Con los resultados de la investigación, se concluye que es posible implementar los diferentes principios ópticos en el desarrollo de dispositivos sensitivos y utilizar bases teóricas al tema de los biosensores para obtener un alto rango de aplicaciones.

Con fundamentos teóricos que indican el correcto funcionamiento de las fibras, es necesario estudiar el proceso de sensibilización que las hace aptas para su implementación como

sensores. Aunque hay variadas investigaciones que buscan encontrar un método de adelgazamiento confiable y óptimo, se estudia la técnica de adelgazamiento mecánico (fusión y estiramiento), que tiene menor costo y permite repetitividad en el experimento. A partir de esto, es posible concluir que esta técnica es más precisa y que puede ser utilizada para sensibilizar más la fibra (Cárdenas Sevilla, 2008). Con técnicas de adelgazamiento estudiadas y comprobado su funcionamiento, es posible implementarlas en el desarrollo de sensores de fibra óptica, pues existen procesos adecuados para su sensibilización.

Reconociendo las técnicas que aumentan la sensibilidad del sensor, se pasa a determinar si cambios en la morfología y estructura de este pueden ser favorables para su implementación; con este objetivo, se diseña un interferómetro de fibra óptica con una variación de los brazos, es decir, cambio en la zona de la fibra que no es sensibilizada. Con dicho cambio se busca identificar los efectos de este en la propagación de luz en diferentes ambientes, se mide el índice de refracción obtenido con la fibra y se realizan pruebas que permiten controlar la naturaleza, la presión y la temperatura del gas (Arenas Sicard & Múnera Orozco, 2010).

Para determinar qué tipo de sensor es más adecuado, también es necesario realizar pruebas con diversos modelos de interferómetros y con condiciones diferentes. Con este objetivo, se diseñó un sensor óptico que utiliza interferometría de baja coherencia para medir cantidades físicas determinadas basado en una disposición de interferómetros en tándem con un interferómetro de lectura de polarización (Quebec Patente nº 2539007, 2015).

Consecutivamente, ya con estas configuraciones estructurales, se empiezan a buscar aplicaciones apropiadas para los sensores basados en fibra óptica, para esto se determina un modelo de interferómetro a utilizar y se desarrollan pruebas para medir cambios en diferentes medios. Particularmente, se realizan pruebas con un interferómetro que usa fibras monomodo adelgazadas que permite detectar cambios en la intensidad de luz transmitida y cambios en la fase, mostrando buena resolución de las mediciones de los parámetros determinados: temperatura y presión (Salas & Torres Moreno, 2006).

Cuando se empiezan a encontrar las configuraciones óptimas para la implementación de los sensores de fibra óptica, es factible empezar a buscar aplicaciones específicas a partir de las cuales se puedan usar los sensores en temas problemáticos. Un caso es que, actualmente, existe un alto nivel de dificultad para encontrar alteraciones como rupturas de cables de esfuerzo, fugas de tubería, etc. Para esto, se implementa un interferómetro de fibra óptica que permite encontrar la ubicación de las alteraciones previamente mencionadas; con esto, se puede optimizar el funcionamiento de las fibras como sensores (Patente nº 2498815, 2014). Con esta aplicación, se puede mejorar la forma como trabajan las industrias que se encargan de disponer cableado o tubería en zonas subterráneas, pues cuando se encuentran las alteraciones, se conoce con precisión cual es la zona realmente afectada y se evitan procesos largos en los que se tenga que descubrir toda la tubería para encontrar el fallo.

Además de aplicaciones mecánicas, es posible utilizar un sensor químico construido a partir de fibra óptica para medir concentraciones de dióxido de carbono en diferentes ambiente,

esto se hace midiendo las variaciones del índice de refracción en un medio rico en CO₂ a través de cambios en la presión y temperatura controlados, comparando el índice obtenido con el calculado a partir de los conocimientos teóricos (Acosta Peréz, Suárez Castrillón, , & Suárez Castrillón, 2016).

Una de las nuevas tecnologías relacionadas con interferometría está relacionada con la implementación de fibra de cristal fotónico en vez de fibra óptica convencional. Las fibras de cristal fotónico tienen una estructura interna diferente, que las hace más adecuadas para utilizar en comunicación pero que tiene un costo más elevado. Con el fin de determinar cómo funciona esta fibra como sensor, se diseñó un interferómetro que pudiera medir los cambios en el índice de refracción de diferentes soluciones acuosas. Al determinar su correcto funcionamiento, se inició un proceso que pretendía determinar la aplicabilidad biológica, para esto, se probó el interferómetro como biosensor utilizando muestras biológicas con un índice de refracción conocido; con estas pruebas se determinó que la sensibilidad del biosensor permite realizar mediciones de componentes bioquímicos, abriendo un campo grande en la detección de enfermedades (Betancur Ochoa, 2015).

Con todos los trabajos previos encontrados, se puede evidenciar que son muchas las aplicaciones relacionadas con interferómetros a partir de fibra óptica las que pueden encontrarse en el medio, sin embargo, son pocas las que relacionan estas con el desarrollo de biosensores, área que puede ser muy favorecida si se encuentra posibilidad de medir variables y comportamientos biológicos en el diagnóstico de enfermedades.

1.3.2 Marco teórico

1.3.2.1. Biosensores

Según Regatos Gómez (2012), un sensor es un dispositivo capaz de transformar una variable o fenómeno químico o físico en una señal medible que puede ser procesada. Su principal aplicación está relacionada con el control y optimización de procesos industriales, monitorización de constantes vitales, etc. Debido a los poderosos avances de la biotecnología, ha sido posible desarrollar una nueva generación de sensores, denominados biosensores.

Un biosensor es un dispositivo analítico compuesto por un elemento de reconocimiento biológico (enzimas, ADN, anticuerpos, células o un microorganismo) en contacto con un transductor (electroquímico, óptico, magnético, mecánico, etc.) capaz de interpretar la reacción de reconocimiento biológico entre el receptor y su molécula complementaria, y convertirla en una señal que puede ser cuantificada (Regatos Gómez, 2012).

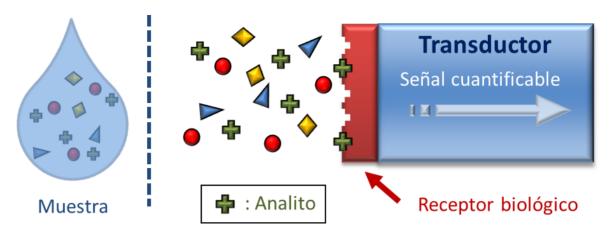


Figura 1. Funcionamiento básico de un biosensor (Regatos Gómez, 2012).

En un biosensor (ver Figura 1), la muestra que se quiere analizar se pone en contacto con el dispositivo, haciendo posible detectar el analito para el cual está diseñado el receptor biológico. Cuando tiene lugar la reacción de reconocimiento biológico entre el analito y el receptor, se producen una serie de cambios fisicoquímicos detectados por el transductor, produciendo este una señal cuantificable proporcional a la concentración del analito detectado.

El receptor biológico y el transductor están integrados conjuntamente, dando a los biosensores las características de selectividad y sensibilidad, además permite realizar análisis en tiempo real y de forma directa. Estas características les brindan a los biosensores la posibilidad de evaluar la cinética de la interacción y, por tanto, visualizar los mecanismos fundamentales de dicha interacción, ejemplo de esto es la evaluación de fármacos.

Los biosensores se pueden clasificar en cuatro grupos teniendo en cuenta el tipo de transductor empleado (Regatos Gómez, 2012):

- Biosensores electroquímicos: el transductor mide el cambio electroquímico que se produce como consecuencia del reconocimiento molecular, este cambio es proporcional a la concentración del analito a determinar. En estos biosensores las enzimas son los tipos más comunes de elementos de bioreconocimiento empleados.
- Biosensores mecano-acústicos: detectan cambios de masa a través de una micro balanza formada por un cristal piezoeléctrico en cuya superficie se encuentra el receptor biológico.
- Biosensores magnéticos: se emplean micro o nanopartículas magnéticas recubiertas con un elemento de reconocimiento molecular encargado de atrapar el analito de interés, además, otro elemento (matriz o gel) debe atrapar las partículas en cuya superficie se ha producido la reacción de reconocimiento. Finalmente, mediante técnicas específicas, se detecta el número de partículas magnéticas con analito en la superficie, siendo la señal magnética proporcional al número de estas.

- Biosensores ópticos: detectan la reacción de reconocimiento a través de los cambios que esta genera en las propiedades ópticas del transductor, a través de fluorescencia, polarización, dispersión, cambios de índice de refracción, etc. Dentro de este tipo de biosensores, existen dos categorías: bio-optrodos y basados en cambio evanescente.
 - Bio-optrodos: una guía de ondas (generalmente fibra óptica) se utiliza como conductor de luz. De esta forma, gracias a la guía de ondas, la luz puede introducirse y recogerse de la celda donde tiene lugar la reacción de reconocimiento molecular. La relación entre el analito y un reactivo inmovilizado en la salida de la fibra óptica produce un cambio cuantificable en las propiedades ópticas del sensor (absorción, fluorescencia, índice de refracción, bioluminiscencia o dispersión). En este tipo de sensores es necesaria la utilización de marcadores ópticamente activos.
 - Basados en campo evanescente: se utiliza la forma particular de que las ondas electromagnéticas pueden ser confinadas y guiadas entre determinados medios o nanoestructuras. En este tipo de biosensor se utiliza el principio de detección de campo evanescente. Determinando la variación experimentada por las condiciones de guiado como consecuencia de la alteración local del índice de refracción, será posible cuantificar la cantidad de analito involucrada en la reacción de reconocimiento molecular.

Un inmunosensor es un tipo de biosensor en el cual se utiliza como componente biológico un inmunorreactivo. En este caso, el elemento objetivo es el antígeno y el anticuerpo se adhiere al receptor; este se convierte en una herramienta conveniente para la detección rápida y simple de virus, proteínas, bacterias y otras células, ácidos nucleicos y moléculas pequeñas como drogas, hormonas y pesticidas (Ocampo, March, & Montoya, 2007).

1.3.2.2. Biosensores de fibra óptica

La tecnología de fibra óptica ha estado en desarrollo durante los últimos 40 años y ha resultado en la producción de varios dispositivos como sensores de temperatura, presión y vibración. Los sensores de fibra óptica ofrecen una serie de ventajas, como mayor sensibilidad en comparación con las técnicas existentes y versatilidad geométrica (Castrellon Uribe).

Los sensores de fibra óptica se han desarrollado para medir una amplia gama de propiedades físicas, como variaciones químicas, deformación, campos eléctricos y magnéticos, temperatura, presión, rotación, desplazamiento, radiación, flujo, nivel de líquido, vibraciones, intensidad de luz y color. Los sensores de fibra óptica son dispositivos que pueden funcionar en entornos hostiles, donde los sensores eléctricos y electrónicos convencionales tienen dificultades.

Como se ilustra en la Figura 2, los componentes de un sensor de fibra óptica son una fuente óptica (lásers, diodos o LED), un transductor y un receptor (fotodetector) para detectar la variación en la señal óptica causada por la perturbación física del sistema. En

estos sistemas, los parámetros ópticos que se pueden modular son la amplitud, la fase, el color (señal espectral) y el estado de polarización.

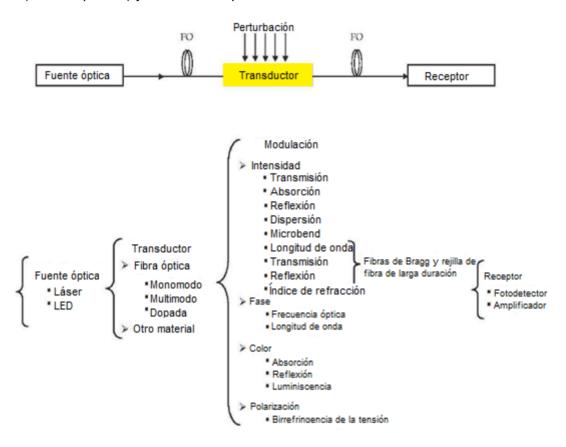


Figura 2. Composición sensor de fibra óptica (Castrellon Uribe).

1.3.2.2.1. Fibra óptica

Composición de la fibra óptica

La fibra óptica está formada por dos componentes básicos (ver Figura 3), cada uno de los cuales debe ser seleccionado de acuerdo con su función específica.

- Núcleo: conforma en sí el sistema responsable guiar las ondas y transmitir los datos. Existen dos variaciones de este que permiten clasificar las fibras en monomodo y multimodo.
- Elementos de protección: Su misión consiste en proteger al núcleo frente al entorno en el cual se encuentre situado el cable, consta de un protector y un revestimiento, superpuestos en capas céntricas alrededor del núcleo.

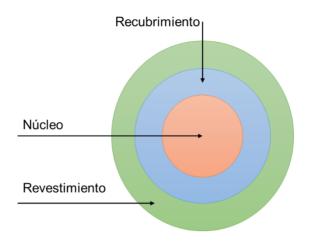


Figura 3. Composición de la fibra óptica.

Tipos de fibra óptica

Las fibras ópticas pueden clasificarse dependiendo del diámetro del núcleo (Senior, 2009)

Fibras multimodo

Tabla 2. Características estructurales fibra multimodo.

Diámetro del núcleo	100 a 300 µm
Diámetro del recubrimiento	140 a 400 µm
Diámetro del revestimiento	400 a 1000 μm
Apertura numérica	0.16 a 0.5

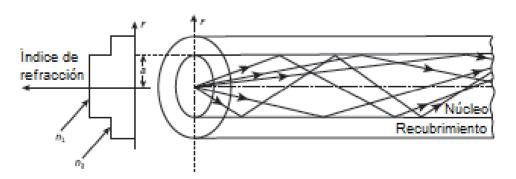


Figura 4. Fibra multimodo (Senior, 2009).

Fibras monomodo:

Tabla 3. Características estructurales fibra monomodo.

Diámetro del núcleo	7 a 11 µm
Diámetro del recubrimiento	125 µm
Diámetro del revestimiento	500 a 1000 µm
Apertura numérica	0.08 a 0.15

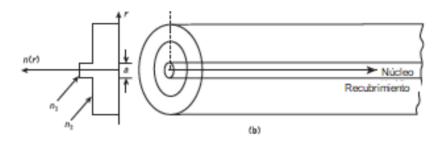


Figura 5. Fibra monomodo (Senior, 2009).

Interferometría y principio de funcionamiento

Leyes básicas de la óptica

La guía de un rayo de luz a través de fibra óptica toma lugar debido al fenómeno de reflexión total interna (TIR). Inicialmente, el índice de refracción de un medio (n) se define como:

Ecuación 1. Índice de refracción de un medio.

$$n=\frac{c}{v}$$

Donde c ($\approx 3x10^8~m/s$) es la velocidad de la luz en el espacio y v representa la velocidad de la luz en este medio.

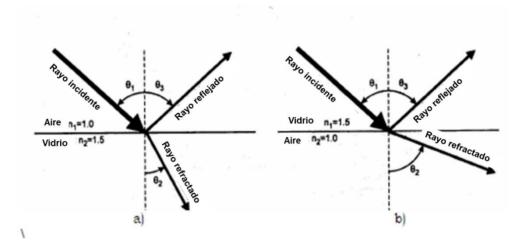


Figura 6.(a) Rayo de luz incidente en un medio denso $(n_1 < n_2)$. (b) Rayo de luz incidente en un medio menos denso $(n_1 > n_2)$ (Towhidul Islam).

Cuando un rayo de luz es incidente en la interfaz de dos medios (como aire y vidrio), el rayo sufre reflexión y refracción parcial, como se muestra en la Figura 6. La línea vertical punteada representa la normal a la superficie. Los ángulos θ_1 , θ_2 y θ_3 representan los ángulos del rayo incidente, el rayo refractado y el reflejado, trazados a partir de la normal. De acuerdo con la ley de Snell y la ley de reflexión:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$$
 y $\theta_1 = \theta_3$

La fibra óptica multimodo solo propaga luz que entre a la fibra con un cono específico, este se conoce como cono de aceptación de la fibra. La mitad del ángulo de este cono se conoce como ángulo de aceptación, θ_{max} .

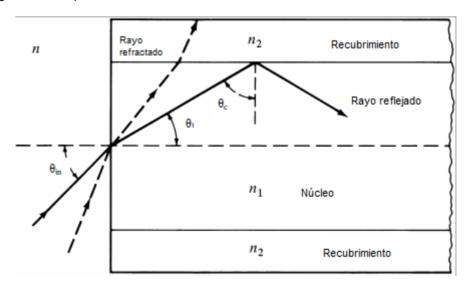


Figura 7. Haz de luz entrando a la fibra óptica (Towhidul Islam)

En la Figura 7, se puede ver como el haz de luz entra desde el aire a la fibra óptica, de un medio menos denso al más denso con un ángulo θ_{in} . Esto causa que la luz se refracte hacia la normal con el ángulo θ_1 . Para que la luz se propague por la fibra óptica, el haz en la interfaz del núcleo y el revestimiento debe tomar un ángulo menos que el crítico θ_c .

Para calcular el ángulo crítico se parte de la ley de Snell's:

Ecuación 2. Ley de Snell.

$$n \sin \theta_{in} = n_1 \sin \theta_1 = n_1 \sin(90 - \theta_c) = n_1 \cos \theta_c$$

$$n \sin \theta_{in} = \frac{n_1 \cos \theta_c}{n}$$

Si mantenemos n = 1:

$$\sin \theta_{in} = n_1 \cos \theta_c = n_1 \sqrt{1 - \sin^2 \theta_c} = n_1 \sqrt{1 - \frac{n_2^2}{n_1}} = n_1 \frac{\sqrt{n_1^2 - n_2^2}}{n_1}$$

$$\sin \theta_{in} = \sqrt{n_1^2 - n_2^2}$$

Siendo θ_{in} conocido como ángulo de aceptación.

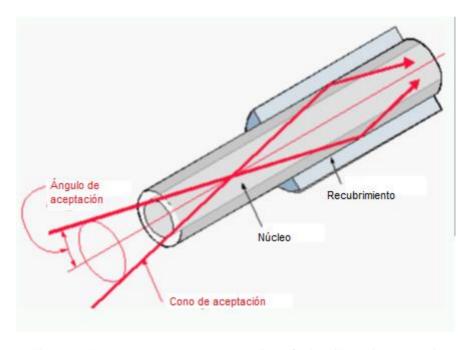


Figura 8. Paso del haz de luz por la fibra óptica (Towhidul Islam).

Conociendo el ángulo de aceptación, es necesario determinar la apertura numérica; esta es la medida del ángulo de aceptación de una fibra óptica, que es el ángulo máximo en el que el núcleo de la fibra tomará la luz que estará contenida dentro del núcleo:

$$NA = \sin \theta_{in}$$

Existen dos rasgos principales que intervienen y permiten determinar el funcionamiento de esta. La atenuación y dispersión representan las características más importantes de una fibra óptica, pues determina la capacidad de transporte de información de un sistema de comunicación.

- Atenuación: es la disminución de la intensidad de la señal a lo largo de una guía de ondas causada por la absorción y la dispersión. Generalmente se expresa en dB/km.
- Dispersión: Expresada como Δt, se define como la propagación de impulsos en una fibra óptica. A medida que un pulso de luz se propaga a través de una fibra, elementos como la apertura numérica, el diámetro del núcleo, el perfil del índice de refracción, la longitud de ondas y el ancho de la línea del láser hacen que el pulso se ensanche. Esto plantea una limitación en el ancho de banda de la fibra como se muestra en la Figura 9.



Figura 9. Ensanchamiento del pulso causado por dispersión (Towhidul Islam).

Con el objetivo de entender la tecnología de los sistemas de transmisión de fibra óptica es necesario entender la naturaleza de la luz, cuya principal característica es que se comporta como una onda (también como una partícula, pero no es una teoría de interés para este tema), además, viaja como una onda oscilante de campos eléctricos y magnéticos. Debido a esto, existen dos fenómenos que afectan el comportamiento de la luz, la interferencia y la polarización (Goff, 2002).

Interferencia

En la Figura 10, las primeras dos curvas representan dos ondas de luz sobre la misma trayectoria. La figura sólo ilustra el campo eléctrico. La distancia entre las crestas es la longitud de onda. Las ondas se encuentran en fase, esto quiere decir que los picos o valles de las dos formas de onda se encuentran perfectamente alineados. Cuando dos ondas de

luz tienen la misma longitud de onda y se encuentran en fase, se juntan y producen una onda con la suma de las amplitudes, esto se conoce como interferencia constructiva.

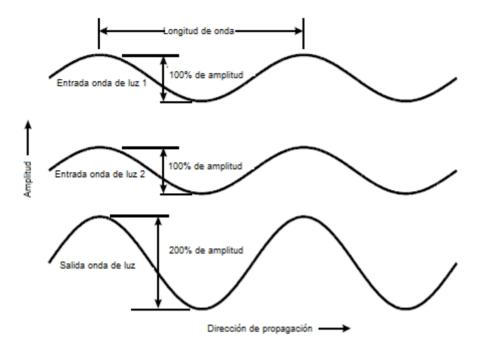


Figura 10. Interferencia constructiva (Goff, 2002).

La Figura 11 ilustra la interferencia destructiva, en este caso se muestran dos ondas de luz con la misma longitud de onda, pero fuera de fase, esto se evidencia porque el pico de la primera onda se alinea con el valle de la segunda onda. En este caso, las dos ondas se cancelan mutuamente, dando como resultado una onda muy pequeña.

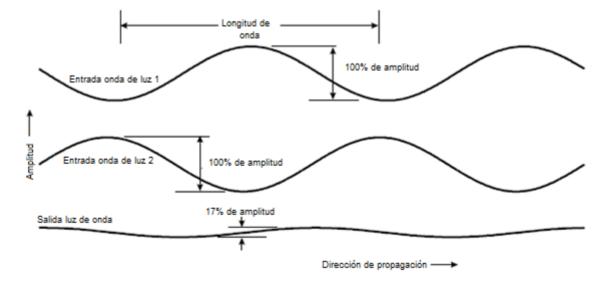


Figura 11. Interferencia destructiva (Goff, 2002)

Aplicaciones de la luz

Según Goff (2002), las señales de luz han sido utilizadas para comunicar desde hace mucho tiempo. A medida que los países continúen desarrollando redes para la comunicación global, la fibra óptica ofrece un método de transmisión que permite una comunicación más clara, rápida y eficiente que el cobre. La fibra óptica lleva una gran ventaja sobre el cobre porque puede manejar señales de alta velocidad por largas distancias. Algunas otras ventajas son:

- Inmunidad a radiación y rayos electromagnéticos (EM): debido a que la fibra óptica está hecha a partir de materiales no conductores no se afecta por radiación EM.
- Peso más liviano: la fibra óptica pesa 10 veces menos que el cobre.
- Ancho de banda más alto.
- Mejor calidad de la señal: porque es inmune a interferencia EM, tiene menor peso por unidad de distancia y ancho de banda más grueso.
- Menor costo: disminuye el precio comparado con el cobre para aplicaciones de largas distancias.
- Fácil instalación.

Campo evanescente

El campo evanescente se refiere a la fracción de campo magnético que está fuera del radio del núcleo, como se muestra en la Figura 12. Cuando la fibra óptica se adelgaza, el efecto de guía del núcleo original se pierde gradualmente y el campo es compartido entre el núcleo y el revestimiento. Si la fibra es lo suficientemente delgada, el campo es guiado solamente por el revestimiento y el medio externo. La distribución del campo que se propaga fuera de la fibra óptica adelgazada o campo evanescente se incrementa y es una forma eficiente de interactuar con el medio que rodea la zona adelgazada (Marrujo García , 2015).

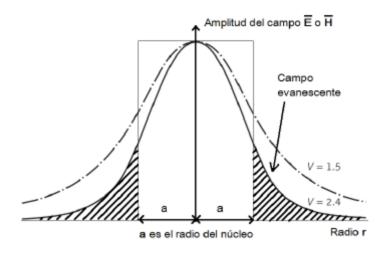


Figura 12. Campo evanescente en una fibra monomodo (Marrujo García, 2015)

Interferómetro

Según Sienaga Leonides (2007), el interferómetro es un instrumento que utiliza la interferencia de las ondas luminosas para lograr una medición muy precisa de las longitudes de onda de estas. El principio de un interferómetro consiste en un par de haces luminosos, los cuales toman dos rutas distintas en su recorrido, estas trayectorias son determinadas por un arreglo de espejos, los cuales desembocan en un patrón de interferencia.

Tipos de interferómetros:

Según su división de frente de onda:

- Experimento de Young
- Espero doble y prisma doble de Fresnel
- Espejo de Lloyd

Según su división de amplitud:

- Tipo Mach Zehnder
- Michelson
- Fabry Perot
- Sagnac
- Pohl

1.3.2.2.2. Adelgazamiento de fibra óptica

Según Marrujo García (2015), las fibras ópticas adelgazadas fundidas bicónicas (Biconical Fused Optical Fiber Tapers) o simplemente tapers, son fibras ópticas a las cuales se les ha reducido el diámetro durante una sección. Se parte de una fibra óptica de dimensiones estándar y su geometría final, después de adelgazada, consta de tres regiones, como se observa en la Figura 13. El objetivo de adelgazar la fibra es el de alterar de forma pasiva la luz que se propaga dentro de ella.

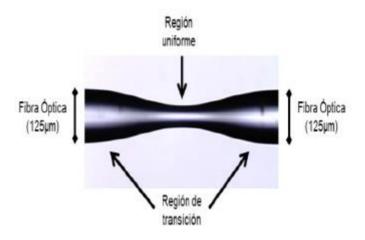


Figura 13. Ejemplo de una fibra óptica adelgazada (Marrujo García, 2015)

Existen diversos métodos de fabricación de fibras ópticas adelgazadas, los cuales se pueden clasificar en dos grupos:

Por calentamiento

A diferencia de otros materiales, el vidrio basado en sílice no tiene una temperatura exacta de fusión, sin embargo, su viscosidad se reduce considerablemente al grado de poder ser manipulable alrededor de los 1200°C. Algunos de los métodos que clasifican en esta categoría son: arco eléctrico, filamento de fusión, micro hornos, mini flama y láser de CO₂.

Por desbaste

Las técnicas por desbaste no se basan en el calentamiento y estiramiento uniforme de la fibra, sino en la remoción del revestimiento de forma mecánica o por ataque químico. Algunos de estos métodos son: maquinado por Haz de iones, pulido mecánico, y ataque químico.

Adelgazamiento por ataque químico:

La principal diferencia entre las fibras ópticas adelgazadas químicamente y por calor, se encuentra en el perfil de índice de refracción de los tapers fabricados. En particular, el índice de refracción disminuye a medida que el núcleo se elimina a través de ataque químico. La

estructura y la interfaz núcleo/revestimiento se conservan en los métodos por calentamiento y estiramiento, mientras que en los tapers fabricados por ataque químico tienden a dejar sólo el núcleo en la región de la cintura.

1.3.2.3. Grados Brix

Los °Bx son una medida de densidad ampliamente utilizada en el sector alimentario para conocer la cantidad aproximada de azucares contenido en soluciones determinadas, esto con el fin de llevar a cabo diferentes aplicaciones. Con este propósito se utiliza la escala Brix que permite evaluar el contenido de sólidos solubles totales dentro de esta.

Esta medida permite determinar el cociente total de sacarosa o sal disuelta en un líquido, por ejemplo, una solución de 25 °Bx contiene 25 g de azúcar (sacarosa) por 100 g de líquido, es decir, en 100 g de solución hay 25 g de sacarosa y 75 g de agua. Para realizar esta medición suele utilizarse un refractómetro que se basa en el fenómeno de refracción para realizar la cuantificación (Grupo cooperativo CAJAMAR, 2014).

1.3.2.4. Crecimiento bacteriano

En un sistema biológico, se define como el aumento ordenado de las estructuras y los constituyentes celulares de un organismo, es decir, crecimiento del número de células (proliferación de la población). El crecimiento individual de las células implica el aumento del tamaño y peso de las células después de la división celular (Universidad Nacional de Entre Ríos).

Particularmente, las bacterias se dividen por fisión binaria, a través de la cual una celular madre al alcanzar determinado volumen se divide dando dos células hijas; este proceso consiste en la autoduplicación del material genético seguido de la repartición en dos células hijas, que se separan por estrangulamiento de la membrana celular y formación de la pared celular.

Como puede observarse en la Figura 14, el crecimiento bacteriano cuenta con varias fases o etapas. La A (fase Lag) es el periodo de latencia o adaptación, no hay aumento significativo de la densidad celular. La B (fase Log) es el periodo de crecimiento exponencial, en este el crecimiento es sincrónico y se alcanza la máxima velocidad de crecimiento. La C (fase pre-estacionaria) es el periodo de retardo donde desaparece el crecimiento exponencial y donde los microorganismos entran en estrés. La D (fase estacionaria) es el periodo en el cual no hay cambios significativos en la densidad celular con respecto al tiempo, existe un equilibrio entre microorganismos vivos y muertos. Por último, la fase E (fase de muerte) es en la cual el equilibrio desaparece y predominan los microorganismos muertos, no hay nutrientes para el recambio y las condiciones del medio de cultivo son adversas para el crecimiento (Universidad Nacional Autónoma de México).

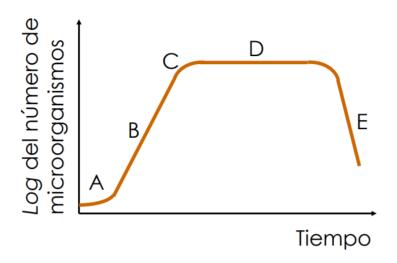


Figura 14. Curva de crecimiento bacteriano (Universidad Nacional Autónoma de México).

1.4. HIPÓTESIS

Es posible fabricar transductores alternativos para biosensores a partir de fibras ópticas.

2. METODOLOGÍA

Buscando el cumplimiento de los objetivos específicos planteados se dividirá la metodología en 3 ítems que describirán las actividades necesarias para lograr el objetivo general. Es importante señalar que el desarrollo metodológico no se realizó de manera lineal y gran parte de las actividades se realizaron de manera repetitiva en diferente orden de acuerdo con las necesidades específicas que requirió el desarrollo del proyecto, además, los métodos utilizados para llevar a cabo las actividades se fueron modificando basados en la experiencia a partir de pruebas de ensayo y error.

- **Diseño y fabricación del transductor:** esta etapa representará todo el proceso relacionado con la fabricación del transductor. Incluirá el diseño de la celda de trabajo, y el protocolo diseñado para el adelgazamiento de las fibras.
- Caracterización óptica y dimensional: en esta fase se incluirá la caracterización por medio de pruebas de índice de refracción, la medición de los diámetros y la visualización de la superficie de la fibra posterior a su adelgazamiento.
- Funcionamiento como biosensor: se mostrará la evaluación del funcionamiento del sensor aplicado a una medición de grados brix y a una prueba de crecimiento bacteriano.
- **Repetibilidad:** se presentará la evaluación realizada para evaluar la repetibilidad del proceso de fabricación de las fibras.

2.1. DISEÑO Y FABRICACIÓN DEL TRANSDUCTOR

La fabricación del transductor es el proceso mediante el cual se adelgaza la fibra hasta alcanzar los diámetros deseados que permiten encontrar una relación de sensibilidad apropiada para la aplicación específica que se esté desarrollando. Inicialmente, el proceso de construcción de la fibra consiste en someterla durante determinado tiempo a ácido fluorhídrico (HF), este reactivo permite que se lleve a cabo un ataque químico que realiza un proceso de desbaste en la fibra, lo que modifica el diámetro de la zona que se desea adelgazar.

Además del proceso de adelgazamiento como tal, esta fase incluirá toda la preparación previa de la fibra y el área de trabajo para posteriormente realizar el *tapering*.

2.1.1. Empalme de la fibra (SMS)

La configuración de la fibra utilizada para llevar a cabo el adelgazamiento consistió en una unión entre fibra monomodo (SM) y multimodo (MM) (ver Figura 15), donde la zona que se sometió al adelgazamiento fue la que incluía la fibra MM. Se utilizó fibra SM de referencia SMF28E+ fabricada por la empresa FIBER INSTRUMENT SALES, INC. (ver Tabla 4), y fibra MM no core FG125LA de la empresa THORLABS (ver Tabla 5).

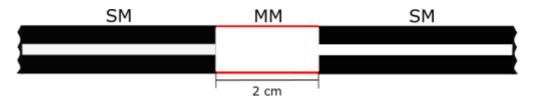


Figura 15. Configuración de la fibra a adelgazar.

Tabla 4. Especificaciones técnicas fibra SM.

Especificación	Fibra SM SMF28e+
Rango de longitud de onda (nm)	1310 - 1625
Diámetro del núcleo (µm)	8.2
Diámetro del recubrimiento (µm)	125 ± 0.7
Diámetro del revestimiento (µm)	242 ± 5

Tabla 5. Especificaciones técnicas fibra MM no core.

· abia or zopodinoadionod todin	
Especificación	Fibra MM FG125LA
Rango de longitud de onda (nm)	400 - 2400
Diámetro del núcleo (µm)	125 ± 0.7
Diámetro del revestimiento (μm)	250 ± 5%

Se eligió la fibra MM no core como el tipo de fibra a adelgazar; este tipo de fibra no tiene revestimiento y todo el diámetro es únicamente núcleo, esto implicó que al iniciar el proceso de desbaste desde el tiempo cero de sometimiento de la fibra al ácido se viera aumentada la sensibilidad de esta. Además, la fibra MM al tener un núcleo de diámetro mayor permite que se encuentren varios modos de excitación en esta, permitiendo el paso de varios haces de luz de manera simultánea; posterior al proceso de adelgazamiento, esta condición favorece la interacción de la luz con el medio exterior.

Para realizar la unión entre las fibras (ver Figura 15) se debió realizar un proceso de empalme que fusiona los dos extremos de las fibras permitiendo que el haz de luz pase a través del núcleo de las fibras.

Para unir las fibras se utilizó una empalmadora FITEL S177 cuyo principio de funcionamiento es a partir de alineación de núcleos. Este es un dispositivo de alto rendimiento que se utiliza para empalmar dos fibras ópticas en sus extremos por medio de un proceso llamado fusión. El objetivo es lograr que los dos extremos se fusionen entre sí

para lograr una unión que implique una menor pérdida de potencia óptica. La fusión se logra por medio de un arco eléctrico producidor por dos electrodos.

Previo a la realización del empalme de las fibras, fue necesario preparar los dos extremos de esta para que el proceso de unión fuera lo más efectivo posible. Para cada fibra inicialmente se debió eliminar el recubrimiento de la zona que iba a ser empalmada, esto se realizó a través de un pelacables de fibra óptica que quita el recubrimiento exterior de plástico que protege la fibra; la longitud de recubrimiento retirada es de aproximadamente 15 mm. El pelacables tiene un pequeño agujero de 125 micras donde debe introducirse la fibra, cuando esta ya se encuentra en el agujero, la pinza se cierra mientras uno de los extremos de la fibra se mantiene sujeto, de este modo, al realizar con el pelacable el recorrido por el resto de la fibra, poco a poco se irá eliminando el recubrimiento plástico de la fibra (ver Figura 16(a)). Posteriormente se eliminó cualquier residuo o polvo que haya quedado en la fibra realizando una limpieza suave con isopropanol (ver Figura 16(b)).

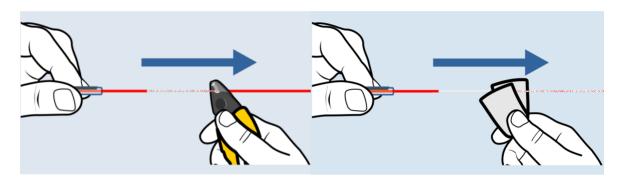


Figura 16. (a) Eliminar el recubrimiento plástico de la fibra, (b) Retirar los residuos (PROMAX, 2019).

La fibra limpia se posicionó sobre un clivador FITEL S325 que realiza un corte limpio (90°) sobre la fibra con el fin de garantizar que el extremo ha quedado completamente recto y será posible utilizarlo como extremo de uno de los empalmes. El ángulo resultante de este corte es fundamental para realizar el proceso de empalme, si la fibra no se encuentra cortada adecuadamente, se ve afectado el proceso de fusión y puede acarrear inconvenientes al momento de utilizar la fibra resultante. Para llevar a cabo este proceso, la fibra previamente preparada se ubicó en una de las guías diseñadas para este fin, la parte de la fibra que aún contaba con recubrimiento se ubica en las guías, mientras que la zona que pelada se ubica en la zona de corte (1). El clivador cuenta con una tapa en la parte superior que permite sujetar completamente toda la fibra, antes de realizar el corte se bajó la tapa (2). Por último, se activó la palanca que hace que la cuchilla dentro del clivador realice el corte de la fibra (3) (ver Figura 17).

Particularmente, el proceso de preparación de la fibra multimodo requirió que inicialmente se retirara todo el revestimiento de la longitud a adelgazar, es decir, además de eliminar el recubrimiento de los dos extremos a empalmar, es necesario retirar el recubrimiento de los 20 mm de fibra que serán sometidos al ácido. Por lo demás, el proceso realizado para cada porción de fibra siempre fue el mismo.

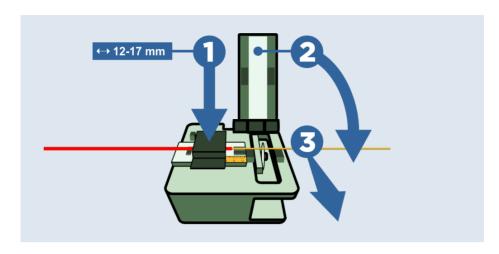


Figura 17. Clivado de la fibra (PROMAX, 2019).

Antes de llevar a cabo la fusión, se especificó la configuración deseada para llevar a cabo la fusión de las dos fibras (programa 17: single mode – multi mode). Los extremos de la fibra previamente cortados se ubicaron en las guías definidas sobre los soportes laterales de la empalmadora. Para que este proceso se lleve a cabo apropiadamente es necesario que los dos extremos queden alineados entre sí y centrados respecto a los electrodos sin que haya contacto físico entre las fibras o los electrodos (ver Figura 18). Con las fibras ubicadas, se bajó la tapa de la empalmadora y se presionó el botón que realiza la fusión.

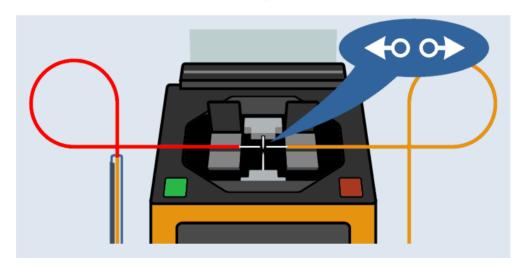


Figura 18. Posición de los extremos sobre la empalmadora (PROMAX, 2019).

Para ubicar la fibra sobre la celda de trabajo y asegurar que la zona MM era la sometida al ácido, se realizó una pequeña marca que permitió identificar los puntos del empalme, pues con los dos extremos fusionados, era imposible determinar visualmente los lugares específicos donde se realizó la unión.

Con este proceso completamente terminado se obtuvieron las fibras preparadas para continuar con el adelgazamiento.

2.1.2. Fabricación de la celda de trabajo

Para realizar el proceso de adelgazamiento fue necesario contar con un espacio de trabajo que permitiera contener el ácido durante tiempos determinados y que facilitara el proceso de lavado de las fibras. Este requerimiento también fue tenido en cuenta para realizar el proceso de caracterización, pues se necesitaba someter la fibra a diferentes soluciones durante tiempos determinados y era necesario garantizar que toda la zona adelgazada se encontrara en contacto uniformemente con las soluciones. Las características que se consideraron para el diseño y fabricación de la celda de trabajo fueron:

- Volumen para contener líquidos: uno de los propósitos principales de la celda de trabajo era contar con una zona que permitiera contener reactivos que se mantuvieran en contacto con la fibra.
- Protección de la fibra: debido a la fragilidad de la fibra, era necesario contar con un método que permitiera almacenar y preservar la fibra y evitar los riesgos de ruptura durante su manipulación.
- Inmersión del área a adelgazar: la zona mm de la fibra que iba a ser adelgazada o evaluada debía estar completamente sumergida en el reactivo.
- Resistencia a los reactivos: debido a los diferentes reactivos que se usaron con la fibra, era necesario contar con un material que pudiera soportar el sometimiento a estos y no se viera a afectado por estos agentes.
- Facilidad de inyección y extracción de líquidos: para adelgazar y evaluar el funcionamiento del transductor era necesario contar con una forma sencilla de agregar o extraer soluciones o reactivos sobre la superficie de la fibra.

De acuerdo con los criterios definidos y analizando los resultados obtenidos en la tesis desarrollo de un biosensor utilizando un interferómetro de fibra de cristal fotónico (Betancur Ochoa, 2015), se definió que el diseño adecuado era el prototipo final probado y elegido por el autor (ver Figura 19). Este diseño cumplia con todos los requerimientos planteados y por lo tanto, fue el que se maquinó para el desarrollo del proyecto.

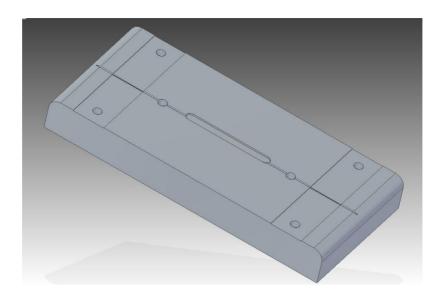


Figura 19.Diseño de celda de trabajo.

El material utilizado para la fabricación de la celda de trabajo fue el politetrafluoroetileno conocido comercialmente como Teflón®, este cumple con el requerimiento de resistencia a reactivos debido a su alta resistencia a químicos, además, cuenta con capacidad para resistir temperaturas altas y bajas, aislamiento eléctrico y térmico, entre otras características que lo hicieron apto para esta aplicación (Laminated plastics).

Para la fabricación de la celda de trabajo se adquirieron recortes de Teflón® y se mandaron a maquinar de acuerdo con el diseño en detalle.

2.1.3. Posicionamiento de la fibra sobre la celda de trabajo

La utilización de la celda de trabajo en interacción con la fibra fue casi permanente, por lo tanto, fue necesario realizar un proceso de sujeción que permitió mantener la fibra inmovilizada durante todo el proceso de adelgazamiento y caracterización. La longitud mm que era la protagonista del empalme fue ubicada en la zona central de la celda de trabajo donde se encuentra el pozo diseñado para la contención de soluciones y reactivos (ver Figura 20).

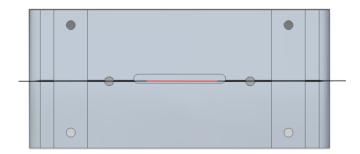


Figura 20. Ubicación de la fibra sobre la celda de trabajo.

En la Figura 20 la porción roja de la fibra representa la zona multimodo y las porciones negras representan la fibra monomodo. La fibra roja se posicionó en todo el centro del pozo para asegurar que esta se encontraba totalmente expuesta a los líquidos agregados a la celda de trabajo.

Durante el proceso de adelgazamiento, es probable que la longitud de la fibra varíe debido a las deformaciones generadas por el sometimiento de esta al ácido. Si se inmovilizaba la fibra de manera permanente en ambos extremos, la deformación habría disminuido la tensión de la fibra sobre la celda de trabajo y esto afectaba directamente la obtención de los resultados.

Teniendo en cuenta esto, la sujeción de la fibra se realizó de manera permanente en uno de los extremos utilizando pega Norland oprtical adhesive 61, que se curó con por medio de rayos UV. El otro extremo se pegó con cinta adhesiva para tener la posibilidad de tensionar la fibra en caso de ser necesario. En la Figura 21 puede visualizarse en el extremo izquierdo la pega curada, en el extremo derecho la cinta adhesiva y en la línea media la fibra óptica previamente preparada, además, es posible observar dos marcas en el centro que corresponden a los empalmes entre la fibra SM y MM.

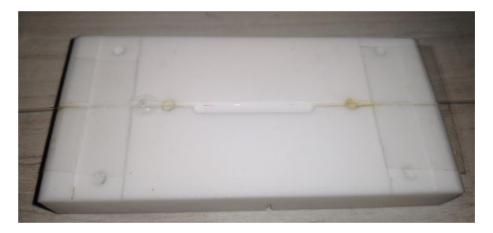


Figura 21. Fibra empalmada y posicionada sobre la celda de trabajo.

Para todos los procesos de adelgazamiento y caracterización realizados en la celda de trabajo, la tensión de la fibra fue una variable fundamental para el éxito de los procedimientos. Cuando la fibra se encontraba posicionada sobre la celda de trabajo, la zona del medio estaba flotando sobre el material, pues el pozo es más profundo que las superficies laterales sobre las que se encontraba sujeta la fibra, con esto se buscaba garantizar que todo el diámetro de la fibra se encontraba en contacto con los líquidos adicionados. Si la fibra no estaba tensionada en ambos extremos, no se posicionaba sobre el pozo de manera uniforme, esto implicaba que al adicionar reactivos sobre la fibra la interacción no era similar.

2.1.4. Adelgazamiento de la fibra

Para realizar el proceso de adelgazamiento se utilizó ácido fluorhídrico (HF) del fabricante PanReac AppliChem a una concentración al 40%. Cuando la fibra se encontraba fija sobre la celda de trabajo, se ubicó en una cámara de extracción para prevenir la evaporación de gases al momento de usar el reactivo. Con el fin de prevenir accidentes, durante todo el proceso se mantuvo óxido de calcio (CAL) en caso de que por algún derramamiento fuera necesario neutralizar el HF.

Teniendo el área de trabajo preparada, se procedió a inicializar un cronómetro para medir los tiempos de sometimiento de la fibra al reactivo, y se adicionó el ácido mediante una pipeta Pasteur hasta rebosar el volumen de la zona central de la celda de trabajo. Era fundamental verificar que toda la longitud a adelgazar de la fibra se encontraba uniformemente sumergida en el ácido.

Cuando el tiempo de adelgazamiento había concluido, se procedió a extraer el ácido de la celda de trabajo utilizando los desagües laterales que se encontraban en la fibra y con una pipeta Pasteur se lavaba la fibra con abundante agua. Durante un tiempo posterior al adelgazamiento, a la zona central de la fibra se le agregó agua y se dejó reposar con el fin de garantizar que no había residuos de ácido que continuaran afectando la geometría de la fibra.

2.2. CARACTERIZACIÓN ÓPTICA Y DIMENSIONAL

Después de adelgazar la fibra, fue necesario realizar un proceso para evaluar la fabricación y determinar las principales características de la fibra, es decir, sensibilidad y diámetro. En esta etapa se incluirán las pruebas de índice de refracción utilizadas para medir la sensibilidad y el montaje de las fibras en el microscopio electrónico de barrido para medir el diámetro. El propósito de esta etapa era establecer un diámetro óptimo con una sensibilidad suficiente para un transductor a fibra óptica que sea potencialmente aplicable a un biosensor. En este estudio se estableció una relación entre el tiempo de adelgazamiento de las fibras y la sensibilidad obtenida, además se validó que, a menor diámetro, mayor sensibilidad.

Esta etapa se dividirá en dos, caracterización óptica y caracterización dimensional.

2.2.1. Caracterización óptica

2.2.1.1. Preparación soluciones

Para realizar las pruebas de índice de refracción y determinar la sensibilidad de las fibras fabricadas se prepararon soluciones de diferente concentración de cloruro de sodio obtenido de la empresa Merck. Se escogió este compuesto debido a que se encuentra caracterizado y se conocen a detalle sus propiedades ópticas, además, es soluble en agua lo que permitirá la interacción con la fibra adelgazada.

De acuerdo con los resultados obtenidos por Li, Liu, Zhao, & Tan, es posible calcular el índice de refracción de una solución de cloruro de sodio diluida en agua con determinada concentración a partir de la implementacion de una ecuación evaluada experimentalmente (ver Ecuación 3). Teniendo en cuenta esta información, se prepararon 10 soluciones de cloruro de sodio diluido en agua cuya información se muestra en la Tabla 6.

Ecuación 3. Índice de refracción a partir de la concentración de una solución.

$$n(c,\lambda) = \sqrt{a_0 + \frac{a_1 \lambda^2}{\lambda^2 - \lambda_1^2} + \frac{a_2 \lambda^2}{\lambda^2 - \lambda_2^2} + \frac{a_3 \lambda^2}{\lambda^2 - \lambda_3^2}} + a_4 c - a_5 c^2$$

$$a_0 = 0.385; \ a_1 = 1.32; \ a_3 = 0.0244; \ a_4 = 2.07x10^{-5}; \ a_5 = 1.75x10^{-7}$$

$$\lambda_1^2 = 8.79x10^3; \ \lambda_2^2 = 1.1x10^8; \ \lambda_3^2 = 6.09x10^4$$

Tabla 6. Índice de refracción de las soluciones de cloruro de sodio.

Concentración ([Mol/L])	Gramos (g)	Índice de refracción (RIU)
0	0	1.30864556
0.2	0.11688	1.31104107
0.3	0.17532	1.3122209
0.4	0.23376	1.31338877
0.8	0.46752	1.31794072
1	0.5844	1.32014498
1.7	0.9999	1.32759399
2.6	1.4995	1.33575143
4.2	2.4994	1.34945183
5.9	3.49938	1.35965288

Las cantidades de cloruro de sodio especificadas fueron pesadas y adicionadas a tubos de ensayo individuales, los cuales fueron rotulados de acuerdo con la concentración de las soluciones finales. Se utilizaron 10 mL de agua destilada para diluir las soluciones y finalmente estas fueron homogenizadas.

2.2.1.2. Visualización del espectro óptico

Con el fin de determinar la sensibilidad final de las fibras ópticas adelgazadas, estas se sometieron a una solución diluida de cloruro de sodio a diferentes concentraciones, para cada una se midió el espectro óptico de la fibra. Cuando el índice de refracción de la solución cambiaba, el espectro óptico se desplazaba hacia la derecha.

Para medir el espectro óptico de la fibra se utilizó un Laser Diode Driver Model 505 como fuente de luz y un Optical Spectrum Analyzer (OSA) AQ6370D de la marca YOKOGAWA. La conexión entre la fibra y los dos dispositivos se realizó utilizando un patch cord (ver Figura 22).

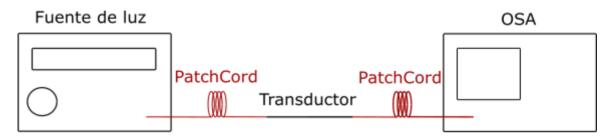


Figura 22. Montaje para medir espectro óptico.

La unión entre el patch cord y el extremo de la fibra se realizó siguiendo los mismos pasos mostrados en la sección 2.1.1 donde se explicó el procedimiento necesario para realizar el empalme entre dos fibras. En este caso, ambos extremos unidos eran fibra monomodo, por lo tanto, se utilizó el programa predeterminado para unión de estos dos tipos de fibra.

La adquisición de los datos obtenidos en el OSA se realizó conectando el dispositivo a un computador y por medio de un programa desarrollado en MATLAB® se almacenaron los datos con una frecuencia de muestreo determinada. El procedimiento inicial antes de realizar cualquier medición requería almacenar un espectro de referencia que permitió posteriormente realizar el correcto análisis de los datos. Para realizar la medición de referencia, entre la fuente de luz y el OSA se conectó un patch cord que permitió medir el espectro procedente de la fuente de luz sin ninguna intervención o interacción con el exterior.

Con la referencia medida y almacenada, se procedió a conectar el patch cord en uno de los extremos a la fuente de luz y en el otro extremo al OSA. El programa en MATLAB mostraba en pantalla dos señales, la primera era la señal con la cual se había empezado a correr el programa y la segunda era la señal que se estaba midiendo en tiempo real; durante todo este tiempo, el programa se encontraba almacenando los datos correspondientes al espectro óptico de la señal.

La señal base para realizar toda la medición fue una solución de agua destilada sin concentración de cloruro de sodio, por lo tanto, antes de correr el programa en Matlab, se agregó a la celda de trabajo agua destilada para mantener esa señal durante toda la medición y que de este modo fuera posible visualizar el desplazamiento del espectro a

medida que aumentaba el índice de refracción de las soluciones, además para verificar que después de extraer las soluciones previamente medidas, al lavar y agregar agua, la señal volvía a su estado base.

El procedimiento que se llevó a cabo para realizar la medición del espectro con cada solución consistió en agregar mediante una pipeta Pasteur la cantidad de solución suficiente para que la zona adelgazada se encontrara completamente cubierta, posteriormente se esperaba hasta que la señal del espectro óptico se estabilizara, esto es, que el espectro óptico permaneciera aproximadamente en los mismos valores, a continuación se almacenaba la información correspondiente al espectro que se estaba visualizando. Cuando la gráfica se estabilizaba, sobre un recipiente se drenaba la solución por los desagües de la celda de trabajo y se lavaba la zona central de la fibra con agua destilada, finalmente, el agua sobrante también se drenaba y utilizando paños se secaba el pozo con el fin de garantizar que no había liquido sobre este antes de adicionar la siguiente solución. Este proceso se llevó a cabo para cada solución.

Idealmente, las gráficas de índice de refracción deberían verse como en la Figura 23, esta imagen representa resultados reales y pretendía ilustrar la estructura de los datos a obtener. Las líneas negra, azul y rosa representan el espectro óptico de una de las fibras fabricadas; en el orden presentado, el índice de refracción iba en aumento para cada uno de los colores. Debido a los cambios en el índice de refracción de las diferentes soluciones, se evidenció un desplazamiento de la curva hacia la derecha a medida que este valor del índice de refracción aumentaba.

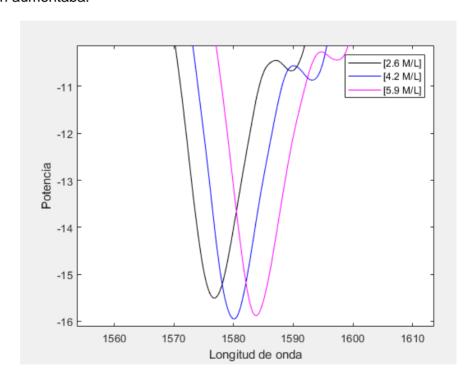


Figura 23. Desplazamiento de la señal debido al cambio de índice de refracción.

2.2.1.3. Análisis de datos

Posterior a la obtención y almacenamiento de los espectros para cada solución fue necesario realizar un proceso de análisis de datos que permitió determinar la sensibilidad de las fibras a partir del desplazamiento de las gráficas debido a la variación en el índice de refracción. Para realizar este análisis, los datos obtenidos con cada solución se graficaron en una misma figura lo cual permitió visualizar los diferentes picos de la señal.

Se escogió un pico que fuera visible en cada uno de los espectros y se determinó el valor de longitud de onda correspondiente (ver Figura 24); este valor iba en aumento a medida que aumentaba el índice de refracción de la solución utilizada. Los valores de longitud de onda encontrados se tabularon contra el índice de refracción de cada espectro. En el caso de la Figura 24, la señal correspondía a un índice de refracción igual a 1.35965288 RIU y la longitud de onda a 1501 nm; este proceso se llevó a cabo para cada uno de los espectros obtenidos.

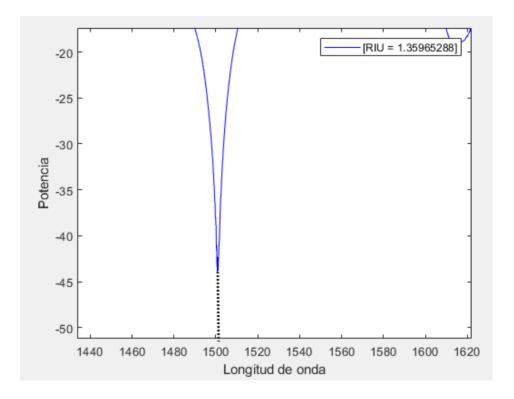


Figura 24. Medición de longitud de onda.

Con la información correspondiente a la fibra particular tabulada, se realizó una regresión lineal utilizando la herramienta Excel que permitió encontrar la ecuación que representaba al transductor, de esta fue posible calcular la sensibilidad asociada al mismo.

2.2.2. Caracterización dimensional

2.2.2.1. Montaje de la fibra sobre pin del SEM

Para determinar el diámetro de las fibras adelgazadas se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM) Phenom ProX de la marca Phenom. En este paso fue fundamental realizar un proceso de lavado de la fibra previo a la medición, esto con el fin de garantizar que los defectos, partículas o estrías que se podían visualizar sobre la muestra eran parte estructural de la misma y no agentes externos.

Con las fibras todavía sobre la celda de trabajo, se llevó a cabo el lavado de estas. Inicialmente con la celda en posición diagonal se agregó alcohol sobre la parte superior para que, al deslizarse el líquido sobre la fibra, esta presión permitiera eliminar las partículas que pudieran encontrarse sobre ésta. Finalmente, la fibra se secó utilizando gas nitrógeno y se ubicó dentro de una cámara de extracción para evitar que nuevas partículas pudieran caer sobre la fibra.

Para realizar el montaje de las muestras sobre los pines del SEM era necesario contar con unas pinzas específicas que permitieron sostener cada pin, pinzas sencillas para ubicar la muestra sobre el adhesivo ubicado en el pin (ver Figura 25 (a)) y almohadillas adhesivas de carbono doble cara para ubicar sobre el pin y fijar la muestra (ver Figura 25 (b)).



Figura 25. Implementos necesarios para el montaje de muestras (a) Pinzas (b) Almohadillas.

Antes de ubicar la muestra era necesario realizar un proceso previo de preparación del pin, toda esta etapa se llevó a cabo en la cámara de extracción para evitar que partículas cayeran sobre el soporte de la muestra. Para ubicar las almohadillas adhesivas de fibra de carbono sobre el pin fue necesario primero retirar una de las caras protectoras del adhesivo, posteriormente, el adhesivo con la cara pegante hacia arriba se colocó sobre la mesa y el pin se posicionó sobre esta con el fin de unir el adhesivo y la cara superior del pin. Con el adhesivo pegado sobre el pin se procedió a retirar la otra cara sobre la que se iban a posicionar las muestras (ver Figura 26).



Figura 26. Manipulación del pin.

Con el pin preparado para realizar el montaje se procedió a despegar la fibra de la celda de trabajo y a ubicarla sobre este. Lo primero que se hizo fue retirar la cinta con la que se sujetaba la fibra en uno de los extremos y se cortó la fibra en el otro extremo justo donde se encontraba la adhesivo UV. Para este caso ya no era necesario contar con la fibra completa e integra en toda su longitud pues la zona de interés a medir era la cintura de la longitud adelgazada. Utilizando las pinzas se sostuvo la fibra en uno de los extremos y se colocó la parte central de esta sobre el adhesivo y los extremos sobrantes se cortaron. Utilizando unas pinzas de punta redonda se ejerció una pequeña presión sobre los extremos de la fibra ubicada en el pin con el fin de asegurar que esta se encontraba fija y bien pegada.

Algunas de las consideraciones fundamentales para tener en cuenta al momento de ubicar el pin sobre el porta muestras del SEM es que esta debe estar completamente seca. Para garantizar esto, se sostuvo el pin con las pinzas diseñadas para este fin y se sometió la muestra a gas nitrógeno, donde se verificó que no había partículas adicionales pegadas al adhesivo y que la muestra estaba completamente seca.

Culminando este proceso, la muestra ya estaba lista para ser medida, por lo tanto, se ubicó sobre el soporte del dispositivo y se inició con la visualización de las fibras.

2.2.2.2. Visualización y almacenamiento de imágenes obtenidas en el SEM

Para realizar la visualización de parámetros en el SEM se definieron parámetros generales (ver Tabla 7) para garantizar que la toma de muestras tuviera las mismas condiciones y fuera siempre uniforme. Se escogió el voltaje de aceleración más bajo porque es el recomendado para todo tipo de materiales y el detector topográfico porque permitía modificar el contraste y la luz dentro de la imagen, además porque el principal interés al momento de realizar estas mediciones era conocer la superficie de la fibra y no la composición de esta.

Tabla 7. Parámetros para la toma de imágenes en el SEM.

Configuración	Parámetro
Modo	5kV
Intensidad	Imagen
Detector	Topográfico
Calidad	Alta
Resolución	1024

El proceso de medición de cada fibra se realizó teniendo en cuenta un patrón de aumento que permitió visualizar desde lo general a lo específico, es decir, observando primero la longitud de la fibra y finalmente el diámetro y la superficie con un aumento mayor. El patrón de aumentos utilizado inició en 500X, incrementó a 1000X y continuó con incrementos de mil hasta llegar a 3000X; para las fibras qué tenían un diámetro inferior se realizó un último aumento a 5000X. En cada uno de estos aumentos se almacenó una imagen para realizar posteriormente el análisis oportuno.

2.2.2.3. Análisis de datos

El procesamiento de las imágenes obtenidas se realizó en el software NIS-Elements. Este software permite realizar un proceso de calibración que facilita la medición de los diámetros de la fibra. De este modo, cada imagen se importó dentro del software y a cada una se le realizó un proceso de calibración dependiendo de la escala presente en las imágenes. Se midieron los diámetros requeridos y finalmente se asignaron etiquetas para cada una de las mediciones. Las imágenes obtenidas fueron exportadas y almacenadas.

Teniendo el tiempo de adelgazamiento de cada fibra y los resultados obtenidos de diámetro y sensibilidad (ver 2.2.1.3) se realizó una gráfica para comparar la relación entre el tiempo de adelgazamiento y el diámetro de las fibras, y se ilustraron también los resultados obtenidos relacionando el diámetro de las fibras y la sensibilidad obtenida. Con estos resultados se pudo escoger un tiempo de adelgazamiento predeterminado para realizar las pruebas de funcionamiento como biosensor y evaluar la repetibilidad del proceso de fabricación.

2.3. FUNCIONAMIENTO COMO BIOSENSOR

2.3.1. Grados Brix

Con el objetivo de evaluar si los transductores fabricados podrían ser utilizados como biosensores, se planteó una aplicación básica que puede ser considerada en esta

categoría. Se explicará el proceso llevado a cabo para determinar Grados Brix en una solución de glicerina.

Para evaluar esta aplicación, fue necesario llevar a cabo el proceso de fabricación (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) teniendo en cuenta el tiempo de adelgazamiento definido (45 minutos) y caracterización óptica (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.) del sensor. Además, durante todo el proceso las fibras utilizadas se encontraron ubicadas sobre la celda de trabajo, por lo tanto, estas se encontraron sujetadas como se explicó en 2.1.3.

La medición de °Bx de una solución permite determinar el nivel de sacarosa presente en una solución, este valor es útil y aplicable en la industria de los alimentos y agricultura. Para evaluar esta aplicación, se sometió la fibra a una solución de glicerina con una variación de concentración y se midió el espectro óptico para visualizar el desplazamiento de la curva a medida que cambiaba la concentración de azúcar en la solución.

2.3.1.1. Preparación de soluciones

Para evaluar el funcionamiento del transductor se planteó utilizar soluciones de glicerina con diferentes concentraciones. Para preparar las soluciones, se adquirió Glicerina al 87% del fabricante PanReac y se diseñó un ensayo para evaluar la variación del espectro cuando se sometía a la fibra a concentraciones entre 0% y 26.1%. Para preparar las soluciones, se definió un volumen final de 10 mL para cada solución y se utilizó la Ecuación 4 para definir la cantidad de glicerina y agua necesaria para cada solución.

Ecuación 4. Cálculo de cantidad de glicerina.

 $Concentración_{Inicial} * Volumen_{Inicial} = Concentración_{Final} * Volumen_{Final}$

Los cálculos realizados se presentan en Tabla 8. Con las cantidades encontradas se llevó a cabo la preparación de soluciones. Previamente se tomaron 7 tubos de ensayo que fueron rotulados con la concentración correspondiente de glicerina. En cada tubo se adicionó la cantidad de glicerina y agua destilada especificada utilizando una micropipeta. Finalmente, la solución se homogenizó y se almacenó.

Tabla 8. Soluciones de glicerina.

Concentración (%)	Glicerina (mL)	Agua (mL)
0	0	10
4.35	0.5	9.5
8.7	1	9
13.05	1.5	8.5

17.4	2	8
21.7	2.5	7.5
26.1	3	7

2.3.1.2. Sensor de grados Brix

Para realizar oportunamente el análisis de datos posterior y determinar la aplicabilidad de los transductores fabricados en este caso particular de medición de °Bx, se realizó la medición de este valor en cada solución fabricada.

La medición de °Bx se realizó a partir de la implementación de un refractómetro HI96801 fabricado por Hanna Instruments. Para utilizar el dispositivo inicialmente se limpió y secó la tapa del prisma previo a la medición. De cada solución se tomó una muestra pequeña con una pipeta Pasteur y se ubicó sobre el prisma; con la muestra a medir posicionada, se presionó el botón indicado para realizar la lectura. Posterior a cada medición, el prisma fue lavado con agua destilada y secado.

Los valores de °Bx medidos para cada concentración de glicerina se tabularon (ver Tabla 9) y almacenaron para compararlos posteriormente con los valores del espectro óptico obtenido.

Tabla 9. Grados Brix de las soluciones de glicerina utilizadas.

Concentración (%)	Grados Brix (°Bx)
0	3.4
4.35	8.1
8.7	12.2
13.05	16.1
17.4	20
21.7	23.2
26.1	7

2.3.1.3. Visualización del espectro óptico

El proceso de visualización de espectro óptico se realizó de manera similar a lo explicado en Visualización del espectro2.2.1.2, inicialmente se empalmaron los extremos de la fibra adelgazada y el patch cord, seguidamente se conectó cada uno a OSA y a la fuente de luz (ver Figura 22).

La inicialización del programa en MATLAB y la forma en que se almacenaron los datos ocurrió igual que en 2.2.1.2. Inicialmente se agregó agua sobre el espacio de trabajo para realizar una medición base, seguidamente, se agregaron las soluciones mostradas en la Tabla 8 realizando un proceso de lavado con agua destilada previo a la medición de la siguiente solución; los datos correspondientes con cada solución fueron almacenados.

2.3.1.4. Análisis de datos

Para cada fibra fabricada se obtuvieron 7 espectros ópticos que se utilizaron para determinar la aplicabilidad de la fibra en la medición de °Bx. De manera similar al procedimiento realizado en el numeral 2.2.1.3, para cada espectro se seleccionó un pico visible en los espectros de cada solución y se extrajo el valor correspondiente a la longitud de onda del pico como se mostró en la Figura 24.

Los valores obtenidos de longitud de onda de cada fibra fueron tabulados y comparados con los valores medidos de °Bx de la solución a partir de la implementación del refractómetro. Para graficar los resultados obtenidos se utilizó un delta de longitud de onda para que fuera posible comparar los resultados de las 10 fibras fabricadas y probadas; los resultados graficados permitieron visualizar si la medición de la longitud de onda evidenciaba el cambio en las soluciones de acuerdo con los valores medidos.

2.3.2. Crecimiento bacteriano

Con el objetivo de evaluar el funcionamiento del dispositivo en una aplicación particular de biosensores, se planteó realizar una prueba con el fin de determinar si los transductores fabricados podrían ser utilizados en una medición de crecimiento bacteriano. Para esto se utilizó medio Lauril triptosa con MUG y la bacteria E.coli.

2.3.2.1. Fabricación y caracterización de fibras

Para realizar la evaluación de crecimiento, inicialmente se realizó el proceso de fabricación de las fibras ópticas y su correspondiente caracterización con el fin de determinar la sensibilidad de los transductores antes de su implementación. Para esto, se siguió la metodología planteada en los numerales 2.1 y 2.2.1.

2.3.2.2. Obtención de medio de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo Lauril Triptosa con MUG fabricado por Criterion, este es un medio selectivo que facilita el crecimiento exclusivo de la bacteria E.coli y permite determinar su crecimiento debido al cambio de color del medio inoculado.

2.3.2.3. Medición de espectros

Para realizar el proceso de medición de crecimiento se realizaron 3 mediciones en tiempos de crecimiento diferentes, en cada una de estas tomas se agregó al montaje experimental el medio blanco y se comparó con el medio inoculado con 17, 22 y 25 horas de crecimiento posterior a la inoculación. Este proceso se llevó a cabo utilizando una micropipeta y posterior a cada medición, la fibra fue lavada con agua destilada y posteriormente secada. Antes de iniciar cada prueba, el transductor fue nuevamente lavado.

Los espectros obtenidos en cada una de las tomas fueron almacenados para su posterior análisis

2.3.2.4. Análisis de datos

Con el objetivo de evaluar el crecimiento bacteriano en cada una de las tomas medidas (variación de tiempo), se graficó para cada toma el espectro de la fibra sometida al blanco y sometida al medio inoculado. Utilizando alguno de los picos o valles presentes en el espectro, se tomaron los valores de longitud de onda correspondientes a cada espectro y con los valores obtenidos se calculó un delta de longitud de onda que consistió en la diferencia entre el espectro del blanco y el espectro del medio inoculado. Este proceso se llevó a cabo para cada una de las tomas.

Los deltas obtenidos por cada toma fueron graficados contra el tiempo de crecimiento de la bacteria con el fin de evaluar si los valores obtenidos representaban la ecuación exponencial correspondiente al comportamiento normal de crecimiento bacteriano.

2.4. REPETIBILIDAD

Con el objetivo de evaluar el proceso llevado a cabo para realizar la fabricación de los transductores, se diseñó un experimento sencillo que pretendía evaluar la repetibilidad del adelgazamiento de las fibras y como el proceso se veía reflejado en las sensibilidades y diámetros obtenidos.

2.4.1. Fabricación de transductores

Para llevar a cabo este proceso se desarrollaron 10 fibras bajo condiciones de fabricación iguales y se definió que el tiempo de adelgazamiento fuera de 45 minutos. Para llevar a cabo este proceso, se siguieron los pasos definidos en el ítem 2.1 donde se realiza todo el proceso de fabricación del transductor.

Se controlaron factores como la concentración del ácido, el tipo de fibra utilizada, los tipos de empalme programados, el tiempo de sometimiento y los procesos de lavado y extracción del ácido.

2.4.2. Caracterización óptica y dimensional

Los dos valores principales evaluadas fueron la sensibilidad y el diámetro final de las fibras adelgazadas. Para determinar la sensibilidad de los sensores y el diámetro obtenido, se llevó a cabo el procedimiento explicado en 2.2; estos datos fueron tabulados con el fin de realizar posteriormente el análisis estadístico.

Los resultados esperados de sensibilidad y diámetro debían encontrarse en rangos muy cercanos.

2.4.3. Análisis de datos

Para evaluar la repetibilidad del proceso de adelgazamiento de los transductores se realizó un análisis visual a partir de la dispersión de datos, esto con el fin de establecer rangos entre los cuales era posible encontrar los datos de sensibilidad y diámetro obtenidos.

3. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La presentación y discusión de resultados se realizará teniendo en cuenta lo obtenido en cada objetivo específico, por lo tanto, se dividirá en 3 ítems principales:

- **Diseño y fabricación del transductor**: en este caso se hablará de los resultados obtenidos durante el proceso de adelgazamiento de la fibra y las consideraciones a tener en cuenta para que el procedimiento se lleve a cabo efectivamente.
- Caracterización óptica y dimensional: en esta etapa se presentarán los espectros ópticos de algunos de los transductores y las sensibilidades obtenidas, además, se presentarán los diámetros medidos y se encontrará una relación entre la sensibilidad, el diámetro y el tiempo de adelgazamiento de los transductores.
- Funcionamiento como biosensor: se mostrarán los resultados obtenidos al evaluar la aplicabilidad del transductor como un sensor de °Bx incluyendo los respectivos espectros ópticos. Además, se presentarán las mediciones obtenidas cuando se implementa el transductor en una prueba para medir crecimiento bacteriano.
- **Repetibilidad:** se presentarán los resultados obtenidos respecto a la repetibilidad del proceso de fabricación de las fibras.

3.1. DISEÑO Y FABRICACIÓN DEL TRANSDUCTOR:

En la primera fase de fabricación de los transductores, se planeó realizar el adelgazamiento simultáneo de varias fibras con diferentes tiempos de sometimiento al ácido con el fin de evaluar qué tanto afectaba el tiempo al diámetro final obtenido y a la sensibilidad medida. Teniendo en cuenta la cantidad de celdas de trabajo disponibles, se planeó adelgazar 5 fibras sometiéndolas a tiempos de 50, 60, 70, 80 y 90 minutos. Para esta prueba inicial se utilizó una configuración de fibra SMS utilizando la referencia de fibra SM mostrada previamente en el numeral 2.1.1 pero utilizando fibra MM con núcleo (FIBER INSTRUMENT SALES, INC., *INFINICOR300*). La utilización de esta referencia de fibra MM era la planeada inicialmente para realizar todas las pruebas, sin embargo, como se puede visualizar en la Figura 27, el espectro óptico no presentaba cambios considerables al someter este tipo de fibra al HF.

En la Figura 27 se presenta el espectro óptico de la fibra sometida a 3 soluciones con índices de refracción diferentes, y como puede observarse, no hay ningún desplazamiento del espectro a la derecha como debería suceder cuando se somete a una sensor de fibra óptica a cambios en el índice de refracción de la solución. La hipótesis inicial era que la fibra no había sido sometida el tiempo suficiente al ácido como para que el desbaste llegara hasta el núcleo de la fibra, por lo tanto, se continuó evaluando el espectro de las fibras sometidas a tiempos de exposición más altos. Durante este proceso se evidenciaron dos

nuevos inconvenientes, el primero era que, en algunas fibras, después de un tiempo de exposición determinado el empalme entre la fibra SM y MM se había desgastado, por lo tanto, después de retirar el HF de la celda de trabajo, se veía solamente los extremos de la fibra SM mientras que los 20 mm de fibra MM no se encontraban. Para dar solución a este problema, se optó por poner una capa de protección sobre los empalmes.

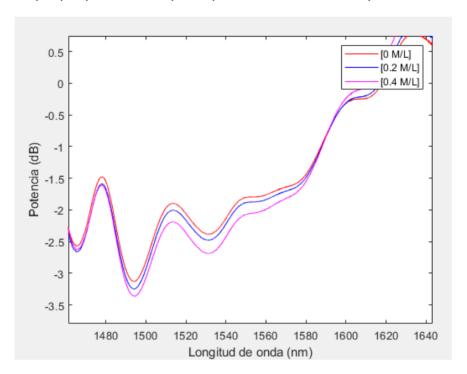


Figura 27. Fibra adelgazada 50 minutos (MM con núcleo).

El segundo inconveniente estaba relacionado con la manipulación de la fibra, cuando esta permanecía sometida a tiempos de exposición al ácido muy altos, por ejemplo 90 minutos, en este caso la manipulación del transductor se volvió muy compleja, por lo tanto, la fibra se rompió en el proceso de lavado debido a la fragilidad de esta.

Teniendo en cuenta los problemas que presentó la fibra MM con núcleo, se decidió utilizar fibra MM no core con un planteamiento similar al inicial. Como todas las fibras tienen en esencia un diámetro exterior similar, se consideró que adelgazar con tiempos de exposición tan largos, superiores a 60 minutos, iba a dificultar mucho la manipulación de la fibra; aunque se esperaba que con estos diámetros la sensibilidad fuera mucho más alta, el resto del proceso requería alta manipulación, procesos que serían muy difíciles de llevar a cabo con fibras muy frágiles y delgadas. Por lo tanto, se planteó fabricar las siguientes fibras con un tiempo de sometimiento al ácido entre 30 y 50 minutos, variando de a 5 minutos entre cada fibra.

La Figura 28 muestra el espectro de una fibra adelgazada durante 35 minutos, en este caso, se obtiene un desplazamiento a la derecha. Este espectro y el de las demás fibras fabricadas en este caso permitieron confirmar que la fibra MM no core tenía un efecto

positivo sobre los transductores, pues al comparar con las fibras adelgazadas con fibra MM con núcleo, hay sensibilidad.

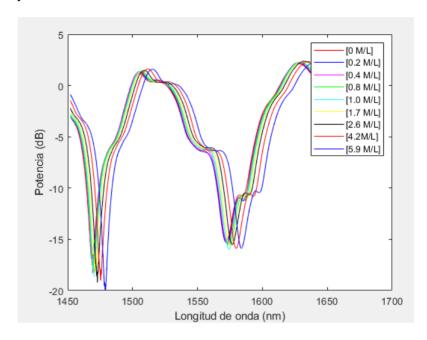


Figura 28. Espectro fibra adelgazada 35 minutos.

La longitud de desplazamiento entre los espectros permite visualizar también la sensibilidad de los transductores, a mayor sensibilidad, mayor desplazamiento. Ejemplo de esto puede verse al comparar la Figura 28 y Figura 29; visualizando la distancia entre cada uno de los espectros de las dos gráficas individualmente, es posible apreciar que en la Figura 29 la distancia entre los espectros es mayor. Este resultado era esperado, pues a mayor tiempo de adelgazamiento, más desplazamiento y, por lo tanto, mayor sensibilidad. En la caracterización óptica de las fibras cuando se calcule la sensibilidad obtenida con los diferentes tiempos de adelgazamiento, será posible verificar la relación entre tiempo de adelgazamiento y sensibilidad.

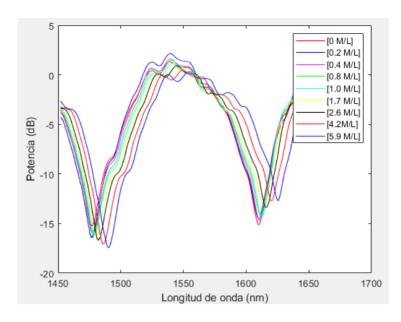


Figura 29. Espectro fibra adelgazada 40 minutos.

Realizando un acercamiento a un pico particular en las Figuras Figura 28, se hace más visible que la distancia entre los espectros es más extensa a medida que aumenta el tiempo de exposición al ácido. En la Figura 30(a) puede observarse uno de los picos de la fibra adelgazada 30 minutos, si se mide la diferencia entre los picos rojo y azul (4.2 Mol/Litro y 5.9 Mol/Litro, respectivamente), el valor de longitud de onda obtenido es 1580 nm para el espectro rojo y 1584 nm para el espectro azul; en conclusión, el desplazamiento de los espectros con el cambio de índice de refracción es de 4 nm. Realizando el mismo análisis con la Figura 30(b), el valor de longitud de onda del espectro rojo es 1621 nm y 1626 nm para el espectro azul, dando una diferencia de 5 nm. Mostrando que, a más tiempo de adelgazamiento el desplazamiento es mayor.

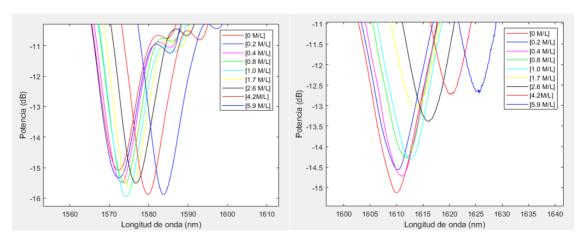


Figura 30. (a) Porción de espectro fibra adelgazada 35 minutos. (b) Porción de espectro fibra adelgazada 40 minutos.

Todas las fibras se adelgazaron bajo condiciones muy similares, variando constantemente y de acuerdo con lo planeado el tiempo de sometimiento de esta al ácido. Esta fue la variable que más se consideró pues influía directamente en la sensibilidad final de la fibra.

En la literatura, no fue posible encontrar ninguna imagen que pudiera representar exactamente cómo se daba el proceso de desbaste en la fibra cuando esta se sometía al ácido, ni había sido posible visibilizar el cambio desde los extremos de la fibra hasta la cintura. El resultado esperado era que el desbaste fuera uniforme alrededor de toda la fibra y en toda su longitud, sin embargo, en la Figura 31(a) es posible observar como el desbaste de la fibra no es uniforme a través de toda su longitud. La imagen corresponde a una fibra adelgazada durante 45 minutos y como puede observarse, la zona superior de la fibra es de un diámetro mayor a la zona central y final. La zona medida de la fibra medida corresponde a una longitud central de la fibra ubicada entre los 20 mm de fibra MM destinada al adelgazamiento.

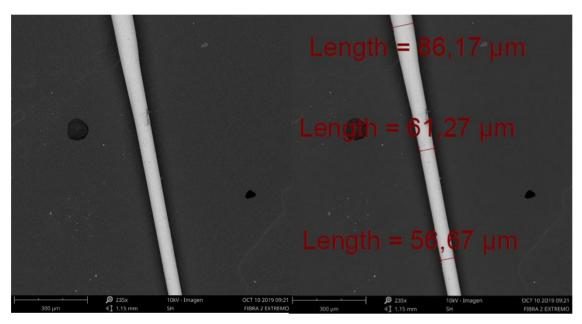


Figura 31. (a) Superficie de la fibra después del adelgazamiento (b) Superficie de la fibra con medidas.

Como puede observarse en la Figura 31(b), en la zona superior el diámetro medido es de 86.17 µm mientras que, en la zona inferior, el diámetro medido es de 56.67 µm. Esto permite observar que el proceso de desbaste realizado por el ácido no es uniforme en la longitud de la fibra.

3.2. CARACTERIZACIÓN ÓPTICA Y DIMENSIONAL

Con el objetivo de conocer la sensibilidad de los transductores diseñados y de encontrar una relación entre la sensibilidad y el tiempo de adelgazamiento se realizó un ajuste lineal que relaciona la longitud de onda de un punto en el espectro de cada solución y su

correspondiente índice de refracción. La sensibilidad final de cada fibra es el intercepto de la ecuación encontrada. Para definir estos puntos se utilizó de cada espectro un pico determinado, ya que es más sencillo visualizar los puntos en estas zonas de la gráfica. La Figura 32 representa el espectro de una fibra adelgazada 45 minutos; como pude visualizarse, existen variados picos y valles donde pueden ser tomados los datos para realizar la regresión lineal.

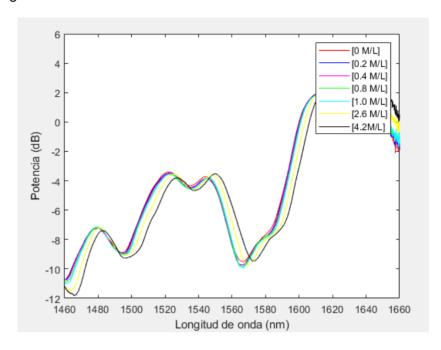


Figura 32. Espectro fibra adelgazada 45 minutos.

Con el fin de validar que la sensibilidad obtenida en una fibra es la misma independiente del pico que se escogiera, se tomaron los datos correspondientes a dos picos diferentes y se realizó la regresión lineal para determinar la sensibilidad de la fibra según lo obtenido en cada zona del espectro. Para determinar el primer valor de sensibilidad se tomaron los datos de longitud de onda correspondientes a la zona del espectro comprendida entre 1520 y 1530 nm, la regresión lineal obtenida se presenta en la Figura 33; el intercepto de la recta es 135.49 nm/RIU, este valor corresponde a la sensibilidad del transductor.

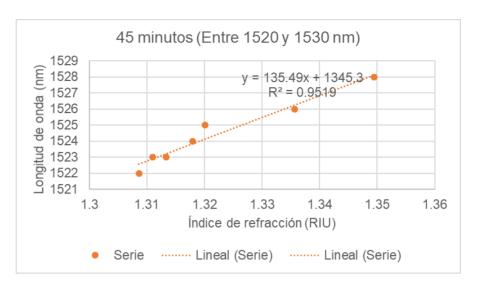


Figura 33. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1520 y 1530 nm).

El segundo pico utilizado se encontraba comprendido entre 1540 y 1550 nm, la regresión lineal obtenida puede visualizarse en Figura 34, el intercepto de la recta se encuentra en 135.49 nm/RIU. Esto evidencia que el desplazamiento del espectro a medida que aumenta el índice de refracción es uniforme, es decir que, para realizar la regresión lineal de cada transductor y determinar su sensibilidad, es posible utilizar cualquier pico o valle disponible dentro del espectro.

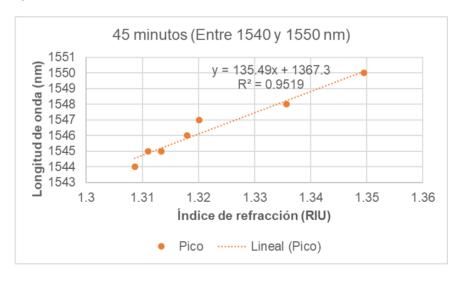


Figura 34. Regresión lineal fibra adelgazada 45 minutos (entre 1540 y 1550 nm).

Como se explicó anteriormente, las primeras fibras adelgazadas se fabricaron con tiempos entre 30 y 60 minutos; con el fin de validar que a medida que aumenta el tiempo de adelgazamiento aumenta también la sensibilidad. Se presenta en la Figura 35 el espectro correspondiente a una fibra adelgazada durante 30 minutos.

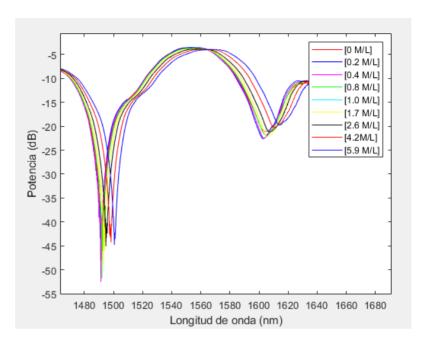


Figura 35. Espectro fibra adelgazada 30 minutos.

Para realizar el cálculo de la sensibilidad se tomaron datos en un rango de longitud de onda entre 1600 y 1620 nm, el resultado obtenido de la regresión lineal (ver Figura 36) fue de 219.38 nm/RIU.

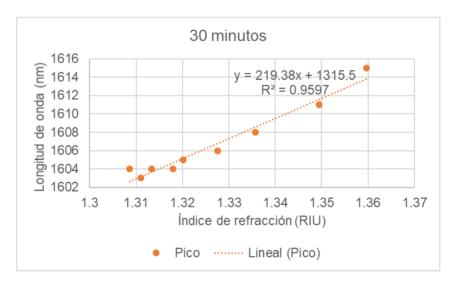


Figura 36. Regresión lineal fibra adelgazada 30 minutos.

La Figura 37 representa la regresión lineal correspondiente a una fibra adelgazada 55 minutos. Los datos de longitud de onda tomados se encontraban en un rango entre 1550 y 1600 nm y permitieron encontrar una sensibilidad de 640.81 nm/RIU.

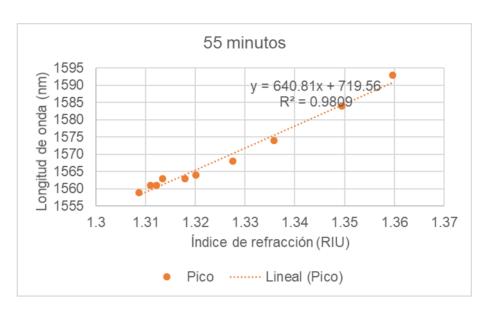


Figura 37. Regresión lineal fibra adelgazada 55 minutos.

A partir de los espectros medidos de las diferentes fibras se compararon los valores obtenidos y se trató de buscar una relación entre el tiempo de adelgazamiento y la sensibilidad calculada. En la Tabla 10 se encuentran los valores de sensibilidad encontrados para cada tiempo de adelgazamiento.

Tabla 10. Tiempo de adelgazamiento vs. Sensibilidad.

Tiempo (minutos)	Sensibilidad (nm/RIU)
30	219.38
35	223.02
40	286.25
45	369.23
50	396.31
55	640.81

Al graficar los datos obtenidos en la Tabla 10 (ver Figura 38), puede observarse como a medida que aumenta el tiempo de sometimiento de la fibra al ácido, la sensibilidad se encuentra en aumento. La relación obtenida puede representarse a través de una ecuación polinómica de grado 2.

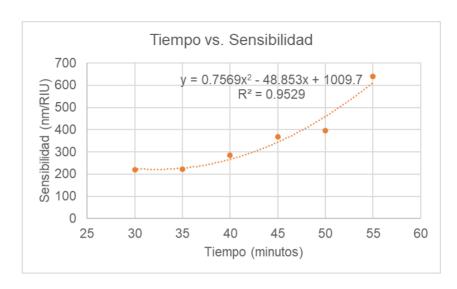


Figura 38. Relación tiempo vs. Sensibilidad de las fibras adelgazadas.

Otro factor fundamental que necesita ser revisado es el diámetro final de la fibra adelgazada y la geometría obtenida. La Figura 39 muestra la imagen adquirida del SEM de una fibra óptica SM sin adelgazar a un aumento de 500x.

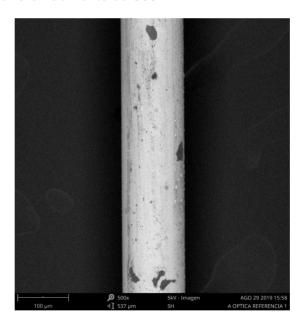


Figura 39. Imagen del SEM fibra óptica sin adelgazar.

Como pude visualizarse, la fibra es un cilindro recto y uniforme. Sin embargo, es posible observar cómo sobre su superficie hay algunas manchas, esto se atribuyó a partículas externas que pudieron haber caído sobre la fibra; adicionalmente, puede verse que la superficie no es completamente uniforme y hay algunas estrías, estas pudieron ser consecuencia de la manipulación y transporte de esta.

La medición de diámetros utilizando el programa NIS Elements se realiza de manera visual, por lo tanto, es importante aclarar que las mediciones tienen intrínseco un error relacionado con las limitaciones visuales de las imágenes. En la Tabla 4 se dice que el diámetro del recubrimiento de la fibra utilizada es de 125 \pm 0.7 μ m, según la medición realizada (ver Figura 40), el diámetro de la fibra es de 123.12 μ m. Entre la medición y las especificaciones técnicas, es posible encontrar un error en la medición, por lo tanto, es importante considerar que las mediciones pueden variar.

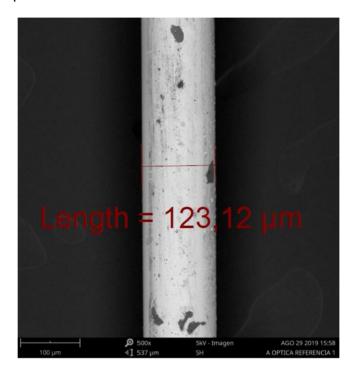


Figura 40. Imagen del SEM fibra óptica sin adelgazar con medición.

Con el fin de contrastar el error obtenido en la medición, el diámetro final de la fibra se calculó como el promedio de los diámetros medidos en 500x, 1000x, 2000x y 3000x. El aumento de 3000x no se obtuvo para todas las fibras, porque en los diámetros más grandes, este nivel de aumento no permitía visualizar los bordes de las fibras, por lo tanto, no permitía medir el diámetro final de las fibras.

En la Figura 41 es posible observar la relación entre el tiempo de adelgazamiento y el diámetro final medido de la fibra. Como se explicó anteriormente, los valores de diámetro graficados corresponden al promedio de las mediciones realizadas de cada fibra. Puede observarse que la relación es lineal y que a medida que aumenta el tiempo de sometimiento de la fibra al ácido, disminuye el diámetro final de la fibra. Esto permite comprobar la teoría inicial de que a medida que aumenta el tiempo de adelgazamiento, disminuye el diámetro.

Tabla 11. Tiempo de adelgazamiento vs. Diámetro

Tiempo (Minutos)	Diámetro (µm)
30	108.17
35	96.52
45	60.58
50	55.12
55	46.11

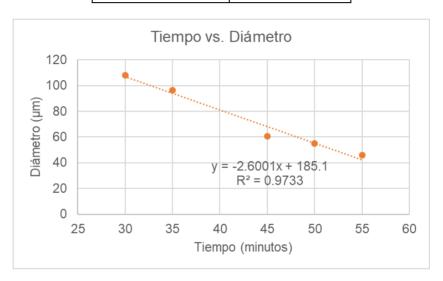


Figura 41. Relación Tiempo vs. Diámetro de las fibras adelgazadas.

La Figura 42 permite observar la relación entre el diámetro y la sensibilidad obtenidas, como puede evidenciarse, su relación es inversa y a medida que disminuye el diámetro, aumenta la sensibilidad de las fibras adelgazadas.

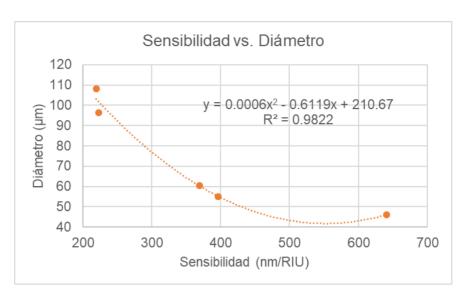


Figura 42. Relación entre diámetro y sensibilidad

Como se mencionó anteriormente y como se ha mostrado en todas las gráficas, la caracterización de las fibras se realizó para un grupo de transductores adelgazados entre 30 y 55 minutos, el objetivo de estos tiempos era evaluar de manera general el comportamiento de la fibra ante el adelgazamiento. Adicionalmente, para evaluar el desempeño de la fibra en unos límites de adelgazamiento más altos, se sometieron tres fibras a tiempos de sometimiento al ácido más extensos (60, 75 y 85 minutos).

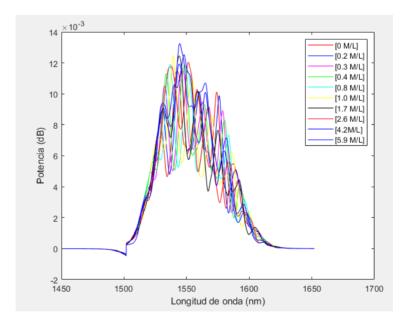


Figura 43. Espectro fibra adelgazada 75 minutos.

La Figura 43 representa el espectro óptico de una fibra adelgazada durante 75 minutos, como puede verse, uno de los efectos que implica los largos tiempos de adelgazamiento es que aumentan la cantidad de picos en el espectro. La sensibilidad obtenida con esta fibra es de 676.75 nm/RIU

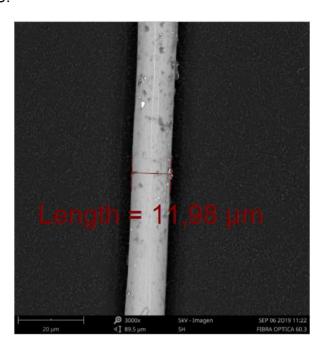


Figura 44. Imagen del SEM fibra óptica adelgazada 75 minutos.

El diámetro más pequeño obtenido fue con el tiempo de adelgazamiento de 75 minutos (ver Figura 44), donde fue posible calcular un diámetro de 11.98 µm. Sin embargo, en este punto, la manipulación de la fibra se vuelve muy compleja debido a la fragilidad de esta. Para la fibra adelgazada 85 minutos no fue posible realizar la visualización del espectro ni del diámetro porque la dificultad en la manipulación impidió que se pudieran hacer los dos procesos necesarios para obtener resultados.

Con esto, podemos decir que existen dos factores fundamentales que cumplen un papel importante en el desempeño de la fibra, estos son sensibilidad y diámetro. La sensibilidad es vital porque determina la capacidad de medición de la fibra y el diámetro porque afecta directamente la posibilidad de manipulación de la fibra.

Para evaluar el potencial uso del transductor como biosensor se tuvieron en cuenta estos dos factores con el fin de escoger un tiempo de adelgazamiento que permitiera obtener una sensibilidad adecuada y que permitiera realizar un manejo sencillo. Se escogió la fibra de 45 minutos de adelgazamiento como la más adecuada para fabricar porque, como se había evidenciado anteriormente, contaba con una sensibilidad de aproximadamente de 369.23 nm/RIU y según las pruebas realizadas anteriormente, la manipulación no era tan complicada.

Adicionalmente, otra condición que se atribuyó al adelgazamiento y al tiempo de sometimiento de las fibras al ácido está relacionada con el calidad del espectro óptico obtenido, los ruidos y las pérdidas presentes en este. Este fue otro motivo de peso para escoger las fibras adelgazadas 45 como las más óptimas, si se compara la Figura 32 con la Figura 43, el espectro de la Figura 32 es más limpio y es sencillo apreciar los picos y valles presentes dentro de la señal, además no hay ruidos o distorsiones que afecten las mediciones.

Como se ha mencionado en varias ocasiones, uno de los principales puntos de comparación para los resultados obtenidos está relacionado con el trabajo realizado por Juan Esteban Betancur (2015). Para este caso, el máximo valor de sensibilidad obtenido fue de 850 nm/RIU realizando un adelgazamiento por calentamiento. Comparando con la sensibilidad obtenida adelgazando la fibra 45 minutos utilizando HF (369.23 nm/RIU) podemos ver que se encuentran en la misma escala, por lo tanto, se obtiene un valor similar.

Es importante señalar que el trabajo desarrollado por Juan Esteban Betancur (2015) implicó la utilización de un tipo de fibra de muy alto costo con propiedades estructurales muy complejas diseñada para aplicaciones en comunicación específica. Sin embargo, en el presente trabajo de grado se utilizaron fibras SM y MM de muy bajo costo y estructuras muy sencillas que muestran una gran capacidad de competir con la sensibilidad obtenida en otros estudios.

3.3. FUNCIONAMIENTO COMO BIOSENSOR

3.3.1. Grados Brix

Los grados Brix permiten determinar la cantidad de sacarosa presente en una solución, esta medición es ampliamente utilizada en la industria de alimentos. Se utilizaron los transductores de fibra óptica fabricados para evaluar la capacidad del sensor de medir los cambios en la concentración de sacarosa en la solución. Es importante mencionar que esta era una prueba de concepto, por lo tanto, el resultado esperado era verificar si existía algún desplazamiento en el espectro cuando había cambios en la concentración de la solución, más no determinar cuál era la medida de °Bx de la solución medida. Si se quisiera determinar los °Bx de una solución, sería necesario calibrar el sensor con este fin, encontrando una relación entre longitud de onda y °Bx, lo que no es el principal interés de este proyecto.

Para realizar esta prueba se utilizaron fibras adelgazadas durante 45 minutos. En la Figura 45 puede observarse el espectro de la fibra 5 sometido a cambios en la concentración de glicerina, donde cada color representa una concentración diferente. A diferencia de los demás espectros mostrados utilizando soluciones de NaCl, es posible evidenciar que la distancia entre los espectros es más uniforme, esto se debe a que los cambios de concentración de glicerina se realizaron en rangos similares.

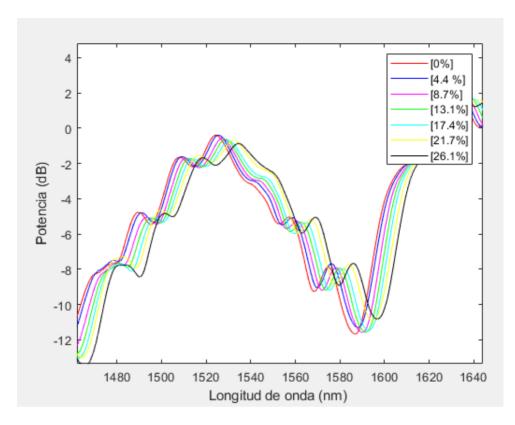


Figura 45. Espectro de fibra 5 con cambios de concentración en una solución de glicerina.

Del espectro obtenido, se escogió uno de los picos como punto de referencia para medir las longitudes de onda correspondientes a cada espectro. En la Figura 46 puede observarse la relación entre los valores de °Bx medidos de cada solución y la diferencia de longitud de onda obtenida. Se evidencia que el desplazamiento del espectro, visualizado en el delta de longitud de onda, concuerda con el valor de °Bx medido, es decir, a medida que aumenta a la concentración de sacarosa en la solución, es posible evidenciar un desplazamiento que indica que el sensor mide el cambio entre las diferentes soluciones utilizadas.

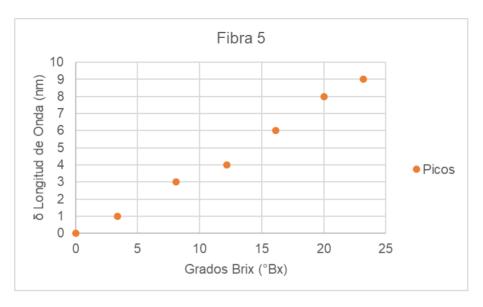


Figura 46. Relación entre °Bx y Longitud de onda fibra 5.

La Figura 47 permite visualizar el espectro obtenido con la fibra 7 cuando se somete a cambios en la concentración de glicerina. Al igual que en la fibra 5, se evidencia que hay un desplazamiento a la derecha a medida que cambia la concentración de la solución de glicerina.

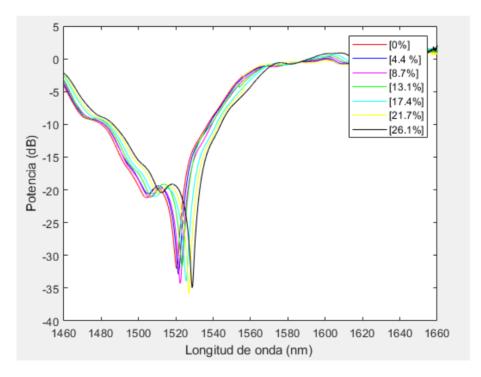


Figura 47. Espectro de fibra 7 con cambios de concentración en una solución de glicerina.

En la Figura 48 también se visualiza el aumento en el delta de longitud de onda de manera proporcional al aumento de °Bx de la solución. Comparando la relación entre °Bx y Longitud de onda de la fibra 5 y 7, es posible evidenciar que la medición es similar y que el aumento sigue siendo proporcional.

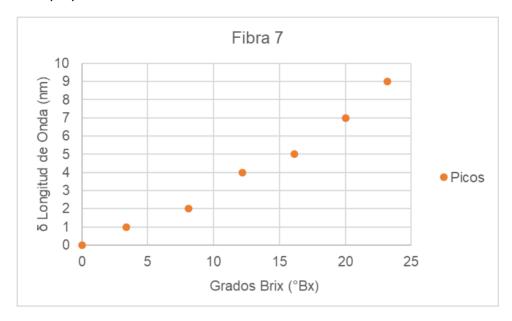


Figura 48. Relación entre °Bx y Longitud de onda fibra 7.

3.3.2. Crecimiento bacteriano

El medio incoluado se conservó durante los tiempos en los cuales no se estaba realizando medición en un horno a una temperatura constante de 37°C. El tiempo que no se mantuvo sometido a esta temperatura de control fue mientras se estaba llevando a cabo el proceso de medición.

La Figura 49 representa el espectro óptico de la fibra utilizada la evaluación de crecimiento bacteriano, además de los espectros obtenidos con las diferentes soluciones de cloruro de sodio utilizadas para el cálculo de la sensibilidad del sensor. Con el fin de mejorar la sensibilidad del transductor, para esta prueba se utilizó una fibra óptica adelgazada durante 50 minutos. Teniendo en cuenta esto, la sensibilidad obtenida de la fibra fue de 269.15 nm/RIU.

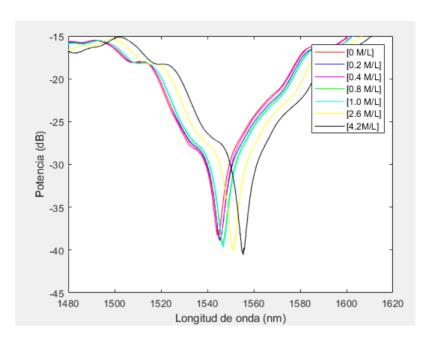


Figura 49. Espectro fibra adelgazada para prueba de crecimiento bacteriano.

La Figura 50 corresponde a los espectros medidos a las 17 horas de crecimiento bacteriano. Para este caso y para las demás tomas realizadas, se considera la línea negra como el espectro obtenido al someter la fibra al blanco y la azul como el espectro obtenido con el medio inoculado. Particularmente en esta toma, es posible observar como hay un pequeño desplazamiento hacía la izquierda del medio inoculado respecto al blanco.

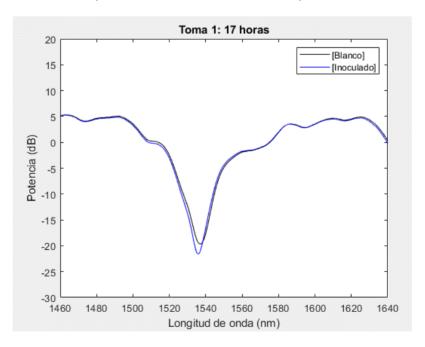


Figura 50. Toma 1 crecimiento bacteriano (17 horas).

La Figura 51 yFigura 52 representan los espectros obtenidos a las 22 y 25 horas de crecimiento respectivamente. Como puede observarse, a medida que aumenta el tiempo de crecimiento, aumenta el desplazamiento hacía la izquierda obtenido en los espectros.

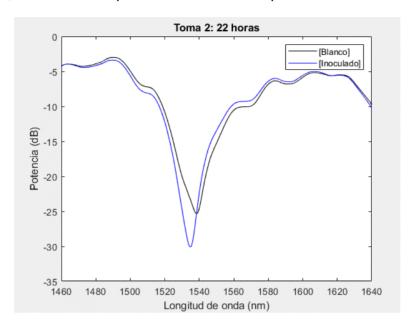


Figura 51. Toma 2 crecimiento bacteriano (22 horas).

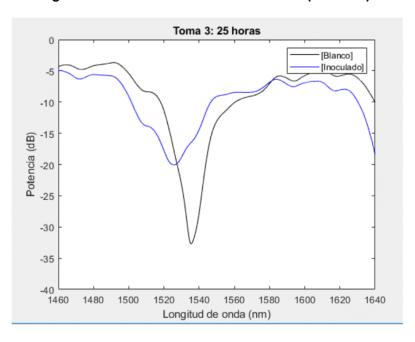


Figura 52. Toma 3 crecimiento bacteriano (25 horas).

Realizando un acercamiento a los valles de los espectros y definiendo un rango en el eje x del mismo valor, es posible visualizar como el desplazamiento del espectro va en aumento hacia la izquierda a medida que pasa el tiempo, como puede verse en la Figura 53.

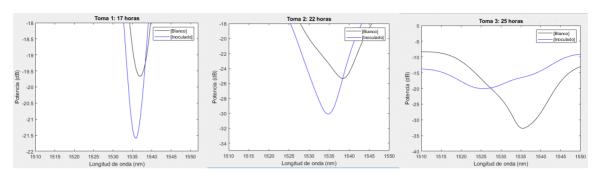


Figura 53. Desplazamiento debido al crecimiento bacteriano.

Calculando un delta de desplazamiento del espectro del medio inoculado vs. el espectro del blanco se obtienen deltas de 1, 4 y 11 nm para las 17, 22 y 25 horas respectivamente. Como puede observarse, a medida que aumenta el tiempo de crecimiento, aumenta el desplazamiento y con esto el delta calculado. Los valores obtenidos del delta de longitud de onda se graficaron contra el tiempo del crecimiento en horas (ver Figura 54).

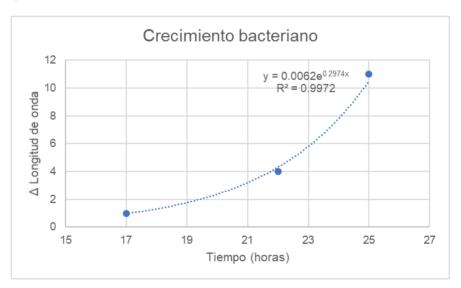


Figura 54. Relación desplazamiento vs. tiempo.

Como puede observarse, el comportamiento encontrado corresponde con una ecuación exponencial con un R² de 0.99, lo que indica que es una aproximación muy apropiada. Estos resultados corresponden con el comportamiento usual esperado en el crecimiento de bacterias y microorganismos, donde en la fase exponencial es posible evidenciar un crecimiento sincrónico de las bacterias presentes en el medio.

Adicionalmente, utilizando la ecuación encontrada de la curva y considerando que el OSA cuenta con una resolución de 0.1 nm, el crecimiento bacteriano podría ser detectado 3 horas después de inoculación de la bacteria en el medio de cultivo o de la contaminación de algún alimento o producto en una aplicación industrial.

Además de la posibilidad de evidenciar el crecimiento bacteriano en los espectros, es posible visualizar que, a diferencia de los resultados obtenidos en las pruebas anteriores (caracterización óptica y °Bx), el desplazamiento de los espectros es a la derecha, esto indica que, con el paso del tiempo, el crecimiento bacteriano hace que el índice de refracción del medio inoculado disminuya con el tiempo.

3.4. REPETIBILIDAD

Se fabricaron 10 transductores sometidos a HF durante 45 minutos y se realizó la caracterización óptica y dimensional. Como las 10 fibras fabricadas tienen el mismo tiempo de adelgazamiento, se etiquetaron del 1 al 10. La Figura 55 muestra el espectro de la fibra número 6. La sensibilidad obtenida con esta fibra fue de 281.08 nm/RIU.

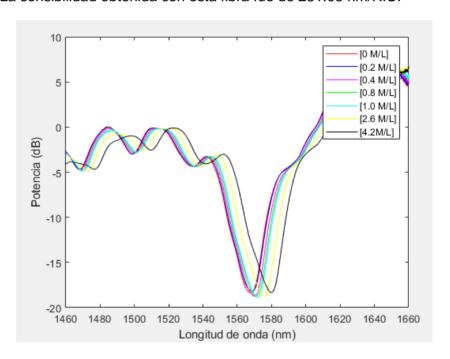


Figura 55. Espectro fibra adelgazada 45 minutos (Fibra 6)

Los índices de refracción utilizados para realizar los análisis fueron obtenidos matemáticamente a partir de demostraciones previas, como se mostró en 2.2.1. Las diferentes soluciones fueron obtenidas pesando cantidades definidas previamente a partir de estos cálculos. Las soluciones fueron preparadas en dos ocasiones diferentes, por lo tanto, la diferencia entre las sensibilidades obtenidas en la prueba de repetibilidad comprada con la fibra adelgazada 45 minutos en las primas pruebas, se debe en parte a

que es imposible que las cantidades de NaCl agregadas en las dos situaciones haya sido exactamente lo mismo. Para realizar una prueba mucho más estricta, sería más válido medir el índice de refracción de la solución obtenida utilizando un dispositivo diseñado con este propósito.

En la Tabla 12 se presentan los valores calculados de sensibilidad a partir de la regresión lineal para las 10 fibras adelgazadas y lo diámetros medidos en el SEM.

Tabla 12. Valores de sensibilidad y diámetro obtenidos para evaluar repetibilidad.

Fibra	Sensibilidad (nm/RIU)	Diámetro (µm)
1	187.84	57.17
2	216.57	49.58
3	135.49	59.69
4	281.08	48.07
5		46.29
	369.23	
6	266.17	49.34
7	100.93	60.83
8	194.89	56.93
9	147.16	57.55
10	208.18	52.87

El promedio de sensibilidad calculado fue de 210.75 nm/RIU y se puede visualizar (ver Figura 56), que la mayoría de los datos se encuentran en un rango entre 150 y 250 nm/RIU.

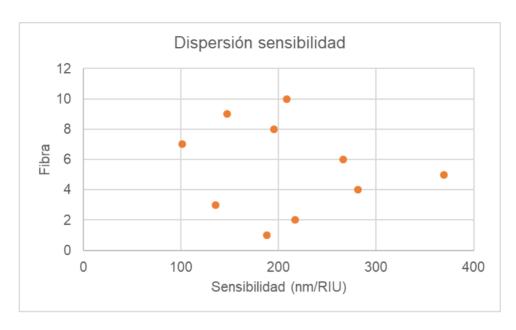


Figura 56. Dispersión de valores de sensibilidad obtenidos.

El promedio de diámetro calculado fue de 53.82 μm. Como puede observarse (ver Figura 57), los datos se encuentran dispersos en un rango entre 48 y 58 μm.

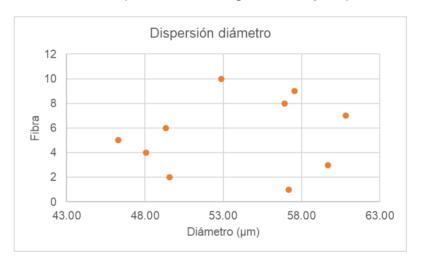


Figura 57. Dispersión de valores de diámetro obtenidos.

Los resultados obtenidos a partir de las dos variables consideradas (sensibilidad y diámetro) muestran una variación importante entre el rango en el cual se encontraron los datos. Teniendo en cuenta la escala en la cual se ubican las dos mediciones, se consideró que los rangos no son tan significativos para la aplicación realizada.

Se graficaron los valores obtenidos de sensibilidad y diámetro correspondientes a cada fibra con el fin de visualizar la relación entre ambas variables (ver Figura 58). Se puede observar

que hay una relación de espejo entre la sensibilidad y el diámetro, pues a medida que aumenta la sensibilidad de la fibra, disminuye el diámetro obtenido.

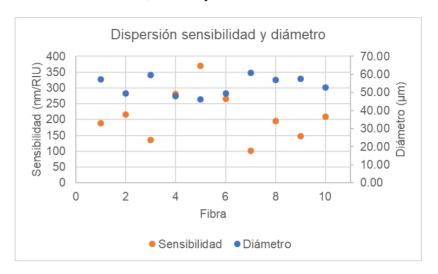


Figura 58. Dispersión sensibilidad y diámetro fibras adelgazadas 45 minutos

4. CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

El adelgazamiento de fibra óptica a partir del desbaste por medios químicos utilizando ácido fluorhídrico es una alternativa favorable para la fabricación de transductores de fibra óptica, pues es posible seguir una relación entre el tiempo de adelgazamiento y la sensibilidad obtenida de los sensores fabricados teniendo en cuenta la aplicación específica para la cual serán implementados.

Comparando los resultados obtenidos con otros trabajos y artículos de investigación, los rangos de sensibilidades alcanzados son útiles para aplicaciones particulares. Además, muestra niveles de sensibilidad similares las fibras de alto costo utilizadas en algunos artículos, es decir, se está presentando una alternativa de menor costo.

Fue posible encontrar una relación entre el diámetro de cintura obtenido después del tapering y la sensibilidad final de la fibra, lo que resulta útil para la fabricación y manipulación de los sensores. Este hallazgo es útil para cualquier método de adelgazamiento en el cual se esté utilizando fibra óptica como sensor.

Se logró obtener un biosensor que pudo ser utilizado en aplicaciones de crecimiento bacteriano (E.coli).

El transductor fabricado muestra un gran potencial para ser utilizado en aplicaciones de biosensores, requiere ser evaluado con mayor profundidad, pero promete ser una herramienta que podría ser muy útil en aplicaciones relacionadas con detección de enfermedades. Para estas aplicaciones particulares, es necesario determinar los niveles de sensibilidad requeridos para que desde el proceso de fabricación se tengan en cuenta este tipo de factores.

En este punto, no es posible determinar si los sensores de fibra óptica son una opción que reemplazará los métodos actuales de detección de analitos o a los biosensores tradicionales, sin embargo, se presenta como una alternativa sencilla, de bajo costo y rápida que estudiada a mayor profundidad puede ser útil para la medición de factores biológicos.

REFERENCIAS

- Acosta Peréz, M. A., Suárez Castrillón, , S. A., & Suárez Castrillón, A. M. (2016). Desarrollo y enyaso de un sensor químico de fibra óptica para la medición de concentraciones de dióxido de carbono. *Tecnura*, 29-42.
- Arenas Sicard , G., & Múnera Orozco, H. A. (2010). Un interferómetro muy asimétrico . Bistua , 1-4.
- Betancur Ochoa, J. E. (Diciembre de 2015). Desarrollo de un biosensor utilizando un interferómetro de fibra de cristal fotónico. León, Guanajuato, México.
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Elsevier*, 601-608.
- Buitrago Mejía, L. (2017). *Inmunosensor piezoeléctrico de alta frecuencia (100 MHz) para la detección y cuantificación de una molécula modelo.* Envigado: Universidad EIA.
- Buxton, T. B., Crockett, J. K., & Rissing, J. P. (1979). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Available for Infectious Disease Surveillance. *Tech com: Microbiology*, 630-634.
- Cárdenas Sevilla, G. A. (Agosto de 2008). Caracterización de rejillas de periodo largo inducidas mecánicamente en fibras ópticas adelgazadas. León, Guanajuato, México.
- Castrellon Uribe, J. (s.f.). *Optical Fiber Sensor: An Overview.* México: Center of research in engenieering and applpied sciences. Obtenido de Intechopen: http://cdn.intechopen.com/pdfs/29100.pdf
- Eggins, B. R. (2002). Chemical sensors and biosensors. UK: John Wiley & Sons, LTD.
- Gaétan, D. (2015). Quebec Patente nº 2539007.
- García Balboa, C., Costas, E., & López Rodas, V. (2012). Biosensores microalgales para la detección de contaminantes ambientales: una revisión. *Revista complutense de ciencias veterinarias*, 51-67.
- Goff, D. R. (2002). Fiber Optic Reference Guide: A Practical Guide to Communications Technology. Focal Press.
- González Rumayor, V., García Iglesias, E., Ruiz Galán, O., & Gago Cabezas, L. (2005). Aplicaciones de los biosensores en la industria agroalimentaria. Madrid: Promoción Regional de la Innovación madri+d.

- Grupo cooperativo CAJAMAR. (Septiembre de 2014). Fichas de transferencia: parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la industria agroalimentaria. Obtenido de CHILorg: http://chilorg.chil.me/download-doc/86426
- Jiménez C, C., & León P, D. E. (2009). Biosensores: aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *VITAE, Revista de la facultad de química farmacéutica*, 144-154.
- Laminated plastics. (s.f.). *Technical Datasheet Teflon (PTFE)*. Obtenido de Laminated Plastics: https://laminatedplastics.com/teflon.pdf
- Li, X., Liu, L., Zhao, J., & Tan, J. (2015). Optical Properties of Sodium Chloride Solution Within the Spectral Range from 300 to 2500 nm at Room Temperature. *Applied spectroscopy*, 635-640.
- March, C., García, J. V., Sánchez, Á., Arnau, A., Jiménez, Y., García, P., . . . Montoya, Á. (2015). High-frequency phase shift measurement greatly enhances the sensitivity of QCM immunosensors. *ELSEVIER*, 1-8.
- Marrujo García , S. (2015). Adelgazamiento de fibra óptica monodo de sílice y su caracterización espectral . 2015: Centro de investigación e innovación tecnológica .
- Marrujo García , S. (Julio de 2015). Adelgazamiento de fibra óptica monomodo de sílice y su caracterización espectral. México D.F.
- Mendoza Madrigal, A. G., Chanona Perez, J. J., Hernández Sánchez, H., Palacios González, E., Calderón Domínguez, G., Méndez Méndez, J. V., . . . Villa Vargas, L. A. (2013). Biosensores mecánicos en al área biológica y alimentaria: una revisión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 205-225.
- MinSalud. (Noviembre de 2016). *MinSalud*. Obtenido de Análisis de situación de salud Colombia: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf
- Ocampo, A., Jaramillo, M., March, C., & Montoya, Á. (2011). Inmunosensor piezoelétrico para la detección del metabolito 3,5,6-Tricloro-2-Piridinol del plaguicida Clorpirifos. *EUA*, 127-136.
- Ocampo, A., March, C., & Montoya, Á. (2007). Inmunosensores piezoelétricos: revisión general y su aplicación con el análisis de pesticidas. *EIA*, 97-110.
- ONUSIDA. (s.f.). *Tratamiento del VIH*. Obtenido de ONUSIDA: http://www.unaids.org/es/topic/treatment
- Paulson, P. O. (2014). Patente nº 2498815.

- PROMAX. (23 de Enero de 2019). *Cómo fusionar dos fibras ópticas*. Obtenido de PROMAX: https://www.promax.es/esp/noticias/556/como-fusionar-dos-fibras-opticas/
- Regatos Gómez, D. (Febrero de 2012). Biosensores ópticos de alta sensibilidad basados en técnicas de modulación plasmónica. Santiago de Compostela, Coruña, España.
- Rodriguez Pelier, C. V., Chang Monteagudo, A., Zúñiga Rosales, Y., Torres Rives, B., Martínez Tellez, G., Rosa Hernández, D., & Martínez Perera, A. (2017). Validación de un inmunoensayo tipo ELISA para la cuantificación de los niveles séricos de antígeno de superficie en pacientes con infección crónica por Virus de la Hepatitis B. *Biomed*, 109-121.
- Ruíz, J. G. (2006). Desarrollo de biosensores enzimáticos miniaturizados para su aplicación en la industria alimentaria. Barcelona.
- Salas , V. H., & Torres Moreno , C. (2006). Sensor interferométrico basado en fibra óptica . Revista Colombiana de física .
- Senior, J. M. (2009). *Optical Fiber Comunications: Principles and Practice.* Engalnd: Pearson.
- Sisniega Leonides, L. A. (14 de Mayo de 2007). Sintonizado de Frecuencias Pasa-Bandas con dispositivos Optoelectrónicos en el rango de los Gigahertz. Obtenido de Universidad de las Américas Puebla : http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lem/sisniega_l_la/
- Towhidul Islam, M. (s.f.). Fundamentals of Optical Fiber Systems. Daca: North South University.
- Treviño Castrillo, J. (2009). Desarrollo de un biosensor de resonancia de plasmón superficial para la determinación de hormonas pituitarias en muestras biológicas. Madrid: Universidad autonoma de Madrid.
- Universidad Nacional Autónoma de México. (s.f.). *Crecimiento microbiano*. Obtenido de Facultad de química: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/U4a_CrecimientoMicrobiano_19836.pdf
- Universidad Nacional de Entre Ríos. (s.f.). *Crecimiento bacteriano*. Obtenido de Universidad Nacional de Entre Ríos: http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/unidad_3 crecimiento bacteriano
- Vázquez Sánchez, R. A., Kuzin, E. A., Ibarra Escamilla, B., May Alarcón, M., Shlyagin, M., & Márquez Borbón, I. (2004). Láser de fibra óptica compuestos por dos cavidades acopladas: aplicación como sensor de fibra óptica. *Revista Mexicana de física*, 374-378.

