

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Máster

**Reflexión óptica en películas de oro
nanoestructuradas para la determinación
de índices de refracción
(Optical reflection in nanostructured gold
films for
refractive index determination)**

Para acceder al Título de

***Máster Universitario en Ciencia e
Ingeniería de la Luz***

Autor: Izan Calderón Vázquez

Julio - 2024

TÍTULO	Reflexión óptica en películas de oro nanoestructuradas para la determinación de índices de refracción			
AUTOR	Izan Calderón Vázquez			
DIRECTOR	Alfredo Franco Pérez			
CO-DIRECTORA	María Dolores Ortiz Márquez			
TITULACIÓN	MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LA LUZ	05/07/2024	Julio-2024	TOMO I DE I

Al progreso tecnológico y social, que es nuestra única esperanza ante un mundo hostil.

Un agradecimiento a todas las personas que han colaborado en este trabajo pues no sería posible si ellos, a mi familia y amigos por compartir buenos y malos momentos, a los artistas que me han proporcionado ocio para no sucumbir a la locura y a los filósofos que me han dado herramientas para evolucionar.

Resumen

En la última década, el uso del fenómeno de transmisión óptica extraordinaria (EOT, por sus siglas en inglés) ha experimentado un notable crecimiento, especialmente en el campo del biosensado. Los biosensores basados en EOT son altamente sensibles a cambios en el índice de refracción, permitiendo la detección precisa de biomoléculas en concentraciones extremadamente bajas. Este proyecto se enmarca en el desarrollo y optimización de biosensores basados en EOT.

El objetivo principal de este trabajo es adaptar un sistema biosensor basado en el fenómeno de transmisión óptica extraordinaria a un sistema biosensor que funcione en modo de reflexión, utilizando películas de oro nanoestructuradas. Este nuevo sistema busca replicar las capacidades de detección del biosensor basado en EOT cuando funciona en modo de transmisión. La viabilidad de este cambio a modo de reflexión se evalúa principalmente a través de la sensibilidad y precisión en la detección de cambios en el índice de refracción.

Para alcanzar este objetivo, se diseñó y evaluó un montaje experimental en modo de reflexión. Se utilizaron chips de oro nanoestructurados y se llevaron a cabo mediciones de sustancias con diferentes índices de refracción. El estudio incluye la comparación de los máximos y mínimos de los espectros obtenidos. Además, se comparó la sensibilidad óptica del sistema en ambas configuraciones.

Los resultados muestran que es posible obtener una sensibilidad óptica de detección comparable en las dos configuraciones. Se observó que las posiciones de los picos de reflexión varían linealmente con el índice de refracción.

Este trabajo demuestra que la adaptación de un biosensor basado en transmisión óptica extraordinaria a un sistema de reflexión es viable y efectiva. El sistema biosensor en modo de reflexión no solo mantiene la sensibilidad óptica del sistema original, sino que también abre nuevas posibilidades para diferentes aplicaciones en las que se puede determinar el índice de refracción de sustancias que no son transparentes a partir de medidas menos invasivas.

Summary

In the last decade, the use of extraordinary optical transmission (EOT) phenomena has experienced remarkable growth, especially in the field of biosensing. EOT-based biosensors are highly sensitive to changes in refractive index, allowing the accurate detection of biomolecules at extremely low concentrations. This project is part of the development and optimisation of EOT-based biosensors.

The main objective of this work is to adapt a biosensor system based on the extraordinary optical transmission phenomenon to a biosensor system operating in reflection mode, using nanostructured gold films. This new system aims to replicate the detection capabilities of the EOT-based biosensor when operating in transmission mode. The feasibility of this switch to reflection mode is assessed primarily through the sensitivity and accuracy in detecting changes in refractive index.

To achieve this goal, an experimental setup in reflection mode was designed and evaluated. Nanostructured gold chips were used and measurements of substances with different refractive indices were carried out. The study includes the comparison of the maxima and minima of the spectra obtained. In addition, the optical sensitivity of the system in both configurations was compared.

The results show that it is possible to obtain comparable optical detection sensitivity in the two configurations. The positions of the reflection peaks were found to vary linearly with the refractive index.

This work demonstrates that the adaptation of a biosensor based on extraordinary optical transmission to a reflection system is feasible and effective. The biosensor system in reflection mode not only maintains the optical sensitivity of the original system, but also opens up new possibilities for different applications in which the refractive index of non-transparent substances can be determined from less invasive measurements.

Índice

Índice	I
Índice de Figuras	1
Índice de Tablas	5
1 Introducción	7
1.1 Motivación	7
1.2 Marco teórico	8
Ondas evanescentes	9
Plasmones superficiales	11
Transmisión Óptica Extraordinaria	13
Anomalías de Rayleigh	14
2 Objetivos	15
3 Métodos	17
3.1 Método experimental	17
Transmisión	17
Reflexión	19
3.2 Análisis de los espectros	21
3.3 Chip	22
3.4 Muestras usadas	23
3.5 Medida	23
4 Resultados	27
4.1 Dependencia entre el tamaño del spot y el espectro observado . .	27
4.2 Dependencia entre la posición del spot y el espectro observado .	29
4.3 Sensibilidad óptica de los chips	31
Chip A	31
Chip B	35
Chip C	38
Comparación de sensibilidades	41

4.4	Efecto de medida de una huella	42
4.5	Comparación entre espectros de transmisión y reflexión	44
5	Propuesta de montaje por reflexión	47
6	Conclusiones	49
	Bibliografía	51
	Anexo	53
	Apéndice de código	59

Índice de Figuras

1.1	Representación esquemática de las ondas evanescentes que se propagan a lo largo de una interfase metal-dieléctrico. La densidad de las oscilaciones de carga, asociadas con los campos electromagnéticos, se denominan ondas de superficie-plasmones. A la derecha se muestra la dependencia exponencial de la intensidad del campo electromagnético en función de la distancia desde la interfaz. Estas ondas pueden ser excitadas de manera eficiente con luz en el intervalo visible del espectro electromagnético. [1]	10
1.2	Relación de dispersión para los plasmones superficiales. La línea azul representa la relación de dispersión de la luz en el vacío ($\omega = ck_x$), mientras que la línea roja muestra la relación de dispersión de los plasmones superficiales ($k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}}$). La frecuencia de los SPs (ω_{sp}) se alcanza cuando el vector de onda paralelo a la superficie (k_x) coincide con el vector de onda de la luz incidente. [2]	12
3.1	Montaje de transmisión. 1: Microscopio(la fuente de luz está integrada). 2: Joystick. 3: Red de difracción. 4: Fotodetector. 5: Ordenador.	19
3.2	Montaje de transmisión del laboratorio con las componentes equivalentes de la figura 3.1 indicadas en la imagen.	19
3.3	Montaje en régimen de reflexión. 1: Fuente de luz. 2: Acoplador. 3: Microscopio. 4: Espectrómetro. 5: Ordenador.	20
3.4	Esquema de representación del chip. D: Diámetro de los nanoagujeros. P: Periodicidad de los nanoagujero. E: Espesor del oro.	22
3.5	Conjunto de 10 medidas por transmisión de agua destilada como muestra en el chip «A ₁ ». La líneas continuas son los espectros de transmitancia en función de la longitud de onda. Las líneas discontinuas indican la posición de los extremos de interés. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.	24
3.6	Espectro de representación de las medidas de la figura 3.5 con las posiciones medias de los extremos, la zona sombreada a su alrededor es el margen de error.	25

4.1	Progresión de la variación del tamaño del spot sobre el array del chip.	28
4.2	Comparación de espectros de distintos tamaños de spot con ciertos extremales marcados como líneas verticales para marcar la máxima discrepancia en cada caso.	28
4.3	Progresión del desplazamiento del spot respecto al array de nanoagujeros.	29
4.4	Espectros asociados al desplazamiento del spot sobre el array de nanoagujeros. Cada posición corresponde a una posición del spot que se puede ver en la figura 4.3.	29
4.5	Representación del spot efectivo respecto al spot observado a través de los oculares del microscopio en la zona de nanoagujeros del chip.	30
4.6	Representación del efecto de la inclinación de la fibra sobre el spot observado y efectivo en el chip.	31
4.7	Espectros representativos de las mediciones con muestra disolución de glucosa al 10% y al 40% por transmisión en el primer chip «viejo». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.	32
4.8	Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A ₁ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales, sus barras de error se ven enmascaradas con la escala. La línea continua es el ajuste.	33
4.9	Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «A ₁ ». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.	33
4.10	Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A ₁ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes.	34
4.11	Espectros representativos de las mediciones de agua destilada y disolución de glucosa al 40% por transmisión para el chip «B». Las líneas rojas indican los máximos y las azules mínimos.	36
4.12	Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «B». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes.	37
4.13	Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «B». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.	37
4.14	Ajuste lineal de la posición de los extremales relevantes de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «B».	38
4.15	Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por transmisión para el chip «C». Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.	39
4.16	Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «C». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden al ajuste.	40

4.17	Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «C». Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.	40
4.18	Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «C». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden al ajuste.	41
4.19	Serie de mediciones de la huella de una esponja mojada en disolución de glucosa al 10% con el chip «A ₁ » por reflexión. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.	43
4.20	Espectro representativo de la medición de la huella de una esponja mojada en disolución de glucosa al 40% con el chip «A ₁ » por reflexión. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.	44
4.21	Comparación de los espectros medidos con el chip «A ₃ » por reflexión y por transmisión referencia oro y aire con una muestra de índice aproximado $n = 1,34$. Las escalas de cada espectros son distintas.	45
5.1	Esquema del nuevo montaje de reflexión. 1: Raíl 95mm. 2: fibra óptica. 3: Fiber port. 4: Fiber bench. 5: Lente. 6: Rail carriage. 7: Rail plate. 8: Microscopio. 9: Soporte del microscopio. 10: Ordenador	48
1	Ajuste de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A ₂ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes	53
2	Ajuste de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A ₂ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes	54
3	Ajuste de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A ₃ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes	54
4	Ajuste de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A ₃ ». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes	55
5	Comparación del espectro medido y simulado para dos índices de refracción de la muestra distintos.	56
6	Comparación del espectro medido y simulado teniendo en cuenta el cuarzo bajo el oro y una captación de luz en un punto.	56
7	Comparación del espectro medido y simulado cambiando el índice de refracción del cuarzo e introduciendo una capa de titanio entre el cuarzo y el oro.	57
8	Comparación del espectro medido y simulado con región de simulación aumentada y mayor tiempo de simulación.	58

Índice de Tablas

3.1	Parámetro de los 3 distintos chips	23
3.2	Índices de refracción de cada disolución hecha para medir la sensibilidad de los chips.	23
4.1	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.7.	32
4.2	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.9.	34
4.3	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidas con el chip «A ₂ » por transmisión.	35
4.4	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidos con el chip «A ₂ » por reflexión.	35
4.5	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidos con el chip «A ₃ » por transmisión	35
4.6	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción con el chip «A ₃ » por reflexión.	35
4.7	Datos de la posición de los extremales de la figura 4.11.	36
4.8	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante cambio de índice de refracción de la figura 4.13.	38
4.9	Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.15.	39
4.10	Datos de la posición de los extremales de mayor desplazamiento ante cambio de índice de refracción asociados a la figura 4.17.	41
4.11	Sensibilidades máximas para cada chip en cada montaje. Todas las unidades son nm/RIU	41

1

Introducción

1.1 Motivación

En la última década, el uso del fenómeno de transmisión óptica extraordinaria (EOT, por sus siglas en inglés) ha experimentado un notable crecimiento, especialmente en el campo del biosensado. Los biosensores basados en EOT son altamente sensibles a cambios en el índice de refracción, permitiendo la detección precisa de biomoléculas en concentraciones extremadamente bajas [3].

La creciente demanda de diagnósticos médicos rápidos y precisos ha impulsado el desarrollo de biosensores avanzados. Los biosensores basados en EOT ofrecen la posibilidad de detectar una amplia gama de enfermedades, desde infecciones virales y bacterianas hasta el cáncer, con una precisión y rapidez que no se pueden lograr con métodos convencionales [4, 5, 6]. La capacidad de estos sensores para operar en tiempo real en entornos complejos y con fluidos biológicos los hace extremadamente valiosos en aplicaciones clínicas.

Además, la miniaturización y la integración de estos sensores en dispositivos portátiles pueden revolucionar el campo de la salud personalizada, permitiendo el monitoreo continuo y no invasivo de la salud de los pacientes [7, 8]. Esto es particularmente relevante en el contexto actual, donde la detección temprana y el monitoreo constante son cruciales para el manejo efectivo de enfermedades crónicas y emergentes.

Los biosensores basados en EOT han sido ampliamente utilizados para detectar biomoléculas, estudiar la cinética de unión de pequeñas moléculas a sus proteínas objetivo, y analizar respuestas celulares a factores microambientales[4]. Sin embargo, su aplicación en la detección de estructuras biológicas complejas como las células ha sido limitada, aunque prometedora. En particular, estos sensores pueden discriminar entre células tumorales y no tumorales debido a las diferencias en la organización y estructura de la corteza de actina, una red de filamentos de actina situada justo debajo de la membrana celular que es esencial para la

división celular y la invasión tumoral[4].

El estudio de la reflexión óptica en películas de oro nanoestructuradas para la determinación de índices de refracción es crucial debido a varias razones clave. En primer lugar, la reflexión óptica ofrece una alternativa complementaria a la transmisión óptica extraordinaria (EOT), permitiendo la detección de biomoléculas y células en condiciones donde la transmisión no es viable o es menos eficiente. Esto es especialmente relevante en entornos de quirófano, donde la configuración de sensores debe ser compacta, no invasiva y adaptable a superficies irregulares. Los sensores basados en reflexión pueden ser integrados en instrumentos portátiles y utilizados in situ durante procedimientos médicos, proporcionando resultados en tiempo real sin la necesidad de complejas configuraciones de laboratorio. Además, el uso de la reflexión óptica mejora la robustez del sistema frente a perturbaciones externas y permite su aplicación en fluidos biológicos opacos o altamente absorbentes. La capacidad de estos sensores para operar eficientemente en entornos clínicos y quirúrgicos expande significativamente su utilidad y potencial impacto en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, contribuyendo al avance de la salud personalizada y la medicina de precisión.

1.2 Marco teórico

La luz es una forma de radiación electromagnética que se propaga en forma de ondas transversales. Estas ondas están compuestas por campos eléctricos y magnéticos que oscilan perpendicularmente entre sí y a la dirección de propagación de la onda. La luz, al igual que todas las ondas electromagnéticas, puede describirse por parámetros como la longitud de onda, la frecuencia y la velocidad de propagación.

En medios homogéneos, las ondas electromagnéticas se propagan de acuerdo con las ecuaciones de Maxwell, y su comportamiento dependen del índice de refracción del medio. Sin embargo, en situaciones donde la luz interactúa con interfaces entre medios con índices de refracción diferentes, se pueden producir fenómenos interesantes como la reflexión, la refracción y la generación de ondas evanescentes [9].

La necesidad de biosensores eficaces y precisos es crítica en el campo de la biomedicina, especialmente para la detección y caracterización de células tumorales. El desarrollo de métodos rápidos y sin etiquetas para diferenciar entre células tumorales y normales en muestras biológicas sigue siendo un desafío [4]. La capacidad de detectar y analizar células individuales en tiempo real podría proporcionar información valiosa para el diagnóstico y tratamiento del cáncer, así como para la investigación de procesos celulares clave como la proliferación, diferenciación y migración [5, 6, 10].

Ondas evanescentes

Una onda evanescente es una onda no propagante en un campo cercano cuya intensidad muestra un decaimiento exponencial con la distancia desde el límite en el cual la onda se produjo [5]. Este fenómeno ocurre debido a la necesidad de continuidad de los campos electromagnéticos en las fronteras entre medios con diferentes propiedades [10]. Las ondas evanescentes son una propiedad general de las ecuaciones de ondas y pueden ocurrir en cualquier contexto donde estas ecuaciones sean aplicables [11].

La ecuación de onda en un medio homogéneo se puede expresar como:

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \mu \varepsilon \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} = 0 \quad (1.1)$$

donde \mathbf{E} es el campo eléctrico, μ es la permeabilidad del medio y ε es la permitividad del medio [5]. Cuando una onda electromagnética encuentra una interfaz entre dos medios con diferentes índices de refracción, la continuidad del campo eléctrico y su derivada a través de la interfaz deben ser mantenidas [10].

Para una onda que incide sobre la interfaz con un ángulo mayor al ángulo crítico, no habrá transmisión en el segundo medio, y se formará una onda evanescente [12]. La solución de la ecuación de onda en esta situación muestra que el campo decae exponencialmente con la distancia z desde la interfaz:

$$E(z) = E_0 e^{-kz} \quad (1.2)$$

donde E_0 es la amplitud inicial y k es el número de onda evanescente en la dirección perpendicular a la interfaz [11].

Existen diversas formas de generar ondas evanescentes, tales como la reflexión interna total en una interfaz entre dos medios, el uso de guías de onda ópticas y la interacción con estructuras nanométricas como rejillas de difracción o superficies plasmónicas [5]. Estas ondas son más intensas cerca de la interfaz donde se forman y se atenúan rápidamente a medida que se alejan de ella [10].

La onda evanescente se caracteriza por:

- **Decaimiento Exponencial:** La amplitud de la onda evanescente decrece exponencialmente con la distancia desde la interfaz, lo que significa que su intensidad es significativa solo en una región cercana a la interfaz (de unos pocos nanómetros a micrómetros) [4]. Una representación gráfica de este fenómeno se puede ver en la figura 1.1.
- **Propagación en la Superficie:** Aunque la onda evanescente no se propaga en el segundo medio, sí lo hace a lo largo de la interfaz.

Las ondas evanescentes se forman en situaciones donde una onda electromagnética encuentra una interfaz con un material de índice de refracción menor.

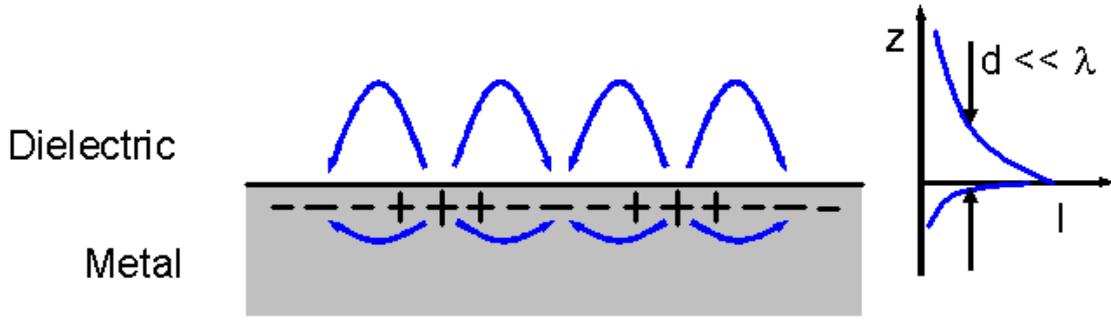


Figura 1.1: Representación esquemática de las ondas evanescentes que se propagan a lo largo de una interfase metal-dieléctrico. La densidad de las oscilaciones de carga, asociadas con los campos electromagnéticos, se denominan ondas de superficie-plasmones. A la derecha se muestra la dependencia exponencial de la intensidad del campo electromagnético en función de la distancia desde la interfaz. Estas ondas pueden ser excitadas de manera eficiente con luz en el intervalo visible del espectro electromagnético. [1]

Consideremos una onda incidente en la interfaz entre dos medios con índices de refracción n_1 y n_2 , donde $n_1 > n_2$. Para un ángulo de incidencia mayor que el ángulo crítico, se produce la reflexión total interna y, como resultado, se genera una onda evanescente. La solución de las ecuaciones de Maxwell en este contexto proporciona las ecuaciones que describen el comportamiento del campo eléctrico y magnético de la onda evanescente.

La componente z del vector de onda en el medio 2 es imaginaria y se define como:

$$k_{z2} = i\kappa = i\frac{\omega}{c} \sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta_i - n_2^2} \quad (1.3)$$

El campo eléctrico \mathbf{E} de la onda evanescente decae exponencialmente con la profundidad z en el medio 2 y se puede expresar como:

$$\mathbf{E}(x, z, t) = \mathbf{E}_0 e^{i(k_x x - \omega t)} e^{-\kappa z} \quad (1.4)$$

donde: - \mathbf{E}_0 es la amplitud del campo eléctrico, - $k_x = \frac{\omega}{c} n_1 \sin \theta_i$ es la componente del vector de onda paralela a la interfaz, - κ es el coeficiente de decaimiento evanescente.

El campo magnético \mathbf{H} asociado se describe por una expresión similar:

$$\mathbf{H}(x, z, t) = \mathbf{H}_0 e^{i(k_x x - \omega t)} e^{-\kappa z} \quad (1.5)$$

Aquí, \mathbf{H}_0 es la amplitud del campo magnético.

La profundidad de penetración de la onda evanescente, definida como la distancia a la cual la amplitud del campo decae a $1/e$ de su valor en la interfaz, es:

$$d_p = \frac{1}{\kappa} = \frac{c}{\omega \sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta_i - n_2^2}} \quad (1.6)$$

Estas ecuaciones describen cómo las ondas evanescentes se forman y decaen exponencialmente en el medio con menor índice de refracción.

Plasmones superficiales

Cuando un campo electromagnético interactúa con la superficie de un metal, los electrones libres del metal pueden resonar colectivamente, generando ondas de densidad de carga que se propagan a lo largo de la interfaz. Estas ondas se conocen como plasmones superficiales y son particularmente intensas en metales como el oro y la plata debido a su alta densidad de electrones libres [10].

Los plasmones superficiales (SPs, por sus siglas en inglés) son un caso de onda evanescente que ocurre en una interfaz metal-dieléctrico. Son oscilaciones coherentes de electrones en la superficie de un metal que se producen en respuesta a un campo electromagnético incidente. Estas oscilaciones se generan en la interfaz entre un metal y un dieléctrico y están confinadas a la superficie, decayendo exponencialmente el campo electromagnético que producen en ambas direcciones perpendiculares a la interfaz.

Para que un campo electromagnético incidente pueda excitar un plasmón superficial, debe cumplir ciertas condiciones específicas de longitud de onda y ángulo de incidencia. En particular, la frecuencia de la luz incidente debe coincidir con la frecuencia de resonancia de los plasmones superficiales, y el componente del vector de onda de la luz incidente a lo largo de la interfaz debe igualar al vector de onda del plasmón superficial. Esta resonancia puede ser lograda mediante la nanoestructuración del metal, como la creación de rejillas o nanohendiduras, que ayudan a acoplar la luz incidente con los plasmones superficiales al proporcionar el momento adicional necesario para cumplir con las condiciones de resonancia [10, 13].

La resonancia de plasmones superficiales (SPR, por sus siglas en inglés) es un fenómeno en el cual estos plasmones son excitados resonantemente por la luz incidente. La principal diferencia entre plasmones superficiales coherentes resonantes y una simple oscilación coherente de electrones radica en la resonancia: mientras que la oscilación coherente de electrones se refiere a cualquier movimiento sincrónico de electrones, los plasmones superficiales coherentes resonantes se refieren específicamente a aquellos que son inducidos y sostenidos por la resonancia con un campo electromagnético incidente [10, 13].

Matemáticamente, la condición para la existencia de SPs en la interfaz entre un metal y un dieléctrico se puede derivar de las ecuaciones de Maxwell, y se expresa como:

$$\varepsilon_m(\omega) + \varepsilon_d = 0 \quad (1.7)$$

donde $\varepsilon_m(\omega)$ es la permitividad del metal, que depende de la frecuencia ω de la luz incidente, y ε_d es la permitividad del dieléctrico [10, 13].

Para un metal con una permitividad compleja $\varepsilon_m(\omega) = \varepsilon'_m + i\varepsilon''_m$, la condición de resonancia se cumple cuando la parte real de la permitividad del metal es igual en magnitud y opuesta en signo a la permitividad del dieléctrico.

El vector de onda del plasmón superficial k_{sp} se relaciona con el vector de onda de la luz incidente k y el ángulo de incidencia θ mediante la siguiente expresión:

$$k_{sp} = k \sin \theta \quad (1.8)$$

La relación de dispersión para los SPs describe cómo varía el número de onda del plasmón superficial con la frecuencia de la luz incidente. Esta relación de dispersión se puede escribir como:

$$k_{sp} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1.9)$$

donde k_{sp} es el número de onda del plasmón superficial, ω es la frecuencia angular de la luz incidente, y c es la velocidad de la luz en el vacío. Esta relación de dispersión muestra las condiciones bajo las cuales los SPs pueden ser excitados y cómo estas condiciones dependen de las propiedades del metal y el dieléctrico.

A continuación, se muestra una gráfica que ejemplifica las condiciones bajo las cuales los plasmones superficiales entran en resonancia, en términos de la relación de dispersión:

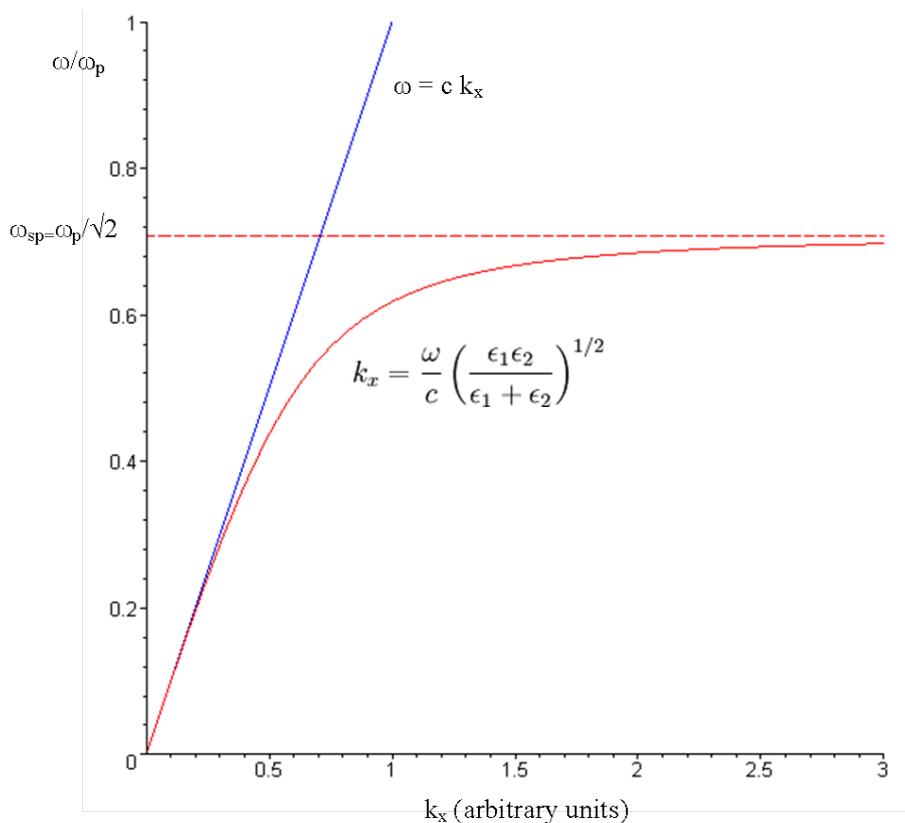


Figura 1.2: Relación de dispersión para los plasmones superficiales. La línea azul representa la relación de dispersión de la luz en el vacío ($\omega = ck_x$), mientras que la línea roja muestra la relación de dispersión de los plasmones superficiales ($k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}}$). La frecuencia de los SPs (ω_{sp}) se alcanza cuando el vector de onda paralelo a la superficie (k_x) coincide con el vector de onda de la luz incidente. [2]

Transmisión Óptica Extraordinaria

La transmisión óptica extraordinaria (EOT, por sus siglas en inglés) es un fenómeno óptico en el que la luz se transmite a través de una película metálica con aberturas de dimensiones inferiores a la longitud de onda de la luz, con una eficiencia mucho mayor de lo que se podría esperar de la teoría clásica de la óptica. Este fenómeno fue observado por primera vez por Ebbesen et al. en 1998 cuando descubrieron que una matriz de agujeros en una película metálica permitía una transmisión de luz mucho mayor que la predicha por la teoría convencional [6]. Dicha teoría convencional es la teoría de la difracción de Bethe, desarrollada por Hans Bethe en 1944. Bethe describió cómo las ondas electromagnéticas interactúan con pequeñas aperturas en una pantalla metálica, generando campos electromagnéticos secundarios debido a las corrientes y cargas inducidas en los bordes de la apertura. Este modelo teórico es fundamental para entender los principios básicos que determinan cómo se transmite la luz a través de aperturas metálicas, y se expresa matemáticamente mediante una expansión multipolar [14].

En el desarrollo matemático de la teoría de Bethe, la potencia radiada P por una pequeña apertura circular en una pantalla metálica se puede aproximar mediante la expansión multipolar de los campos electromagnéticos. La amplitud del campo eléctrico E en la apertura se expande en una serie de modos multipolares. El término dominante en la expansión es el dipolar eléctrico, seguido por el cuadrupolar eléctrico y así sucesivamente. La expansión multipolar para el campo eléctrico E y el campo magnético H en coordenadas esféricas se expresa como:

$$E(\mathbf{r}) = \sum_{l=1}^{\infty} \sum_{m=-l}^l \left(a_{lm} \mathbf{X}_{lm}^{(1)}(kr) + b_{lm} \mathbf{X}_{lm}^{(2)}(kr) \right) \quad (1.10)$$

$$H(\mathbf{r}) = \sum_{l=1}^{\infty} \sum_{m=-l}^l \left(c_{lm} \mathbf{X}_{lm}^{(1)}(kr) + d_{lm} \mathbf{X}_{lm}^{(2)}(kr) \right) \quad (1.11)$$

Donde $\mathbf{X}_{lm}^{(1)}$ y $\mathbf{X}_{lm}^{(2)}$ son funciones vectoriales esféricas regulares e irregulares, respectivamente, y $a_{lm}, b_{lm}, c_{lm}, d_{lm}$ son los coeficientes multipolares que dependen de las condiciones de frontera y la geometría de la apertura.

Este desarrollo matemático permite comprender cómo los diferentes modos multipolares contribuyen a la propagación y transmisión de la luz a través de pequeñas aperturas, y cómo estos efectos pueden ser manipulados para mejorar la eficiencia de transmisión, sin embargo, no predicen la transmisión extraordinaria observada para algunas longitudes de onda superiores al diámetro de las aperturas.

El fenómeno de EOT se produce cuando la luz incidente genera plasmones superficiales en la superficie de la película metálica. Estos plasmones, a su vez, excitan modos de resonancia en los agujeros, lo que permite que la luz sea transmitida a través de la película con una eficiencia sorprendentemente alta

para algunas longitudes de onda. La condición para la resonancia se puede describir por la relación de dispersión de los plasmones superficiales (ecuación 1.9)

El mecanismo de EOT se puede entender mejor observando las interacciones entre la luz incidente, los plasmones superficiales y los modos de resonancia en los agujeros. Cuando la luz incide sobre la película metálica, excita plasmones superficiales en la interfaz entre el metal y el dieléctrico. Estos plasmones luego excitan modos de resonancia en los agujeros, que actúan como antenas, permitiendo que la luz sea transmitida a través de la película. La eficiencia de esta transmisión está fuertemente influenciada por la geometría de los agujeros, su distribución periódica y la longitud de onda de la luz incidente.

La condición de resonancia de los plasmones superficiales está relacionada con la periodicidad a de la matriz de agujeros y, en el caso de una matriz cuadrada, puede describirse mediante la ecuación:

$$\lambda_{m,n} = \frac{a}{\sqrt{m^2 + n^2}} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1.12)$$

donde $\lambda_{m,n}$ es la longitud de onda de la luz en la que ocurre la resonancia para los órdenes (m, n) donde m y n son números enteros y periodicidad a .

Anomalías de Rayleigh

Las anomalías de Rayleigh son otro aspecto importante a considerar en el estudio de la EOT. Estas anomalías ocurren cuando la longitud de onda de la luz incidente coincide con las longitudes de onda específicas (descritas por la ecuación 1.13) determinadas por la estructura periódica de la matriz de agujeros, lo que da lugar a una fuerte difracción de la luz. La condición para las anomalías de Rayleigh puede expresarse como:

$$\lambda_R = \frac{a}{m \sin \theta} \quad (1.13)$$

donde λ_R es la longitud de onda de la anomalía de Rayleigh, a es la periodicidad de la matriz de agujeros, m es el orden de difracción, y θ es el ángulo de incidencia de la luz. Las anomalías de Rayleigh se observan como picos intensos en los espectros de transmisión y se superponen a los picos de EOT [5].

2

Objetivos

El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de detección que utilice reflexión óptica en lugar de transmisión para la detección de células y tejidos tumorales. Este nuevo sistema busca replicar las capacidades de detección del biosensor basado en EOT, previamente utilizado con éxito en modo de transmisión [4], para obtener resultados comparables mediante reflexión. Además, se pretende que el nuevo sistema sea portátil, lo que facilitaría su uso en diversas aplicaciones biomédicas y permitirá la realización de mediciones fuera del laboratorio.

3

Métodos

En este capítulo se explica el montaje experimental con el que se han tomado las medidas tanto por transmisión como por reflexión. También se explica cómo se han analizado las mediciones con el código que se ha programado en python. Para complementar el sistema de toma de medidas se explica la estructura de los chips utilizados para la medición y las muestras que se han medido a lo largo del trabajo. Por último se explica una medida de ejemplo para ilustrar el proceso.

3.1 Método experimental

El montaje experimental y el sistema de medida varían para cada caso debido a las dos situaciones de medida distintas, la del montaje de transmisión y la del montaje de reflexión.

En primer lugar se definirá el montaje y el método de medida de transmisión ya que es la base del trabajo y el sistema que ha probado funcionar correctamente en trabajos anteriores.

Transmisión

El montaje en el régimen de transmisión es el representado en la figura 3.1 donde: el elemento 1 corresponde al microscopio utilizado para la toma de la imagen del chip con la muestra. Este microscopio tiene una fuente de luz integrada que se utiliza para la iluminación del chip y por ende para la producción de los correspondientes efectos plasmónicos. El elemento 2 de la figura corresponde a un joystick conectado a la plataforma del microscopio que permite el movimiento de la muestra con gran precisión y registro de coordenadas. El elemento 3 de la figura corresponde a la primera parte del espectrómetro, véase, la red de difracción que separa la luz espectralmente. La luz que va al espectrómetro se encamina

mediante una fibra óptica multimodo que recibe la imagen de la muestra y está conectada al microscopio. Una vez separada la luz espectralmente esta se dirige al elemento 4 de la figura, un detector compuesto por una serie de CCDs que captan la luz con cierta separación. Este detector está refrigerado por efecto Peltier para minimizar el ruido detectado por los CCDs tomando las medidas a una temperatura de -65°C . Los datos recogidos por este detector van al elemento 5 de la figura, el ordenador con el que se procesa la señal. En este ordenador con el programa asociado al espectrómetro se asigna la intensidad de luz captada en cada CCD a una longitud de onda.

El sistema de toma de datos con este montaje consiste en los siguientes pasos:

1. Toma del espectro de oscuridad: Este espectro se toma una sola vez al principio de la toma de medidas y vale para eliminar el ruido asociado de los CCD a las medidas.
2. Toma del espectro de referencia: Este espectro se toma siempre antes de hacer una medida. La referencia puede ser el espectro de la propia fuente. En este caso se desplaza el chip del camino de la luz y se toma el espectro. La referencia también puede ser el espectro de la fuente a través del oro. En este caso se mueve el spot de luz a la zona no nanoestructurada del chip (una lámina de oro de espesor uniforme).
3. Toma del espectro de la muestra: Una vez se tiene la referencia se toma el espectro apuntando el spot de luz a la zona nanoestructurada del chip. El programa de medida hace el cálculo del porcentaje de transmitancia para cada longitud de onda.

En este montaje en específico se tiene que ajustar la fibra óptica y la potencia de la fuente de forma que la fibra este alineada para dar la mayor respuesta posible para la potencia de la fuente elegida evitando la saturación de los CCDs. En combinación con esto se puede modificar el tiempo de integración del fotodetector. Este montaje también requiere de la selección de ciertos rangos de longitud de onda permitidos por las características de la red de difracción. El rango usado en las medidas tomadas es desde los 650nm hasta los 930nm. El microscopio utilizado también permite regular el tamaño del spot de iluminación.

Las mediciones se realizaron inicialmente capturando el espectro de oscuridad y el de referencia para cada medición. Posteriormente, se decidió tomar el espectro de oscuridad una sola vez para todas las mediciones, debido a su nula variación con el tiempo. El espectro de referencia se continuó tomando en cada medición para considerar posibles variaciones, especialmente cuando se utilizó como espectro de referencia el espectro a través de la lámina de oro ya que era distinto dependiendo de la zona debido a variaciones de espesor o pequeños daños que pudiese tener el chip. Una vez obtenidos los espectros de oscuridad y de referencia, se puede comenzar con la toma de medidas. El procedimiento realizado consiste en tomar 10 mediciones de la muestra para tener en cuenta posibles variaciones en los resultados y por ende poder obtener un error estadístico asociado.

Es importante recalcar que la medición del espectro de referencia y del espectro de la muestra requieren del enfoque del microscopio ya que por la refracción producida por un material de distinto índice de refracción al del aire (el chip con la muestra), el plano focal es distinto y un spot de luz no enfocado da respuestas indeseadas en la intensidad del espectro.

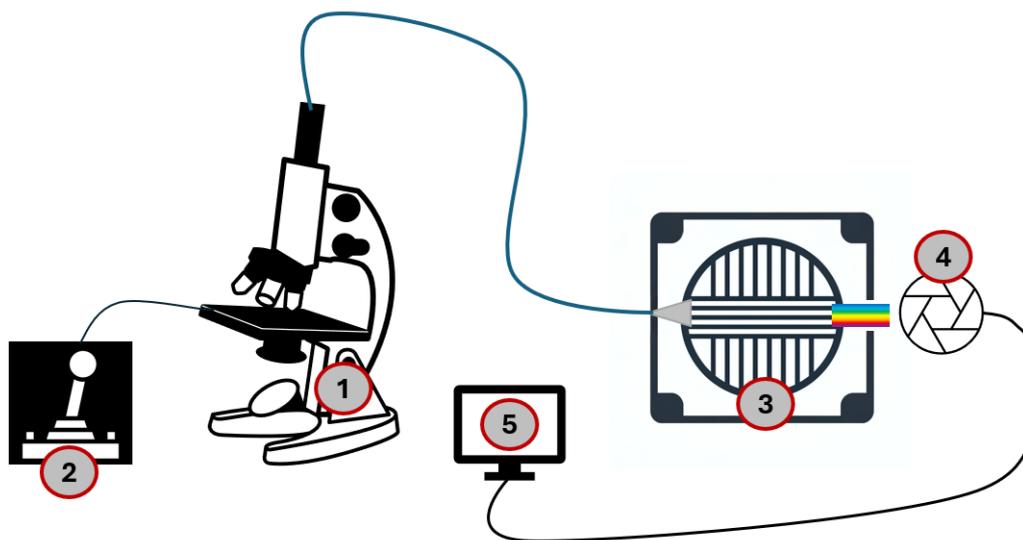


Figura 3.1: Montaje de transmisión. 1: Microscopio (la fuente de luz está integrada). 2: Joystick. 3: Red de difracción. 4: Fotodetector. 5: Ordenador.



Figura 3.2: Montaje de transmisión del laboratorio con las componentes equivalentes de la figura 3.1 indicadas en la imagen.

Reflexión

En el montaje de reflexión a diferencia del de transmisión, la fuente de luz no está integrada en el microscopio por lo que se utiliza una fuente halógena correspondiente al elemento 1 de la figura 3.3. Se usa una fuente halógena para tener señal en un espectro amplio en la región visible y que abarque el infrarrojo cercano. La luz producida por esta fuente se dirige al microscopio sobre el que se posiciona la muestra por una fibra óptica. Esta fibra se usa como emisora y

receptora de luz. Tiene un acoplador (elemento 2 de la figura) por el que la luz se dirige a la muestra del microscopio (elemento 3) (no es el mismo microscopio que el del régimen de transmisión). Cuando la luz llega a este microscopio, se refleja en la muestra y vuelve a introducirse en la fibra de forma que cuando llega al acoplador parte de esta luz vuelve a la fuente y parte se dirige al espectrómetro (elemento 4). Este espectrómetro al contrario que en el montaje de transmisión no tiene refrigeración y es de un tamaño muy inferior (lo cual es idóneo para convertir este sistema en uno portátil). Los datos recibidos por el espectrómetro se transmiten por una conexión USB al ordenador (elemento 5).

La toma de espectros de referencia y oscuridad es análoga en ambos regímenes. El espectro de oscuridad se toma desconectando la fibra del espectrómetro y tapando la entrada para evitar luz de fondo.

En el caso de este montaje, el microscopio solo vale para ubicar el spot de luz en el chip ya que las medidas no requieren del sistema de lentes del microscopio. Los espectros de referencia en este caso solo pueden corresponder a la reflexión en la lámina de oro ya que para tomar el espectro de la fuente se requeriría un montaje distinto o un espejo perfecto que no cambie el espectro en la reflexión. En este caso no hay que seleccionar longitudes de onda ya que el espectrómetro tiene un rango fijo desde aproximadamente 350nm hasta aproximadamente 1050nm.

La toma de datos en este caso también se hizo normalmente con la medición de 10 espectros de la muestra con el mismo objetivo que en el otro montaje. En este caso por el funcionamiento del programa y del espectrómetro tiene más importancia el tiempo de integración para la obtención de la señal, la cantidad de espectros que se utilizan para el promediado y la anchura del boxcar que se usa para minimizar el ruido.

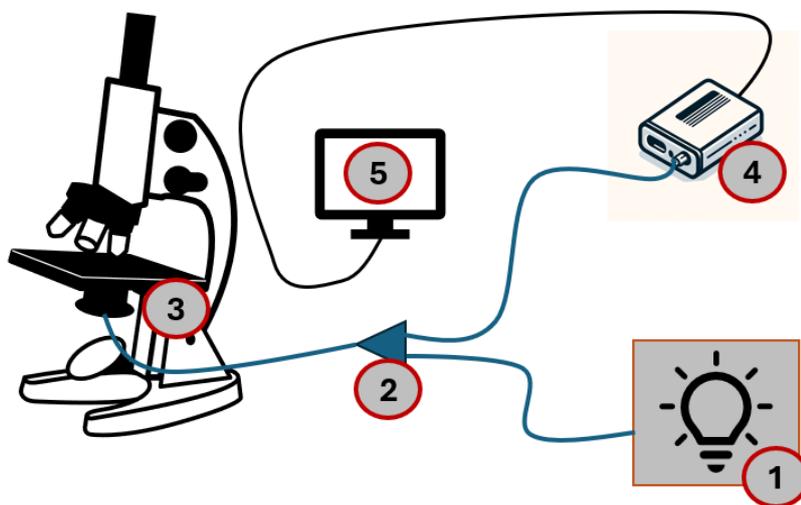


Figura 3.3: Montaje en régimen de reflexión. 1: Fuente de luz. 2: Acoplador. 3: Microscopio. 4: Espectrómetro. 5: Ordenador.

3.2 Análisis de los espectros

El parámetro relevante a estudiar en este trabajo es la posición espectral de los picos que se observan por transmisión y reflexión. A partir de la posición de los picos y su desplazamiento con el aumento del índice de refracción se puede obtener la sensibilidad de cada pico. La sensibilidad de cada pico corresponde a la pendiente de un ajuste lineal de la posición de cada pico para el índice de refracción de cada medida.

Con esta sensibilidad para cada chip y pico se conforma el biosensor como tal ya que es la calibración necesaria para determinar el índice de refracción de una muestra. Para obtener la posición de los picos en cada espectro y la sensibilidad del chip se han programado funciones de código que se explican a continuación.

El análisis de los datos se ha llevado a cabo en python(específicamente JupyterLab como editor de código). Para construir estas funciones se han necesitado distintos módulos que se han importado al principio del programa para poder usarlos posteriormente en las funciones. Estos imports se pueden ver en el apéndice 1.

En el caso del análisis hay diferencias entre los montajes de transmisión y reflexión, por ejemplo los datos que se obtienen por transmisión se procesan en formato .asc mientras que los datos de reflexión se procesan en formato .txt. Para poder cargar estos archivos en sus formatos específicos en python se han definido dos funciones de lectura para cada archivo. Estas funciones se pueden ver en el código del apéndice 2.

Dado que los espectros de reflexión y de transmisión tienen distinto rango espectral se ha construido una función capaz de tomar los datos de cierta región. Esta función también vale en caso de tener una zona muy ruidosa del espectro, normalmente en los extremos, para poder eliminar esa parte en la búsqueda de extremos de interés para poder determinar el índice de refracción de las muestras. Esta función se puede ver en el apéndice 3.

Debido a que los espectros tienen en general ruido, se requiere de un sistema de filtrado para minimizar el efecto de este ruido a la hora de determinar la posición de los extremos. Para esto se ha construido una función «filtro» que toma la mediana de un grupo de datos para eliminar los outliers producidos por ionización espontánea de los CCDs y que aplica un filtro gaussiano para suavizar el espectro. Esta función se puede ver en el apéndice 4.

Una vez se tiene un espectro suavizado con se puede determinar automáticamente la posición de los extremos. Para ello se ha definido una función que encuentra esas posiciones y devuelve una lista con las posiciones espectrales. Esta función se puede ver en el apéndice 5.

Como se ha explicado en el método experimental, se toman 10 medidas de cada

muestra por lo que se tienen 10 posiciones espectrales para un mismo máximo o mínimo. Para utilizar estas posiciones y poder tener un error estadístico se ha construido una función que toma los posiciones de los extremales para tener una posición media y una desviación estándar como error. Esta función se puede ver en el apéndice 6.

Finalmente, con las posiciones de los máximos y su error se puede realizar un ajuste lineal de la posición espectral de cada pico respecto al índice de refracción de la muestra de cada medida para obtener una pendiente que equivale a la sensibilidad del chip, esta sensibilidad es independiente para cada extremal. Se ha construido una función que obtiene la pendiente del ajuste con su error, la ordenada en el origen del ajuste con el error y una variable « y_{pred} » con objetivos de representación gráfica. Esta función se puede ver en el apéndice 7.

A partir de las funciones de código expuestas se puede hacer el análisis de las medidas tomadas cambiando los parámetros de cada función para adecuarlas a las necesidades específicas de cada medida.

3.3 Chip

Cuando se habla de chip cabe recalcar que no se trata de un microchip que funcione en base a la electrónica como uno se pueda imaginar sino que se trata de una estructura como la vista en la representación de la figura 3.4 donde la parte azul clara corresponde a cuarzo sobre el que está depositado el chip y la parte naranja a oro. Este chip es una lámina metálica de espesor E con una zona del chip marcada con nanoagujeros de diámetro D deispuestos de manera periódica con periodicidad P .

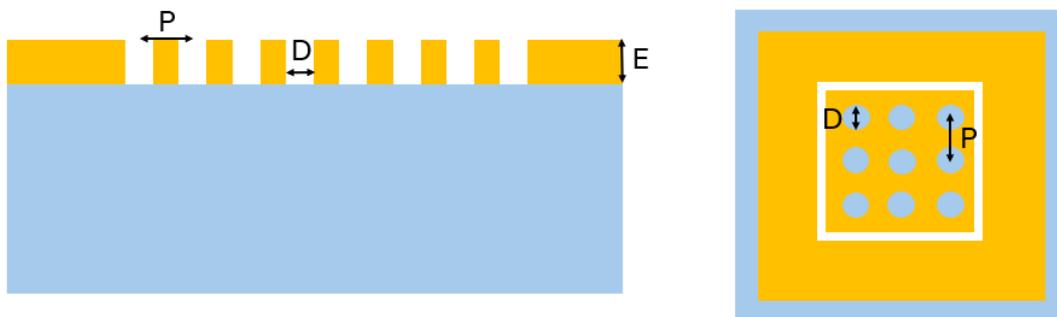


Figura 3.4: Esquema de representación del chip. D: Diámetro de los nanoagujeros. P: Periodicidad de los nanoagujero. E: Espesor del oro.

A lo largo de este trabajo se han utilizado 3 tipos de chips con diferentes características. Estos chips se han llamado chip «A», chip «B» y chip «C» y se han medido 3 chips «A»(que se denominarán « A_1 », « A_2 » y « A_3 ») y uno de cada

uno de los otros dos. Las características asociadas a cada uno de los chips se pueden ver en la tabla 3.1.

	P/nm	D/nm	E/nm
A	550	110	60
B	780	170	80
C	780	340	80

Tabla 3.1: Parámetro de los 3 distintos chips

3.4 Muestras usadas

A lo largo de este trabajo se han medido diferentes muestras. La medida de la sensibilidad de un extremal de un chip requiere de muestras con distintos índices de refracción respecto a los que mirar el desplazamiento de los picos. Para cumplir con esta condición se han preparado disoluciones de glucosa en agua en porcentajes de 10%, 20%, 30% y 40% en peso y se ha medido su índice de refracción con un refractómetro de Abbe. De esta forma y sumando el agua pura como muestra se tienen 5 puntos respecto a los que hacer el ajuste de la sensibilidad. Los índices de refracción medidos para las distintas disoluciones se pueden ver en la tabla 3.2.

Disolución	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %
n	1,333	1,348	1,364	1,382	1,401

Tabla 3.2: Índices de refracción de cada disolución hecha para medir la sensibilidad de los chips.

Las medidas hechas en este trabajo que no requieren de cálculo de la sensibilidad se han hecho siempre con agua como es el caso de la medida de la relevancia del tamaño y posición del spot de iluminación que se verá en el capítulo de resultados. La medida del espectro de una huella (también se verá en los resultados) sí que se ha hecho con disoluciones para poder comparar entre distintas huellas.

3.5 Medida

Esta sección trata de ilustrar el procesado de una medida ya que todas las medidas tomadas se procesan de forma similar. En la figura 3.5 se puede ver una serie de 10 espectros de medidas por transmisión tomadas utilizando agua como muestra y aire como referencia.

Las líneas verticales rojas representan los máximos de cada espectro y las azules los mínimos. La determinación de la posición espectral de estos picos se ha hecho aplicando las funciones de código explicadas en la sección de análisis de espectros.

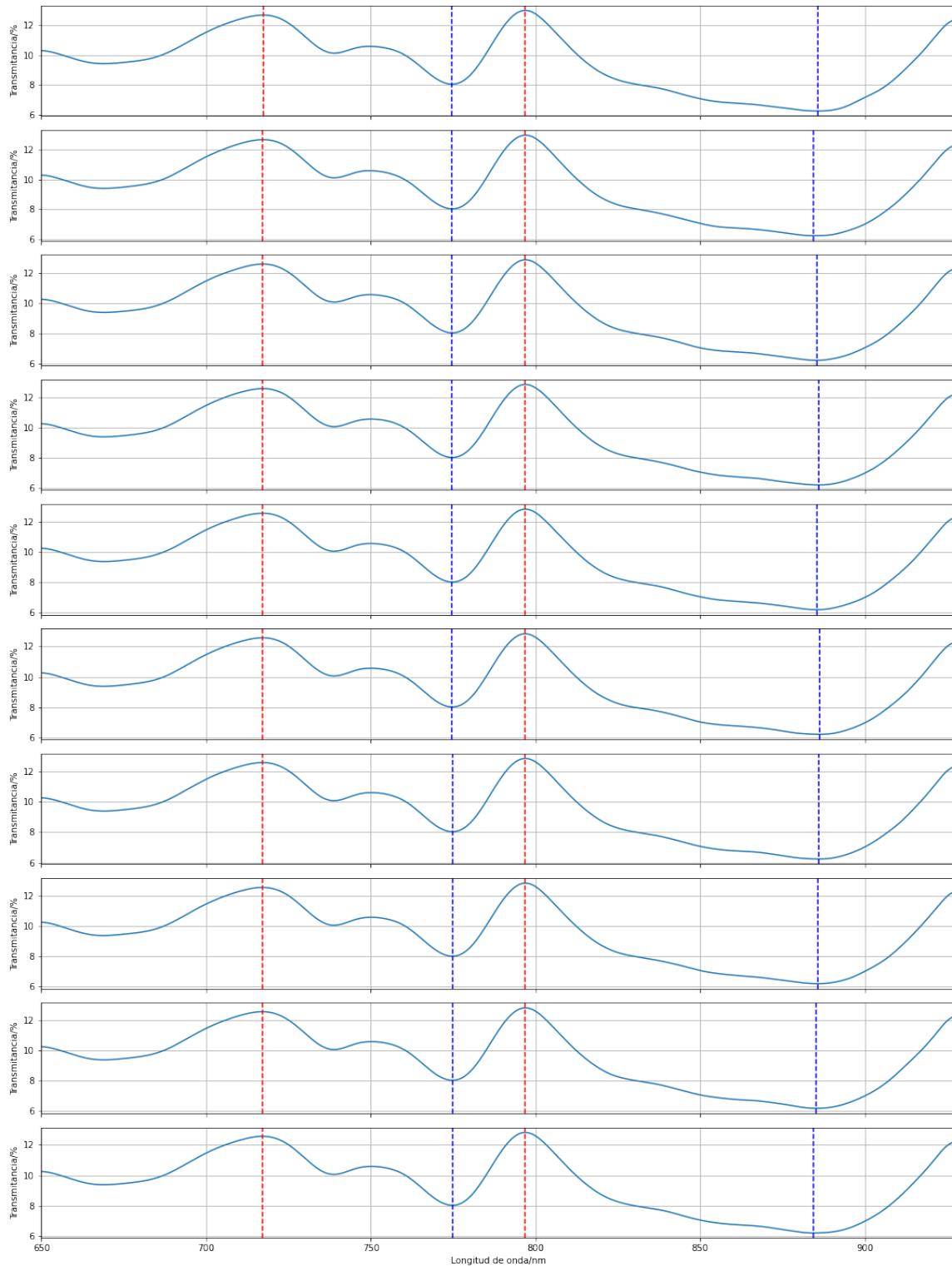


Figura 3.5: Conjunto de 10 medidas por transmisión de agua destilada como muestra en el chip «A₁». La líneas continuas son los espectros de transmitancia en función de la longitud de onda. Las líneas discontinuas indican la posición de los extremales de interés. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.

A partir de las 10 medidas se obtiene una posición media de cada extremal junto con su desviación estándar, representada como la zona sombreada alrededor de cada extremal en la figura 3.6. El espectro de esta figura es uno de los 10 espectros de la figura 3.5 escogido a conveniencia. Cuando se determina la posición de los extremales con su error, el propio código proporciona en pantalla los valores numéricos.

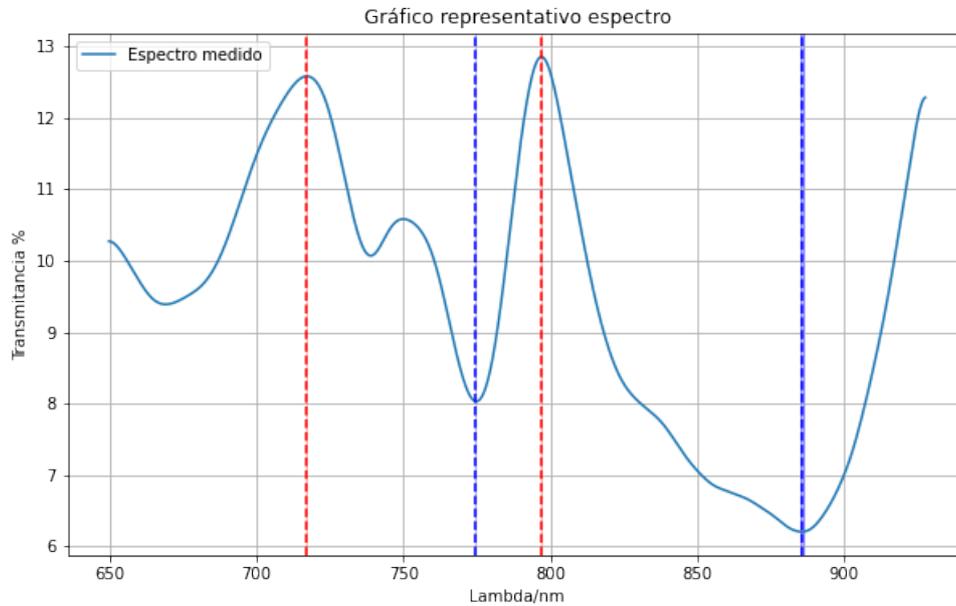


Figura 3.6: Espectro de representación de las medidas de la figura 3.5 con las posiciones medias de los extremales, la zona sombreada a su alrededor es el margen de error.

4

Resultados

En esta sección se han estudiado distintos factores que afectan a los espectros observados en una medida espectroscópica. Estos factores son el tamaño y la posición del spot de iluminación. También se ha medido la sensibilidad de los extremos relevantes de 3 chips «A», un chip «B» y un chip «C».

Para asemejar una medida a una situación de quirófano también se ha hecho el estudio del espectro obtenido al tomar como muestra sólo una huella dejada sobre el chip.

4.1 Dependencia entre el tamaño del spot y el espectro observado

Se realizaron ciertas comprobaciones en el sistema de transmisión. Una de estas comprobaciones es que una medida con un spot de iluminación que ocupa toda la zona del array de nanoagujeros da la misma respuesta que una medida con un spot de diámetro reducido. De esta manera si ambos producen una respuesta similar se podría pasar a una configuración de medición por reflexión con un tamaño del spot grande. Este estudio de la dependencia con el tamaño del spot se ha hecho hasta el punto en el que el spot era mayor al tamaño del array y por tanto parte de la luz incidía directamente en el oro no agujereado del chip.

Estas medidas se han llevado a cabo con el chip «A₁» en contacto con agua destilada manteniendo la intensidad de iluminación constante y variando la apertura del diafragma de campo para variar el tamaño del spot de luz sobre el array de la muestra. La progresión del aumento del spot se ejemplifica en las fotos de la figura 4.1.

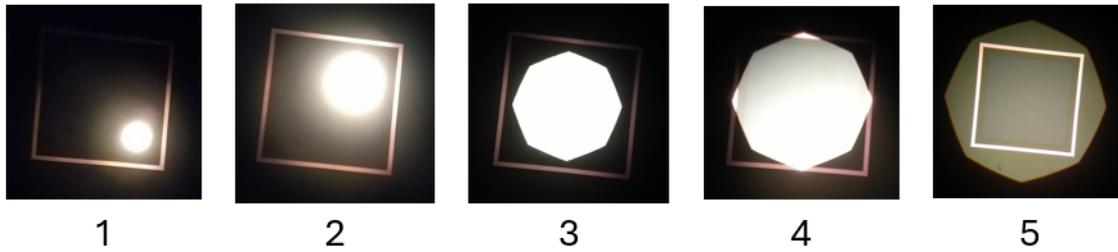


Figura 4.1: Progresión de la variación del tamaño del spot sobre el array del chip.

Los espectros asociados a los spots de la figura 4.1 se pueden observar en la figura 4.2.

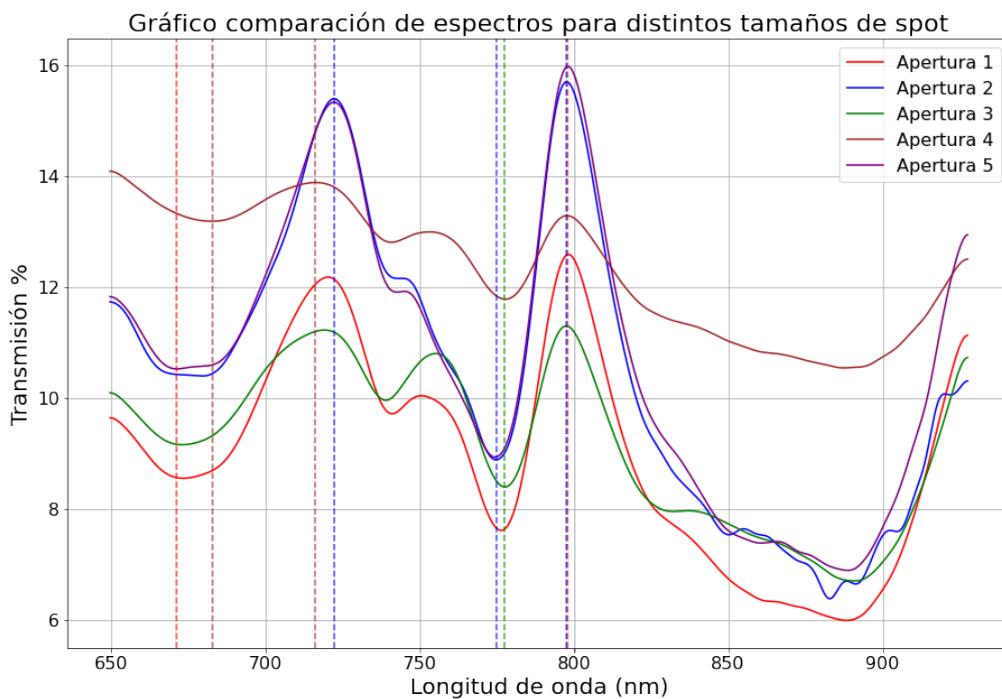


Figura 4.2: Comparación de espectros de distintos tamaños de spot con ciertos extremos marcados como líneas verticales para marcar la máxima discrepancia en cada caso.

En la figura 4.2 se puede ver que sí hay ligeros cambios a medida que se cambia el tamaño del spot sobre el chip. Considero que este cambio de la forma del espectro es debido principalmente a la variabilidad normal entre medidas y a el ruido extra asociado a una apertura pequeña para la misma intensidad de la fuente y no a algún efecto físico, ya que incluso los spots tomados con aperturas muy pequeñas abarcan muchos nanoagujeros. Los máximos y mínimos en general mantienen su posición difiriendo en algunos casos por la presencia de picos poco intensos en algunos espectros. Aun así, la región espectral que va de 750nm a 850nm mantiene una posición de sus picos con poca variabilidad.

4.2 Dependencia entre la posición del spot y el espectro observado

En este caso, tomando un tamaño de spot fijo se ha estudiado la relevancia de la posición del spot. Se ha desplazado del array de nanoagujeros para ver la variación del espectro a medida que se iluminaba una mayor proporción de oro no nanoestructurado.

Los espectros se han tomado con el montaje en transmisión. Una vez más se ha usado el chip «A₁» en contacto con agua destilada como muestra. Las fotografías de la figura 4.3 ilustran la posición del spot respecto al chip.

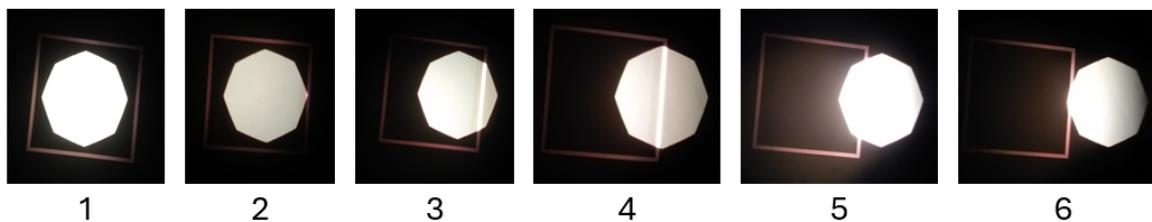


Figura 4.3: Progresión del desplazamiento del spot respecto al array de nanoagujeros.

Los espectros de transmisión asociados a las medidas tomadas con un desplazamiento progresivo de los spots como se puede ver en la figura 4.3 están representados en la figura 4.4.

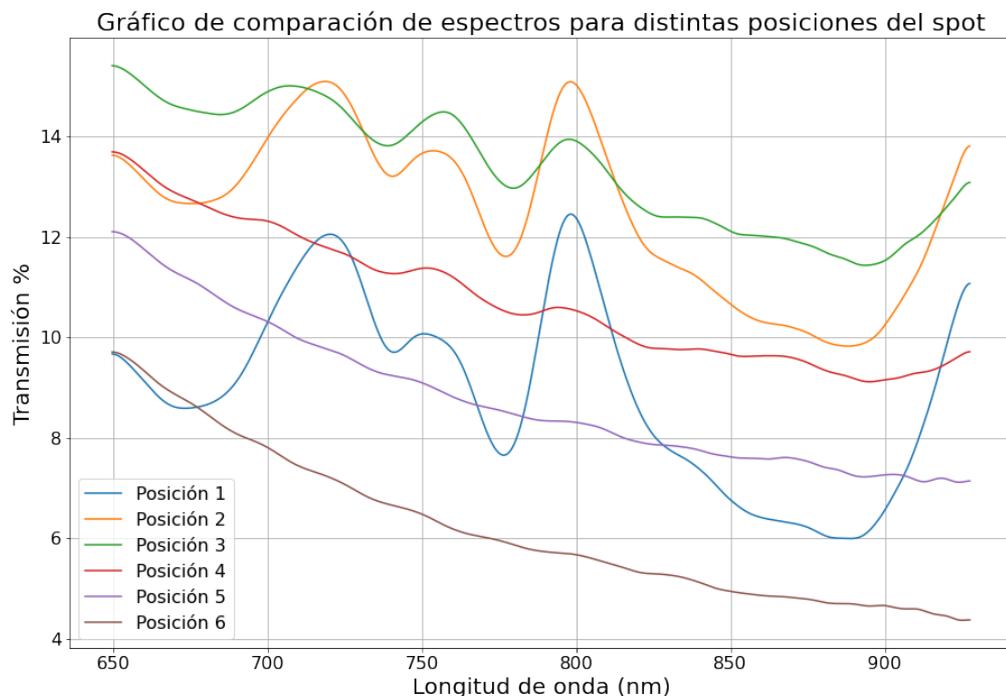


Figura 4.4: Espectros asociados al desplazamiento del spot sobre el array de nanoagujeros. Cada posición corresponde a una posición del spot que se puede ver en la figura 4.3.

En la figura 4.4 se puede observar claramente como, a medida que el spot se desplaza y la lámina de oro no agujereada abarca mayor parte del spot que la parte agujereada, se va perdiendo el contraste de los picos de transmisión óptica extraordinaria hasta que se dejan de apreciar.

Este estudio se intentó hacer en reflexión y en ese proceso se observó una de las mayores peculiaridades de este sistema. A pesar de que a través del objetivo del microscopio se observaba un spot de tamaño mayor al del array de nanoagujeros, la respuesta observada no correspondía con una zona agujereada del chip y se obtenía una respuesta muy débil en intensidad con picos muy poco definidos. A medida que se desplazó el spot para alejarse del array se observó un aumento de la respuesta significativo hasta alcanzar el máximo cuando gran parte del spot se veía sobre oro no agujereado. Teniendo este hecho en cuenta y comprobando que al cambiar la orientación del chip y alejar la fibra óptica, se llegó a la conclusión que, debido a la divergencia de la luz de la fibra, el spot observado por los oculares del microscopio y el spot efectivo de la fibra es distinto. (Ver figura 4.5)

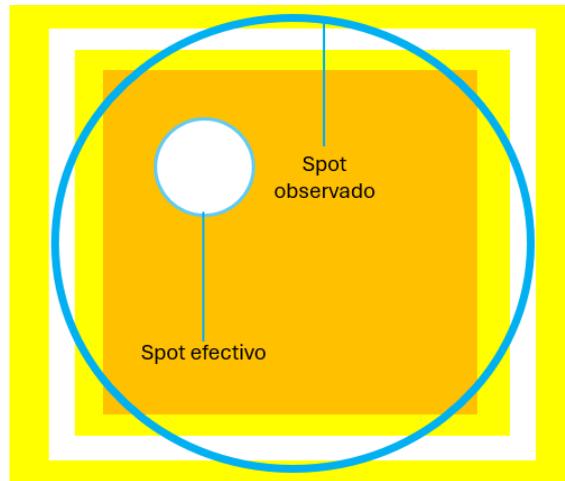


Figura 4.5: Representación del spot efectivo respecto al spot observado a través de los oculares del microscopio en la zona de nanoagujeros del chip.

Dado que la salida de la fibra no tiene ningún sistema óptico se esperaría que el spot efectivo se encontrase en el centro mientras que el fenómeno observado es un desplazamiento de esa posición. La explicación es que la fibra o la muestra se encuentra inclinada. Tras comprobar que la muestra se encontraba posicionada correctamente se llegó a la conclusión de que la inclinación de la fibra es la causa. Una representación de esta inclinación se puede ver en la figura 4.6.

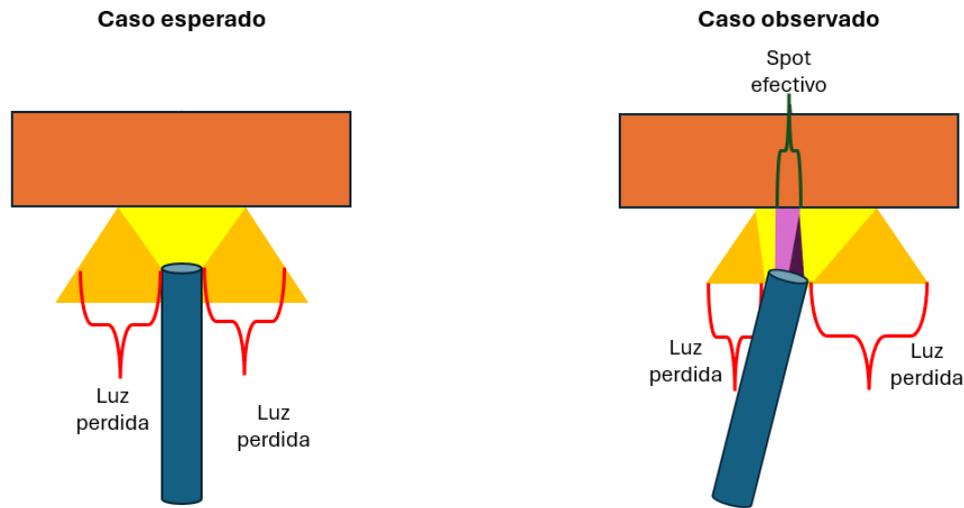


Figura 4.6: Representación del efecto de la inclinación de la fibra sobre el spot observado y efectivo en el chip.

4.3 Sensibilidad óptica de los chips

Como se ha explicado en el capítulo de métodos, se ha medido la sensibilidad óptica de 5 chips utilizando las muestras de agua destilada y de disoluciones de glucosa.

La sensibilidad óptica es el desplazamiento que se observa en la posición de los extremales por unidad de índice de refracción que se aumenta en la muestra. La determinación de esta sensibilidad es necesaria ya que es la base sobre la que se determina el índice de refracción de una medida.

Se comparan los resultados numéricos de las sensibilidades de cada chip tanto en transmisión como en reflexión. Dado que cada extremal tiene una sensibilidad asociada, sólo se mostrarán los valores de extremales sensibles.

Chip A

Se han medido 3 chips con las características del chip «A». En la medida del chip «A₁» falta el dato de medida del agua destilada por un fallo de medida por lo que se ha hecho el ajuste para la obtención de sensibilidad con 4 puntos en vez de los 5 planeados originalmente.

En la figura 4.7 se pueden ver espectros medidos con muestras de disolución de glucosa al 10% y al 40% en el montaje de transmisión para comparar el cambio en el espectro y en la posición de sus extremales.

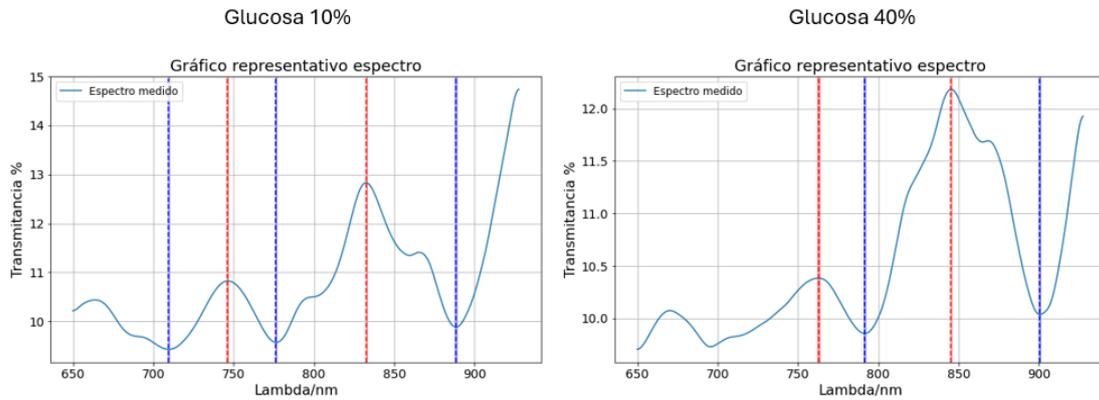


Figura 4.7: Espectros representativos de las mediciones con muestra disolución de glucosa al 10 % y al 40 % por transmisión en el primer chip «viejo». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada disolución junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.1.

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1		$746,1 \pm 0,3$	$751,2 \pm 0,3$	$757,8 \pm 0,3$	$762,7 \pm 0,8$	$342,8 \pm 16,3$
Mínimo 1		$776,3 \pm 0,3$	$781,7 \pm 0,3$	$789,3 \pm 0,3$	$791,5 \pm 0,5$	$353,7 \pm 12,5$

Tabla 4.1: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.7.

El ajuste de las sensibilidades de la tabla 4.1 junto con otros extremales menos sensibles se puede ver en la figura 4.8.

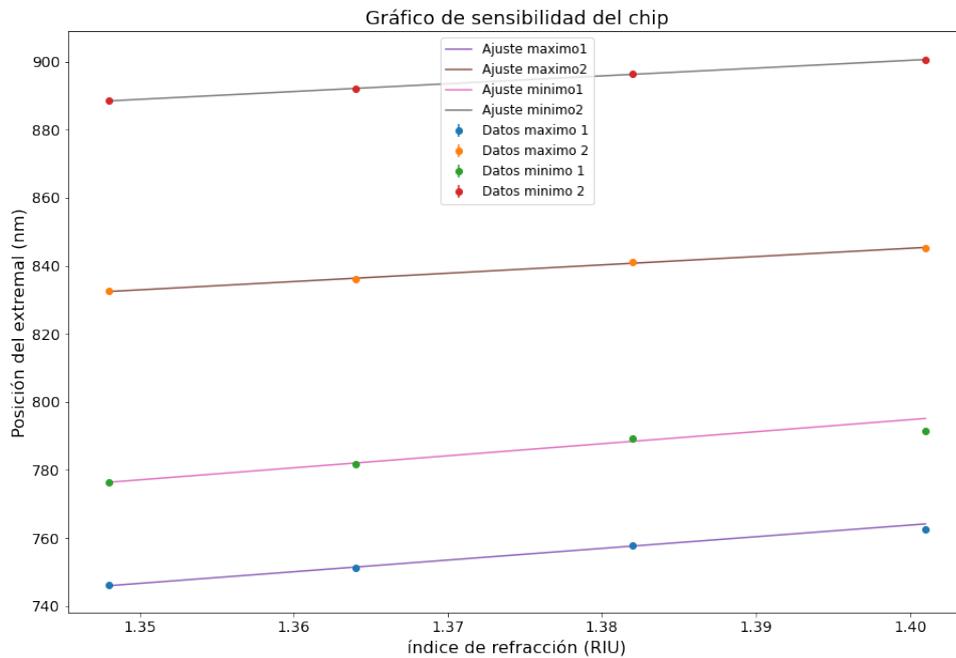


Figura 4.8: Ajuste lineal de la posición de los extremos de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A₁». Los puntos corresponden a los valores experimentales, sus barras de error se ven enmascaradas con la escala. La línea continua es el ajuste.

En la figura 4.9 se pueden ver espectros medidos con muestras de agua destilada y disolución de glucosa al 40% en el montaje de reflexión para comparar el desplazamiento de los espectros.

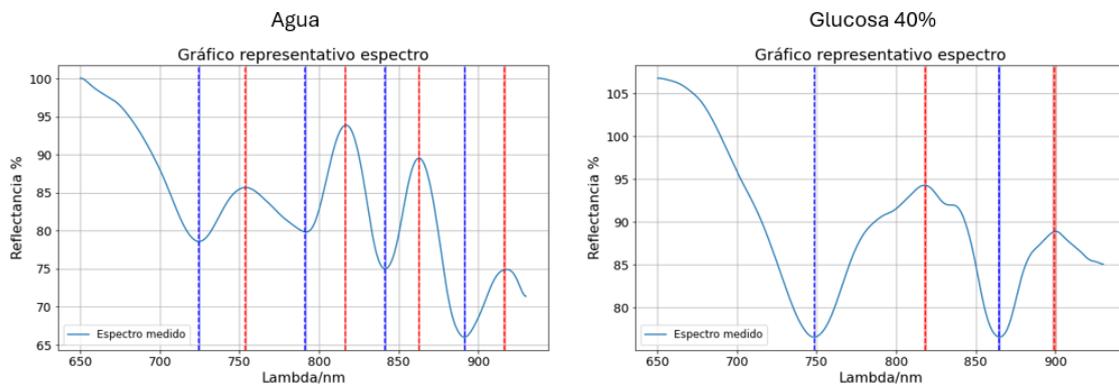


Figura 4.9: Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «A₁». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada muestra junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.2.

	Agua	Glucosa 10%	Glucosa 20%	Glucosa 30%	Glucosa 40%	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 3	$862,7 \pm 0,3$	$868,2 \pm 0,3$	$873,5 \pm 0,3$	$880,3 \pm 0,6$		$349,9 \pm 7,4$
Mínimo 1	$724,7 \pm 0,3$	$731,0 \pm 0,3$	$736,0 \pm 0,3$	$743,5 \pm 0,3$	$748,5 \pm 0,3$	$352,7 \pm 15,3$
Mínimo 3	$841,4 \pm 0,3$	$846,4 \pm 0,3$	$851,4 \pm 0,3$	$857,7 \pm 0,3$	$864,5 \pm 0,6$	$332,1 \pm 4,6$

Tabla 4.2: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.9.

El ajuste de las sensibilidades de la tabla 4.2 junto con otros ajustes menos sensibles o cuyos puntos se pierden al aumentar el porcentaje de glucosa de la disolución medida se puede ver en la figura 4.10.

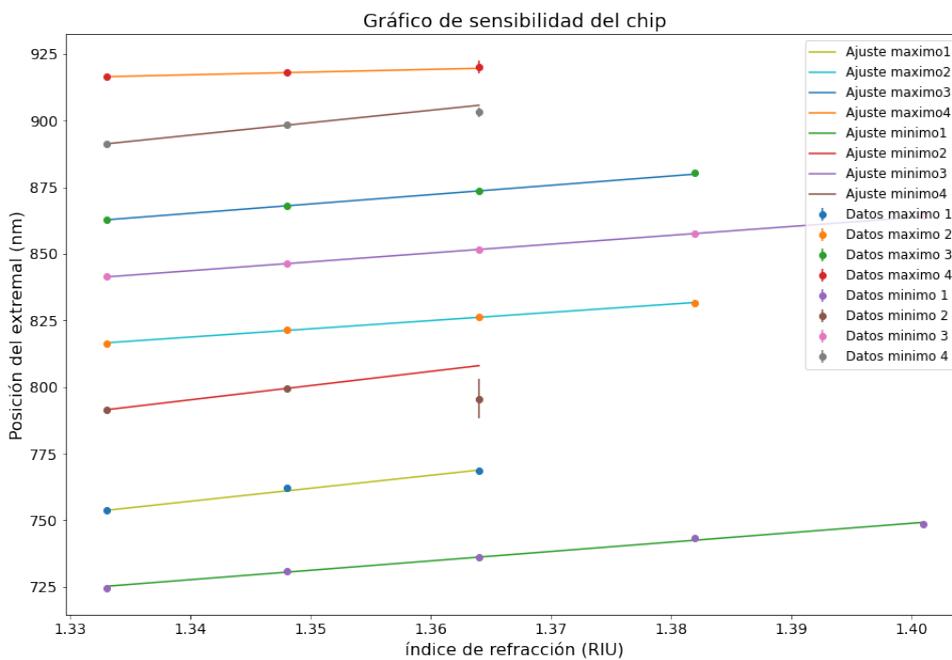


Figura 4.10: Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A₁». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes.

Con espectros muy similares se han hecho ajustes para los chips «A₂» y «A₃».

En la tabla 4.3 se pueden ver las posiciones espectrales de los extremales con su sensibilidad del chip «A₂» por transmisión. En la tabla 4.4 se pueden ver las posiciones espectrales de los extremales con su sensibilidad del chip «A₂» por reflexión.

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	712,8 ± 0,3	718,0 ± 0,3	724,3 ± 0,3	732,2 ± 0,3	740,3 ± 0,3	407,9 ± 10,1
Mínimo 1	772,7 ± 0,3	779,2 ± 0,3	784,7 ± 0,3	791,2 ± 0,3	796,9 ± 0,3	354,3 ± 12,6

Tabla 4.3: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidas con el chip «A₂» por transmisión.

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	779,2 ± 0,3	784,3 ± 0,3	789,8 ± 0,3	796,0 ± 0,3	801,4 ± 0,3	326,5 ± 7,2
Máximo 2	829,4 ± 0,3	833,9 ± 0,3	839,2 ± 0,3	847,1 ± 0,3	854,6 ± 0,6	362,1 ± 18,9
Mínimo 1	799,5 ± 0,3	803,0 ± 0,3	807,5 ± 0,3	813,6 ± 0,6		264,2 ± 14,3

Tabla 4.4: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidos con el chip «A₂» por reflexión.

En la tabla 4.3 se pueden ver las posiciones espectrales de los extremales con su sensibilidad del chip «A₃» por transmisión. En la tabla 4.4 se pueden ver las posiciones espectrales de los extremales con su sensibilidad del chip «A₃» por reflexión.

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	717,2 ± 0,3	721,8 ± 0,3	728,4 ± 0,3	739,0 ± 0,3	746,6 ± 0,3	448,5 ± 25,4
Mínimo 1	774,6 ± 0,3	781,2 ± 0,3	786,3 ± 0,3	792,3 ± 0,3	798,0 ± 0,3	339,6 ± 13,5

Tabla 4.5: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción medidos con el chip «A₃» por transmisión

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	780,5 ± 0,3	785,6 ± 0,3	791,1 ± 0,3	797,6 ± 0,3	803,3 ± 0,3	338,6 ± 5,8
Máximo 2	831,3 ± 0,3	837,0 ± 0,3	841,7 ± 0,3	848,0 ± 0,3	855,8 ± 0,3	352,5 ± 11,0
Mínimo 1	800,1 ± 0,3	804,0 ± 0,3	808,1 ± 0,3	814,2 ± 0,3		285,5 ± 14,6

Tabla 4.6: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción con el chip «A₃» por reflexión.

Los ajustes de los datos de estas tablas se pueden ver en el anexo.

Chip B

En la figura 4.11 se pueden ver espectros medidos con muestras de agua destilada y disolución de glucosa al 40% en el montaje de transmisión para comparar el desplazamiento de los extremales.

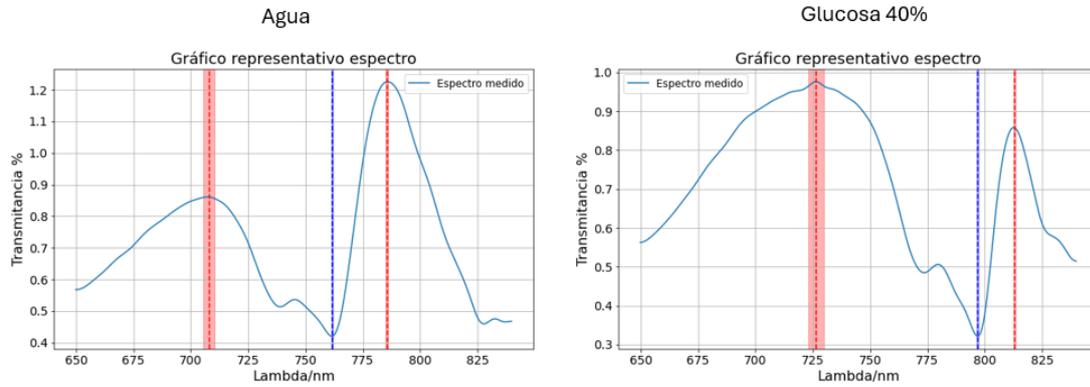


Figura 4.11: Espectros representativos de las mediciones de agua destilada y disolución de glucosa al 40% por transmisión para el chip «B». Las líneas rojas indican los máximos y las azules mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada muestra junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.7.

	Agua	Glucosa 10%	Glucosa 20%	Glucosa 30%	Glucosa 40%	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	$708,0 \pm 2,0$	$712,5 \pm 0,8$	$717,0 \pm 4,0$	$724,0 \pm 1,1$	$726,0 \pm 3,0$	$346,8 \pm 13,2$
Máximo 2	$785,5 \pm 0,5$	$792,0 \pm 0,5$	$799,0 \pm 2,0$	$805,6 \pm 0,3$	$813,0 \pm 0,3$	$400,4 \pm 4,2$
Mínimo 1	$761,6 \pm 0,3$	$768,7 \pm 1,4$	$778,2 \pm 0,3$	$788,0 \pm 0,3$	$797,0 \pm 0,6$	$523,8 \pm 8,4$

Tabla 4.7: Datos de la posición de los extremales de la figura 4.11.

El ajuste de las sensibilidades de la tabla 4.7 se puede ver en la figura 4.12.

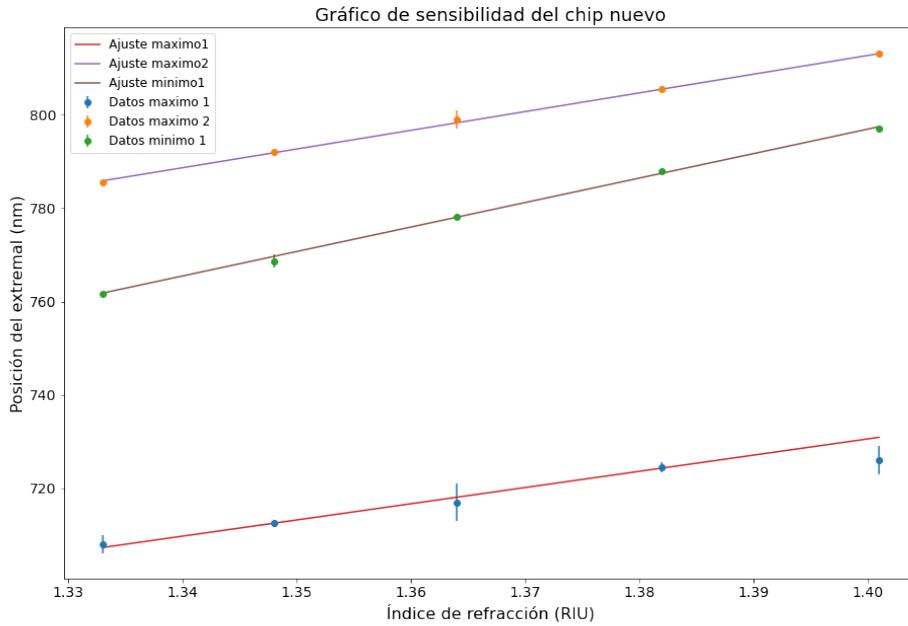


Figura 4.12: Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «B». Los puntos corresponde a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes.

En la figura 4.13 se pueden ver espectros medidos con muestras de agua destilada y disolución de glucosa al 40% en el montaje de reflexión para comparar el desplazamiento de los extremales.

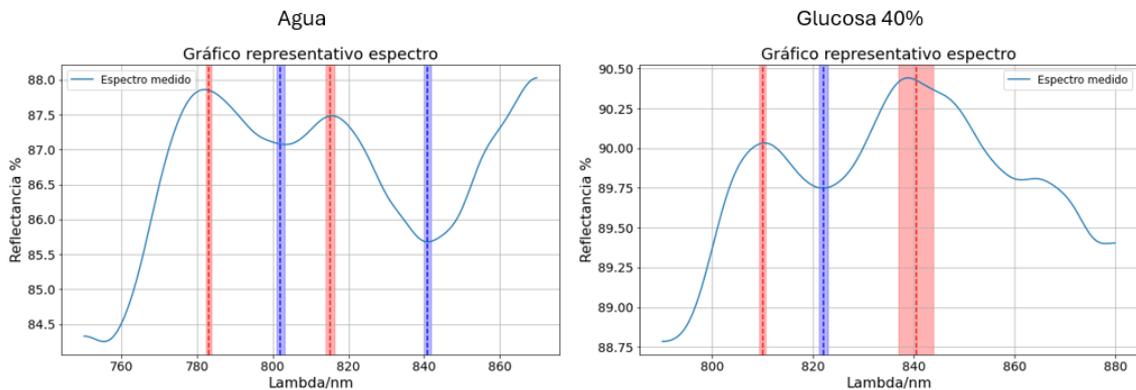


Figura 4.13: Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «B». Las líneas rojas indican los máximos y las azules los mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada muestra junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.8.

	Agua	Glucosa 10%	Glucosa 20%	Glucosa 30%	Glucosa 40%	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	$783,1 \pm 0,7$	$788,5 \pm 0,7$	$795,3 \pm 1,0$	$803,3 \pm 0,3$	$810,1 \pm 0,6$	$411,5 \pm 13,6$
Mínimo 1	$802,1 \pm 1,0$	$806,5 \pm 1,0$	$811,6 \pm 0,6$	$817,4 \pm 1,3$	$822,2 \pm 1,0$	$297,4 \pm 7,1$

Tabla 4.8: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante cambio de índice de refracción de la figura 4.13.

Los datos de las posiciones espectrales de la tabla 4.8 se pueden ver en la figura 4.14.

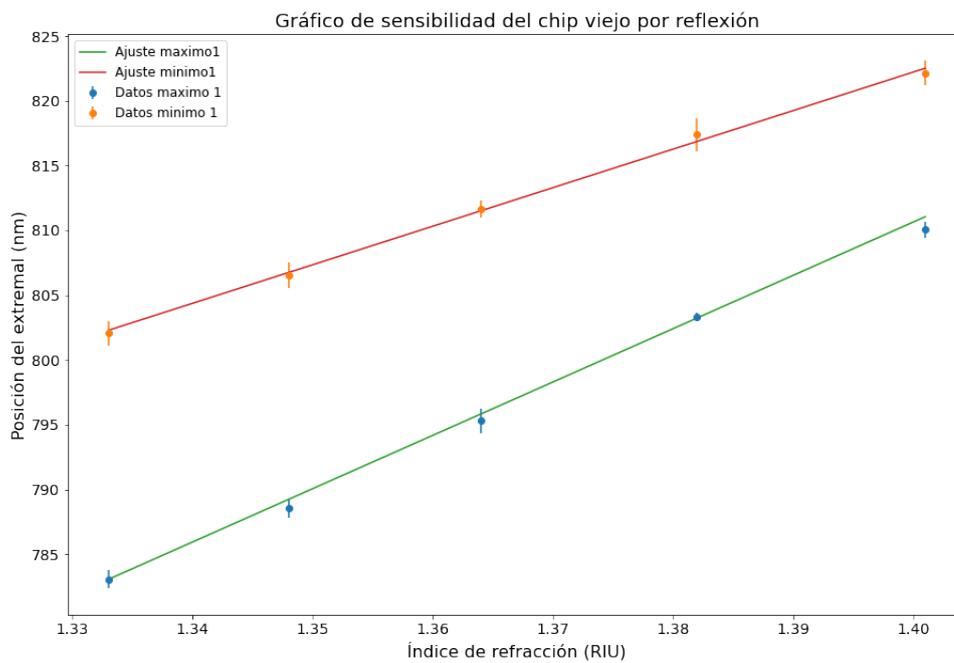


Figura 4.14: Ajuste lineal de la posición de los extremales relevantes de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «B».

Chip C

En la figura 4.15 se pueden ver espectros medidos con muestras de agua destilada y disolución de glucosa al 40% en el montaje de transmisión para comparar el desplazamiento de los espectros.

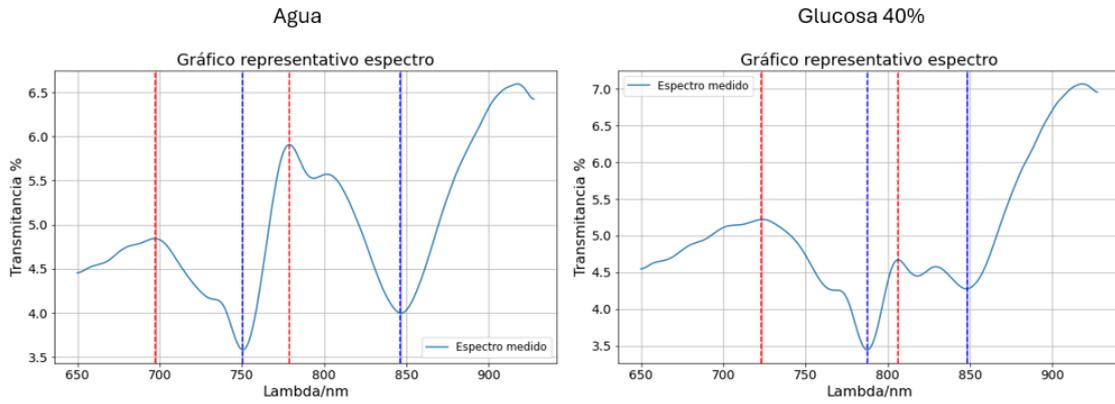


Figura 4.15: Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por transmisión para el chip «C». Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada muestra junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.9.

	Agua	Glucosa 10%	Glucosa 20%	Glucosa 30%	Glucosa 40%	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	697,3 ± 0,3	700,8 ± 0,3	704,4 ± 0,3	720,2 ± 0,3	723,2 ± 0,3	420,9 ± 66,9
Máximo 2	779,0 ± 0,3	785,0 ± 0,3	791,8 ± 0,3	799,7 ± 0,3	806,4 ± 0,3	408,5 ± 8,5
Mínimo 1	750,4 ± 0,3	759,1 ± 0,3	767,0 ± 0,3	777,6 ± 0,3	787,4 ± 0,3	544,0 ± 7,7

Tabla 4.9: Datos de la posición de los extremales con mayor desplazamiento ante el cambio de índice de refracción de la figura 4.15.

El ajuste de las sensibilidades de la tabla 4.9 junto con otros ajustes menos sensibles se pueden ver en la figura 4.16.

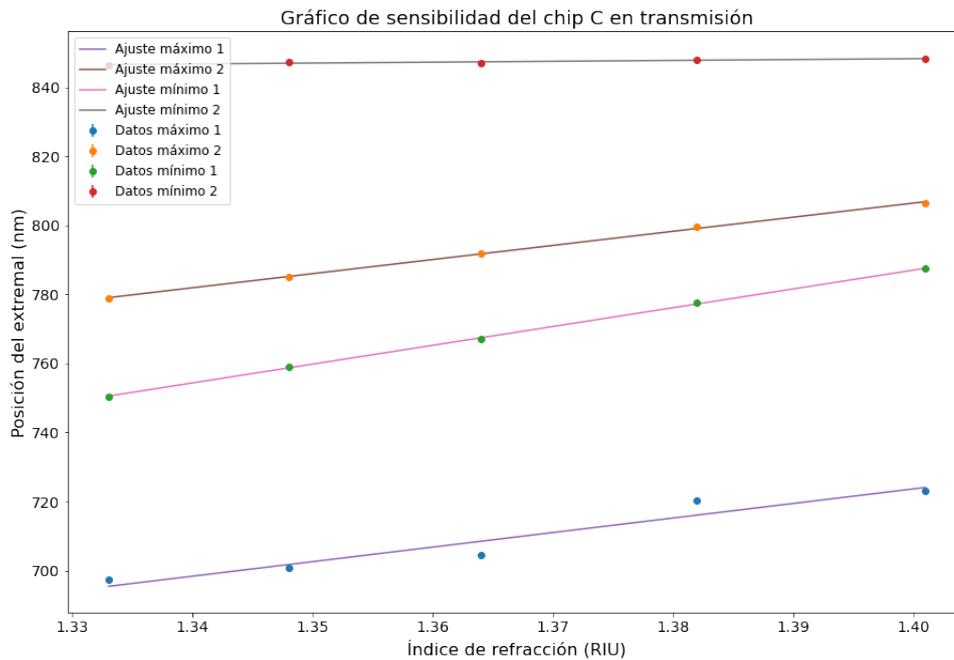


Figura 4.16: Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «C». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden al ajuste.

En la figura 4.17 se pueden ver espectros medidos con las muestras de agua destilada y disolución de glucosa al 40% en el montaje de reflexión para comparar el desplazamiento de los espectros.

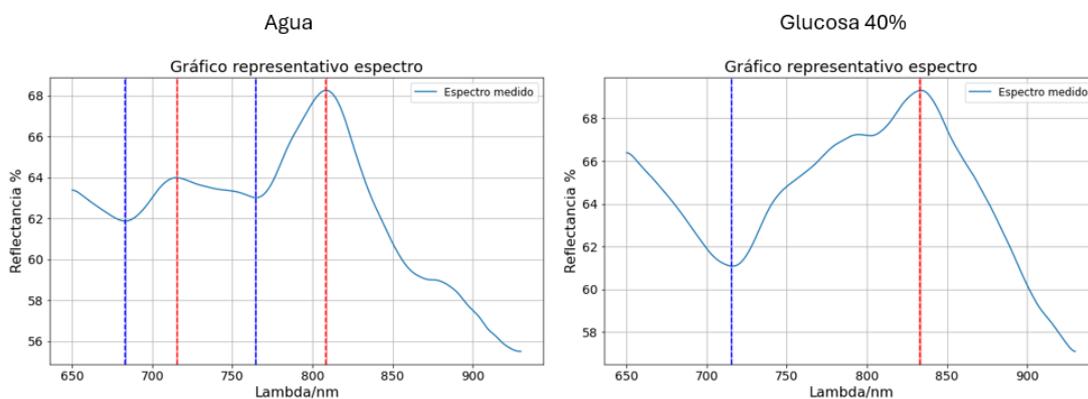


Figura 4.17: Espectros representativos de las mediciones de agua y disolución de glucosa al 40% por reflexión para el chip «C». Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.

Los datos de las posiciones espectrales de cada extremal para cada muestra junto con su sensibilidad se encuentran en la tabla 4.10

	Agua	Glucosa 10 %	Glucosa 20 %	Glucosa 30 %	Glucosa 40 %	Sensibilidad (nm/RIU)
Máximo 1	808,5 ± 0,3	813,2 ± 0,3	818,0 ± 0,3	826,3 ± 0,3	833,2 ± 0,3	368,8 ± 16,3
Mínimo 1	683,2 ± 0,3	691,6 ± 0,3	698,6 ± 0,3	707,4 ± 0,3	715,4 ± 0,3	470,9 ± 12,5

Tabla 4.10: Datos de la posición de los extremales de mayor desplazamiento ante cambio de índice de refracción asociados a la figura 4.17.

El ajuste de sensibilidades de la tabla 4.10 junto con otros ajustes menos sensibles se pueden ver en la figura 4.18.

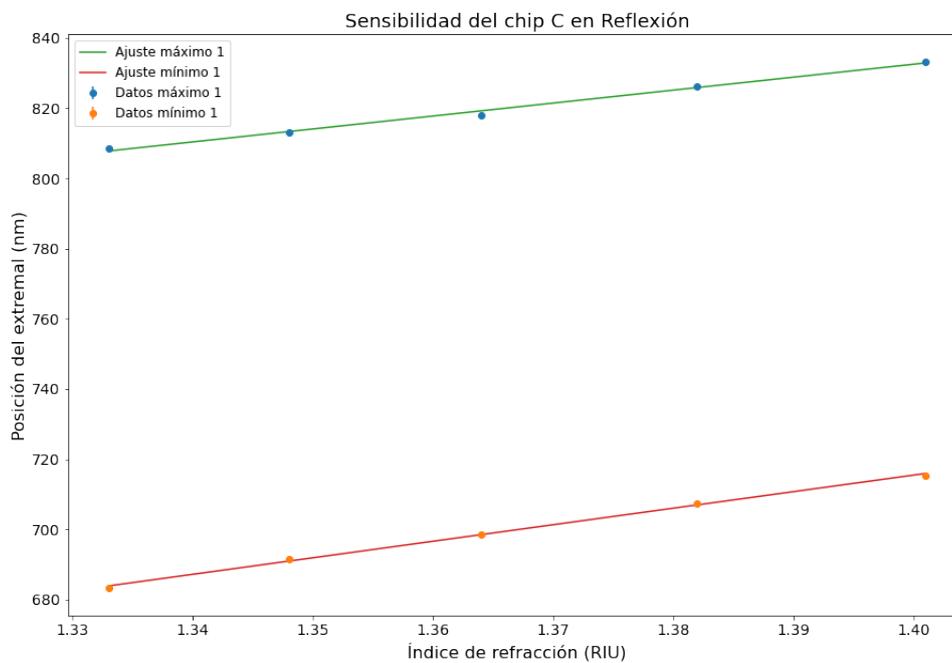


Figura 4.18: Ajuste lineal de la posición de los extremales de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «C». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden al ajuste.

Comparación de sensibilidades

En la tabla 4.11 se pueden ver las sensibilidades máximas para cada chip en ambos montajes.

Chip	«A ₁ »	«A ₂ »	«A ₃ »	«B»	«C»
Transmisión	353,7 ± 12,5	407,9 ± 10,1	448,5 ± 25,4	523,8 ± 8,4	544,0 ± 7,7
Reflexión	352,7 ± 15,3	362,1 ± 18,9	352,5 ± 11,0	411,5 ± 13,6	470,9 ± 12,5

Tabla 4.11: Sensibilidades máximas para cada chip en cada montaje. Todas las unidades son nm/RIU

Ante los resultados presentados en la tabla 4.11 está claro que el mejor chip para tomar medidas es el chip «C» ya que es el más sensible tanto en transmisión como en reflexión. Cabe destacar que la prominencia de los extremales de este

chip es menor a la del chip «A». Esta prominencia podría causar problemas en la medida de muestras muy opacas en transmisión. El sistema en reflexión debería de funcionar independientemente de la opacidad de la muestra.

4.4 Efecto de medida de una huella

Se pretende explicar este tipo de chips como biosensores ópticos por reflexión, para identificar la naturaleza de distintos tejidos biológicos a partir del índice de refracción del medio en el que se encuentran. Al colocar el tejido biológico en contacto con los chips, sobre estos queda impregnada una huella cuyo índice de refracción es posible que esté relacionado con la naturaleza del tejido (por ejemplo, podría ser un marcador de tejido tumoral).

A falta de contenido biológico accesible con facilidad se han tomado como muestras las disoluciones de glucosa en agua del 10% y del 40%. Las huellas de estas muestras se han hecho mojando una esponja en ambas disoluciones y poniéndolas en contacto con el chip durante unos segundos para después retirar la esponja.

En la figura 4.19 se puede ver una serie de mediciones tomada con la huella de disolución 10% glucosa sobre el chip «A₁» por reflexión. Los espectros se tomaron en orden y en ellos se puede ver un leve desplazamiento al rojo (aumento del índice de refracción) en cada medida. Esto es probablemente debido a que el agua de la disolución se evaporaba a medida que el tiempo pasaba aumentando así la concentración de glucosa en cada medida.

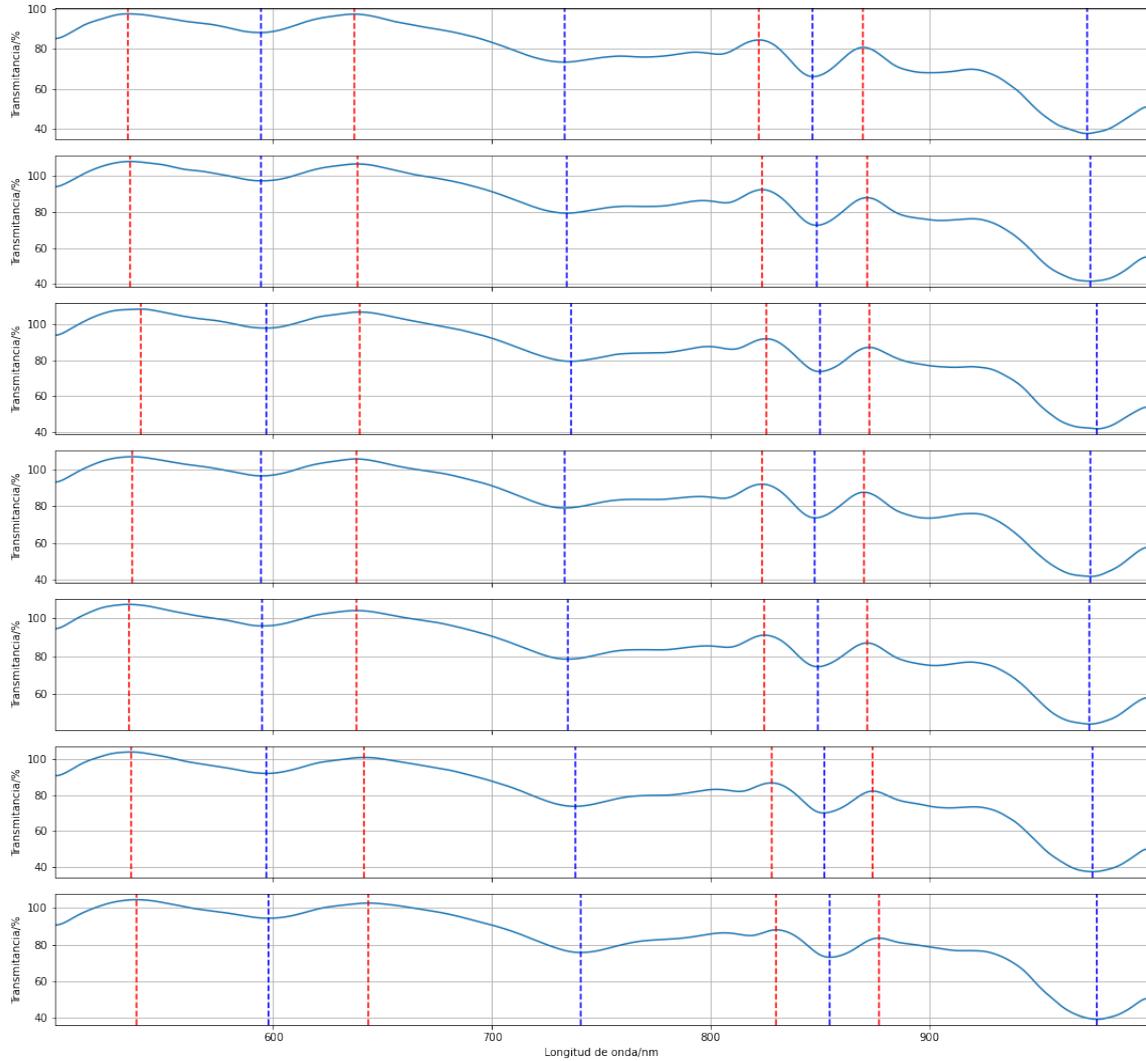


Figura 4.19: Serie de mediciones de la huella de una esponja mojada en disolución de glucosa al 10% con el chip «A₁» por reflexión. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.

En la figura 4.20 en cambio se puede ver el espectro representativo de la medición de la huella de disolución de glucosa al 40% con el chip «A₁» por reflexión. En esta medición no se ha observado un aumento temporal del índice pero sí se tiene un espectro correspondiente a un índice mayor al $n = 1,401$ de la disolución ya que sus extremales están más desplazados hacia el infrarrojo que en la medida de la sensibilidad de la disolución. Esto probablemente se deba a que se tiene el mismo problema de evaporación pero ha saturado teniéndose así la medición del índice de refracción de la propia glucosa.

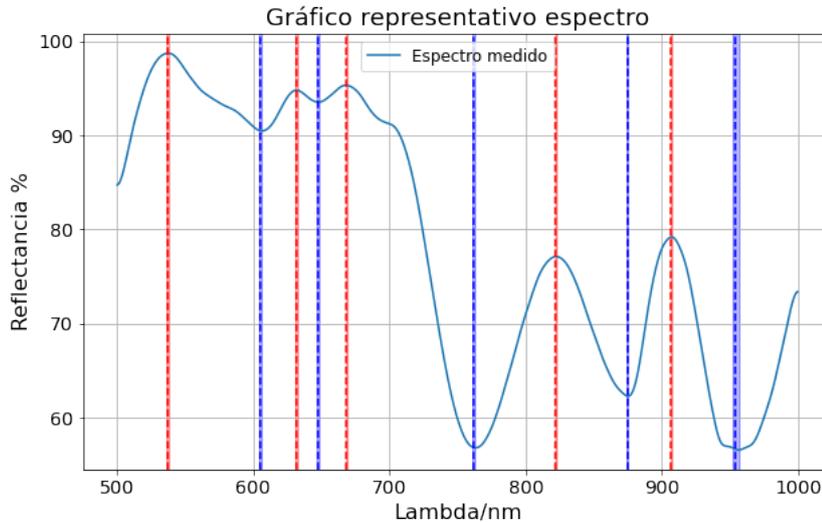


Figura 4.20: Espectro representativo de la medición de la huella de una esponja mojada en disolución de glucosa al 40% con el chip «A₁» por reflexión. Las líneas rojas indican máximos y las azules mínimos.

Ante los resultados observados parece que el uso de los chips como biosensores no es inmediato. La aproximación de huella utilizada tiene problemas claros como la evaporación del medio líquido. Estos problemas son difíciles de solucionar con la misma aproximación. Una solución sería modificar el sistema para cambiar la huella de una esponja por el contacto con alguna especie de gel que mantenga constante su índice de refracción. Esta aproximación sería más cercana al caso realista de poner el chip en contacto directo con el tejido del paciente.

4.5 Comparación entre espectros de transmisión y reflexión

La comparación de los espectros medidos por **transmisión y reflexión** es necesaria ya que si se observa que son complementarios, todos los estudios hechos por transmisión se podrían aplicar directamente por reflexión.

Para comparar estos espectros se ha tomado la medida de una muestra biológica de índice de refracción aproximado $n = 1,343$ y se han comparado los espectros medidos con el chip «A₃» por reflexión y por transmisión tanto en referencia oro como en referencia aire. Esta comparación se puede ver en la figura 4.21. Cada espectro de la figura tiene distinta escala. El marco de representación de cada espectro se ha igualado ya que el parámetro relevante es la posición de los extremos.

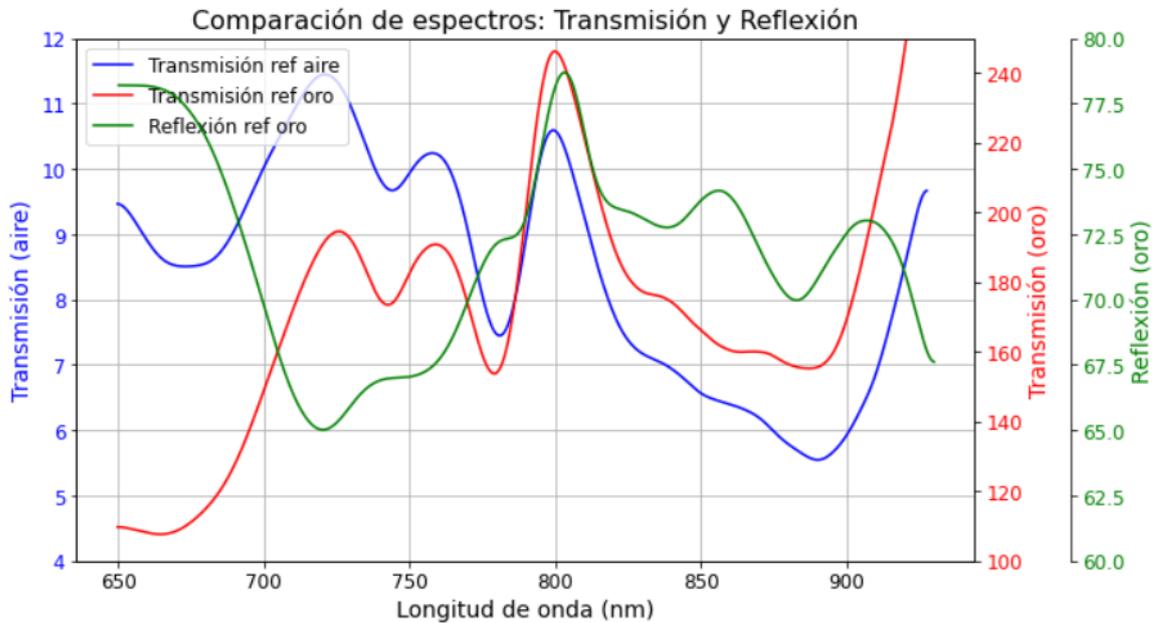


Figura 4.21: Comparación de los espectros medidos con el chip «A₃» por reflexión y por transmisión referencia oro y aire con una muestra de índice aproximado $n = 1,34$. Las escalas de cada espectros son distintas.

En la figura 4.21 se puede ver como los espectros aparentan ser complementarios hasta que se alcanzan los 800nm donde todas las mediciones tienen un máximo. a partir de ese punto espectral, la medida de reflexión presenta extremos que no se observan en las medidas de transmisión.

Los espectros de transmisión, como se ha dicho anteriormente, están muy estudiados y ya se tienen simulaciones bastante precisas de mediciones. En cambio, los espectros de reflexión no han sido explorados a profundidad, para intentar simular el espectro de reflexión observado se han llevado a cabo simulaciones en «*Lumerical FDTD*». El procedimiento de simulación se puede ver en el anexo.

Finalmente considero que las anomalías detectadas se deben a que en el montaje de reflexión no se tiene una onda plana. El perfil gaussiano de la onda de luz del sistema de reflexión actúa como un haz incidente en ángulo. De esta forma, la periodicidad del chip no es solo la de fabricación sino que hay otras periodicidades efectivas consecuencia de este haz. Por estas periodicidades efectivas aparecen más extremos que no corresponden con las medidas en transmisión.

5

Propuesta de montaje por reflexión

En este capítulo se presenta un nuevo montaje para el sistema de reflexión que permite la portabilidad del sistema. También permite el enfoque correcto del spot de iluminación y su observación.

Para este montaje se han mantenido la fibra óptica, la fuente de luz halógena y el espectrofotómetro utilizados en el montaje de reflexión ya que son portátiles y cumplen con su función.

El nuevo montaje consiste en una serie de componentes que se montan sobre un carril óptico de 95mm de ancho y 500mm de largo [15]. Este carril corresponde al elemento 1 de la figura 5.1. La fibra óptica(elemento 2) se conecta a un puerto colimador de fibra óptica [16](elemento 3). Este puerto de fibra óptica se usa para alinear y dirigir la luz de la fibra. La luz luego se proyecta hacia una lente(elemento 5), con distancia focal de 12cm. Tanto la lente como el puerto de fibra están montados sobre un banco óptico(elemento 4) [17] que a su vez está sobre un poste para regular su distancia al carril. El poste está sujeto con una base para postes [18] sobre un soporte pegado al carril(elemento 6) [19].

La luz que atraviesa la lente se ve focalizada sobre la muestra. La muestra tiene un control de movimiento en X e Y manejado por una plataforma con tornillos de precisión [20]. Esta plataforma está sujeta al carril mediante un soporte a 90° con agujero central hecho por encargo para cumplir con las dimensiones de la plataforma de la muestra. El soporte a 90° está sujeto al carril sobre una placa que se pega al carril(elemento 7) [21].

El sistema de visión de la muestra consiste en un telescopio portátil DinoLite(elemento 8) [22] sujeto por un sistema de pinzas(elemento 9). El microscopio está conectado a un ordenador(elemento 10) en el que se ve la imagen captada por el microscopio.

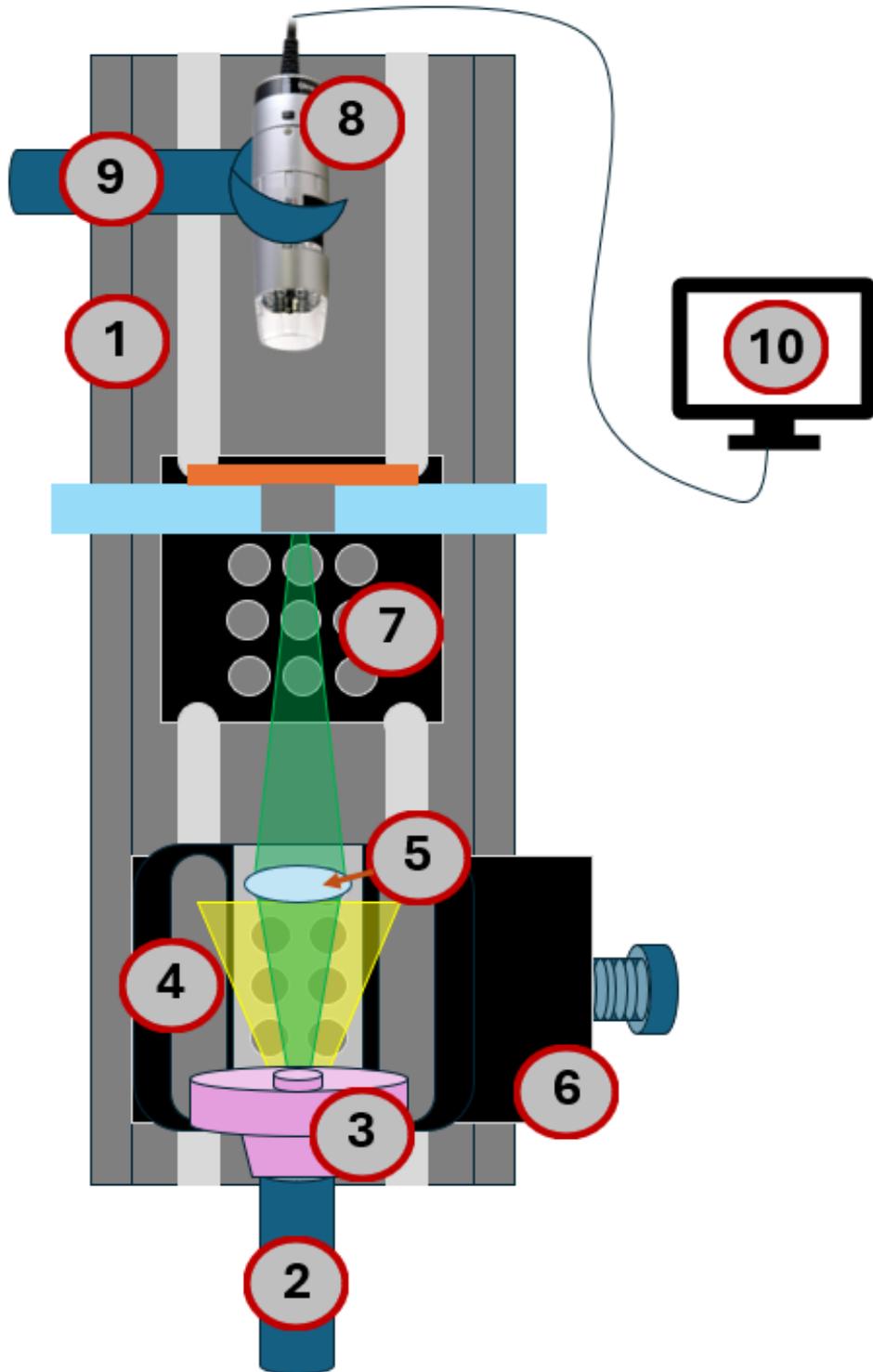


Figura 5.1: Esquema del nuevo montaje de reflexión. 1: Raíl 95mm. 2: fibra óptica. 3: Fiber port. 4: Fiber bench. 5: Lente. 6: Rail carriage. 7: Rail plate. 8: Microscopio. 9: Soporte del microscopio. 10: Ordenador

Este sistema permitiría la observación de un spot de iluminación que se correspondiese al spot efectivo. También permitiría la modificación del tamaño del spot acercando la muestra a la lente. La mayor ventaja de este sistema es la portabilidad ya que tiene dimensiones reducidas.

6

Conclusiones

En el estudio de la dependencia del tamaño y posición del spot se ha visto que un amplio rango de tamaños y posiciones permiten la medida sin incurrir en grandes cambios en el espectro. Esta constancia en la medida simplifica mucho la toma de datos ya que evita tener que hacer un barrido de spots pequeños sobre toda la superficie del chip. A pesar de ello queda clara también la necesidad de tener un buen alineamiento para poder obtener el espectro más idóneo. También hay que tener en cuenta la apertura numérica de la iluminación del sistema ya que puede incurrir en cambios en el espectro observado.

En este trabajo se ha probado la viabilidad de la utilización de los chips plasmónicos estudiados como biosensores por reflexión obteniendo sensibilidades de medida comparables a las sensibilidades por transmisión.

Se ha determinado también la diferencia entre chips. De esta diferencia se ha concluido que el chip «C» es el más sensible espectralmente tanto en transmisión como en reflexión aunque al aumentar el espesor del chip se ha perdido contraste en intensidad en los picos.

En el estudio de la medida con una huella como muestra se han visto las limitaciones que tiene el montaje ya que el problema de la evaporación de la muestra no es evitable. Este contratiempo deja la puerta abierta al estudio de formas más complejas de medida.

Se ha visto como los espectros de transmisión y reflexión no son completamente complementarios. Esta diferencia deja como trabajo futuro el estudio de las causas de las diferencias entre los espectros. También sería interesante estudiar si la mayor cantidad de extremales observados en reflexión puede ser una ventaja en la determinación de índices de refracción.

Finalmente considero que se ha conseguido probar que un sistema de reflexión es posible porque aunque los espectros de transmisión y reflexión no son com-

pletamente complementarios y por ende no se pueden utilizar los mismos extremos con las mismas sensibilidades para la medición, se pueden utilizar otros extremos distintos con un comportamiento igualmente lineal. Así, usar estos chips en reflexión es posible para una medición.

Bibliografía

- [1] C. for Probing the Nanoscale, “National science foundation - center for probing the nanoscale,” n.d. Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11062130>.
- [2] ScottTParker, “Dispersion relationship,” 2008. Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=17267588>.
- [3] A. Patra, T. Ding, M. Hong, A. M. Richards, T. I. Wong, X. Zhou, and C. L. Drum, “Using extraordinary optical transmission to quantify cardiac biomarkers in human serum,” *Journal of Visualized Experiments*, vol. 130, p. e55597, 2017.
- [4] A. Franco, V. Vidal, M. Gómez, O. Gutiérrez, M. Martino, F. González, F. Moreno, and J. L. Fernández-Luna, “A label-free optical system with a nanohole array biosensor for discriminating live single cancer cells from normal cells,” *Nanophotonics*, vol. 11, no. 2, pp. 315–328, 2022.
- [5] F. J. García-Vidal, L. Martín-Moreno, and T. W. Ebbesen, “Light passing through subwavelength apertures,” *Reviews of Modern Physics*, vol. 82, no. 1, pp. 729–787, 2010.
- [6] T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, H. F. Ghaemi, T. Thio, and P. A. Wolff, “Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays,” *Nature*, vol. 391, no. 6668, pp. 667–669, 1998.
- [7] A. Sharma, K. Jha, A. Mishra, and B. Gupta, “Miniaturized and portable biosensors for real-time health monitoring,” *Biosensors*, vol. 8, no. 4, p. 118, 2018.
- [8] C. Wang, K. Xia, X. Zhang, S. Gong, and X. Ying, “Wearable and flexible electronics for continuous health monitoring,” *Advanced Materials*, vol. 27, no. 40, pp. 7100–7106, 2015.
- [9] R. P. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics, Vol. 1, Chapter 31: The Origin of the Refractive Index*. Addison-Wesley, 1964.

-
- [10] S. A. Maier, M. L. Brongersma, P. G. Kik, S. Meltzer, A. A. Requicha, and H. A. Atwater, "Plasmonics: A route to nanoscale optical devices," *Advanced Materials*, vol. 13, no. 19, pp. 1501–1505, 2001.
- [11] H. Raether, *Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings*, vol. 111. Springer, 1988.
- [12] R. P. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics, Vol. 2, Chapter 32: Refractive Index of Dense Materials*. Addison-Wesley, 1964.
- [13] A. G. Brolo, "Plasmonics for future biosensors," *Nature Photonics*, vol. 6, no. 11, pp. 709–713, 2012.
- [14] H. A. Bethe, "Theory of diffraction by small holes," *Physical Review*, vol. 66, no. 7-8, pp. 163–182, 1944.
- [15] "Carril de 95mm de anchura y 500mm de largo." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=XT95-500>.
- [16] "Fiber port paf2s-a4b." Accedido el 30 junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=PAF2S-A4B>.
- [17] "Fb-76 - single-axis fiberbench." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=FB-76>.
- [18] "Base para poste." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=MSH3>.
- [19] "Xt95rc3/m - drop-on rail carriage." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=XT95RC3/M>.
- [20] "Plataforma de la muestra con desplazamiento x e y." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=XYR1/M>.
- [21] "Xt95p12/m - rail plate." Accedido el 30 de Junio de 2024 <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=XT95P12/M>.
- [22] "Microscopio dino-lite am7515mt8a." Accedido el 30 de Junio de 2024, <https://lcientifica.com/tienda/dino-lite/gran-aumento/dino-lite-am7515mt8a/>.

Anexo

Sensibilidad chip «A₂» y «A₃»

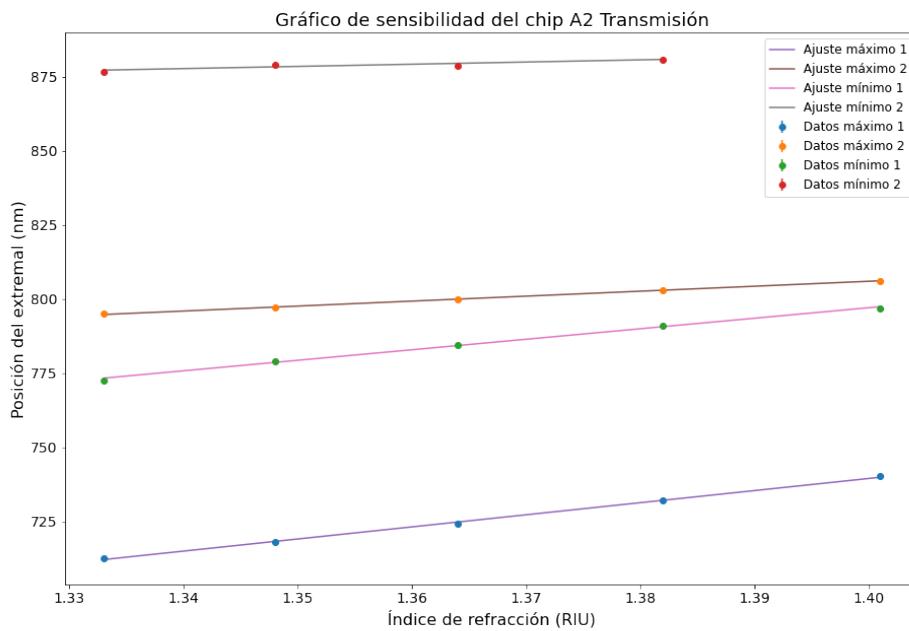


Figura 1: Ajuste de la posición de los extremos de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A₂». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes

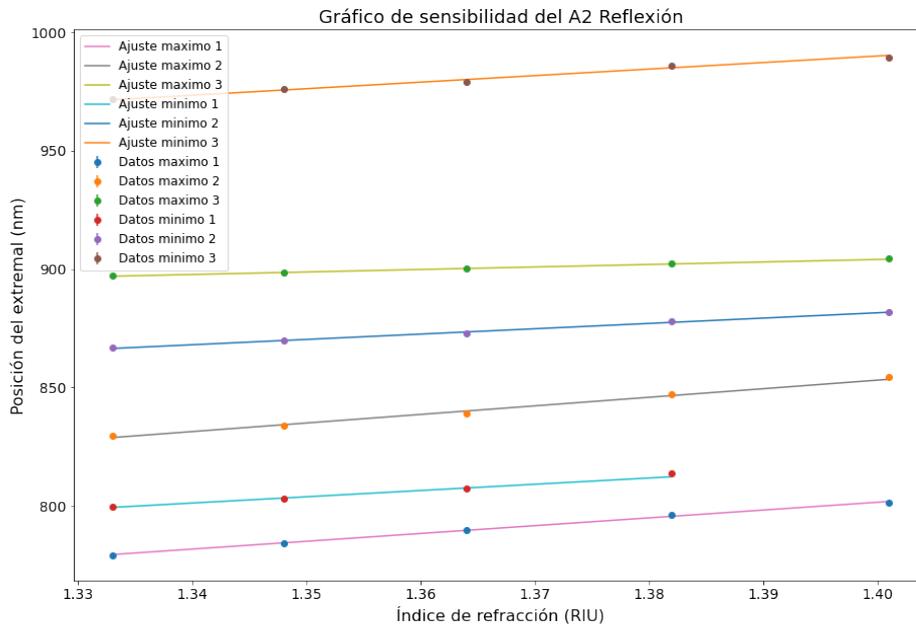


Figura 2: Ajuste de la posición de los extremos de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A₂». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes

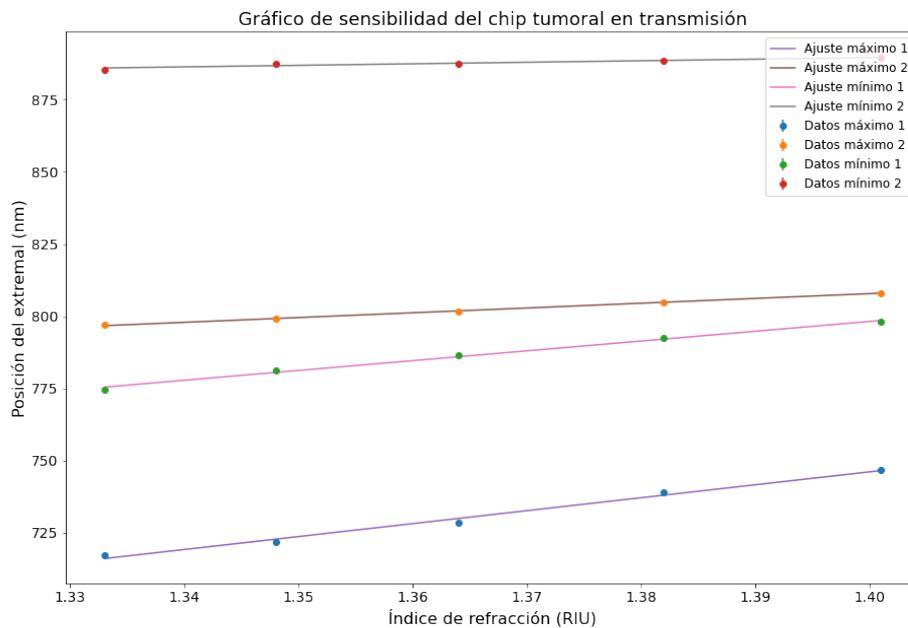


Figura 3: Ajuste de la posición de los extremos de la medición de la sensibilidad por transmisión del chip «A₃». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes

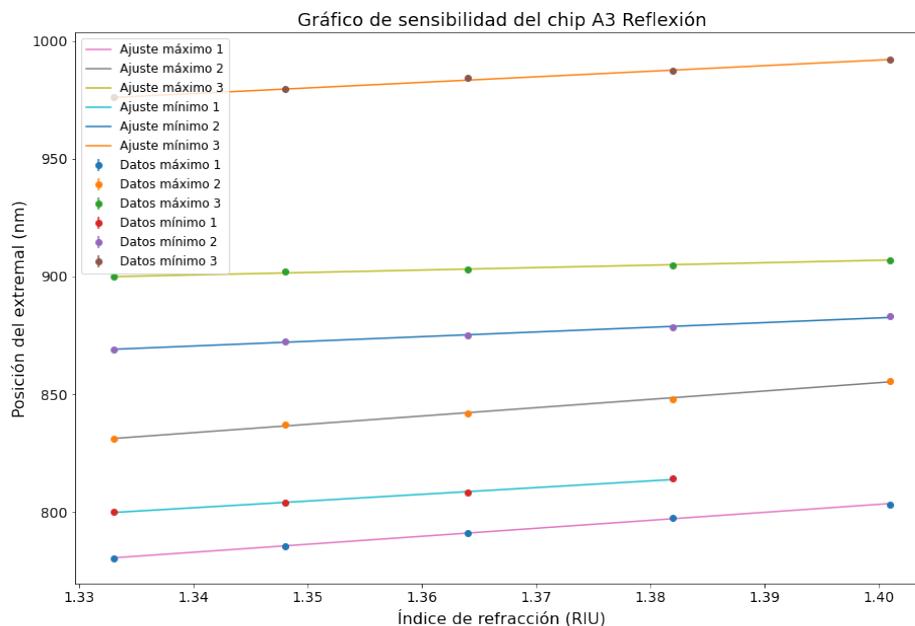


Figura 4: Ajuste de la posición de los extremos de la medición de la sensibilidad por reflexión del chip «A₃». Los puntos corresponden a los valores experimentales. Las líneas continuas corresponden a los ajustes

Simulación de espectros obtenidos

Las simulaciones utilizadas en transmisión en «*Lumerical*» utilizan una aproximación de onda plana como haz incidente. Se introducen los parámetros del chip utilizado y de la muestra en contacto. Finalmente se toma la transmitancia del chip como la luz total que atraviesa chip y muestra. La primera aproximación a la simulación en reflexión es usar la misma disposición y monitorear la luz reflejada por el chip en vez de la transmitida. La comparación del espectro medido y de esta simulación con dos índices de refracción de la muestra distintos para ver el desplazamiento se puede ver en la figura 5.

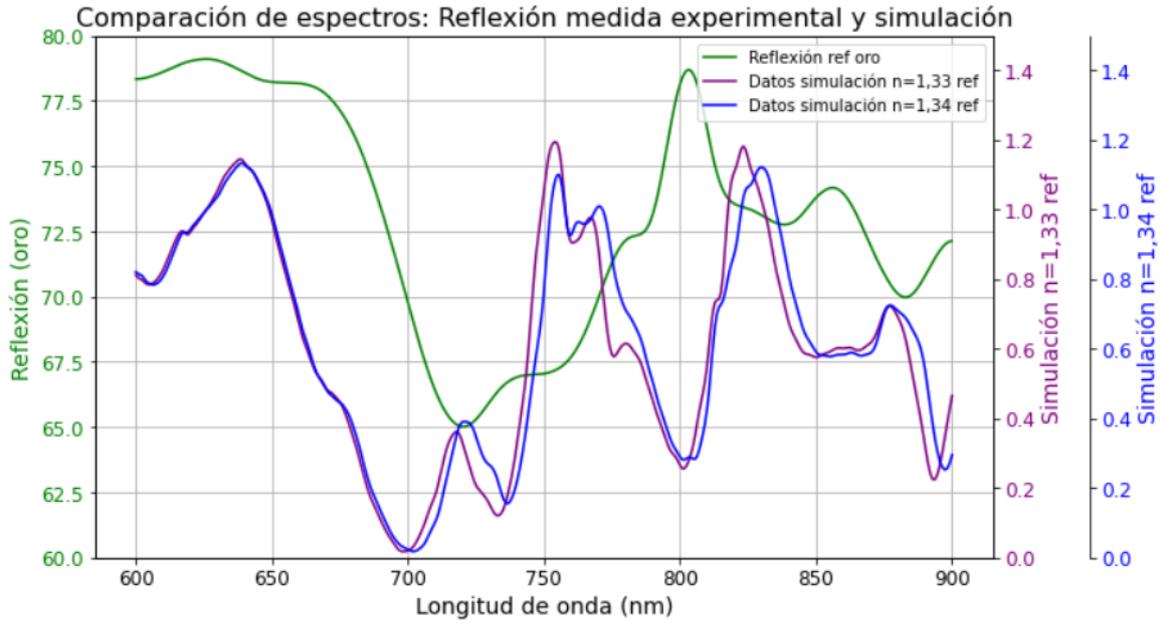


Figura 5: Comparación del espectro medido y simulado para dos índices de refracción de la muestra distintos.

En la figura 5 se puede ver como el espectro simulado se aleja mucho del espectro medido. Esto se debe a varios factores, principalmente, a que la aproximación de onda plana no se puede usar con el haz de luz que sale de la fibra óptica. Tampoco se ha tenido en cuenta el cuarzo sobre el que está depositado el chip de oro. Una simulación teniendo en cuenta el cuarzo (índice de refracción $n=1,5$) y tomando una aproximación gaussiana del haz además de una aproximación en la captación de luz en un punto, de forma similar a lo ilustrado en la figura 4.6, se puede ver en la figura 6.

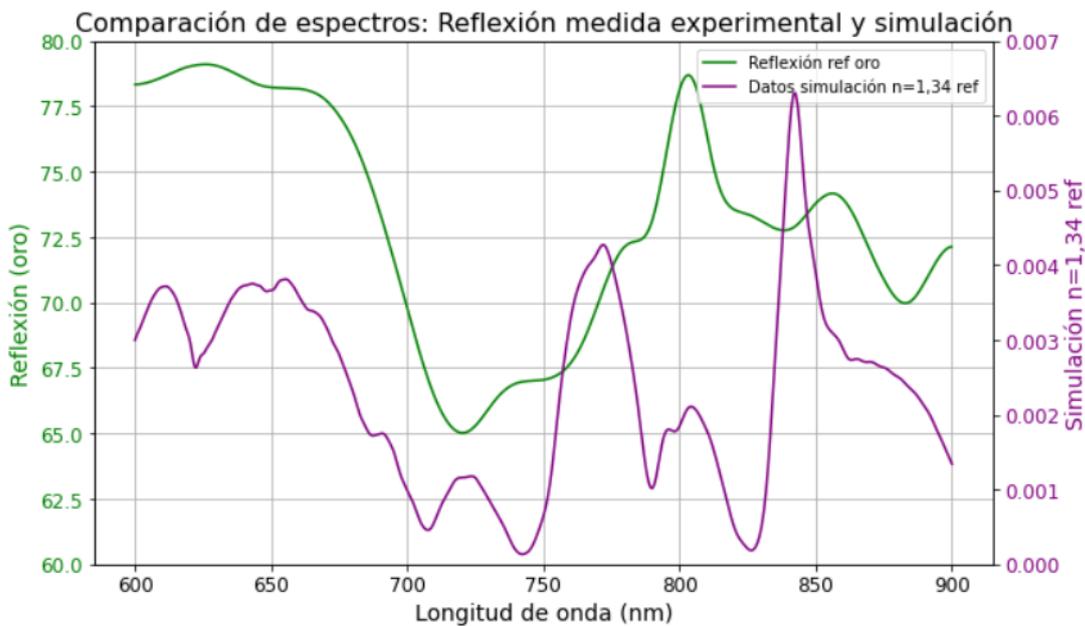


Figura 6: Comparación del espectro medido y simulado teniendo en cuenta el cuarzo bajo el oro y una captación de luz en un punto.

En la figura 6 se puede ver como el espectro simulado todavía no coincide con el espectro medido. A pesar de ello, se observa un máximo en los 800nm como en el espectro medido. Este máximo parece estar relacionado a una anomalía de Rayleigh causada por el cuarzo. Siguiendo con el razonamiento de que el máximo de los 800nm es causado por una anomalía de Rayleigh se ha llevado a cabo otra simulación variando el índice de refracción del cuarzo a $n=1,45$ y se ha introducido una capa de 2nm de titanio que se encuentra entre el cuarzo y el oro. Esta nueva simulación se puede ver en la figura 7.

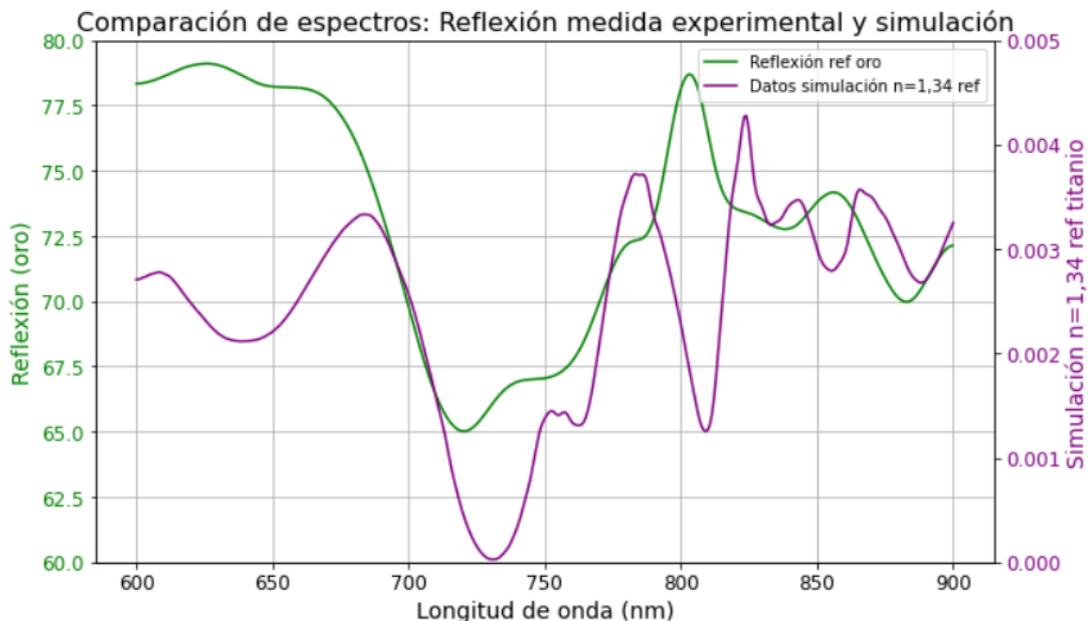


Figura 7: Comparación del espectro medido y simulado cambiando el índice de refracción del cuarzo e introduciendo una capa de titanio entre el cuarzo y el oro.

En la figura 7 se puede ver como el espectro simulado empieza a parecerse más al espectro medido a pesar de la reaparición del mínimo en los 800nm donde se encuentra el máximo medido. Se ha hecho otra simulación aumentando la región de simulación para que el titanio se tenga en cuenta y se ha modificado el tiempo de simulación para que converja y se ha obtenido el espectro de la figura 8.

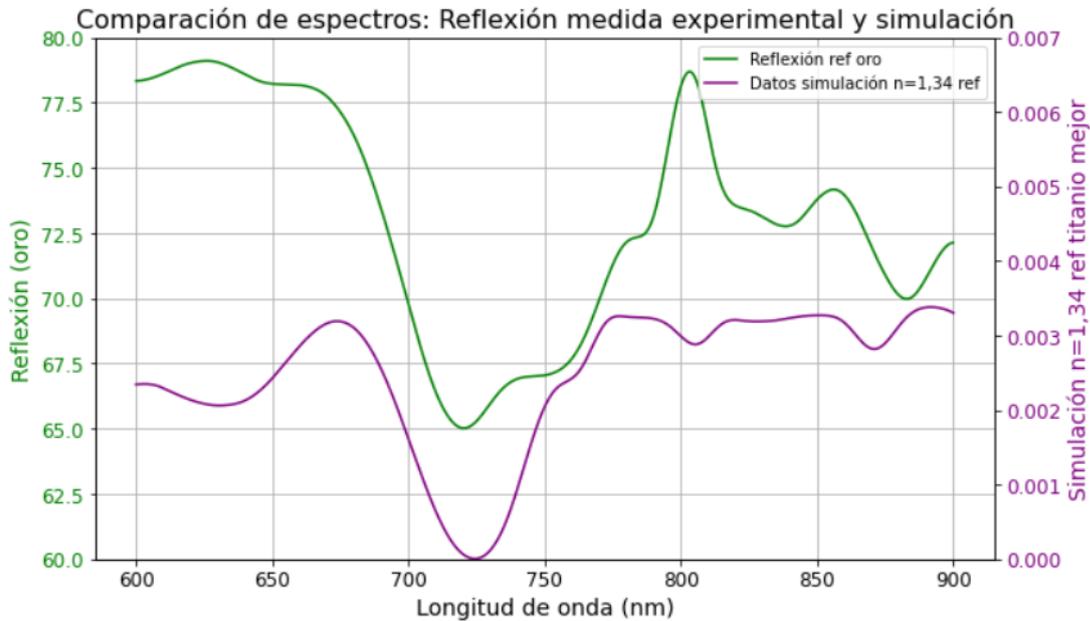


Figura 8: Comparación del espectro medido y simulado con región de simulación aumentada y mayor tiempo de simulación.

En la figura 8 se puede ver como el espectro simulado se parece más al medido aunque sigue habiendo diferencias en algunas longitudes de onda. Viendo los cambios ocurridos con pequeñas modificaciones en los muchos parámetros que afectan al espectro detectado se ha decidido que la simulación de los espectros obtenidos supera el objetivo de este trabajo.

Dada la cantidad de parámetros que afectan al espectro medido se abre la puerta a trabajos futuros para entender correctamente el origen de los extremos observados en los que se haga un estudio del efecto de todos los parámetros tales como: los índices de refracción de todos los componentes del sistema, la aproximación gaussiana del haz y su punto de partida, la forma de recepción de luz, el ángulo de incidencia, etc.

Apéndice de código

```
# Imports utilizados a lo largo del programa
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.signal import find_peaks
from scipy.signal import medfilt
from scipy.ndimage import gaussian_filter1d
from scipy.optimize import curve_fit
import h5py
```

Listing 1: Imports utilizados en algún punto del código

```
#Programa de lectura de datos en formato ASCII (los ↵
    datos obtenidos por el sistema en transmisión)
def asci(nombre_archivo):
    # Inicializar arrays vacíos para las dos columnas
    columna1 = []
    columna2 = []

    try:
        # Abrir el archivo en modo lectura
        with open(nombre_archivo, 'r') as archivo:
            # Leer líneas del archivo
            lineas = archivo.readlines()

            # Iterar sobre las líneas y extraer datos
            for linea in lineas:
                # Dividir la línea en columnas (usando ↵
                    tabulación como separador)
                datos = linea.split('\t')

                # Convertir los datos a números y ↵
                    agregar a las columnas
                columna1.append(float(datos[0]))
                columna2.append(float(datos[1]))
```

```

except FileNotFoundError:
    print(f"Error: No se encontró el archivo '{←
        nombre_archivo}')"
    return None, None

# Convertir listas a arrays de numpy
array_columna1 = np.array(columna1)
array_columna2 = np.array(columna2)

return array_columna1, array_columna2

# Programa de lectura de los txt de reflexión, el ←
programa es distinto porque por la diferencia de ←
formato, el txt tiene títulos y final
def txt(ruta_archivo):
    # Inicializar arrays vacíos para las dos columnas
    columna1 = []
    columna2 = []

    try:
        # Abrir el archivo en modo lectura
        with open(ruta_archivo, 'r') as archivo:
            # Leer líneas del archivo
            lineas = archivo.readlines()

            # Ignorar las primeras 17 líneas de títulos
            datos_inicio = 17
            lineas_datos = lineas[datos_inicio:-1] # ←
                Excluir la última línea

            # Iterar sobre las líneas de datos y ←
            extraer datos
            for linea in lineas_datos:
                # Dividir la línea en columnas (usando ←
                tabulación como separador)
                datos = linea.split('\t')

                # Convertir los datos a números y ←
                agregar a las columnas
                columna1.append(float(datos[0]))
                columna2.append(float(datos[1]))

    except FileNotFoundError:
        print(f"Error: No se encontró el archivo '{←
            ruta_archivo}')"
        return None, None

# Convertir listas a arrays de numpy

```

```

array_columna1 = np.array(columna1)
array_columna2 = np.array(columna2)

return array_columna1, array_columna2

```

Listing 2: Código de python para la lectura de archivos

```

def recortar_datos(datosx, datosy, valor_inicial, ←
valor_final):
    # Si el valor inicial es 0, mantener el inicio ←
    original
    if valor_inicial == 0:
        indice_inicio = 0
    else:
        indice_inicio = np.where(datosx[0] >= ←
valor_inicial)[0][0]

    # Si el valor final es 0, mantener el final ←
    original
    if valor_final == 0:
        indice_final = len(datosx[0])
    else:
        indice_final = np.where(datosx[0] <= ←
valor_final)[0][-1] + 1

    # Recortar el primer array de datos
    datosx_recortados = datosx[0][indice_inicio:←
indice_final]
    datosy_recortados = datosy[0][indice_inicio:←
indice_final]

    # Recortar los demás arrays de datos en los mismos ←
    índices
    for i in range(1, len(datosx)):
        datosx_recortados = np.vstack((←
datosx_recortados, datosx[i][indice_inicio:←
indice_final]))
        datosy_recortados = np.vstack((←
datosy_recortados, datosy[i][indice_inicio:←
indice_final]))

    return datosx_recortados, datosy_recortados

```

Listing 3: Código de python de acotado espectral

```

# Sistema de filtrado de datos que toma la mediana para←
eliminar outliers y
# haga un smoothing después para intentar definir ←
correctamente la posición de los máximos
def filtro(datos, kernel_mediana, ventana_smoothing):
    # creación de arrays de los datos

```

```

filtrados = []

for columna_y in datos:
    # Filtrar y suavizar los datos
    columna_y_filtrada = medfilt(columna_y, ←
        kernel_size=kernel_mediana)
    columna_y_suavizada = gaussian_filter1d(←
        columna_y_filtrada, sigma=ventana_smoothing)
    filtrados.append(columna_y_suavizada)
return filtrados

```

Listing 4: Código de python de filtrado espectral para eliminar ruido

```

def maxmin(datos, prominencia, anchura):
    #creación de arrays de los datos
    maximos = []
    minimos = []

    for columna_y in datos:
        # Encontrar máximos y mínimos locales
        maximos_locales, _ = find_peaks(columna_y, ←
            prominence = prominencia, width = anchura)
        minimos_locales, _ = find_peaks(-columna_y, ←
            prominence = prominencia, width = anchura)

        # Agregar a la lista de máximos y mínimos
        maximos.append(maximos_locales)
        minimos.append(minimos_locales)

    return maximos, minimos

```

Listing 5: Código de python de búsqueda de posición de máximos y mínimos

```

# Función que obtiene la media del índice de posición ←
# del máximo y mínimo con su desviación estandar
# Los valores obtenidos son de ÍNDICE. Para obtener los ←
# valores en nanómetros hay que tomar datos_x[índice] ←
# (se hace en otra función)
def media_desviacion(datos):
    medias = []
    desviaciones = []

    # Transponer los datos para que cada fila ←
    # represente una columna
    datos_transpuestos = np.array(datos).T

    # Iterar sobre cada columna de datos
    for columna in datos_transpuestos:
        media_columna = int(round(np.mean(columna), 0))
        desviacion_columna = int(round(np.std(columna), ←
            0))

```

```

        # Agregar la media y la desviación estándar de la
        # columna actual a las listas respectivas
        medias.append(media_columna)
        desviaciones.append(desviacion_columna)

    return medias, desviaciones

```

Listing 6: Código de python de obtención de media y desviación estándar de máximos y mínimos

```

def ajuste_lineal_ponderado(x, y, y_err):
    """
    Realiza un ajuste lineal ponderado utilizando mínimos
    cuadrados.

    Parameters:
    - x: Array de valores de x.
    - y: Array de valores de y.
    - y_err: Array de incertezas de los valores de y.

    Returns:
    - pte: Pendiente de la recta ajustada.
    - ord: Ordenada al origen de la recta ajustada.
    - pte_err: Error en la pendiente de la recta ajustada.
    - ord_err: Error en la ordenada al origen de la recta ajustada.
    - y_pred: Valores ajustados de y.
    """
    # Función lineal
    def lineal(x, a, b):
        x_array = np.array(x) # Convertir x en un array de NumPy
        return a * x_array + b # Multiplicación elemento por elemento y suma

    # Calcular las inversas de las varianzas
    inv_varianzas = 1.0 / np.array(y_err)**2

    # Realizar ajuste polinómico ponderado
    coefficients, cov_matrix = np.polyfit(x, y, 1, w=inv_varianzas, cov=True)

    # Obtener los parámetros ajustados
    pte, ordenada = coefficients

    # Obtener los errores en los parámetros ajustados
    pte_err, ord_err = np.sqrt(np.diag(cov_matrix))

    # Obtener el ajuste lineal para comparar con los

```

```
    datos
    y_pred = lineal(x, pte, ordenada)

    return pte, ordenada, pte_err, ord_err, y_pred
```

Listing 7: Código de python de obtención de sensibilidad con error y ordenada en el origen con error de un extremal