

# Biosensores basados en tecnologías de fibra óptica recubierta con materiales nanoestructurados

A.B. Socorro-Lerános<sup>1,2,\*</sup>, I. Del Villar<sup>1,2</sup>, C. Elosúa<sup>1,2</sup>, P. Zubiate<sup>1</sup>, J.M. Corres<sup>1,2</sup>, C. Bariáin<sup>1,2</sup>, J. Goicoechea<sup>1,2</sup>, S. Díaz<sup>1,2</sup>, C.R. Zamarreño<sup>1,2</sup>, M. Hernández<sup>4</sup>, P.J. Rivero<sup>1,3</sup>, A. Urrutia<sup>1,2</sup>, P. Sánchez-Zabal<sup>1</sup>, N. De Acha<sup>1</sup>, J. Ascorbe<sup>1</sup>, D. López<sup>1</sup>, A. Ozcáriz<sup>1</sup>, L. Ruete<sup>1,5</sup>, F.J. Arregui<sup>1,2</sup>, I.R. Matías<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Edificio de Los Tejos<sup>\*\*</sup>

<sup>2</sup> Institute of Smart Cities (ISC) - <sup>3</sup> Institute for Advanced Materials (INAMAT), Edificio Jerónimo de Ayaz<sup>\*\*</sup>

<sup>4</sup> School of Chemistry, University of East Anglia, Norwich Research Park, NR4 7 TJ, Norwich, Reino Unido (UK)

<sup>5</sup> Eversens S.L., Centro Europeo de Empresas e Innovación de Navarra, Calle Mocholí, 31110, Noáin, Navarra, España

<sup>\*\*</sup> Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus de Arrosadía s/n, C.P. 31006, Pamplona, Navarra, España

\*e-mail: ab.socorro@unavarra.es

## Resumen

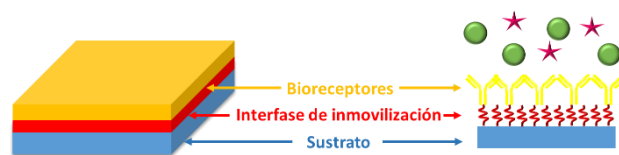
*En la actualidad, tanto los gobiernos como las empresas apuestan por la prevención antes que la cura, con el objetivo de ahorrar sobrecostes en materia de salud. Es por ello que existe la necesidad de desarrollar dispositivos que consigan un diagnóstico precoz de las enfermedades. Una manera muy eficiente de abordarlo es mediante el diseño de biosensores. A día de hoy existe una gran variedad de tecnologías que pueden realizar este trabajo. Esta contribución revisa los avances realizados usando la tecnología de fibra óptica, que últimamente acapara mucho del interés científico relacionado con el desarrollo de biosensores. Las buenas características que permiten a la fibra óptica adaptarse al mundo del biosensado han hecho que la comunidad científica profundice en esta tecnología, obteniendo resultados que pueden presentar una potencial alternativa a los actuales dispositivos comerciales. Esta contribución analiza estas bonanzas, así como las diferentes posibilidades que existen a la hora de usar la fibra óptica como plataforma biosensora.*

## 1. El mercado de los biosensores

Según un informe de P&S Market Research realizado en 2015 [1], el mercado de los biosensores alcanzará los 22,490 millones de dólares en 2020. Las principales causas que motivarán esta situación serán el aumento de la diabetes y envejecimiento de la población, algo que ya comienza a visualizarse en los países con mayor potencial de desarrollo. Detrás de este mercado se situarán empresas cruciales en el sector de las tecnologías para la salud, como son Siemens Healthcare, Abbott, J&J, Medtronic, Hoffmann La Roche o Bayer. Dichas empresas, además, en colaboración con las administraciones estatales, centrarán sus esfuerzos económicos en el desarrollo de aplicaciones que permitan a los pacientes gestionar su propia salud en el hogar, así como mejorar la atención primaria en los centros de salud. Es decir, que se va a tratar de potenciar la prevención frente a la cura. Los biosensores permiten esta labor, ya que precisamente son dispositivos diseñados para detectar a tiempo o con cierta antelación una determinada malfunción.

Un biosensor puede definirse un dispositivo que detecta una sustancia química o bioquímica en base a la transducción de una interacción biológica en una variación de una variable inteligible. La estructura de la cabeza sensora en estos dispositivos consta de 3 partes bien diferenciadas y que se muestran en la Figura 1 [2]: el sustrato, la interfase de biofuncionalización y la capa de bioreceptores.

Los bioreceptores son, generalmente, anticuerpos, enzimas, proteínas, aptámeros o cualquier biomolécula específicamente diseñada para detectar otras moléculas diana, llamadas “analitos”. El sustrato es la tecnología que permite transducir estas interacciones biológicas en variables inteligibles, y puede ser óptico, eléctrico o acústico, entre otros. Finalmente, la interfase de biofuncionalización es la capa intermedia, que sirve de anclaje de los bioreceptores al sustrato. Las razones por las que escoger los materiales o las sustancias implicadas deben estar cuidadosamente seleccionadas, hasta tal punto que el diseño de biosensores se ha convertido en una ciencia que viene dando resultados desde 1955.



**Figura 1.** Esquema de un biosensor. A la derecha se distinguen los bioreceptores (amarillos), los analitos (verdes) y otras sustancias presentes en la detección (fucsia).

Como se ha mencionado, existen numerosas técnicas de desarrollo de biosensores, como pueden ser los basados en micro(opto)electromecánica (MEMS/MOEMS) [3], electroquímica [4] u óptica [5]. Los primeros basan su detección en vibraciones mecánicas de barras en voladizo de tamaño micrométrico o nanométrico (NEMS) ante una interacción más o menos notable entre las moléculas detectora y diana. Sin embargo, si bien son una tecnología con alto potencial de desarrollo dada la posibilidad de producción en masa, aún se trata de dispositivos con un

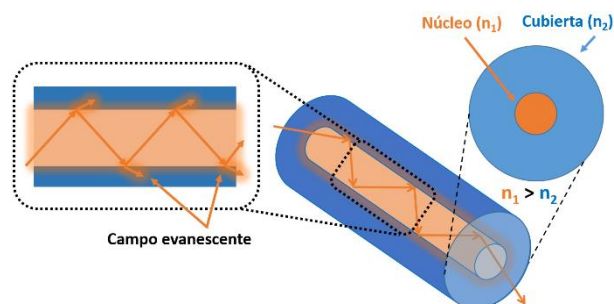
alto coste de producción y que están en fase de investigación. No ocurre lo mismo con los biosensores electroquímicos, ya que hoy en día son los únicos capaces de competir con garantías de éxito en este mercado.

Por su parte, el campo de los sensores ópticos o fotónicos está experimentando en los últimos años un auge espectacular. De acuerdo con un informe de la empresa Allied Market Research [6], el mercado de los sensores fotónicos crecerá durante el período 2014-2020 un 16.9% al año hasta alcanzar los 15,2 billones de dólares en 2020. En este sentido, son muchas las configuraciones ópticas que tratan de explotar sus ventajas respecto a las que ofrecen otro tipo de tecnologías. Dentro del ámbito de los biosensores ópticos destacan aquellos cuya base es un sustrato fotónico [5] y sensores basados en fibra óptica [7], sobre los que versa esta contribución.

## 2. La fibra óptica como sustrato biosensor

### 2.1. Funcionamiento y configuraciones de detección

La fibra óptica es una guía de ondas, generalmente hecha de vidrio, que transmite luz a diferentes longitudes de onda dentro del rango de las comunicaciones ópticas, aproximadamente entre los 350 y los 2000 nm. Se compone de dos partes principales: el núcleo y la cubierta. La cubierta presenta un índice de refracción ( $n$ ) ligeramente inferior al del núcleo. Aplicando la teoría de rayos, esto permite guiar la luz mediante el fenómeno de reflexión total interna (RTI). Pese a ello, estas reflexiones siempre dejan una cierta cantidad de energía que se acopla y propaga por parte de la cubierta. Es lo que se denomina como “campo evanescente” (ver Figura 2). En este sentido, es posible usar la interacción, bien con la luz del núcleo o bien con el campo evanescente, para llevar a cabo la detección de las moléculas diana. Todo depende del tipo de fibra usado, de los químicos empleados para construir el sensor sobre ella y de la arquitectura de detección empleada [8].

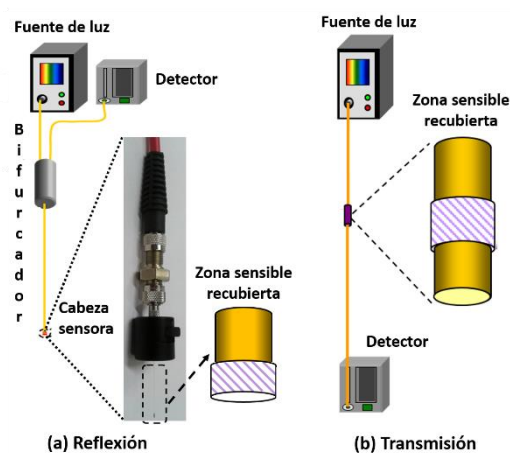


**Figura 2.** Propagación de la luz en una fibra óptica. A la vez que la luz se propaga por RTI, parte de la energía de la luz se acopla a la cubierta debido al campo evanescente.  $n_i$  es el índice de refracción del material  $i$ .

Así, dependiendo de las prestaciones de las que desee dotar al sensor, se consideran dos tipos de configuraciones: transmisión y reflexión. Los sensores en reflexión, cuya configuración se describe en la Figura 3a, permiten una mayor manejabilidad, y pueden dar lugar a un dispositivo más pequeño. Tan sólo necesitan un bifurcador óptico, para poder enviar la luz que se recibe

desde la punta de la fibra óptica y que no interfiera con la luz de entrada. Son mecánicamente robustos y fáciles de manipular, aunque debido a las pérdidas que se generan por la reflexión tiene mayores dificultades para operar con bajos niveles de señal.

Por el contrario, para los sensores de transmisión, cuya configuración se esquematiza en la Figura 3b, hay una trayectoria óptica directa entre la fuente de luz y el receptor. Esto hace que las pérdidas ópticas sean inferiores en comparación con la configuración en reflexión. Sin embargo, tiene la desventaja de que los montajes pueden resultar aparatosos, ya que a veces es necesario unir la guía de onda a un soporte para evitar su rotura. La elección entre una configuración u otra se basa en aspectos como los requisitos finales de aplicación, el principio de transducción o el material de detección.



**Figura 3.** Configuraciones de detección usando fibra óptica.

### 2.2. Adecuación de la fibra óptica como sustrato biosensor

La fibra óptica es una plataforma muy adecuada para desarrollar biosensores debido a una serie de propiedades que les permiten usarse como tal, como son su inmunidad frente a interferencias electromagnéticas, su biocompatibilidad y su reducido tamaño y peso. Además, se puede usar para detectar magnitudes como temperatura, presión, tensión y, en general, variables que supongan una modificación del estado original de la guía de onda [9].

Sin embargo, si se quiere ampliar el espectro de aplicaciones que se desean abordar al ámbito químico o bioquímico, es necesario modificar estas estructuras ópticas, empleando técnicas de deposición de películas delgadas o nanorecubrimientos [10]. La reacción de los materiales depositados con la luz que se propaga a lo largo de la fibra óptica, bien a través del núcleo o bien acoplándose al campo evanescente, potencia sus prestaciones y determinan el comportamiento del dispositivo final. Así, es posible encontrar biosensores de fibra óptica basados en 4 fenómenos ópticos principales: absorción [11], luminiscencia [12], interferometría [13] y resonancias electromagnéticas [14]. La siguiente sección revisará estas tecnologías, a fin de tener un panorama más claro sobre el estado del arte de los biosensores basados en tecnologías de fibra óptica.

### 3. Detección de biomoléculas basada en fenómenos generados sobre fibra óptica

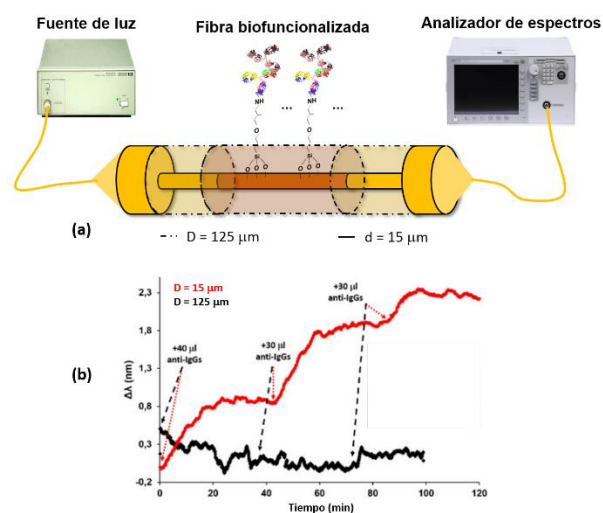
El fenómeno de absorción se basa en los cambios de las propiedades ópticas del material detector depositado sobre la fibra óptica. La iluminación desde la fuente alcanza la superficie en contacto con el material y este varía su capacidad de absorción en función del cambio con respecto al hecho de detectar las moléculas diana. En la referencia [11], la detección de absorción se basa en la detección de un producto de reacción cromóforo. En concreto, si una enzima como la fosfatasa alcalina se deposita en la punta de una fibra óptica, entonces es posible detectar p-nitrofenilfosfato. La enzima actúa como biocatalizador y genera p-nitrofenol, un producto que presenta una fuerte absorción en la longitud de onda de 404 nm. Esta absorción es indicativa de la presencia y actividad de dicha enzima.

Por otro lado, hay materiales que pueden ser excitados a longitudes de onda cortas (alta energía) y, cuando vuelven a su estado natural, emiten luz a longitudes de onda largas (baja energía), produciendo el fenómeno conocido como “luminiscencia”. Además, estos mismos materiales potencian o atenúan su luminiscencia en función de la presencia de la biomolécula a detectar. Aquí, la fibra óptica puede guiar la señal de excitación hacia la matriz de soporte recubierta con el compuesto luminiscente, así como acoplar la emisión. La configuración habitual en estos casos es en reflexión. Esto se puede ver en [12], donde se plantea la detección de oxígeno en base a un tipo de porfirina de platino, que ha demostrado ser un compuesto proporcionalmente fluorescente con la concentración de este gas. La contribución presenta el sensado de una atmósfera saturada en oxígeno entre 0 y 100%, con incrementos del 5%.

Las contribuciones anteriores basan su detección en la monitorización de la intensidad de la señal detectada. Otro tipo de sensores permiten la detección en longitud de onda. Para ello se monitoriza la evolución de fenómenos interferométricos o resonantes, generados, bien por la estructura óptica o bien por el hecho de recubirla. En el caso de los interferómetros, el principio de funcionamiento se basa en la combinación de, al menos, dos señales. Una de ellas es la señal original. La otra es una señal interferente que ha sido alterada de alguna manera para detectar el analito deseado. Así, cuando se recombinan en la etapa de detección, el patrón interferométrico varía, obteniendo los cambios deseados en longitud de onda.

Este es el principio de funcionamiento del sensor de interacciones IgG - anti-IgG presentado en [13]. En este caso, la interferometría se consigue fusionando dos fibras con un núcleo de 8  $\mu\text{m}$  con un segmento de fibra sin núcleo, como se observa en la Figura 4. La luz obtenida en el espectrómetro es la resultante de sumar la luz propagada dentro de la fibra con núcleo con las interferencias correspondientes a las reflexiones de los rayos en el segmento de fibra sin núcleo. En esta contribución, además, se realiza una reducción del diámetro de la estructura sensora, mediante un ataque

químico con el que se incrementa su campo evanescente y su sensibilidad. Esto puede aprovecharse para visualizar la interacción entre los anticuerpos primarios y secundarios. En el trabajo se obtiene una sensibilidad ocho veces superior a los valores alcanzados con la estructura original y se detectan IgGs en concentraciones de hasta 104  $\mu\text{g/ml}$ . Además, se utilizan técnicas de proteómica, como la espectrometría de masas de alta resolución, para corroborar la unión de las biomoléculas a la fibra óptica, y se comprueba que el sensor no presenta sensibilidad cruzada a otras biomoléculas inmersas en la misma disolución de detección.



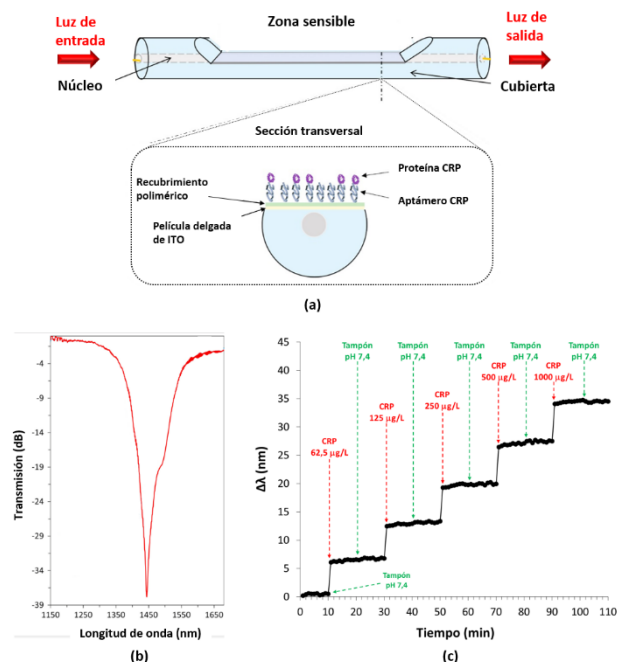
**Figura 4.** (a) Esquema de la configuración usada en [13] para diseñar el biosensor. Se observa la biofuncionalización para adherir los anticuerpos primarios (IgGs). (b) Detección de anticuerpos secundarios (anti-IgGs), comparando fibras de control y optimizada. Reproducida y ligeramente modificada con permiso de IEEE Xplore®.

Finalmente, se analizan los biosensores de fibra óptica basados en resonancias electromagnéticas. Como ya se ha mencionado, cuando a una fibra óptica se le retira la cubierta que permite la reflexión total interna, da la posibilidad de acceder su campo evanescente. Si sobre esta fibra se deposita una película delgada, puede existir un acoplamiento de luz a la película delgada en un cierto rango de longitudes de onda. Estas longitudes de onda aparecen fuertemente atenuadas en el detector, obteniendo así los fenómenos de resonancia electromagnética.

Dependiendo de las propiedades dieléctricas de los actores involucrados en el sistema (guía-onda, revestimiento y medio externo), se pueden distinguir tres casos de resonancias electromagnéticas: excitaciones superficiales de amplio rango (ESARs) [14], resonancias de plasmón superficial (RPSs) y resonancias de modos de pérdidas (RMPs) [15]. A modo de ejemplo, esta contribución se referirá únicamente al último tipo, analizando una reciente contribución en la que se realiza una detección de la proteína C-reactiva, un marcador del ictus [16]. En ella, se utiliza un tipo de fibra óptica llamada de “tipo D”, en referencia a la forma de su sección transversal. Dicho tipo de fibra es muy adecuado para generar RMPs puesto que el núcleo está muy cercano a la superficie, con lo que el campo evanescente



disponible es muy alto. Sobre ella se depositan una serie de materiales para generar RMPs y, sobre estos, otros que sirven de acomodamiento para los bioreceptores, que en este caso son aptámeros específicamente diseñados para detectar la presencia de proteína C-reactiva. Como datos relevantes, la mínima concentración discernible detectada por este biosensor es 62,5  $\mu\text{g/L}$  (ver Figura 5) y con bastante selectividad frente a otras sustancias biológicas como son la creatinina o la urea.



**Figura 5.** (a) Biofuncionalización de la estructura óptica usada en [16]. (b) RMP obtenida tras la biofuncionalización (c) Detección de proteína C-reactiva.

## 4. Conclusiones

El diseño de biosensores implica una optimización de todos los pasos que se dan, desde la elección de la plataforma sensora a los bioreceptores adecuados, pasando por la manera en la que estos se unen al sustrato. En esta contribución se ha presentado una revisión de las diferentes estrategias que existen a la hora de abordar el diseño de biosensores desde el punto de vista óptico y, más concretamente, teniendo en cuenta la fibra óptica como sustrato sobre el cual diseñar este tipo de sensores.

Según se ha visto, existen 4 tipos principales de fenómenos ópticos entre los que elegir a la hora de diseñar estos biosensores: absorción, luminiscencia, interferometría y resonancias electromagnéticas. Todos ellos se basan en principios diferentes pero complementarios, lo cual es interesante tener en cuenta dependiendo de los requerimientos de la aplicación.

De cara a futuras investigaciones con este tipo de tecnología, se está tratando de optimizar estos sensores en términos de aumento de sensibilidad y mejora de la resolución de las medidas. Las magnitudes biomédicas poseen un rango muy limitado de variación y los pacientes pueden requerir tratamientos muy diferentes según su situación. Es por ello que, con vistas a la aplicación clínica, conseguir este objetivo es crucial.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Nadetech Innovations S.L. y al centro CEMITEC su colaboración durante los últimos años.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través de la Agencia Estatal de Investigación (AEI) gracias al proyecto FEDER TEC2016-78047-R, así como con los proyectos con referencias 72/2015, PC023-024 y 0011-1365-2017-000117 del Gobierno de Navarra.

## Referencias

- [1] P&S Market Research: "Global Biosensors Market Size, Share, Development, Growth and Demand Forecast to 2022 – Industry Insights by Technology (...), by Application (...), by End User (...)" (2015).
- [2] X. Wang, O.S. Wolfbeis, "Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors", *Analytical Chemistry* 2016 88 (1), pp. 203-227.
- [3] M. Alvarez, L. Lechuga, "Microcantilever-based platforms as biosensing tools", *Analyst* 2010, 135, pp. 827-836.
- [4] A. Weltin, J. Kieninger, G.A. Urban, "Microfabricated, amperometric, enzyme-based biosensors for in vivo applications", *Anal Bioanal Chem.* 2016, 408, pp. 4503-4521.
- [5] R. Hawk, A.M. Armani, "Label-free detection of 5'hydroxymethylcytosine within CpG islands using optical sensors", *Sensors & Bioelectronics* 2015, 65, pp. 198-203.
- [6] World Photonics Sensors Market - Opportunities and Forecasts, 2013 – 2020, Report Code: SE 15602, 165 pages, Allied Market Research, (2015).
- [7] N. Cennamo, G. Testa, S. Marchetti, L. De Maria, R. Bernini, L. Zeni, M. Pesavento, Intensity-based plastic optical fiber sensor with molecularly imprinted polymer sensitive layer, *Sensors & Actuators B: Chemical* 2017, 241, 31, pp. 534-540.
- [8] C.R. Zamarreño, A.B. Socorro, P. Sanchez-Zabal, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Fiber-optic biosensors" *Encyc. of Opt. and Phot. Engineering*, Ed. 2, Chapter: Vol. 4, 2, Publisher: CRC Press, Editors: Taylor & Francis, pp.19.
- [9] K. Grattan, T. Sun, "Optical-Fiber Sensors: Temperature and Pressure Sensors". *MRS Bulletin*, 27(5), pp. 389-395. doi:10.1557/mrs2002.124 (2002).
- [10] P.J. Rivero, A. Urrutia, J. Goicoechea, F.J. Arregui, "Nanomaterials for Functional Textiles and Fibers", *Nanoscale Research Letters* 2015, 10 (1), 501, pp. 1-22.
- [11] M.A. Arnold, "Enzyme-based fiber optic sensor". *Anal. Chem.* 1985, 57, pp. 565-566.
- [12] C. Elosua, N. De Acha, M. Hernaez, I.R. Matias, F.J. Arregui, "Layer-by-Layer assembly of a water-insoluble platinum complex for optical fiber oxygen sensors", *Sensors and Actuators B* 2015, 207, pp. 683-689.
- [13] A. Socorro, E. Santamaría, J. Fernandez-Irigoyen, I. Del Villar, J. Corres, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Fiber-Optic Immunosensor Based on an Etched SMS Structure", *IEEE J. Sel. Topics in Quantum Electronics* 2017, 23, 2, Art. ID 5601808, 8 pp.
- [14] Y. Zhang, Tesis doctoral: "Long range surface polaritons in thin layers of absorbing materials", ISBN: 978-90-77209-52-3.
- [15] I. Del Villar, C.R. Zamarreño, M. Hernaez, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Lossy Mode Resonance Generation With Indium-Tin-Oxide-Coated Optical Fibers for Sensing Applications", *Journal of Lightwave Technology* 2010, 28 (1), pp. 111-117.
- [16] P. Zubiate, C.R. Zamarreño, P. Sanchez-Zabal, I.R. Matias, F.J. Arregui, "High sensitive and selective C-reactive protein detection by means of lossy mode resonance based optical fiber devices", *Bios. & Bioelectronics*, 2017, 93, pp. 176-181.