

# UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

Posgrado en Nanotecnología

Tesis

**Estudio de propiedades fototérmicas de  
nanopartículas huecas de Plata-Oro en maniqués  
ópticos**

Que para obtener el grado de:  
Doctor en Nanotecnología

Presenta:

**M. en C. Leonardo Baez Castillo**

Director:

**Dr. Eduardo Ortiz Rascón**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a CONACYT por el apoyo económico brindado para realizar este trabajo en el programa de doctorado en nanotecnología. A la UNISON por darme la oportunidad de aprender y viajar por el mundo. A mi director de tesis y amigo: Eduardo Ortiz Rascón, que sin su guía nada de esto sería posible.

A mi familia por su apoyo incondicional durante tantos años.

¡Gracias totales!

## RESUMEN

En la primera parte de este trabajo se contempla el desarrollo de un maniquí óptico tejido-equivalente. El uso de un maniquí óptico confiable y reproducible en cualquier laboratorio, con propiedades ópticas constantes, es el objetivo principal del uso de nanoesferas de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) para desarrollar un maniquí estándar. El diseño y fabricación de este maniquí nanoestructurado involucra la síntesis controlada de las nanoesferas de  $\text{SiO}_2$  como agentes dispersores y su incorporación homogénea en medios transparentes. En este trabajo se presenta la caracterización óptica de forma numérica y experimental de los maniqués ópticos desarrollados y se propone una técnica numérica para diseñar y modular las propiedades ópticas del maniquí a partir del tamaño y concentración de esferas en el medio. Dada la geometría esférica de las nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  embebidas homogéneamente en una matriz transparente de resina de poliéster o en suspensión acuosa, es posible establecer una comparación directa entre los parámetros ópticos obtenidos ajustando numéricamente los perfiles de intensidad de transmisión difusa de pulsos de luz a la aproximación de difusión de la ecuación de transporte de radiativo y los valores numéricos obtenidos por las soluciones de Mie a las ecuaciones de Maxwell al conocer las propiedades físicas del maniquí y de la fuente de iluminación. De esta manera fue posible implementar un nuevo método para obtener la componente compleja del índice de refracción para las nanoesferas de  $\text{SiO}_2$ .

En la segunda parte de este trabajo se estudia el efecto fototérmico de las nanopartículas (NPs) huecas de Plata-Oro (Ag-Au) mediante la medición del incremento de temperatura en maniqués de leche diluida en agua con grenetina, con propiedades ópticas similares a las del tejido biológico, empleando iluminación estereotáctica de luz infrarroja (IR) con potencial aplicación en terapias fototérmicas (PPTT), generando un calentamiento localizado por la absorción de luz IR incidente sobre la superficie del maniquí y que converge en una región de interés, demostrando la posibilidad de producir un calentamiento mayor a  $\sim 4^\circ\text{C}$  bajo 15 mm de profundidad, en el interior de un medio opaco, donde la potencia de la radiación incidente se distribuye en un área mayor, ocasionando menos calentamiento superficial y concentrando el aumento de temperatura en una zona localizada con NPs metálicas fijas dentro del maniquí óptico.

# ÍNDICE

## Parte I

### “Combinación de las soluciones de Mie y la ecuación de transporte radiativo para la medición de propiedades ópticas de partículas esparcidoras en maniqués ópticos”

<b>1.</b>	<b>Introducción a los maniqués ópticos .....</b>	<b>12</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivo .....</b>	<b>13</b>
<b>2.</b>	<b>Marco teórico .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Aproximación cuasiestática de las soluciones de Mie .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Aproximación por difusión a la ecuación de transporte radiativo .....</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>Metodología .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>Elaboración y caracterización de las nanoesferas de sílice ...</b>	<b>23</b>
<b>3.2</b>	<b>Resultados de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3</b>	<b>Incorporación de las esferas de resina y caracterización de la incorporación mediante SEM .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4</b>	<b>Caracterización óptica del maniqué mediante el uso de la ecuación de transporte radiativo (cámara Streak) .....</b>	<b>28</b>
<b>4.</b>	<b>Método para determinar la componente compleja del índice de refracción en nanoesferas de SiO<sub>2</sub> .....</b>	<b>34</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusiones y comparaciones de ambos métodos .....</b>	<b>35</b>

<b>6. Trabajo a futuro .....</b>	<b>37</b>
----------------------------------	-----------

## **Parte II**

### **“Efecto fototérmico a profundidad inducido mediante haces láser estereotácticos en medios altamente dispersivos”**

<b>7. Iluminación con haces convergentes (estereotáctica) .....</b>	<b>40</b>
<b>7.1 Objetivo .....</b>	<b>40</b>
<b>7.2 Introducción y antecedentes de terapia fototérmica .....</b>	<b>41</b>
<b>8. Marco teórico .....</b>	<b>43</b>
<b>8.1 Resonancia del plasmón de superficie .....</b>	<b>43</b>
<b>8.2 Disposición estereotáctica de haces convergentes .....</b>	<b>45</b>
<b>9. Metodología .....</b>	<b>47</b>
<b>9.1 Síntesis y caracterización de NPs huecas de Ag-Au .....</b>	<b>47</b>
<b>9.2 Síntesis y caracterización de maniqués ópticos de grenetina .....</b>	<b>50</b>
<b>9.3 Incorporación de las NPs huecas en alginato dentro maniqué óptico .....</b>	<b>52</b>
<b>9.4 Montajes ópticos experimentales .....</b>	<b>53</b>
<b>10. Discusión de termografías .....</b>	<b>55</b>
<b>11. Conclusiones .....</b>	

<b>12. Trabajo a futuro .....</b>	<b>60</b>
<b>13. Referencias .....</b>	<b>61</b>
<b>14. Apéndice A:</b>	
<b>A1. Cálculo de las eficiencias de Mie .....</b>	<b>68</b>
<b>A2: Optimización por temple simulado .....</b>	<b>69</b>
<b>15. Apéndice B: Resultados de productividad académica .....</b>	<b>72</b>
<b>1. (2017) Light Scattering of Silica Nanoparticles.</b>	
<b>2. (2017) Time and space intensity distribution maps to calculate optical properties in turbid media.</b>	
<b>3. (2018) Embedding Silicon Dioxide Nanospheres for Homogeneous Incorporation onto a Resin Matrix.</b>	
<b>4. (2018) Segundo premio en el Congreso de Microscopía y Microanálisis.</b>	
<b>5. (2019) Controlled Growth of Silicon Dioxide Nanospheres by Regulation in the Addition Rate of the Precursor.</b>	
<b>6. (2020) Merging Mie solutions and the radiative transport equation to measure optical properties of scattering particles in optical phantoms.</b>	
<b>7. (2021) Deep photothermal effect induced by stereotactic laser beams in highly scattering media.</b>	

## Índice de figuras

- Fig. 1. Esquema de interacción de una partícula esférica y un campo eléctrico en aproximación cuasi-estática. .... 18
- Fig. 2. Micrografías SEM de las NPs de SiO<sub>2</sub> sintetizadas. En a) se muestran las NPs iniciales (semillas), en b) después de 1 ciclo con la misma cantidad de TEOS (1X), en c) las semillas con 1 ciclo con 5 veces el volumen de TEOS (5X), en d) las semillas con 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en e) las semillas después de 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en f) para 3 ciclos con 5X de TEOS en la síntesis..... 25
- Fig. 3. Histogramas del conteo de nanopartículas esféricas de SiO<sub>2</sub> en las muestras analizadas por microscopía SEM. En a) se muestran las semillas, en b) después de 1 ciclo con la misma cantidad de TEOS (1X), en c) las semillas con 1 ciclo con 5 veces el volumen de TEOS (5X), en d) las semillas con 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en e) las semillas después de 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en f) para 3 ciclos con 5X de TEOS en la síntesis ..... 27
- Fig. 4. Procedimiento para la elaboración de los maniqués ópticos con NPs de SiO<sub>2</sub>. ..... 29
- Fig. 5. Micrografías de SEM con escala de 1 micrómetro para: a) la muestra en seco de la solución a 1% de NP de SiO<sub>2</sub> a una magnificación de 10,000 ×; en b) la micrografía de un corte de resina pura a una magnificación de 20,000 ×; en c) y d) las NPs de SiO<sub>2</sub> embebidas en la matriz de resina, con diferentes magnificaciones de 20,000 × y 5,000 ×, respectivamente. .... 29
- Fig. 6. Esquema del arreglo experimental para medir el perfil temporal de luz transmitida con una cámara streak a un maniquí de grosor  $d=3.5$  cm. .... 31
- Fig. 7. En a) se muestra la cámara Streak con un maniquí líquido de nanoesferas de SiO<sub>2</sub>, en b) y c) se muestran las mediciones de intensidad de luz transmitida (línea en asteriscos \*) y

los ajustes por temple simulado a la aproximación de difusión (línea continua) para los maniqués de resina y solución agua-etanol, respectivamente. ....	33
Fig. 8. Curvas con para $\mu_a$ respecto a $\text{Im}[n_s]$ graficadas con ejes logarítmicos y calculadas con simulaciones de las soluciones de Mie para los maniqués estudiados. ....	34
Fig. 9. Esquema de la configuración espacial de los divisores de haz y espejos en los ensayos de iluminación. El ángulo mostrado es de aproximadamente $12^\circ$ entre cada haz. ....	46
Fig. 10. Soluciones coloidales de NPs huecas de Ag-Au, donde cada muestra contiene un volumen diferente de $\text{HAuCl}_4$ en la partícula: 40, 60, 80 y 100 $\mu\text{l}$ de $\text{HAuCl}_4$ respectivamente de izquierda a derecha. ....	47
Fig. 11. Espectros de absorción para las suspensiones coloidales de NPs huecas de Ag-Au sintetizadas con diferentes volúmenes del precursor de oro en las partículas. ....	48
Fig. 12. Espectro de absorción de la suspensión coloidal concentrada de NPs huecas de Ag-Au sintetizadas con 90 $\mu\text{l}$ de $\text{HAuCl}_4$ . ....	49
Fig. 13. Micrografías SEM de muestras en seco de las NPs huecas de Au-Ag con diferente proporción molar en el precursor de Au agregado en la síntesis de NP metálicas. La micrografía a) corresponde a la muestra con 40 $\mu\text{l}$ , en b) para la muestra con 80 $\mu\text{l}$ , en c) para la muestra con 90 $\mu\text{l}$ y en d) para la muestra con 100 $\mu\text{l}$ de $\text{HAuCl}_4$ . ....	50
Fig. 14. Maniqués de leche y grenetina al 10% del volumen de leche en la mezcla solidificada. Se aprecia un pequeño punto oscuro sobre la superficie del maniquí que corresponde a la posición del alginato impregnado de las nanopartículas de Au-Ag. ....	51
Fig. 15. Mediciones de la intensidad de luz transmitida (línea en asteriscos *) y los ajustes por temple simulado a la aproximación de difusión (línea continua) para los maniqués de 50% leche-grenetina (línea azul) y al 10% leche-grenetina (línea negra). ....	52

Fig. 16. Las termografías (a) y (c) corresponden a los maniqués sin NPs, en (b) y (d) a los maniqués elaborados con 5 ml de solución acuosa de NPs metálicas. En (e) se muestran los perfiles de  $\Delta T$  en la dirección de propagación del haz láser para la grenetina pura y el de 50% leche-grenetina (línea negra) y los que contienen NPs (línea roja)..... 55

Fig. 17. Las termografías (a) y (c) corresponden a los maniqués con NPs metálicas localizadas en la superficie, a 0 cm de profundidad; en (b) y (d) a los maniqués con incrustaciones de NPs metálicas a 1 cm de profundidad. En (e) se muestran los perfiles de  $\Delta T$  correspondientes a los mostrados en las termografías para los maniqués al 50% y 10% leche-grenetina..... 57

Fig. 18. Termografías y perfiles de  $\Delta T$  obtenidas con iluminación estereotáctica de 3 haces láser convergentes en la ROI localizada en el maniqué de 10% leche-grenetina con incrustaciones esféricas de HNPs de Au-Ag en (a), (b) (c) y (d) correspondiente a 0 cm, 1 cm, 1.5 cm y 2.0 cm de profundidad..... 57

Fig. 19. Termografías y perfiles de  $\Delta T$  obtenidas con iluminación de 6 haces láser convergentes en la ROI localizada en el maniqué de 10% leche-grenetina con incrustaciones esféricas de HNPs de Au-Ag fijas a 0 cm, 1 cm, 1.5 cm y 2 cm de profundidad..... 58

## Índice de tablas

Tabla 1. Incrementos promedio del diámetro y volumen de las NPs esféricas de SiO<sub>2</sub>. El volumen relativo es la división entre el volumen de la esfera para el nuevo diámetro entre el volumen de la esfera original. .... 26

Tabla 2. Valores calculados por el ajuste para la aproximación de difusión a perfiles temporales de intensidad de luz transmitida detectada por una cámara streak. .... 32

Tabla 3. Coeficientes de esparcimiento reducido obtenidos por simulaciones de teoría de Mie y la diferencia porcentual respecto a los encontrados por ajuste a la aproximación de difusión. .... 36

Tabla 4. Valores calculados por el ajuste para la aproximación de difusión a perfiles temporales de intensidad de luz transmitida detectada por una cámara streak. .... 52

## **Parte I**

**“Combinación de las soluciones de Mie y la ecuación de transporte radiativo para la medición de propiedades ópticas de partículas esparcidoras en maniqués ópticos”**

## 1. Introducción a los maniqués ópticos

Los coeficientes de esparcimiento y absorción son los dos parámetros ópticos principales de los tejidos biológicos estudiados en la óptica biomédica. La medición de estos coeficientes es indispensable para el entendimiento de las composiciones estructurales y bioquímicas de los tejidos, por lo tanto, la cuantificación de los cambios en las propiedades ópticas se puede utilizar para investigar el tejido biológico. Algunas alteraciones estructurales y bioquímicas, como la saturación o concentración de hemoglobina, están asociadas con condiciones patológicas que afectarán el esparcimiento y la absorción de la luz, y que son útiles para caracterizar varios estados patológicos del tejido. En específico, las biomoléculas que expresan la capacidad de absorción de luz visible son llamadas cromóforos, como la sangre y la melanina, mientras que el agua es un cromóforo para longitudes de onda en el infrarrojo (IR) [1].

El estudio de la interacción de la luz con los tejidos biológicos es esencial para la seguridad al utilizar radiación laser en instrumentos médicos, donde la interacción tejido-laser es un fenómeno físico ampliamente estudiado para fines de diagnóstico y terapéuticos [2]. Las propiedades ópticas de un medio difuso, como el tejido biológico, están determinadas por los coeficientes de absorción ( $\mu_a$ ) y esparcimiento reducido o de transporte ( $\mu'_s$ ), el índice de refracción ( $n$ ) y el factor de anisotropía ( $g$ ); donde su cálculo sigue siendo un desafío y tema central en la determinación de parámetros cuantitativos en terapias y desarrollo de tecnología de instrumentos fotomédicos [3]. Las proteínas y los aminoácidos son los principales absorbentes de las longitudes de onda de los rayos ultravioleta. Normalmente, la absorción tisular se mide en términos del coeficiente de absorción que disminuye con el aumento de la longitud de onda. En particular, la longitud de onda que va de 600 a 1300 nm se denomina ventana biológica, donde la absorción tisular es mínima [4,6,7].

Los maniqués ópticos imitan las propiedades ópticas de muestras biológicas para diversas aplicaciones biomédicas, éstos son muy utilizados en el estudio de la interacción de la luz y el tejido [8]. Los maniqués ópticos son una gran herramienta en el desarrollo de aplicaciones para la generación de imágenes biomédicas, lo que requiere propiedades de absorción y esparcimiento ajustables, al usarse como estándares de referencia para la

calibración de instrumentos y/o validar ensayos clínicos [9]. Debido a su importancia y su utilidad es necesario que su diseño y fabricación sean estandarizadas con materiales y precursores químicos que sean de fácil obtención y que sus propiedades físicas no cambien de forma global; es aquí donde la nanotecnología permite la síntesis y elaboración de materiales con propiedades ópticas ajustables con alta resolución en la modulación de los coeficientes de absorción y esparcimiento [10].

El diseño de maniqués ópticos es importante para desarrollar maniqués que sean estándares de referencia, es decir, sistemas que imiten y reproduzcan las propiedades ópticas del tejido de manera confiable. Los maniqués se utilizan en montajes a nivel de laboratorio para medir el rendimiento de un diseño experimental comparando contra protocolos estandarizados, además, permiten controles de calidad en estudios clínicos y/o para calibrar instrumentos para mediciones absolutas, con la finalidad de aumentar la confiabilidad y reproducibilidad de los estudios clínicos y proporcionar una referencia en torno a la generación controlada de imágenes médicas estandarizadas en el laboratorio [11]. En general, los elementos que componen un maniqué son partículas esparcidoras y agentes absorbentes, distribuidos homogéneamente en un material matriz, permitiendo modular sus propiedades ópticas según sea requerido, donde en el diseño de estos materiales, los factores principales a considerar son las propiedades de esparcimiento y absorción de la luz. Existen varios tipos de maniqués ópticos, algunos se encuentran en fase líquida, típicamente los más comunes están hechos de disoluciones de leche, sangre, suspensiones de Intralipid®, Nutralipid® o Liposyn® [12]. Los maniqués en fase sólida comúnmente contienen partículas esparcidoras como micropartículas suspendidas en matrices de agarosa, silicio, poliéster, poliuretano, alcohol polivinílico (PVA) o resina epóxica. Sin embargo, la mayoría de estos maniqués no tiene propiedades ópticas constantes a lo largo del tiempo y tienen una vida útil relativamente corta, generalmente de menos de dos meses [13, 15].

## **1.1 Objetivos**

El objetivo principal de esta primera parte es el diseño, elaboración y caracterización de un maniqué óptico de larga duración, confiable y reproducible. Se propone el uso de nanoesferas de sílice monodispersas ( $\text{SiO}_2$ ) en suspensión de agua-etanol incrustadas en una

matriz sólida de resina de poliéster. Este diseño brinda la posibilidad de ser reproducible en cualquier laboratorio químico convencional y brinda propiedades ópticas que son modulables, así como valores numéricos pueden ser teóricamente predecibles, conociendo la forma y las propiedades físicas de las nanoesferas de sílice, calculando los coeficientes de esparcimiento y absorción mediante el uso de las soluciones de Mie a las ecuaciones de Maxwell. La comparación con los cálculos por ajuste numérico de los perfiles temporales de intensidad de luz transmitida a la ecuación de transporte radiativo de Boltzmann, ofrece además un método numérico para predecir los valores reales e imaginarios de los parámetros ópticos, particularmente de la parte compleja del índice de refracción.

## 2. Marco Teórico

En este capítulo se muestran los diferentes métodos numéricos para la caracterización óptica, obteniendo los coeficientes de esparcimiento y absorción en maniqués ópticos. En la primera sección se hace uso de las soluciones de Mie para un medio con esferas suspendidas. En la segunda sección se implementa un algoritmo de temple simulado para el ajuste numérico de dos distribuciones de intensidad de luz no lineales donde el modelo analítico a optimizar sólo depende de los parámetros ópticos de interés.

### 2.1 Aproximación cuasi-estática de las soluciones de Mie

A principios del siglo XX, Gustav Mie estudió la interacción de la luz visible con partículas esféricas pequeñas (dieléctricas o conductoras) y resolvió el problema analíticamente en términos de series infinitas. La descripción analítica del esparcimiento de la luz por un objeto esférico (lineal, isotrópico y homogéneo) iluminado por una onda monocromática polarizada linealmente, primero fue estudiado por Lorentz y Debye (1890) pero finalmente publicado en 1908 por Mie [20].

Los campos electromagnéticos en un régimen macroscópico son descritos por las ecuaciones de Maxwell, expresadas con notación vectorial y omitiendo las dependencias espaciotemporales son el conjunto de soluciones de las ecuaciones diferenciales de los campos eléctricos  $\vec{E}$  y magnéticos  $\vec{B}$  dadas por

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \quad [1]$$

$$\nabla \cdot \vec{B} = 0 \quad [2]$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [3]$$

$$\nabla \times \vec{B} = \mu_0 \vec{J} + \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad [4]$$

donde las constantes  $\epsilon_0$  y  $\mu_0$  son la permitividad eléctrica y permeabilidad magnética del espacio vacío, respectivamente;  $\rho$  es la densidad de carga y el campo  $\vec{J}$  es la densidad de corriente. Debido a la codependencia entre los campos electromagnéticos y la habilidad de

propagarse en ausencia de un medio, las soluciones para  $\vec{E}$  y  $\vec{B}$  son oscilaciones modeladas por funciones ondulatorias que requieren el uso de magnitudes físicas como la frecuencia  $\omega$  y la diferencia de fase  $\phi$ ; y de propiedades vectoriales como la amplitud  $\vec{A}$  y el vector de onda  $\vec{k}$  que, en conjunto con las funciones trigonométricas, generalizan la propagación espaciotemporal de energía, típicamente llamada: radiación electromagnética [27]. La propagación de la radiación al incidir sobre una nanopartícula dieléctrica, suponiendo que la densidad de carga  $\rho = 0$  y la densidad corriente  $\vec{j} = 0$ , por la continuidad del campo electromagnético en las condiciones de frontera, con las expresiones válidas para la interacción de luz monocromática con una frecuencia  $\omega$  y un material con una constante dieléctrica  $\varepsilon(\omega)$ , definen a los campos electromagnéticos en la partícula como: el vector de desplazamiento

$$\vec{D} = \varepsilon(\omega, r)\vec{E}(\omega, r, t) \quad [5]$$

$$\vec{H} = \mu(\omega, r)\vec{B}(\omega, r, t) \quad [6]$$

donde las funciones  $\varepsilon(\omega, r) = \varepsilon_0\varepsilon_m$  y  $\mu(\omega, r) = \varepsilon_0\mu_m$  son la permitividad y permeabilidad del campo eléctrico y magnético, respectivamente; éstas son las funciones que caracterizan la respuesta eléctrica del material, comúnmente para luz monocromática y un material homogéneo se consideran constantes en todos los puntos del material y se omiten las notaciones de las dependencias de frecuencia y espaciotemporal, lo que se expresa como

$$\nabla \cdot \vec{D} = 0 \quad [8]$$

$$\nabla \cdot \vec{H} = 0 \quad [9]$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad [10]$$

$$\nabla \times \vec{H} = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad [11]$$

De los rotacionales de  $\vec{E}$  y  $\vec{H}$  es claro que los campos electromagnéticos son dependientes entre ellos, por lo tanto, encontrar una solución analítica en general es prácticamente imposible para geometrías irregulares.

Considerando que la longitud de onda ( $\lambda$ ) es mucho mayor que las dimensiones de la partícula en interacción, el problema se puede resolver de forma estática, es decir, considerando el campo eléctrico y magnético constante en cualquier punto del dieléctrico para cada tiempo  $t$  en que se evalúe la función, y la partícula con una geometría esférica de diámetro  $d$ , como se esquematiza en la Fig. 1. De modo que la dependencia temporal no se desprecia y el comportamiento ondulatorio del campo eléctrico se expresa como  $\vec{E} = E e^{i\omega t} \hat{k}_\perp$ , donde  $E$  es la magnitud del campo eléctrico y  $\hat{k}_\perp$  es un vector unitario con dirección perpendicular al vector de propagación  $\hat{k}$ . Aplicando el operador de la derivada temporal de la ecuación 3 y normalizando los ejes espaciales con el parámetro de tamaño  $d$ , se tiene que

$$\nabla \times \vec{E} = -i\omega d \mu_0 \vec{B} \quad [11]$$

$$\nabla \times \vec{B} = i\omega d \varepsilon_0 \vec{E} \quad [12]$$

Como  $\omega$  es inversamente proporcional a  $\lambda$  y de la consideración que  $\lambda \gg d$  el término  $\omega d \rightarrow 0$ , por lo tanto, los rotacionales de los campos electromagnéticos tienden a cero, por lo que es posible considerar que los campos están desacoplados y resolver el problema de manera independiente y numérica. De modo que cuando la longitud de onda es mucho mayor que las dimensiones de la partícula, se dice que las soluciones están en el régimen cuasi-estático y los campos electromagnéticos pierden su dependencia espacial y mantienen su dependencia temporal [37].

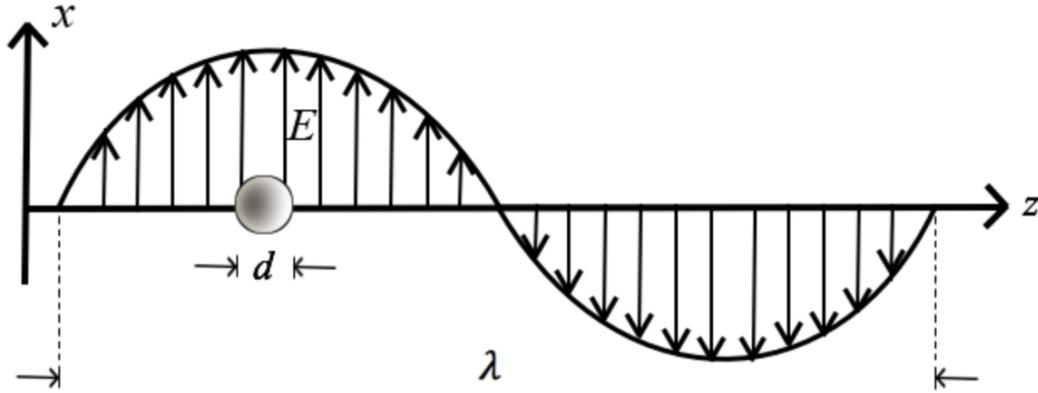


Fig. 1. Esquema de interacción de una partícula esférica y un campo eléctrico en aproximación cuasi-estática.

En el régimen cuasi-estático, las soluciones a los campos electromagnéticos permiten el cálculo de las eficiencias de Mie, denotadas por  $Q_i$ , en términos de las dimensiones de partículas esféricas de radio  $a$  y de sección transversal geométrica  $\sigma_i$  de la forma

$$Q_i = \frac{\sigma_i}{\pi a^2} \quad [13]$$

donde el subíndice  $i$  se refiere a la clase de fenómeno a describir, de modo que para la extinción  $i=ext$ , para el esparcimiento  $i=sca$ , y para la absorción  $i=abs$ . Por conservación de energía, la relación entre las eficiencias de Mie se expresa como

$$Q_{ext} = Q_{sca} + Q_{abs} \quad [14]$$

La eficiencia de esparcimiento se obtiene mediante la integración de la potencia esparcida en todas las direcciones posibles, la eficiencia de extinción se puede deducir del teorema de extinción y la eficiencia de absorción se deriva de la integración volumétrica del campo electromagnético interno en la esfera, donde la función dieléctrica  $\varepsilon(\omega)$  del material necesariamente es un número complejo, lo que permite cuantificar la radiación absorbida por la partícula esférica [38].

Al considerar las aproximaciones en relación con el tamaño de las partículas, es válido considerar sólo los términos dipolares de las soluciones generales [39], donde las expresiones analíticas se pueden expresar como

$$Q_{sca} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad [15]$$

$$Q_{ext} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \Re(a_n + b_n) \quad [16]$$

$$Q_{abs} = Q_{ext} - Q_{sca} \quad [17]$$

donde  $x = ka$  es el parámetro de tamaño y  $k = 2\pi/\lambda$  es la magnitud del vector de propagación de la luz incidente. Los parámetros  $a_n$  y  $b_n$  son los coeficientes de Mie y pueden calcularse mediante expresiones ampliamente estudiadas y utilizando algoritmos computacionales de dominio público [40]. Estas ecuaciones y el código utilizado para calcular los parámetros ópticos se muestran en el Apéndice A al final de este documento.

En particular, esta aproximación es válida para las esferas de  $\text{SiO}_2$  con dimensiones menores a la longitud de onda de la luz incidente, donde los dipolos eléctricos en la estructura molecular del dieléctrico a diferentes instantes de tiempo interactúan con un campo eléctrico constante sobre todo su volumen. Considerando uniforme la distribución de esferas idénticas en el medio, con una concentración de nanoesferas en términos de la fracción volumétrica definida por  $\varphi = f_V/V$  donde  $f_V$  es el volumen de las esferas suspendidas en un volumen  $V$ , el coeficiente de esparcimiento  $\mu_s$  y el coeficiente de esparcimiento reducido  $\mu'_s$  se definen como

$$\mu_s = \varphi \sigma_{sca} \quad [18]$$

$$\mu'_s = \mu_s (1 - g) \quad [19]$$

$$\mu_a = \varphi \sigma_{abs} \quad [20]$$

donde  $g$  es el factor de anisotropía y se define como  $g = \langle \cos \theta \rangle$ . Además, el coeficiente de absorción  $\mu_a$  se calcula sustituyendo  $\sigma_{abs}$  de la ecuación 13 y despejando en 17, el coeficiente de absorción de la ecuación 20 queda entonces como la expresión

$$\mu_a = \varphi(\sigma_{sca} - \sigma_{ext}) \quad [21]$$

Si los coeficientes de Mie son considerados números reales en las eficiencias de esparcimiento y extinción, el coeficiente de absorción es cero, ya que teóricamente dependen de la parte imaginaria del índice de refracción, denotada por  $\text{Im}[n_s]$ , para iluminación monocromática o en el caso de iluminación no monocromática, la absorción depende de la constante dieléctrica  $\text{Im}[\varepsilon(\omega)]$  del material de las esferas. En partículas de  $\text{SiO}_2$ , es conocido que la absorción de radiación infrarroja es tan pequeña que se puede considerar nula, comparada con la contribución del esparcimiento en la extinción de luz. Dadas estas suposiciones, la aproximación cuasiestática, considerando sólo la parte real de los coeficientes de Mie, no es un método numérico válido para calcular directamente la absorción de luz IR por un dieléctrico en general.

## 2.2 Aproximación por difusión a la ecuación de transporte radiativo

Los procesos de interacción entre radiación electromagnética y la materia se describen formalmente a través de la ecuación de transferencia radiativa en términos de la intensidad de la radiación [41], relacionada directamente con cantidades medibles como el flujo de energía, y es afectada por los procesos de absorción, emisión y dispersión [42]. La ecuación de transporte radiativo describe la propagación de la luz a través de medios con alto esparcimiento. Las consideraciones que validan este modelo son que la dispersión es isotrópica en geometrías con fronteras infinitas y semi-infinitas [43]. Para un medio ópticamente grueso, la aproximación de difusión es un modelo bien aceptado para obtener los parámetros ópticos ajustando numéricamente las medidas de los perfiles de intensidad de transmitancia o reflectancia de luz a las ecuaciones apropiadas [44]. Para obtener la aproximación de difusión, es necesario suponer que las dimensiones laterales del material iluminado son mucho mayores que el espesor de la muestra; también debemos suponer que los eventos de esparcimiento son mucho más fuertes que los eventos de absorción ( $\mu_s \gg \mu_a$ )

y, por lo tanto, la irradiancia se vuelve casi isotrópica a medida que aumenta la profundidad de penetración [45].

Los parámetros ópticos calculados con estas aproximaciones abarcan algunos procesos cuánticos, responsables del esparcimiento y absorción de radiación, sin embargo, son procesos relevantes cuyas interrelaciones aún permanecen por determinar. La validez de la aproximación de difusión podría ser cuestionable en algunos materiales. Experimentalmente se ha probado que el tejido biológico es altamente anisotrópico, con valores del factor de anisotropía de  $g > 0.9$ , por lo tanto, para determinar que tan aplicable es el modelo y las relaciones entre los parámetros ópticos es necesario estudiar el problema con una amplia perspectiva y hacer consideraciones más adecuadas al sistema analizado [47].

El perfil de intensidad dependiente del tiempo de un pulso de luz transmitido  $I(t, d)$  detectado después de atravesar una rebanada de medio turbio con un espesor  $d$  fue reportado por primera vez por Patterson *et al.* [46] y se expresa como

$$I(t, d) = A \frac{(4\pi Dc)^{-3/2}}{(t - t_0)^{5/2}} \exp[-\mu_a c(t - t_0)] \times \left\{ (d - z_0) \exp\left[-\frac{(d - z_0)^2}{4Dc(t - t_0)}\right] - (d + z_0) \exp\left[-\frac{(d + z_0)^2}{4Dc(t - t_0)}\right] + (3d - z_0) \exp\left[-\frac{(3d - z_0)^2}{4Dc(t - t_0)}\right] - (3d + z_0) \exp\left[-\frac{(3d + z_0)^2}{4Dc(t - t_0)}\right] \right\} \quad [22]$$

donde  $A$  es un factor de intensidad arbitrario,  $D$  es el coeficiente de difusión dado por  $D = 1/3 (\mu_a + \mu'_s)$ ,  $c$  es la velocidad de la luz dentro del medio,  $z_0$  es el recíproco del coeficiente de esparcimiento reducido, llamado camino libre medio de transporte, y  $t_0$  indica el tiempo de llegada inicial del pulso incidente en el medio.

Para determinar el valor de la difusión se han aplicado una gran variedad de métodos numéricos [48], donde el principal objetivo es ajustar las mediciones de intensidad transmitida al modelo adecuado dadas las características de la muestra estudiada, en particular para esta investigación, se hace uso de un método de optimización numérica para encontrar los coeficientes de esparcimiento reducido y de absorción fijando amplios

intervalos, evaluando y comparando las distribuciones hasta encontrar la solución que satisfaga una tolerancia requerida.

### 3. Metodología

El propósito de diseñar los maniqués ópticos con nanopartículas embebidas en matrices sólidas o líquidas es lograr un medio opaco cuya elaboración sea reproducible en cualquier laboratorio químico con precursores estándares, donde las propiedades ópticas sean controladas por algún proceso fisicoquímico controlado en la síntesis de las nanopartículas, en nuestro caso particular, se escogen las esferas de  $\text{SiO}_2$  por la ventaja de controlar el diámetro de las esferas mediante la relación agua/etanol y la velocidad de goteo del tetraetil ortosilicato (TEOS) administrado en la síntesis, así como por su bajo costo y su larga vida útil manteniendo su morfología inicial. Además de ser un sistema físico equivalente al estudiado en la teoría de Mie, con soluciones analíticas ampliamente estudiadas y de fácil cómputo en la obtención de parámetros ópticos.

#### 3.1 Elaboración y caracterización de esferas de sílice

La síntesis de una solución coloidal monodispersa de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  se realizó siguiendo el método de Stöber modificado reportado en el trabajo de Sato-Berrú *et al.* (2013) [20]. El tamaño de las nanopartículas esféricas es controlado mediante la proporción entre etanol y agua utilizada en la reacción. Estos autores reportan un rango del tamaño promedio de 100 nm a 650 nm, variando la proporción agua-etanol en la síntesis, iniciando el barrido de tamaños con esferas de 100 nm de diámetro a 8% de agua, alcanzado un diámetro máximo de 650 nm de diámetro a 13% de agua y de 300 nm a 40% de agua en la solución acuosa.

En específico, se requieren NPs esféricas que, al iluminar la solución coloidal con un láser IR de 800 nm, la aproximación de las soluciones de Mie sea válida y comparable con las simulaciones, es decir, una solución coloidal de NPs monodispersa, con diámetros del orden o menores a la longitud de onda de la luz láser incidente. En este trabajo se escogió trabajar con las partículas de 300 nm de diámetro y manipular el esparcimiento de luz por la concentración de esferas en el medio.

La reacción es simple y fácilmente escalable, manteniendo constante la proporción volumétrica de reactivos en el proceso de síntesis. A lo largo de nuestra síntesis, los reactivos

que se mantuvieron constantes fueron 2.8% de tetraetilortosilicato (TEOS), como precursor de la sílice; 5.5% de una disolución de hidróxido de amonio al 30% ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) como catalizador; y 91.7% de una mezcla de agua / etanol, con proporciones de 40% y 60%, respectivamente como solventes. La mezcla de agua y etanol se preparó en un vaso de precipitados con agitación magnética, se agregó la fracción de hidróxido de amonio y se dejó mezclar durante 10 minutos. Manteniendo la agitación en la disolución, se adicionó lentamente el volumen de TEOs por goteo con un flujo de 1 gota/s, dejando reaccionar en agitación durante 12 h. El vaso de precipitados es sellado con Parafilm® para evitar la evaporación del amonio y los solventes.

Se propone un método para incrementar el diámetro de las esferas sintetizadas con 40% de agua en solución alcohólica, que corresponde a esferas con diámetro de 300 nm y utilizarlas como semillas para recubrir su superficie agregando TEOs por goteo lento (1 gota/s) sobre la solución coloidal en agitación moderada. Las NPs se centrifugan, se mide la masa del sobrenadante para calcular el volumen de las NPs húmedas por la diferencia del volumen inicial y el volumen desechado. Después, se vuelven a suspender en un volumen conocido de etanol al 96% de pureza, colocadas en un baño ultrasónico para homogenizar la solución y evitar la precipitación de las NPs. El ciclo de síntesis se repite usando el mismo volumen de etanol con las NPs previamente centrifugadas, agregando la misma cantidad de hidróxido de amonio, agua y TEOs (1X) utilizadas en el ciclo anterior. Se repite el mismo proceso agregando las nuevas NPs sintetizadas, pero agregando 5 veces el volumen de TEOs (5X), repitiendo el proceso de síntesis hasta 3 ciclos, almacenando una muestra de cada ciclo para cuantificar el incremento del diámetro promedio en las esferas mostradas en las Fig. 2.

### **3.2 Resultados de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

Los resultados obtenidos para el diámetro promedio y la desviación estándar (STD) se enlistan en la Tabla 1 calculada mediante un conteo de aproximadamente 200 partículas en cada micrografía SEM de la Fig. 2. Donde los histogramas de la distribución de tamaño de partículas en las muestras analizadas por SEM se muestran en la Fig. 3.

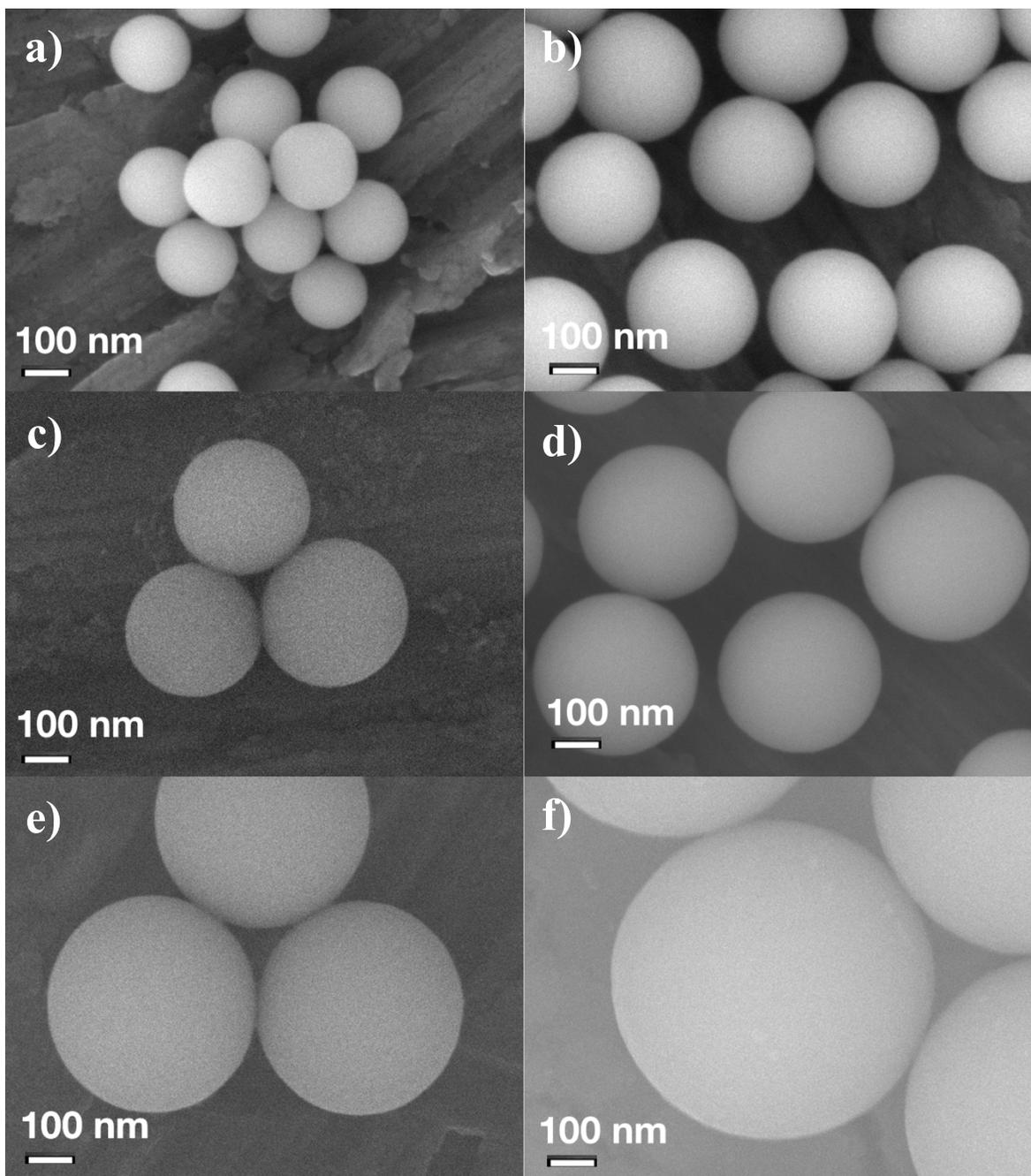


Fig. 2. Micrografías SEM de las NPs de SiO<sub>2</sub> sintetizadas. En a) se muestran las NPs iniciales (semillas), en b) después de 1 ciclo con la misma cantidad de TEOS (1X), en c) las semillas con 1 ciclo con 5 veces el volumen de TEOS (5X), en d) las semillas con 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en e) las semillas después de 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en f) para 3 ciclos con 5X de TEOS en la síntesis.

De la Tabla 1 se puede apreciar que el método de crecimiento de las nanoesferas de sílice funciona adecuadamente y nos permite llevar el tamaño de la esfera a un tamaño controlado a partir de los ciclos de síntesis, esto, aunado al control propio del tamaño a partir de la relación entre el agua y el etanol en la solución, da un mayor control sobre el tamaño final del esparcidor con el que se desee trabajar. Analizando el volumen relativo se observa que el TEOS añadido se aglomera preferentemente sobre las esferas previamente sintetizadas.

Tabla 1. Incrementos promedio del diámetro y volumen de las NPs esféricas de SiO<sub>2</sub>. El volumen relativo es la división entre el volumen de la esfera para el nuevo diámetro entre el volumen de la esfera original.

	<b>Muestra</b>	<b>Diámetro promedio</b>	<b>STD</b>	<b>Volumen relativo</b>
<b>a)</b>	<b>Inicial</b>	253 nm	± 26 nm	1
<b>b)</b>	<b>1X TEOS</b>	289 nm	± 21 nm	1.49
<b>c)</b>	<b>5X TEOS</b>	350 nm	± 18 nm	2.64
<b>d)</b>	<b>10X TEOS</b>	360 nm	± 23 nm	3.38
<b>e)</b>	<b>2 ciclos con 5X TEOS</b>	476 nm	± 28 nm	6.65
<b>f)</b>	<b>3 ciclos con 5X TEOS</b>	531 nm	± 28 nm	9.24

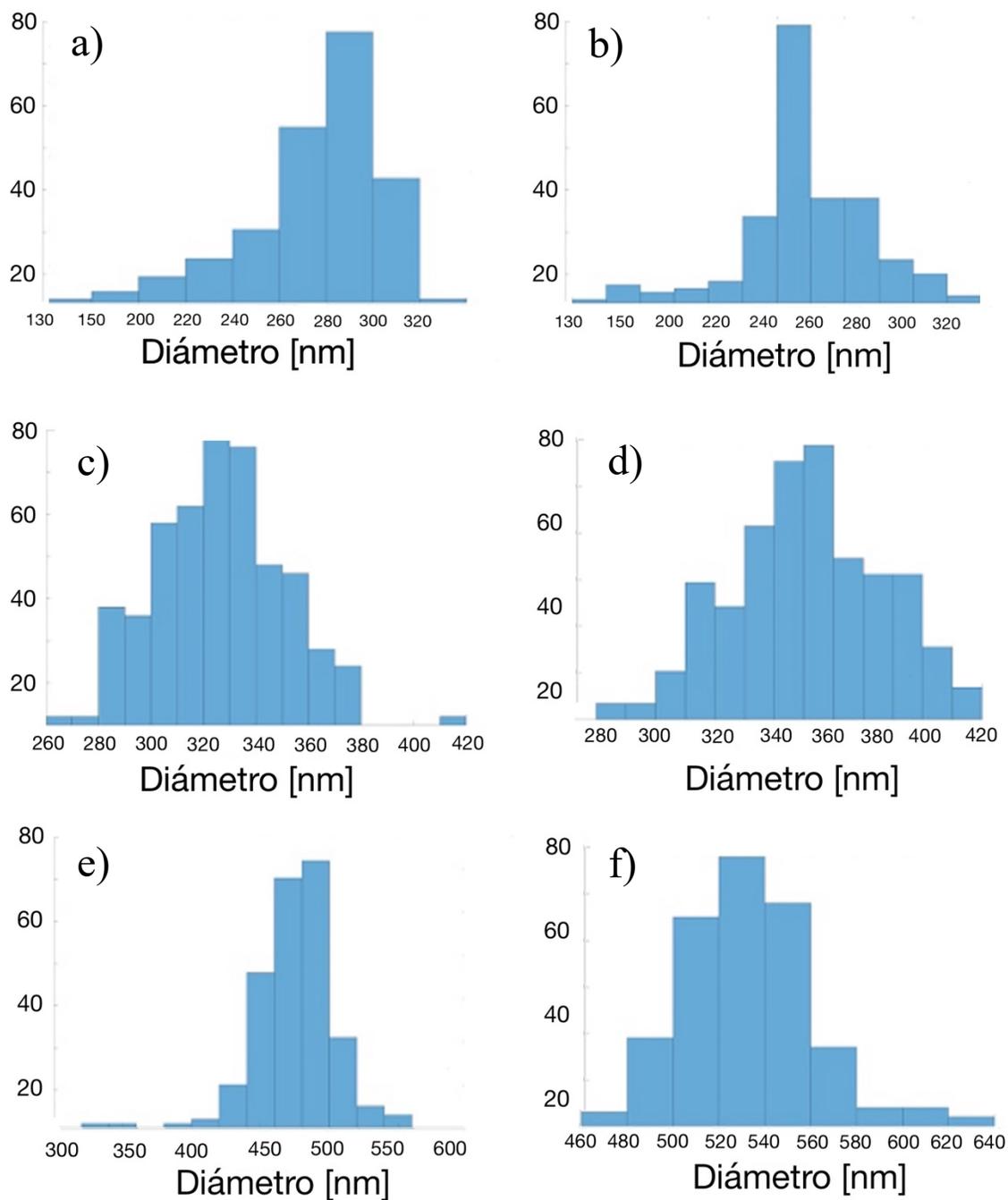


Fig. 3. Histogramas del conteo de nanopartículas esféricas de SiO<sub>2</sub> en las muestras analizadas por microscopía SEM. En a) se muestran las semillas, en b) después de 1 ciclo con la misma cantidad de TEOS (1X), en c) las semillas con 1 ciclo con 5 veces el volumen de TEOS (5X), en d) las semillas con 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en e) las semillas después de 2 ciclos con 5X de TEOS en cada ciclo y en f) para 3 ciclos con 5X de TEOS en la síntesis.

### **3.3 Incorporación de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> en resina y caracterización del medio con Microscopia Electrónica de Barrido.**

Para los maniqués elaborados en este estudio se utilizan las nanopartículas de SiO<sub>2</sub> con diámetro promedio de 300 nm. Se centrifugan a 500 rpm en viales de 10 ml, una vez precipitadas las NPs se retira el sobrenadante y se vuelven a suspender las NPs en etanol a una concentración de 2% y 4% de volumen de NPs de SiO<sub>2</sub> en resina. Las NPs de SiO<sub>2</sub> son incorporadas de forma homogénea en una matriz sólida y transparente de resina de poliéster de marca comercial Cristafix®. Se mezcla manualmente con la disolución alcohólica de NPs de SiO<sub>2</sub> hasta alcanzar homogeneidad, separando eventualmente los conglomerados en baño ultrasónico a 40°C, dejando secar durante 48 horas en una campana de extracción.

En los maniqués líquidos se utilizan cajas rectangulares de acrílico transparente con dimensiones de 15 cm de alto y 20 cm de ancho y grosor de 3.5 cm para contener la disolución coloidal de NP de SiO<sub>2</sub>. Cada caja se llena con una suspensión de NP de SiO<sub>2</sub> a una concentración de 1% de volumen de NPs de SiO<sub>2</sub> en solución coloidal mayormente conformada por agua. Para una mayor claridad en el procedimiento en la fabricación de los maniqués ópticos se muestra en Fig. 4 un diagrama de flujo de los pasos seguidos en este trabajo.

Para verificar la incrustación de las NPs de SiO<sub>2</sub> en la matriz de resina y la homogeneidad en el tamaño de las nanoesferas, se realiza un análisis mediante microscopía SEM de las rebanadas de resina del maniqué sólido, así como de una muestra de la solución coloidal al 1% de SiO<sub>2</sub>. En la Fig. 5 se muestran los resultados para una muestra seca de la solución coloidal en a) la cual presenta uniformidad de tamaño en las esferas, con una desviación estándar de 18 nm en el conteo del diámetro de las partículas. En la micrografía b) se muestra un corte de resina sólida pura, en la c) y d) se muestra la incorporación de las NPs de SiO<sub>2</sub> en la resina.



Fig. 4. Procedimiento para la elaboración de los maniqués ópticos con NPs de  $\text{SiO}_2$ .

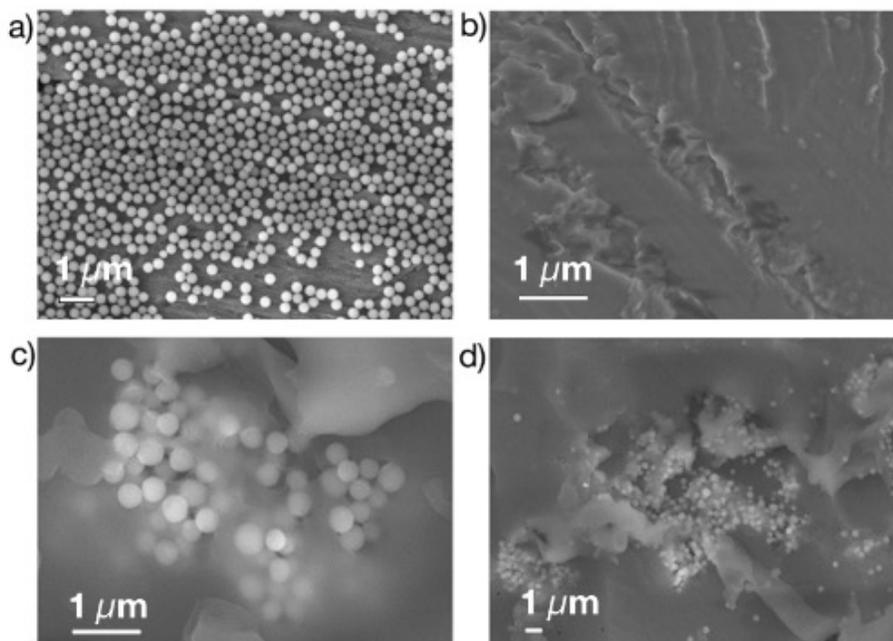


Fig. 5. Micrografías de SEM con escala de 1 micrómetro para: a) la muestra en seco de la solución a 1% de NP de  $\text{SiO}_2$  a una magnificación de  $10,000\times$ ; en b) la micrografía de un corte de resina pura a una magnificación de  $20,000\times$ ; en c) y d) las NPs de  $\text{SiO}_2$  embebidas en la matriz de resina, con diferentes magnificaciones de  $20,000\times$  y  $5,000\times$ , respectivamente.

### 3.4. Caracterización de maniqués ópticos con cámara streak

La caracterización de los maniqués ópticos se realizó por transmisión de pulsos de luz IR a través de cada maniqué, midiendo los perfiles temporales con un detector ultrarrápido de radiación (cámara streak). Los perfiles temporales de intensidad se obtienen con dicha cámara streak (Hamamatsu Streakscope C10627), el análisis de estas distribuciones temporales de intensidad de luz brinda la posibilidad de aplicar el modelo de la aproximación de difusión de transporte radiativo de Boltzmann para determinar los coeficientes de absorción  $\mu_a$  y de esparcimiento reducido  $\mu'_s$  en el medio difuso, ajustando las distribuciones del perfil temporal de luz transmitida y el modelo analítico, utilizando un algoritmo de temple simulado para encontrar la máxima correlación de Pearson entre distribuciones temporales discretas con algunos parámetros físicos conocidos.

El arreglo experimental se muestra en la Fig. 6, consta de un láser de pulsos ultrarrápidos (Coherent MIRA 900 con duración de 200 fs), centrado a una longitud de onda de 810 nm con una frecuencia de 83 MHz con potencia de 200 mW de salida, el haz de pulsos es dirigido con un espejo y dividido por un divisor de haz, en donde la parte reflejada del haz funciona como señal de disparo de la cámara streak, mientras que la parte transmitida incide sobre el centro de los maniqués. El grosor de cada maniqué es de 3.5 cm, tomando mediciones por triplicado y promediando los datos sobre el eje espacial en cada caso.

Las mediciones temporales de la cámara Streak se cargan en Matlab<sup>®</sup> para determinar las propiedades ópticas de los maniqués ópticos con la cámara Streak marca Hamamatsu Streakscope C10627 mostrada en imagen a) de la Fig. 7. Estas distribuciones nos brindan la posibilidad de estimar numéricamente a  $\mu_a$  y  $\mu'_s$  ajustando las distribuciones temporales de intensidad de un solo pulso a la aproximación de difusión de la ecuación de transporte radiativo (en la ecuación 22), mediante un algoritmo de optimización de temple simulado, con parámetros fijos conocidos. En el modelo de aproximación de difusión sólo es necesario conocer el grosor de la muestra, el índice de refracción del medio y el tiempo inicial de arribo del pulso a la muestra.

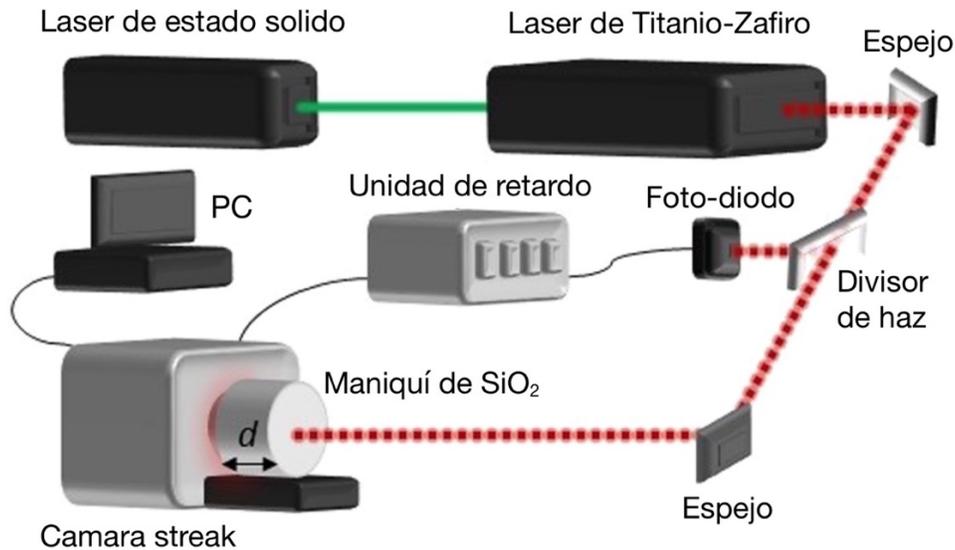


Fig. 6. Esquema del arreglo experimental para medir el perfil temporal de luz transmitida con una cámara streak a un maniquí de grosor  $d=3.5$  cm.

El temple simulado es un método numérico de optimización heurística, está inspirado en la metalurgia, donde la temperatura de un material determina su comportamiento en termodinámica. Las decisiones que realiza el algoritmo dependen enteramente del valor de una variable que capta la noción de temperatura. Por lo general, comienza con una temperatura alta, lo que hace que el algoritmo sea bastante impredecible, y se enfría gradualmente para volverse más estable. La implementación de este algoritmo es muy simple, pertenece a una clase de algoritmos denominados escalada probabilística, si el movimiento seleccionado mejora la calidad de la solución, entonces el movimiento siempre se acepta [49].

Para la optimización de parámetros variables en modelos analíticos respecto a una condición de equilibrio, se prueban números aleatorios cercanos al valor inicial definido, según el modelo analítico a optimizar es necesario modificar el algoritmo para evitar ciclado en máximos o mínimos locales y tener la capacidad de evaluar los parámetros buscados en un amplio intervalo de interés [50].

La condición de equilibrio utilizada en este trabajo es el coeficiente de correlación de Pearson ( $R$ ) para dos distribuciones aleatorias  $A$  y  $B$ , definido como

$$R = \frac{\text{cov}(A,B)}{\sigma_A \sigma_B} \quad [23]$$

donde  $\text{cov}(A,B)$  es la covarianza entre la distribución  $A$  y  $B$  con una desviación estándar (STD)  $\sigma_A$  y  $\sigma_B$  respectivamente. El valor de este indicador  $R$  varía entre -1 y 1 donde para una correlación perfecta entre ambas distribuciones el valor de  $R = 1$  indica una dependencia total entre ambas distribuciones donde si una aumenta la otra también lo hace en proporción constante, para una correlación negativa perfecta el valor de  $R = -1$  indica una dependencia total con una relación inversa donde si una aumenta la otra disminuye proporcionalmente, para valores de  $R = 0$  no existe relación lineal entre ambas distribuciones, sin embargo no implica que sean variables independientes entre ellas. Los perfiles de intensidad utilizados en este trabajo no son lineales, pero la tendencia de  $R$  entre dos distribuciones similares converge a 1, resultando un buen parámetro de equilibrio para optimizar los parámetros ópticos buscados. El código realizado para este algoritmo se muestra en el Apéndice B.2.

Los resultados obtenidos se enlistan en la tabla 2 y se grafican los ajustes a los perfiles de dichos maniqués como se muestra en Fig. 7 de la imagen b) para los maniqués de resina y en c) para la solución coloidal de  $\text{SiO}_2$ , con un coeficiente de correlación  $R^2$  mayor a 0.99 en todos los casos. Los valores calculados concuerdan estrechamente con los reportados para algunos tejidos mamarios y cerebrales en el espectro NIR [25].

Tabla 2. Valores calculados por el ajuste para la aproximación de difusión a perfiles temporales de intensidad de luz transmitida detectada por una cámara streak.

Maniqué óptico	$\mu'_s$ [ $\text{cm}^{-1}$ ]	$\mu_a$ [ $\text{cm}^{-1}$ ]	$R^2$
2% $\text{SiO}_2$ resina	$4.81 \pm 5.36$	$0.0137 \pm 0.3864$	0.9920
4% $\text{SiO}_2$ resina	$6.78 \pm 0.11$	$0.0054 \pm 0.0034$	0.9965
1% $\text{SiO}_2$ líquido	$11.24 \pm 1.19$	$0.0735 \pm 0.1101$	0.9988

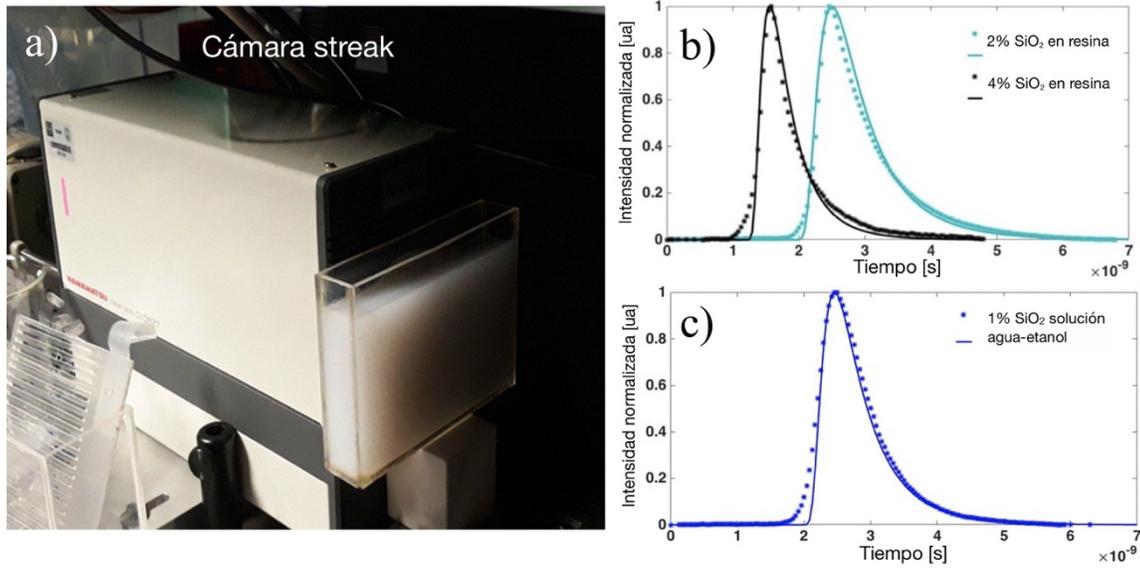


Fig. 7. En a) se muestra la cámara Streak con un maniqué líquido de nanoesferas de SiO<sub>2</sub>, en b) y c) se muestran las mediciones de intensidad de luz transmitida (línea en asteriscos \*) y los ajustes por temple simulado a la aproximación de difusión (línea continua) para los maniqués de resina y solución agua-etanol, respectivamente.

#### 4. Método para determinar la parte compleja del índice de refracción en nanoesferas de SiO<sub>2</sub>

El método numérico para encontrar el valor de la parte imaginaria del índice de refracción,  $\text{Im}[n_s]$ , se encuentra al fijar el valor de  $\mu'_s$  obtenido con la aproximación de difusión y mediante simulaciones en un amplio rango de valores para  $\text{Im}[n_s]$ , donde el valor de  $\mu_a$  que le corresponda al coeficiente  $\mu'_s$  previamente fijado será el que se considera para el cálculo de  $\text{Im}[n_s]$ . En particular, para los maniqués elaborados se pueden considerar a las nanoesferas de SiO<sub>2</sub> como partículas que no absorben luz infrarroja; por lo tanto, se espera que el valor numérico de  $\text{Im}[n_s]$  sea cercano a cero. Graficando  $\mu_a$  en función de  $\text{Im}[n_s]$  en ejes coordenados con escala logarítmica, como se muestra en la Fig. 8, la relación entre ambos parámetros es lineal, donde al aumentar la densidad de esferas de SiO<sub>2</sub> en el medio, se conserva la pendiente de la recta y la línea se traslada sobre el eje de las ordenadas, haciendo convenientemente sencillo encontrar el parámetro buscado.

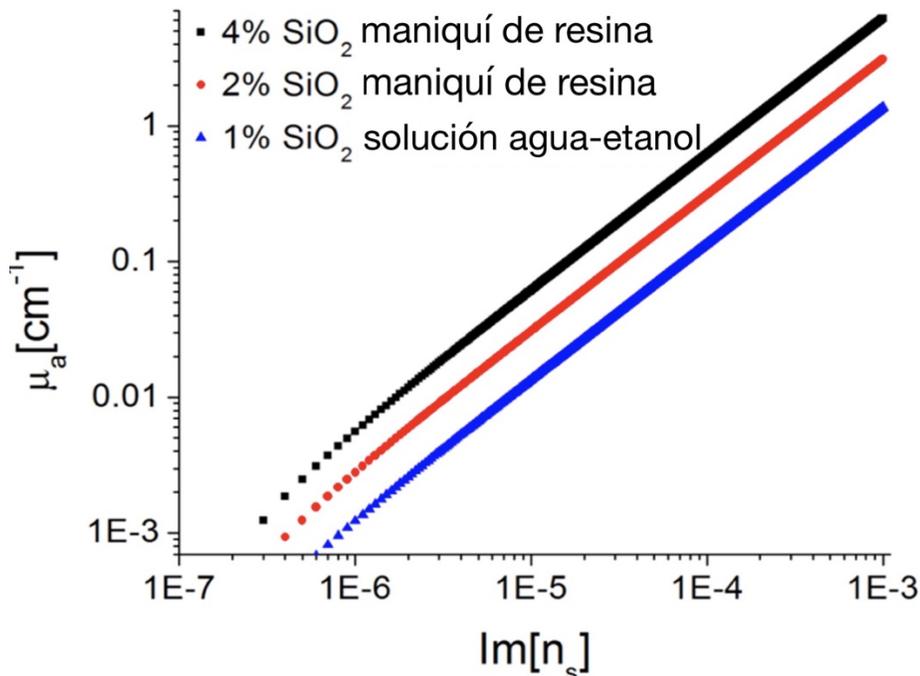


Fig. 8. Curvas con  $\mu_a$  respecto a  $\text{Im}[n_s]$  graficadas con ejes logarítmicos y calculadas con simulaciones de las soluciones de Mie para los maniqués estudiados.

## 5. Conclusiones y comparación de ambos métodos

Los valores numéricos calculados con la aproximación de difusión a la ecuación de transporte radiativo son comparados con los resultados de las simulaciones de la teoría de Mie, considerando el sistema con parámetros ópticos iguales, cabe mencionar, que ambas teorías provienen de consideraciones físicas diferentes. En la teoría de Mie, al resolver las ecuaciones de Maxwell se requiere la constante dieléctrica o la parte compleja del índice de refracción de las nanoesferas para obtener un cálculo válido en la absorción de luz por esta vía.

La comparación de los valores de  $\mu'_s$  para cada maniquí obtenido con las soluciones de Mie y con la aproximación de difusión se muestra en la Tabla 3, donde los valores promedio de  $\mu'_s$  y la diferencia porcentual relativa denotada por  $\Delta\mu'_s$ . Es evidente que para el cálculo de  $\mu'_s$  por ambas metodologías se obtienen valores comparables, para concentraciones bajas menores al 4% de volumen de esferas de SiO<sub>2</sub>, es posible reducir aún más la diferencia aumentando la concentración de partículas en el maniquí, además, a bajas concentraciones de nanoesferas es recomendable medir con mayor precisión la densidad de las nanoesferas en el maniquí, corriendo el riesgo de que la aproximación de difusión pierda validez al no presentar suficientes partículas en el medio iluminado. Si se conoce  $\mu'_s$  en un maniquí de nanoesferas de SiO<sub>2</sub>, también es útil calcular la densidad de las nanoesferas buscando los valores de  $\rho$  que coincidan con los valores ajustados previamente.

Los valores numéricos, obtenidos para  $\mu'_s$  por las soluciones de Mie considerando sólo las resinas con 2% y 4% de fracción de volumen de SiO<sub>2</sub>, fueron 3.37 cm<sup>-1</sup> y 6.74 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. En comparación con el ajuste de la aproximación que se muestran en la Tabla 2, existen diferencias de 30% y 0.1%, respectivamente; en el caso del maniquí líquido, existe una diferencia del 13%, lo que deja claro que a mayor concentración de nanoesferas en el medio se obtiene una mayor correspondencia en los coeficientes de esparcimiento reducido por ambas teorías. Estos valores se encuentran dentro de los valores esperados para algunos tejidos biológicos en la región NIR, como los tejidos de mama, corazón y pulmón humanos [7, 25].

Tabla 3. Coeficientes de esparcimiento reducido obtenidos por simulaciones de teoría de Mie y la diferencia porcentual respecto a los encontrados por ajuste a la aproximación de difusión.

<b>Maniquí óptico</b>	$\mu'_s$ [ $\text{cm}^{-1}$ ]	$\Delta\mu'_s$ [%]
<b>2% SiO<sub>2</sub> resina</b>	4.81 ± 5.36	30%
<b>4% SiO<sub>2</sub> resina</b>	6.78 ± 0.11	0.1%
<b>1% SiO<sub>2</sub> líquido</b>	11.24 ± 1.19	13%

En general, los maniqués nanoestructurados con esferas de SiO<sub>2</sub> son una alternativa viable para establecer un estándar en la elaboración de maniqués con propiedades ópticas fácilmente modulables a partir de las proporciones de etanol-agua utilizadas en la síntesis de las nanoesferas de SiO<sub>2</sub>. Con la ventaja de que en este sistema se pueden estudiar las propiedades ópticas del maniqué aplicando de forma analítica la teoría de Mie y la aproximación de difusión de la teoría de transporte de Boltzmann, donde ambas teorías convergen y pueden ser tomadas como modelos para la caracterización óptica de los maniqués ópticos y/o para obtener información sobre las dimensiones requeridas en las NPs de SiO<sub>2</sub> suspendidas en el medio líquido o sólido y la concentración de partículas en el medio para igualar los parámetros ópticos de algún tejido de interés.

Debido a la complicada interrelación entre los coeficientes ópticos y los parámetros físicos del maniqué de las nanoesferas de SiO<sub>2</sub>, es necesario tener más datos sobre la absorción y los coeficientes de esparcimiento reducidos a diferentes concentraciones y en diferentes tamaños de las nanoesferas para descubrir las posibles relaciones entre ellos; de esta manera, se podría encontrar un valor más preciso para el uso de las soluciones de Mie.

Es interesante, que los valores encontrados por este método están cerca de los valores reportados para el índice de refracción complejo del vidrio de sílice, y que los valores medidos de los coeficientes de absorción están en el rango de valores típicos de tejido a 808 nm y puede aumentarse con la adición de materiales absorbentes a los maniqués, como tintas sintéticas.

## 6. Trabajo a futuro

Con la finalidad de generar mas evidencia para validar la comparación entre ambos modelos utilizados, es necesario elaborar un mayor número de maniqués de SiO<sub>2</sub> con concentraciones mayores de nanoesferas en el medio y con mayores grosores en los maniqués, asegurando que las consideraciones de la aproximación de difusión se cumplan.

Incluir tintas o partículas esféricas absorbedores de luz IR en el maniquí para modular los coeficientes de absorción mediante la variación de la concentración de dichos elementos en el maniquí y mejorar los valores obtenidos en los ajustes numéricos de los perfiles temporales de intensidad de luz transmitida a la aproximación de difusión.

Buscar alternativas en la síntesis de NPs esféricas de otros materiales puros o con recubrimientos de diferentes materiales con la finalidad de modular los parámetros ópticos controlando algún proceso en la síntesis de las partículas iluminadas dentro el maniquí óptico. Además de probar algunos otros modelos numéricos, como algoritmos de Montecarlo, reflectancia difusa, etc. y compararlos con la teoría de Mie o la aproximación de difusión.

## **Parte II**

**“Efecto fototérmico a profundidad inducido mediante haces láser  
estereotácticos en medios altamente dispersivos”**

*Mediante la síntesis de los maniqués de resina, descrita en la primera parte de esta tesis, fue posible encontrar el índice de refracción complejo de las nanoesferas de dióxido de silicio, encontrando valores cercanos a los reportados en la literatura para materiales similares con otros métodos, y mostrando la posibilidad de desarrollar maniqués ópticos con propiedades estables y sintonizables, de bajo costo y de síntesis relativamente sencilla, logrando mediante una nueva técnica satisfacer el primer objetivo de este trabajo.*

*Debido a las necesidades del segundo objetivo de este trabajo, consistente en la medición del incremento de temperatura en maniqués similares al tejido con iluminación estereotáctica, y debido a que la resina no presenta propiedades térmicas similares a las del tejido biológico, se utilizan a continuación maniqués de leche diluida en agua con grenetina, mismos que han sido ampliamente utilizados en la literatura como ópticamente equivalentes a ciertos tejidos biológicos.*

## **7. Iluminación con haces convergentes**

En esta segunda parte nuestro principal interés es demostrar los efectos fototérmicos de las NPs huecas de Au-Ag localizadas a profundidad en maniqués ópticos con coeficientes de esparcimiento y absorción similares a los del tejido biológico, sin considerar la interferencia o polarización de la fuente de iluminación aplicada con técnicas estereostáticas, para producir calentamiento a profundidad por la absorción de la luz esparcida en el material iluminado, evitando el aumento de la temperatura en la superficie de incidencia.

El efecto fototérmico es producido por NPs huecas de Au-Ag en maniqués ópticos iluminados con haces de luz IR convergentes. Entre todos los nanomateriales, el oro ha atraído una gran atención debido a su naturaleza relativamente no tóxica, así como a su fuerte afinidad con agentes de dirección y/o quimioterapéuticos [2, 5]. La síntesis de nanopartículas metálicas huecas de oro y plata (Au-Ag) ofrece la capacidad de manipular tanto la longitud de onda resonante controlando el tamaño y las dimensiones de las capas metálicas en el cascarón [6]. Con la excitación de la luz en el cercano infrarrojo (NIR) se alcanza una penetración más profunda en el tejido, siendo posible visualizar y tratar tumores a mayor profundidad [4]. Así, a través de su diseño es posible desarrollar nanopartículas multifuncionales que potencialmente pueden incrementar la eficiencia en el diagnóstico y terapia tumoral. Sin embargo, el uso de NPs metálicas como agentes terapéuticos es relativamente nuevo y aún no se ha investigado con detalle la estabilidad de la estructura cristalina y la posible toxicidad al ser iluminadas con luz IR dentro del cuerpo humano [6].

### **7.1. Objetivo**

El objetivo principal de la segunda parte de este trabajo de tesis consiste en el uso de iluminación con haces láser IR convergentes al interior de un maniqué de gelatina y leche, con potencial aplicación en terapias PPTT, para generar un calentamiento localizado por el efecto fototérmico de las NPs huecas metálicas al absorber la luz IR que incide desde diferentes posiciones sobre la superficie del maniqué y que convergen en una determinada región de interés (ROI), con lo que se pretende demostrar la posibilidad de producir un calentamiento en el interior de un medio opaco sin elevar substancialmente la temperatura del tejido superficial. De ser probadas en un sistema biológico, como un tumor cancerígeno,

el efecto esperado es causar un aumento de temperatura lo suficientemente grande para provocar daños irreversibles en el tejido maligno con NPs metálicas sujetas al tejido enfermo.

## 7.2. Introducción y antecedentes de terapias fototérmicas

Las terapias y el diagnóstico con imágenes biomédicas, utilizando luz IR son típicamente técnicas no invasivas [17], principalmente limitadas por la profundidad de penetración, a pesar de estar dentro de la ventana biológica, donde se presenta una mayor profundidad de penetración de la luz en el tejido biológico [7, 16, 18], por lo tanto, el estudio de la óptica difusa en maniqués es útil para el desarrollo de técnicas de ablación laser, terapias fototérmicas (abreviado con PPTT, por su siglas en inglés: *Plasmonic Photo-Thermal Therapy*) y en terapias fotodinámicas, debido a que no presentan una fluorescencia considerable y bajo condiciones de iluminación de luz IR generan calor de forma muy eficiente, especialmente bajo condiciones de resonancia del plasmón de superficie, efecto aprovechado para provocar daños por calentamiento al tejido maligno bajo la piel, dentro de un tejido biológico, calentando a profundidad, o activando fotosensibilizadores que generan radicales libres del oxígeno capaces de destruir tejido maligno en tumores (terapia fotodinámica). Además, tienen la posibilidad de un mayor alcance en zonas de poco acceso para cirugías convencionales [21, 22, 23].

Una desventaja podría ser la estabilidad fototérmica en las NPs metálicas que pueden ser destruidas por las bajas temperaturas de fusión a nanoescala, afectando la estructura y morfología de las partículas y en consecuencia sus propiedades ópticas bajo iluminación, perdiendo su efecto fototérmico [6, 14]. Otra desventaja en las técnicas de calentamiento con NPs metálicas es el problema para discernir entre el tumor y el tejido sano circundante, por lo general producen calentamiento generalizado afectando a ambos tejidos por la disipación de calor en el tejido [23].

Los efectos curativos de la hipertermia en el tratamiento del cáncer se observaron por primera vez en el siglo XIX, con la administración de bacterias vivas a pacientes con cáncer provocando una regresión parcial del tumor. Este efecto sólo se observó cuando la bacteria lograba una infección en el paciente, dando lugar a la fiebre. De forma casi simultánea

pioneros en el tratamiento de cáncer cervical lograron mejorías aplicando agua caliente en circulación [24].

Los tratamientos de hipertermia consisten en calentar la temperatura del tumor en el rango de temperatura de 41 a 48 °C [25]. Generalmente son aplicados en combinación con otros tratamientos contra el cáncer como la radioterapia o quimioterapia, aumentando su eficacia aplicándolas después de una fase de hipertermia. Los tumores se destruyen selectivamente en este rango de temperatura debido a su reducida tolerancia al calor en comparación con el tejido normal, debido al escaso suministro de sangre. El calor suele causar daño celular irreversible en las membranas celulares en donde se comienzan a desnaturalizar algunas proteínas, produciendo agregados que pueden tener consecuencias destructivas en la dinámica celular y en las tasas de supervivencia celular. La inducción de temperaturas celulares superiores a 41 °C no sólo provoca la desnaturalización de las proteínas, sino también la inactivación celular temporal que podría durar varias horas. La respuesta de las células expuestas a temperaturas altas depende tanto de la duración de la exposición como de la magnitud de la temperatura. Temperaturas ligeramente más bajas de 40 °C provocan la inactivación celular en un proceso que dura varias horas. Más allá de ese tiempo, las células supervivientes parecen resistentes a una mayor exposición a tales temperaturas debido a una resistencia temporal al calor, llamada termo-tolerancia [24, 26].

## **8. Marco teórico**

La luz se considera radiación electromagnética y es descrita por las ecuaciones de Maxwell, mediante un conjunto de expresiones matemáticas con dependencia espaciotemporal que determinan campos eléctricos y magnéticos producidos por fuentes de carga o corriente. Se llaman ecuaciones de Maxwell en honor a James Clerk Maxwell quien en el año de 1864 unificó la teoría de los campos eléctrico y magnético introduciendo el concepto de corriente de desplazamiento en la ley de Ampère, pieza fundamental para la descripción de la propagación de ondas electromagnéticas en el vacío.

La dualidad onda-partícula de la luz es un concepto mecánico-cuántico comprobado experimentalmente que permite estudiar las interacciones entre la radiación y la materia a escalas atómicas. Al considerar la radiación de forma ondulatoria, permite describir fenómenos como la interferencia, polarización y pulsaciones por medio de la superposición de oscilaciones; además, es válido describirla como corpúsculos o partículas en movimiento que al interactuar con la materia presentan colisiones elásticas perfectas, donde las partículas conservan su momento y energía cinética cambiando sólo su dirección de propagación, sin pérdida de energía, con lo cual se puede describir el esparcimiento de la luz en un medio; también es posible considerar colisiones inelásticas donde la radiación en el choque experimenta una pérdida de energía cinética y se transfiere a la materia en algún otro tipo de energía, lo que permite modelar la absorción de la luz al propagarse por un material [28].

### **8.1. Resonancia del plasmón de superficie**

Las propiedades ópticas de las NPs metálicas se deben a las interacciones de los campos electromagnéticos de la luz, que provocan la oscilación colectiva coherente en los electrones libres del metal. Este fenómeno se intensifica a longitudes de onda específicas y son llamadas resonancia del plasmón de superficie (SPR) y pueden ser moduladas por la absorción de luz a diferentes longitudes de onda mediante la manipulación de parámetros como el tamaño, forma y estructura de las NP metálicas que absorben la mayor parte de la radiación IR [16]. En particular, para NPs huecas de Au-Ag con dimensiones promedio de 100 nm de diámetro, la frecuencia de resonancia se localiza en la región de la primera ventana biológica entre los 700 a 800 nm de longitud de onda [14].

La absorción y el esparcimiento de luz por NPs metálicas pueden conducir a los portadores de carga a un desequilibrio, provocando campos electromagnéticos intensos y generación de calor, con aplicaciones prometedoras en una amplia gama de campos, desde sensores químicos y físicos, hasta la nanomedicina. Sin embargo, es difícil evaluar la contribución relativa de las contribuciones térmicas y no térmicas en los procesos impulsados por los plasmones. Las mediciones de temperatura a nanoescala son un desafío tecnológico, y los experimentos a macroescala se caracterizan por efectos de calentamiento colectivo, por lo que, por lo general, el aumento de temperatura real es impredecible [29]. Los procesos fototérmicos asistidos por plasmones generados por las cargas libres de las NPs metálicas dan inicio al campo emergente de la termoplasmónica, en el que la absorción de luz y la disipación de calor son mecanismos en competencia que gobiernan la distribución real de la temperatura en las nanoestructuras metálicas [26].

Para evitar confusiones es necesario hacer algunas aclaraciones sobre los procesos físicos que se presentan en la interacción de la luz con NPs metálicas. Cuando un fotón es absorbido por una nanopartícula, se crea un par electrón-agujero muy energético, con una energía igual a la energía del fotón  $h\nu$ . Esta energía se comparte entre estos dos portadores en una proporción que depende de dónde se origina el electrón excitado dentro de la banda de conducción. Estos portadores primarios de calor se suelen denominar portadores cuasi balísticos [29, 30, 31]. En unas pocas decenas de femtosegundos, los portadores calientes primarios se termalizan con los otros electrones del metal a través de eventos de dispersión inelástica electrón-electrón. Estos portadores de calor posteriores tienen una energía muy reducida en comparación con los portadores de calor primarios, menos de unas pocas décimas de eV. Sin embargo, también han sido llamados "calientes", y con energías tan bajas que corresponden a temperaturas electrónicas del orden de unos pocos miles de K. Estos electrones "cálidos" deben distinguirse de los electrones portadores de calor primarios cuasi-balísticos debido a su menor energía y su vida útil más larga, del orden de los picosegundos, dependiente de los múltiples procesos de dispersión de electrones y fonones [32, 33].

## **8.2. Disposición estereotáctica de haces convergentes**

El enfoque estereotáctico consiste en la convergencia de haces múltiples de luz en una zona de interés, esta técnica fue desarrollada fuertemente para su uso en radiocirugía desde mediados del siglo XX, en este trabajo se propone llevar esta configuración, ya conocida y muy empleada a nivel clínico, al ámbito de la terapia fototérmica, y proponer al mismo tiempo su posible uso en terapia fotodinámica.

Se propone de esta manera una potencial estrategia no invasiva y fácil de implementar utilizando el enfoque estereotáctico en PPTT con monitoreo en profundidad en tiempo real del aumento de temperatura relativa de la superficie mediante una cámara infrarroja montada sobre la superficie superior de un maniquí óptico iluminado, donde los haces láser inciden al ras de la superficie, como se muestra en el esquema del arreglo experimental utilizado en esta técnica en la Fig. 9, esto permite un mapeo bidimensional de la temperatura de la superficie del maniquí, para demostrar la eficacia de la PPTT estereotáctica a medida que aumenta la temperatura relativa de la superficie. Sin embargo, si es necesario conocer con precisión la temperatura debajo de la superficie, ésta debe aproximarse utilizando la ecuación de transferencia de calor, siendo un problema aún estudiado en el área de termometría, y que está fuera de los objetivos de este trabajo.

El calentamiento generado por las NPs confinadas en una zona muy reducida, es de gran interés en técnicas de PPTT, en la ablación laser en la piel o en terapias fototérmicas para tejidos malignos en zonas superficiales, ya que el calentamiento se concentra en la zona de incidencia del haz láser, a unos cuantos milímetros de profundidad.

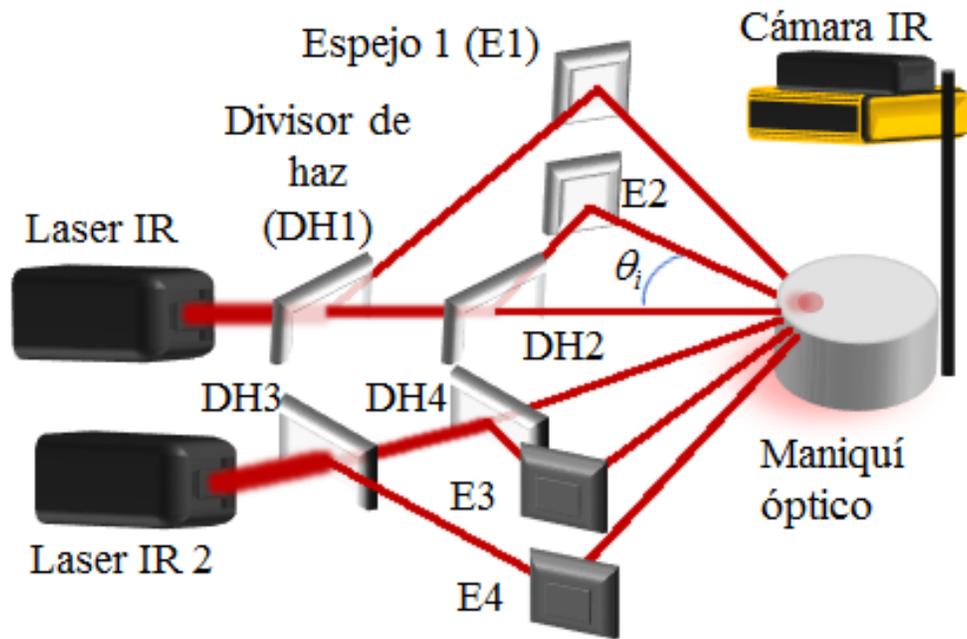


Fig. 9. Esquema de la configuración espacial de los divisores de haz y espejos en los ensayos de iluminación. El ángulo mostrado es de aproximadamente  $12^\circ$  entre cada haz.

## 9. Metodología

### 9.1. Síntesis y caracterización de NPs huecas de Ag-Au

Para lograr un incremento de temperatura en el maniquí por el efecto fototérmico de los cascarones de Au-Ag se buscan las proporciones entre ambos metales que maximicen la absorción de luz IR. Para fijar las dimensiones del cascarón interior de Ag y controlar el aumento del grosor de la capa de Au en la NPs metálicas, se agregan diferentes cantidades de ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) en la síntesis, utilizando como semillas NPs de Ag como núcleo hueco en el recubrimiento de la capa superior de Au, provocando un desplazamiento del máximo en el espectro de absorción, lo que típicamente se le denomina a esa frecuencia la resonancia del plasmón y la radiación absorbida es disipada en forma de calor al medio que las rodea.

La síntesis se realiza siguiendo la metodología propuesta por Carillo-Torres et al. [14] donde las semillas de Ag se sintetizan por una reacción redox de ácido ascórbico como agente reductor, nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) como agente oxidante y citrato de sodio como estabilizador, con pH ajustado a 10.5 para obtener el tamaño promedio de partícula menor a 100 nm, el diámetro de partícula más pequeño reportado en dicha metodología. Se preparan 4 tubos de 10 ml de la solución coloidal de NPs de Ag y se agregan 40, 80, 90 y 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$  a cada tubo por separado, a una concentración de 25 mM obteniendo las muestras de la imagen en la Fig. 10.



Fig. 10. Soluciones coloidales de NPs huecas de Ag-Au, donde cada muestra contiene un volumen diferente de  $\text{HAuCl}_4$  en la partícula: 40, 60, 80 y 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$  respectivamente de izquierda a derecha.

La caracterización óptica de las muestras se realizó por espectroscopia de luz Visible-IR en un equipo Ocean Optics USB2000+XR1-ES, donde los espectros de absorbancia obtenidos se muestran en la Fig. 11 para cada una de las muestras sintetizadas. La muestra de mayor interés se presenta en la síntesis con  $90 \mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$ , ya que presenta un máximo de absorción en los  $800 \text{ nm}$ , la cual, al estar dentro de los valores de la ventana biológica, resulta ideal para los propósitos de este trabajo. Se vuelven a sintetizar por triplicado los cascarones de Ag-Au con  $90 \mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$  para verificar la reproducibilidad de la síntesis y satisfacer el volumen requerido para la investigación, posteriormente se juntan todas las muestras en un solo vial y se verifica que el máximo en el espectro de absorción se mantenga en los  $800 \text{ nm}$ , con incremento en la intensidad de luz absorbida por el cambio en la concentración de NPs en la solución coloidal, como se muestra en la Fig. 12.

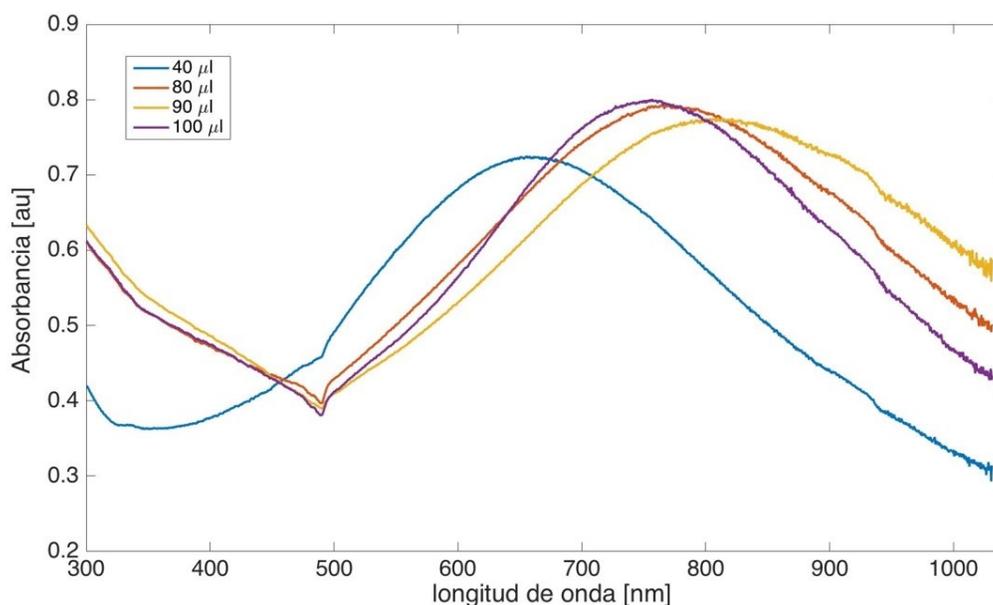


Fig. 11. Espectros de absorción para las suspensiones coloidales de NPs huecas de Ag-Au sintetizadas con diferentes volúmenes del precursor de oro en las partículas.

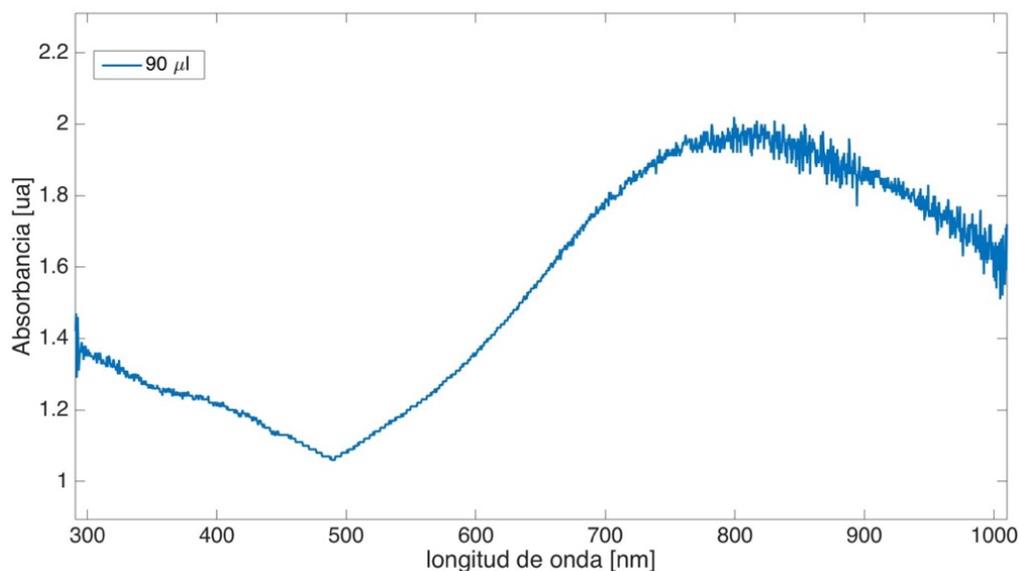


Fig. 12. Espectro de absorción de la suspensión coloidal concentrada de NPs huecas de Ag-Au sintetizadas con 90  $\mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$ .

Cada muestra es caracterizada por microscopía SEM con un equipo JEOL JSM-7800 F, donde se deposita 1  $\mu\text{l}$  de cada solución diluida en rejillas de carbón dopado con cobre dejando secar la humedad completamente. En la Fig. 13, se muestra las micrografías obtenidas para cada muestra a una magnificación 100,000  $\times$ . En todos los casos, es posible apreciar el cambio de contraste en el núcleo de las NPs, principal indicador de que se formaron cascarones de Au-Ag con dimensiones menores a los 100 nm, y morfología aproximadamente esférica, con recubrimiento puntiagudo y algunas varillas delgadas.

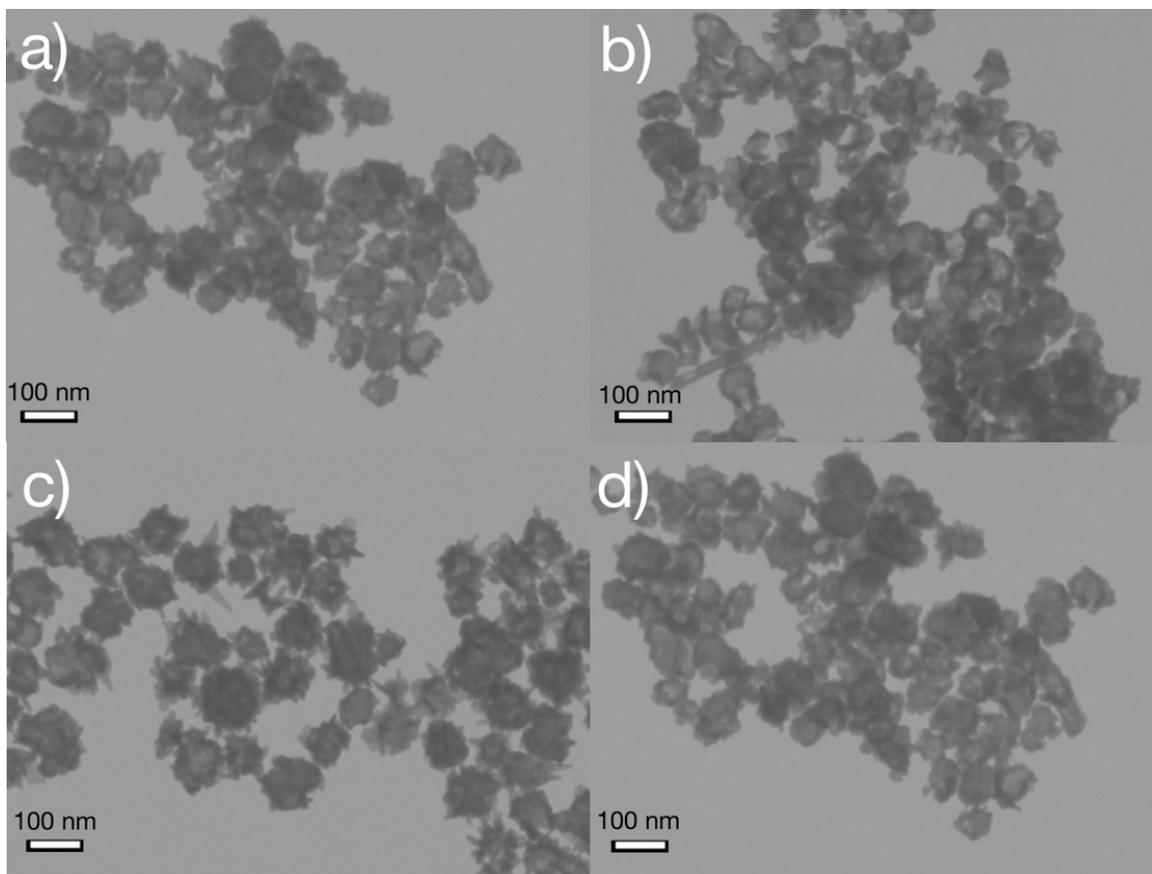


Fig. 13. Micrografías SEM de muestras en seco de las NPs huecas de Au-Ag con diferente proporción molar en el precursor de Au agregado en la síntesis de NP metálicas. La micrografía a) corresponde a la muestra con  $40 \mu\text{l}$ , en b) para la muestra con  $80 \mu\text{l}$ , en c) para la muestra con  $90 \mu\text{l}$  y en d) para la muestra con  $100 \mu\text{l}$  de  $\text{HAuCl}_4$ .

## 9.2. Síntesis y caracterización de maniqués ópticos de grenetina y leche

Para la elaboración de los maniqués ópticos de grenetina y leche, se utiliza un molde cilíndrico de 8.0 cm de diámetro y 5 cm de alto. La mezcla se realiza con una disolución de 75 g de grenetina comercial sin color marca Knox, ED Smith® Food Ltd (EE. UU.), hidratada con 100 ml de agua destilada y calentada hasta disolver el polvo. En cada maniquí se ajusta la proporción volumétrica porcentual entre grenetina líquida y leche de marca comercial Lala® baja en grasa (México). Con el fin de estudiar la variación de los parámetros ópticos respecto la porción de leche agregada en la mezcla, se prueban las proporciones del 10% al 50% de leche en la mezcla, hasta obtener una mezcla líquida homogénea, dejando enfriar a  $5^\circ\text{C}$  hasta solidificar como se muestra en la Fig. 14.

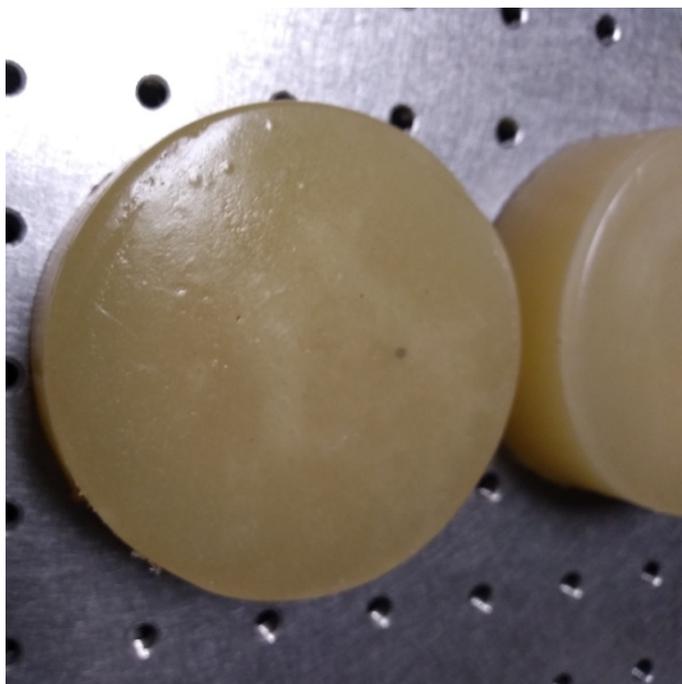


Fig. 14. Maniqués de leche y grenetina al 10% del volumen de leche en la mezcla solidificada. Se aprecia un pequeño punto oscuro sobre la superficie del maniquí que corresponde a la posición del alginato impregnado de las nanopartículas de Au-Ag.

Posteriormente se procede a caracterizar estos maniqués mediante el mismo procedimiento descrito en la primera parte de esta tesis, utilizando la distribución temporal de los perfiles de luz transmitidos por estas muestras, obteniendo los resultados que se muestran en la Fig. 15. Los valores de los parámetros ópticos ajustados a estos perfiles se muestran posteriormente en la Tabla 4, en donde se puede apreciar que dichos valores se encuentran dentro de los comprendidos para diferentes tejidos biológicos para la longitud de onda correspondiente al cercano infrarrojo (810 nm), coincidente con la longitud de onda que se emplea para la configuración estereotáctica y con la frecuencia de resonancia del plasmón superficial.

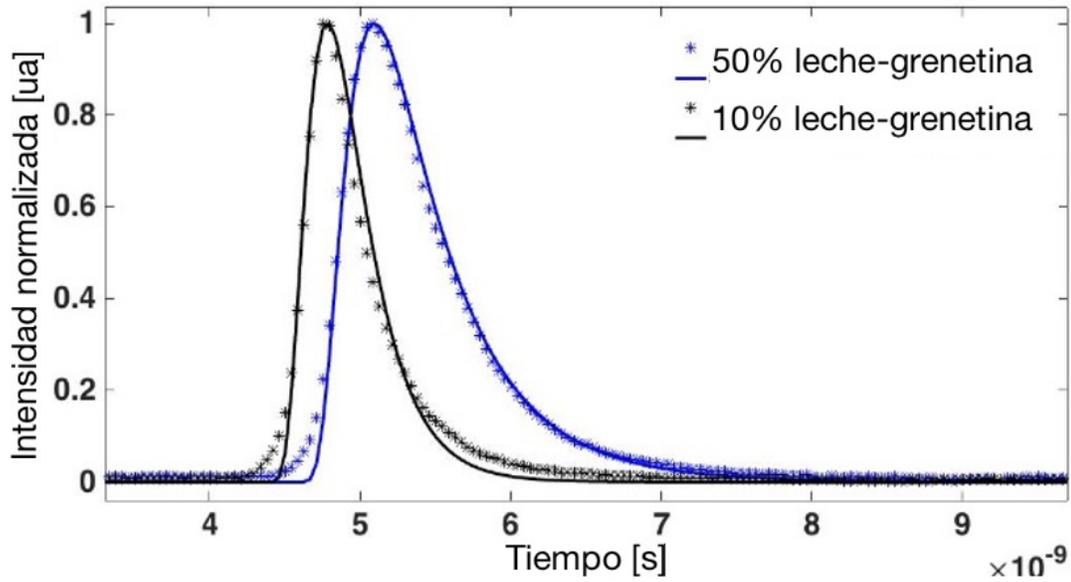


Fig. 15. Mediciones de la intensidad de luz transmitida (línea en asteriscos \*) y los ajustes por temple simulado a la aproximación de difusión (línea continua) para los maniqués de 50% leche-grenetina (línea azul) y al 10% leche-grenetina (línea negra).

Tabla 4. Valores calculados por el ajuste para la aproximación de difusión a perfiles temporales de intensidad de luz transmitida detectada por una cámara streak.

Maniquí óptico	$\mu'_s$ [cm <sup>-1</sup> ]	$\mu_a$ [cm <sup>-1</sup> ]	R <sup>2</sup>
10% leche-grenetina	6.72 ± 1.23	0.12 ± 0.04	0.9975
50% leche-grenetina	7.53 ± 1.09	0.03 ± 0.01	0.9975

### 9.3. Incorporación de NPs huecas de Ag-Au fijas en alginato localizadas a profundidad del maniquí óptico de grenetina y leche

Para probar el efecto fototérmico de las NPs de Au-Ag dentro de un medio difuso mediante haces láser IR convergentes (dispuestos de manera estereotáctica), a los maniqués ópticos se les embeben inclusiones esféricas de gel con nanopartículas plasmónicas incrustadas a profundidad respecto la zona de incidencia de los haces láser, su síntesis se realiza con una disolución de 0.1 g de polvo de alginato de sodio de grado alimenticio en 5 ml de una suspensión de agua con NPs de Au-Ag, dejando reposar durante 12 horas. Después, se prepara una solución con una proporción de 5 gramos de perlas comerciales de

cloruro de calcio por litro de agua. El alginato de sodio con NPs se vierte por goteo lento en la disolución de cloruro de calcio para formar las esferas de gel con NPs de Au-Ag. El tamaño y la distribución de tamaños de las esferas se controla por el tamaño de la gota vertida, el diámetro promedio medido de estas inclusiones es de  $4.0 \pm 0.5$  mm de longitud, como se puede ver en la Fig. 14. Estas esferas de alginato se embeben en la parte superior del maniquí, en una zona bien localizada cerca de la superficie del maniquí, donde se espera que la respuesta óptica de las NPs se conserve, debido a que el índice de refracción para la esfera de alginato de sodio en la región del IR es similar a la solución de agua en donde fueron sintetizadas ya habiendo sido probado su efecto fototérmico [14]. Cada esfera contiene aproximadamente 0.05 ml de solución acuosa de las NPs metálicas sintetizadas, contenidas y fijas dentro de la matriz de gel, posicionadas a diferentes profundidades respecto la zona de incidencia de la luz. También se realizan maniqués con 5 ml de NPs dispersadas en todo el volumen y se comparan las diferencias en los perfiles del cambio de temperatura sobre el eje radial de la temperatura máxima registrada en cada uno de los ensayos.

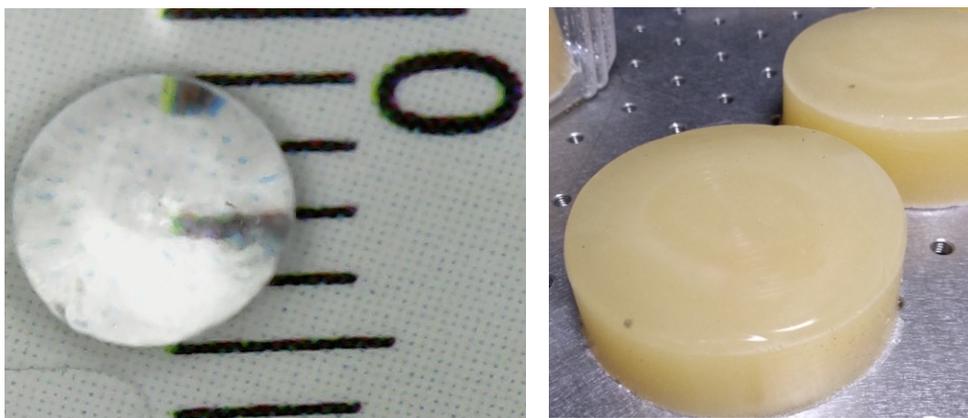


Fig. 16. A la izquierda se muestra una esfera de alginato de sodio con NPs Au-Ag suspendidas. La escala mostrada como la distancia entre líneas es en milímetros. A la derecha: Maniqués ópticos, diseñados, sintetizados y debidamente caracterizados, de grenetina con leche con las inclusiones de alginato colocadas en diferentes posiciones.

#### 9.4. Montaje experimental

La iluminación se realiza con un láser de luz NIR, con una potencia de salida de 1.2W sobre un área de  $10 \text{ mm}^2$  con una longitud de onda centrada en 808 nm (sistema láser de

diodo colimado LRD-0808, Laserglow Technologies, Canadá), el cual se divide en dos ocasiones para formar 3 haces convergentes dentro el medio iluminado, teniendo una disposición estereostática. Para generar 6 haces, se agrega un segundo laser de la misma potencia, el cual también es dividido y alineado para concentrar la luz en una zona localizada en el interior del maniquí. Para monitorear la profundidad de penetración de la luz, se coloca una cámara infrarroja (cámara termográfica Testo 870, Testo SE & Co., Alemania), con una resolución espacial de 160 x 120 píxeles y una sensibilidad térmica por debajo de 100 mK, sobre la vista superior de la superficie del maniquí óptico. Se monitorea la temperatura en tiempo real, sin embargo, para ilustrar los efectos obtenidos y hacer los cálculos de las diferencias de temperatura alcanzadas se registra la temperatura al inicio y al final de un periodo de 20 minutos de iluminación continua, como se muestra en la Fig. 15 del montaje en el laboratorio. La temperatura ambiente se mantiene constante a 25 °C y los maniqués ópticos se mantienen en refrigeración para alargar su vida útil y son termalizados a temperatura ambiente al menos 2 horas previas a las pruebas de iluminación.

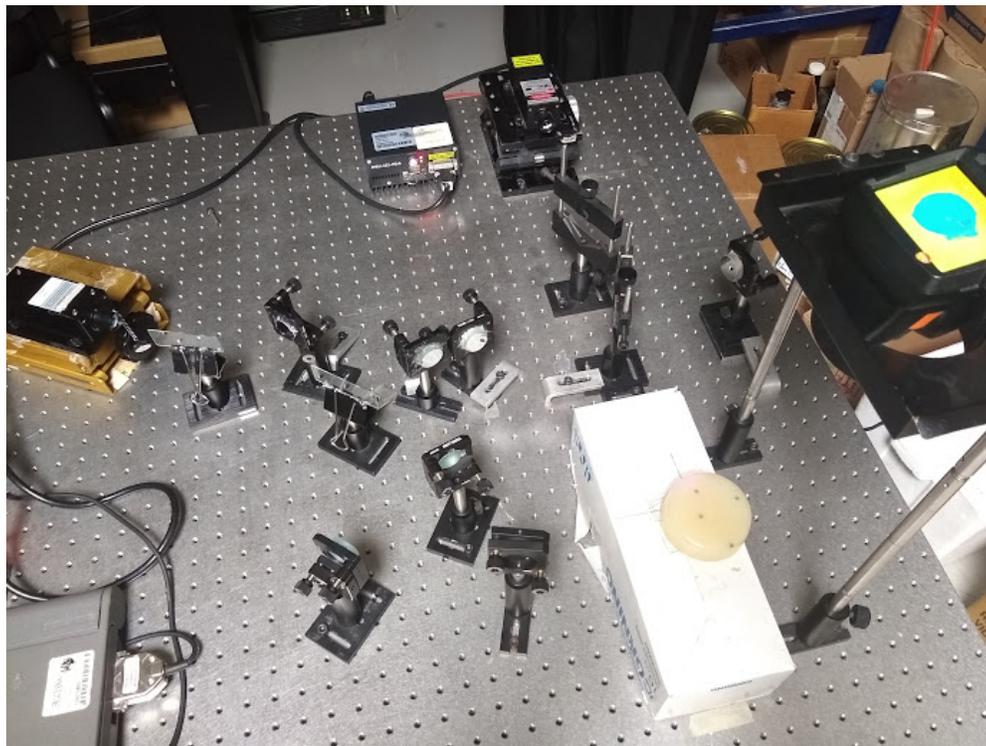


Fig. 15. Arreglo en el laboratorio para los ensayos de iluminación en maniqués ópticos con 6 haces convergentes en NPs de Au-Ag localizadas a profundidad y en la parte superior la cámara térmica monitoreando la temperatura de la superficie del maniquí.

## 10. Discusión de termografías

Las termografías son procesadas para su análisis mediante la matriz de valores del perfil superficial de temperatura en 20 min de iluminación, para calcular la diferencia de temperatura ( $\Delta T$ ) lograda en el periodo de iluminación, se sustrae la temperatura final (a los 20 min de iluminación) y la inicial (antes de encender el láser) en todos los casos. Después un algoritmo identifica el centro y la zona de mayor calentamiento en el maniquí, generando una gráfica del perfil de  $\Delta T$  en función de la profundidad al interior del maniquí sobre un eje radial de la superficie superior del maniquí.

Primero, se iluminan los maniqués de grenetina pura y los de mezclas de leche-grenetina en proporciones 1:1, llamado 50% leche-grenetina. Además, se preparan los mismos maniqués con NPs metálicas no localizadas, suspendidas por todo el volumen, con el fin de comparar la cantidad de luz absorbida por cada componente del maniquí y los perfiles del  $\Delta T$  generado por un haz de luz IR. Las termografías de los maniqués, de grenetina pura y de 50% leche-grenetina iluminados con un haz láser, utilizadas para calcular los perfiles de  $\Delta T$ , también son mostradas en la Fig. 16 para ambos maniqués.

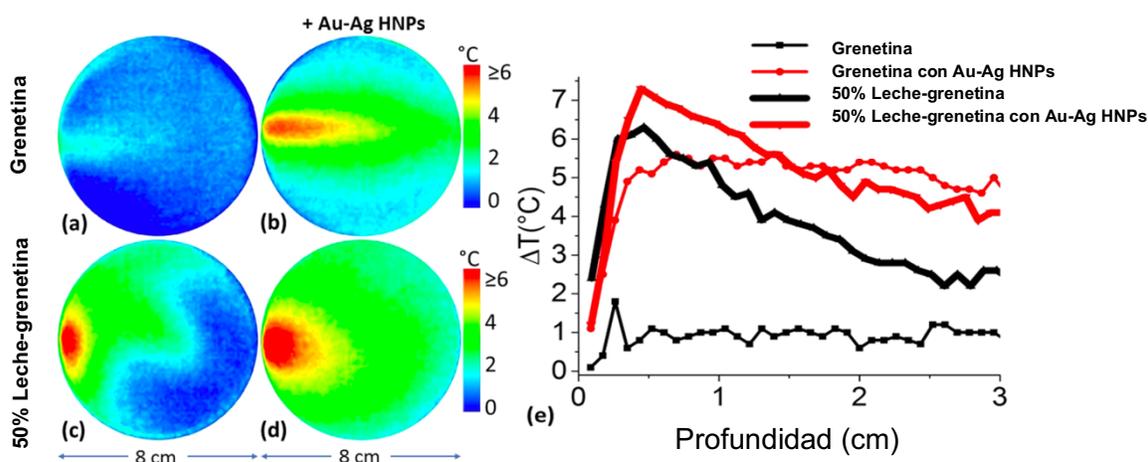


Fig. 16. Las termografías (a) y (c) corresponden a los maniqués sin NPs, en (b) y (d) a los maniqués elaborados con 5 ml de solución acuosa de NPs metálicas. En (e) se muestran los perfiles de  $\Delta T$  en la dirección de propagación del haz láser para los maniqués de grenetina pura y el de 50% leche-grenetina (línea negra) y los que contienen NPs (línea roja).

En la figura 16, para el maniquí de grenetina pura se presenta un calentamiento no mayor a 1 °C sobre todo el eje radial y para el que contienen NPs metálicas en todo su volumen se mide un  $\Delta T$  máximo de 5 °C casi constante sobre todo el eje de propagación de la luz, lo que demuestra que el esparcimiento y la absorción de luz IR es despreciable en la grenetina pura y la disipación de calor a profundidad es homogénea.

En el caso del maniquí opaco de 50% leche-grenetina sin NPs, presenta un calentamiento hasta de 6 °C a una profundidad menor a 0.5 cm y disminuye a 3 °C a una profundidad de 3 cm. A diferencia del maniquí que contiene NPs metálicas, presenta un calentamiento mayor a 7 °C a una profundidad menor a 0.5 cm y disminuye hasta 4 °C a 3 cm. Cabe mencionar que la propagación de la luz en un medio opaco muestra un perfil de calentamiento a profundidad muy similar respecto al que contiene NPs metálicas con diferencias menores a 2 °C.

Comparando el calentamiento generado por la iluminación de un haz laser en los maniqués de 50% leche-grenetina y 10% leche-grenetina mostrado en la figura 17, en la zona superficial presentan una diferencia de 5 °C y a una profundidad de 1 cm la diferencia no es mayor a 1°C. Por esta razón, para mostrar los efectos de la iluminación estereotáctica dirigida a la esfera NPs metálicas localizadas a profundidad, se decide trabajar con maniqués menos opacos.

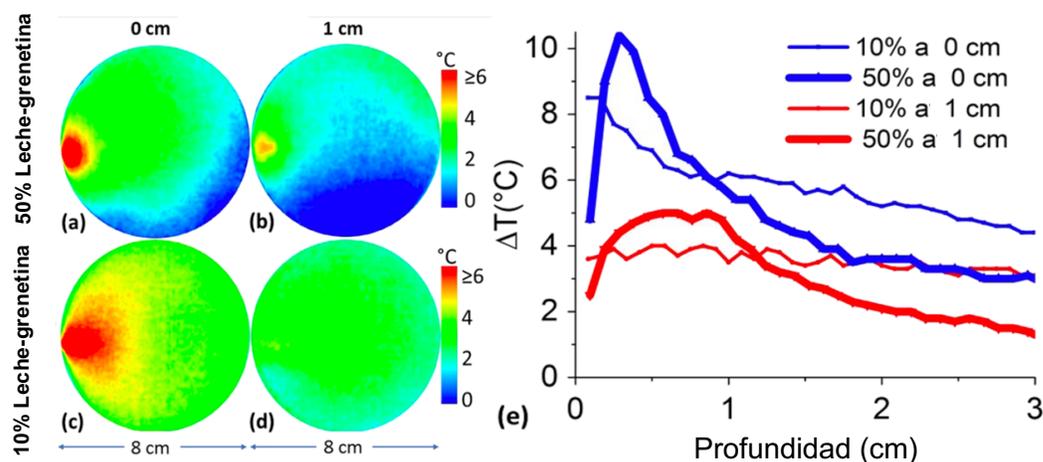


Fig. 17. Las termografías (a) y (c) corresponden a los maniqués con HNPs metálicas localizadas en la superficie, a 0 cm de profundidad; en (b) y (d) a los maniqués con incrustaciones de NPs metálicas a 1 cm de profundidad. En (e) se muestran los perfiles de  $\Delta T$  correspondientes a los mostrados en las termografías para los maniqués al 50% y 10% leche-grenetina.

Con la finalidad de alcanzar una mayor penetración de la luz y evitar el calentamiento por la absorción de luz en la zona superficial del maniquí óptico, las técnicas estereotácticas a continuación solo se prueban maniqués al 10% leche-grenetina, aclarando que aún estos bajos valores de esparcimiento coinciden con algunos reportados para el tejido biológico para longitudes de onda próximas al infrarrojo cercano.

Para una iluminación estereotáctica con un haz laser dividido en 3 haces convergentes al interior del maniquí óptico, los resultados mostrados en la Fig. 18 para la zona superficial a profundidad menor a 1 cm los resultados son similares al caso anterior, con un calentamiento mayor a 10 °C y a profundidad de 1 cm se mide una disminución considerable, donde se reduce el calentamiento en la zona superficial, donde el máximo alcanzado en  $\Delta T$  es de 4 °C a 1.3 cm de profundidad y menos de 2 °C a una profundidad de 2 cm.

El resultado anterior muestra que al menos es posible provocar un calentamiento de 4 °C en la región de 1 a 1.5 cm de profundidad sin calentar la superficie con  $\Delta T$  menores a 2 °C, lo que pudiera evitar dañar el tejido en la región de interés (ROI) en donde inciden los haces y de igual manera el posible daño en la piel por calentamiento superficial. En zonas mayores a 1.5 cm se pierde el efecto de un calentamiento a profundidad, con  $\Delta T$  constantes menores a 2 °C sobre todo el eje radial hasta el centro del maniquí.

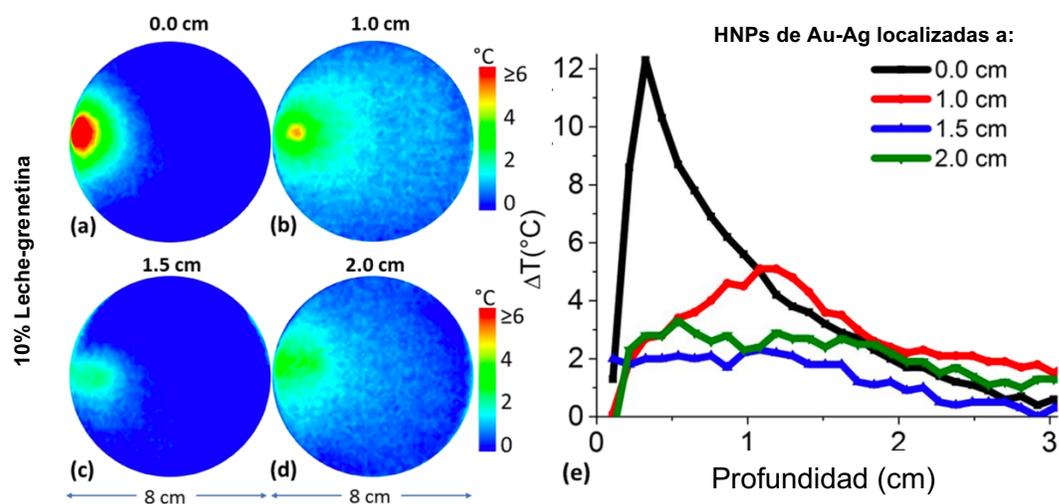


Fig. 18. Termografías y perfiles de  $\Delta T$  obtenidas con iluminación estereotáctica de 3 haces láser convergentes en la ROI localizada en el maniquí de 10% leche-grenetina con incrustaciones esféricas de HNPs de Au-Ag en (a), (b) (c) y (d) correspondiente a 0 cm, 1 cm, 1.5 cm y 2.0 cm de profundidad.

Como ya se mencionó anteriormente en la sección 9.4 que describe el montaje experimental, en los ensayos de iluminación con 6 haces convergentes, se agrega otro láser dividido en 3 haces, con la misma potencia que en el caso anterior. En la Fig. 19 se muestran las termografías y los perfiles de  $\Delta T$  iluminando con 6 haces convergentes a 0 cm, 1 cm, 1.5 cm y 2 cm de profundidad en maniqués de 10% leche-grenetina.

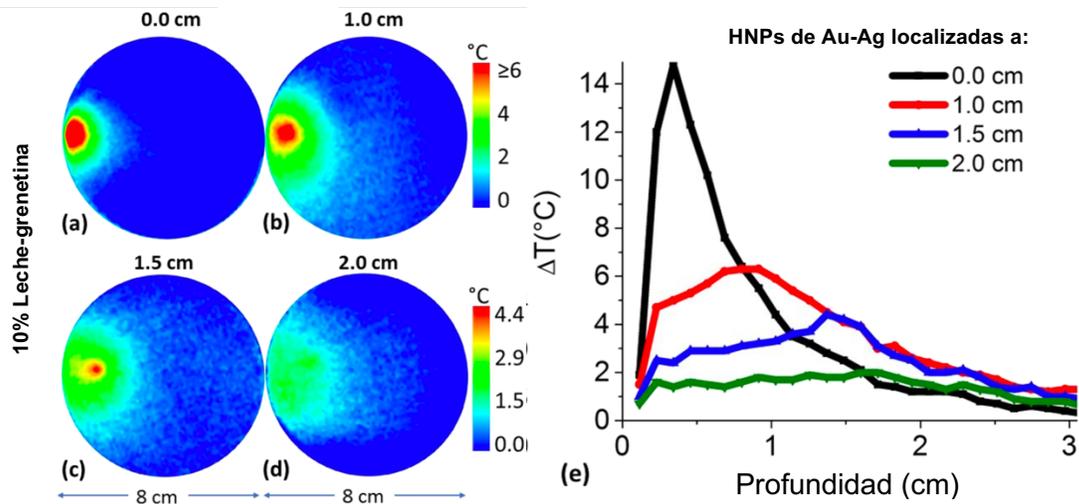


Fig. 19. Termografías y perfiles de  $\Delta T$  obtenidas con iluminación de 6 haces láser convergentes en la ROI localizada en el maniquí de 10% leche-grenetina con incrustaciones esféricas de HNPs de Au-Ag fijas a 0 cm, 1 cm, 1.5 cm y 2 cm de profundidad.

El calentamiento generado con el doble de potencia en la iluminación en la superficie a 0 cm de profundidad, se miden  $\Delta T$  mayores a 14 °C, con diferencia en el máximo calentamiento alcanzado es de 3° C a una profundidad menor a 0.5 cm, además de registrar una distribución similar en el perfil de  $\Delta T$  respecto el caso anterior. También a 1 cm de profundidad se obtiene una distribución similar a el caso anterior en el perfil de  $\Delta T$  con una diferencia menor de 1 °C en la misma zona y alcanza un máximo de  $\Delta T$  de 6 °C a una profundidad de 0.9 cm.

El calentamiento para las HNPs metálicas confinadas a 1.5 cm se registró un máximo de  $\Delta T$  de 4 °C, con una diferencia de 2° C respecto el ensayo anterior, y se observa una disminución en la temperatura superficial a pesar de incrementar la potencia de luz irradiada. La distribución de la potencia en los seis haces incidentes disminuye la irradiancia en la

superficie lateral del maniquí al incrementar el área de incidencia de la luz, lo cual provoca un menor incremento de la temperatura en la superficie.

Estos resultados son de utilidad en la potencial aplicación de técnicas estereotácticas de láseres IR para aumentar la eficiencia de alguna terapia química o inducir apoptosis en tejido maligno de forma no invasiva con una pequeña cantidad de NPs de Au-Ag como fuentes de calentamiento por efecto fototérmico de luz IR, siendo aún eficientes dentro de un medio difuso, comparable a algunos tejidos humanos como el tejido mamario y algunos otros mencionados anteriormente.

## 11. Conclusiones

Los estudios realizados en esta investigación son una primera aproximación a las potenciales aplicaciones de las NPs de Au-Ag en terapias fototérmicas en tejidos biológicos, donde los maniquíes ópticos utilizados poseen propiedades ópticas similares, sin embargo, la transferencia de calor entre NPs y tejido no necesariamente es comparable debido a las diferencias en las propiedades térmicas de los materiales como la gelatina y los tejidos vivos. No obstante, se pone en evidencia que las técnicas estereotácticas de luz IR son efectivas en medios difusos, con alto esparcimiento de luz y poca absorción, a profundidades hasta de 1.5 cm de la superficie de incidencia, reduciendo considerablemente el calentamiento en la superficie y penetrando una cantidad de luz suficiente para localizar un incremento de temperatura en áreas de interés que se encuentren a profundidad.

La propuesta de analizar el calentamiento a profundidad mediante el uso de una cámara térmica también es relevante, puesto que no se han encontrado trabajos en la literatura en los que se reporte el montaje experimental mostrado para la caracterización del calentamiento a profundidad utilizando este equipo.

Finalmente, se demostraron experimentalmente los efectos fototérmicos de las NPs huecas de Au-Ag dentro de medios difusos iluminados con luz IR, en donde el esparcimiento de la luz en un medio difuso favorece la absorción de luz generando un mayor calentamiento. Además, las técnicas de iluminación estereotácticas de luz IR mostraron ser efectivas en la reducción de la temperatura en la superficie de incidencia debido a la distribución de la potencia del haz láser, logrando provocar un calentamiento considerable, superior a 4°C a una profundidad de hasta 1.5 cm, lo que incentiva fuertemente el futuro desarrollo de aplicaciones clínicas para tumores intersticiales.

## 12. Trabajo a futuro

Una cuestión importante que deberá ser analizada es el porqué la iluminación estereotáctica produce un mayor calentamiento que la iluminación con un solo haz. Esto es fácil de explicar cuando se usan seis haces convergentes, un aumento en la potencia está necesariamente relacionado con una mayor absorción energética en la región de interés.

Sin embargo, al utilizar tres haces en configuración estereotáctica, con una potencia idéntica a la de un solo haz, se puede apreciar que el calentamiento también supera a la configuración de un único haz.

Los resultados preliminares muestran que esto se podría deber a una cuestión meramente geométrica, en la que el esparcimiento luminoso juegue a favor de una mayor interacción de la radiación incidente con la superficie del alginato, provocando entonces un mayor calentamiento con una misma potencia distribuida en configuración estereotáctica.

Se propone como trabajo a futuro el diseño de un experimento que, en conjunto con simulaciones numéricas apropiadas, muestre qué fenómeno físico permite el incremento de temperatura bajo condiciones de una misma potencia incidente.

### 13. Referencias

- [1] Rehman, A., Ahmad, I., & Qureshi, S. A. (2020). Biomedical Applications of Integrating Sphere: A Review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 31, 101712.
- [2] Torrisi, L., & Torrisi, A. (2020). Gold nanoparticles for physics and bio-medicine applications. *Radiation Effects and Defects in Solids*, 175(1-2), 68-83.
- [3] Fukutomi, D., Ishii, K., & Awazu, K. (2016). Determination of the scattering coefficient of biological tissue considering the wavelength and absorption dependence of the anisotropy factor. *Optical Review*, 23(2), 291-298.
- [4] Rehman, A., Ahmad, I., Rehman, K., Anwar, S., Firdous, S., & Nawaz, M. (2014). Optical properties measurement of highly diffusive tissue phantoms for biomedical applications. *Laser Physics*, 25(2), 025605.
- [5] Baffou, G., Bordacchini, I., Baldi, A., & Quidant, R. (2020). Simple experimental procedures to distinguish photothermal from hot-carrier processes in plasmonics. *Light: Science & Applications*, 9(1), 1-16.
- [6] Goodman, A. M., Cao, Y., Urban, C., Neumann, O., Ayala-Orozco, C., Knight, M. W., ... & Halas, N. J. (2014). The surprising in vivo instability of near-IR-absorbing hollow Au–Ag nanoshells. *Acs Nano*, 8(4), 3222-3231.
- [7] Peng, Q., Juzeniene, A., Chen, J., Svaasand, L. O., Warloe, T., Giercksky, K. E., & Moan, J. (2008). Lasers in medicine. *Reports on Progress in Physics*, 71(5), 056701.
- [8] Bouchard, J. P., Noiseux, I., Veilleux, I., & Mermut, O. (2011). The role of optical tissue phantom in verification and validation of medical imaging devices. In *2011 International Workshop on Biophotonics* (pp. 1-3). IEEE.

- [9] Moffitt, T. P., Chen, Y. C., & Prah, S. A. (2006). Preparation and characterization of polyurethane optical phantoms. *Journal of Biomedical Optics*, 11(4), 041103.
- [10] Ortiz-Rascón, E., Carrillo-Torres, R. C., López-Miranda, I., Carrillo-Pesqueira, F. J., Medina-Monares, J., Duarte-Zamorano, R. P., & Álvarez-Ramos, M. E. (2017). Structural characterization of monodisperse SiO<sub>2</sub> spherical nanoparticles grown by controlled method to develop optical phantoms. *Microscopy and Microanalysis*, 23(S1), 1924-1925.
- [11] Cortese, L., Presti, G. L., Pagliuzzi, M., Contini, D., Dalla Mora, A., Pifferi, A., ... & Durduran, T. (2018). Liquid phantoms for near-infrared and diffuse correlation spectroscopies with tunable optical and dynamic properties. *Biomedical optics express*, 9(5), 2068-2080.
- [12] Jones, C. J. M., & Munro, P. R. (2017). Development of a reliable and reproducible phantom manufacturing method using silica microspheres in silicone. *Journal of biomedical optics*, 22(9), 095004.
- [13] Shahin, A., & Bachir, W. (2017). Broadband spectroscopy for characterization of tissue-like phantom optical properties. *Polish Journal of Medical Physics and Engineering*, 23(4), 121.
- [14] Carrillo-Torres, R. C., García-Soto, M. J., Morales-Chávez, S. D., Garibay-Escobar, A., Hernández-Paredes, J., Guzman, R., ... & Álvarez-Ramos, M. E. (2016). Hollow Au–Ag bimetallic nanoparticles with high photothermal stability. *RSC advances*, 6(47), 41304-41312.
- [15] Rascón, E. O., Bruce, N. C., Flores Flores, J. O., & Berru, R. S. (2010, December). Characterization of materials for use as optical phantoms. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1310, No. 1, pp. 130-133). American Institute of Physics.

- [16] Xu, X., Lu, H., & Lee, R. (2020). Near infrared light triggered photo/immuno-therapy toward cancers. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.
- [17] Tromberg, B. J., Pogue, B. W., Paulsen, K. D., Yodh, A. G., Boas, D. A., & Cerussi, A. E. (2008). Assessing the future of diffuse optical imaging technologies for breast cancer management. *Medical physics*, 35(6Part1), 2443-2451.
- [18] O'Neal, D. P., Hirsch, L. R., Halas, N. J., Payne, J. D., & West, J. L. (2004). Photothermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles. *Cancer letters*, 209(2), 171-176.
- [19] Bohren, C. F. y Huffman, D. R. (1983). Absorption and Scattering of Light by Small Particles. Editorial John Willey and Sons.
- [20] Sato-Berrú, R., Saniger, J. M., Flores-Flores, J., & Sanchez-Espíndola, M. (2013). Simple method for the controlled growth of SiO<sub>2</sub> spheres. *Journal of Materials Science and Engineering. A*, 3(4A), 237.
- [20] Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der physik*, 330(3), 377-445.
- [21] Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers in medical science*, 23(3), 217-228.
- [22] Dickerson, E. B., Dreaden, E. C., Huang, X., El-Sayed, I. H., Chu, H., Pushpanketh, S., ... & El-Sayed, M. A. (2008). Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice. *Cancer letters*, 269(1), 57-66.
- [23] Ding, X., Liow, C. H., Zhang, M., Huang, R., Li, C., Shen, H., ... & Jiang, J. (2014). Surface plasmon resonance enhanced light absorption and photothermal therapy in the

second near-infrared window. *Journal of the American Chemical Society*, 136(44), 15684-15693.

[24] Jaque, D., Maestro, L. M., Del Rosal, B., Haro-Gonzalez, P., Benayas, A., Plaza, J. L., ... & Sole, J. G. (2014). Nanoparticles for photothermal therapies. *nanoscale*, 6(16), 9494-9530.

[25] Boas, D. A., Pitris, C., & Ramanujam, N. (Eds.). (2016). *Handbook of biomedical optics*. CRC press.

[26] Baffou, G., Quidant, R., & García de Abajo, F. J. (2010). Nanoscale control of optical heating in complex plasmonic systems. *ACS nano*, 4(2), 709-716.

[27] Jackson, J. D. (1999). *Classical electrodynamics*. Editorial John Willey and Sons.

[28] Ashcroft, N. W., & Mermin, N. D. (1976). *Solid state physics* (Vol. 2005). London: holt, rinehart and winston, new york.

[29] Baffou, G., Bordacchini, I., Baldi, A., & Quidant, R. (2020). Simple experimental procedures to distinguish photothermal from hot-carrier processes in plasmonics. *Light: Science & Applications*, 9(1), 1-16.

[30] Narang, P., Sundararaman, R., & Atwater, H. A. (2016). Plasmonic hot carrier dynamics in solid-state and chemical systems for energy conversion. *Nanophotonics*, 5(1), 96-111.

[31] Khurgin, J. B., & Levy, U. (2020). Generating hot carriers in plasmonic nanoparticles: when quantization does matter?. *ACS Photonics*, 7(3), 547-553.

[32] Bauer, M., Marienfeld, A., & Aeschlimann, M. (2015). Hot electron lifetimes in metals probed by time-resolved two-photon photoemission. *Progress in Surface Science*, 90(3), 319-376.

- [33] Khurgin, J. B. (2020). Fundamental limits of hot carrier injection from metal in nanoplasmonics. *Nanophotonics*, 9(2), 453-471.
- [34] Jiang, K., Smith, D. A., & Pinchuk, A. (2013). Size-dependent photothermal conversion efficiencies of plasmonically heated gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 117(51), 27073-27080.
- [35] Merabia, S., Shenogin, S., Joly, L., Keblinski, P., & Barrat, J. L. (2009). Heat transfer from nanoparticles: A corresponding state analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15113-15118.
- [36] Richardson, H. H., Hickman, Z. N., Govorov, A. O., Thomas, A. C., Zhang, W., & Kordesch, M. E. (2006). Thermo-optical properties of gold nanoparticles embedded in ice: characterization of heat generation and melting. *Nano letters*, 6(4), 783-788.
- [37] Maier, S. A. (2007). *Plasmonics: fundamentals and applications*. Springer Science & Business Media.
- [38] Yushmanov, S., Crompton, J. S., & Koppenhoefer, K. C. (2013). Mie scattering of electromagnetic waves. In *Proceedings of the COMSOL Conference*.
- [39] Scholz, S. M., Vacassy, R., Dutta, J., Hofmann, H., & Akinc, M. (1998). Mie scattering effects from monodispersed ZnS nanospheres. *Journal of Applied Physics*, 83(12), 7860-7866.
- [40] Mätzler, C. (2002). MATLAB functions for Mie scattering and absorption, version 2.
- [41] Kim, A. D. (2004). Transport theory for light propagation in biological tissue. *JOSA A*, 21(5), 820-827.

- [42] Ishimaru, A. (1978). Wave propagation and scattering in random media, vol. 2 New York. NY: Academic Press.
- [43] Kim, A. D., & Ishimaru, A. (1998). Optical diffusion of continuous-wave, pulsed, and density waves in scattering media and comparisons with radiative transfer. *Applied optics*, 37(22), 5313-5319.
- [44] Kim, A. D., & Ishimaru, A. (1998). Optical diffusion of continuous-wave, pulsed, and density waves in scattering media and comparisons with radiative transfer. *Applied optics*, 37(22), 5313-5319.
- [45] Haskell, R. C., Svaasand, L. O., Tsay, T. T., Feng, T. C., McAdams, M. S., & Tromberg, B. J. (1994). Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer. *JOSA A*, 11(10), 2727-2741.
- [46] Patterson, M. S., Chance, B., & Wilson, B. C. (1989). Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties. *Applied optics*, 28(12), 2331-2336.
- [47] Graaff, R., Aarnoudse, J. G., De Mul, F. F. M., & Jentink, H. W. (1989). Light propagation parameters for anisotropically scattering media based on a rigorous solution of the transport equation. *Applied optics*, 28(12), 2273-2279.
- [48] Arridge, S. R., & Hebden, J. C. (1997). Optical imaging in medicine: II. Modelling and reconstruction. *Physics in Medicine & Biology*, 42(5), 841.
- [49] Rutenbar, R. A. (1989). Simulated annealing algorithms: An overview. *IEEE Circuits and Devices magazine*, 5(1), 19-26.
- [50] Aarts, E. H., Korst, J. H., & Van Laarhoven, P. J. (2018). 4. Simulated annealing. In *Local search in combinatorial optimization* (pp. 91-120). Princeton University Press.

## 14. Apéndice A

### Métodos numéricos

#### A1. Eficiencias de Mie

```
function musgp = getMieScatter(lambda, dia, fv, npar, nmed)
% function musgp = getMieScatter(lambda, dia, fv)
% fv          = volume fraction of spheres in medium (eg., fv = 0.05)
% lambda      = wavelength in um (eg., lambda = 0.633)
% dia         = sphere diameter in um (eg., dia_um = 0.0500)
% npar        = particle refractive index (eg. polystyrene = 1.57)
% nmed        = medium refractive index (eg., water = 1.33)
%             Note: npar and nmed can be imaginary numbers.
% returns musgp = [mus g musp]
%   mus         = scattering coefficient [cm^-1]
%   g           = anisotropy of scattering [dimensionless]
%   musp        = reduced scattering coefficient [cm^-1]
% Uses
%   Mie.m, which uses mie_abcd.m, from Maetzler 2002
%
% - Steven Jacques, 2009

Vsphere = 4/3*pi*(dia/2)^3;      % volume of sphere
rho      = fv/Vsphere;          % #/um^3, concentration of spheres

m = npar/nmed;                  % ratio of refractive indices
x = pi*dia/(lambda/nmed);      % ratio circumference/wavelength in
medium

u = mie(m, x)';                % <----- Matlzer's subroutine
                                % u = [real(m) imag(m) x qext qsca qabs

qb asy qratio];

qsca = u(5);                    % scattering efficiency, Qsca
qext = u(4);
g     = u(8);                    % anisotropy, g

A      = pi*dia^2/4;            % geometrical cross-sectional area, um^2
sigma_s = qsca*A;              % scattering cross-section, um^2
mus     = sigma_s*rho*1e4;      % scattering coeff. cm^-1
musp    = mus*(1-g);           % reduced scattering coeff. cm^-1

if 1                             % 1 = print full report, 0 = disable
    disp('----- choice:')
    disp(sprintf('lambda \t= %0.3f um', lambda))
    disp(sprintf('dia    \t= %0.3f um', dia))
    disp(sprintf('rho    \t= %0.3f #/um^3', rho))
    disp(sprintf('npar   \t= %0.3f', npar))
    disp(sprintf('nmed   \t= %0.3f', nmed))
    disp('----- result:')
    disp(sprintf('real(m) \t= %0.3f', u(1)))
    disp(sprintf('imag(m) \t= %0.3e', u(2)))
    disp(sprintf('x      \t= %0.3e', u(3)))
    disp(sprintf('qext   \t= %0.3e', u(4)))
    disp(sprintf('qsca   \t= %0.3e', u(5)))
```

```

disp(sprintf('qabs \t= %0.3e', u(6)))
disp(sprintf('qb \t= %0.3e', u(7)))
disp(sprintf('asy \t= %0.4f', u(8)))
disp(sprintf('qratio \t= %0.3e', u(9)))
disp('----- optical properties:')
disp(sprintf('mus \t= %0.3f cm^-1', mus))
disp(sprintf('g \t= %0.4f', g))
disp(sprintf('musp \t= %0.3f cm^-1', musp))
end

musgp= real([mus g musp]);

```

## A2. Optimización por temple simulado

```

close all; clear all;clc;
load('t2c1v2.mat');

sum=0;
for i=220:260
    sum=T2C1V2_1(:,i)+sum;
end
for i=220:260
    sum=T2C1V2_2(:,i)+sum;
end
for i=220:260
    sum=T2C1V2_3(:,i)+sum;
end

prom=sum/(3*40);
n=prom./max(prom(:));

dat=n(1:160)';

dat=dat-dat(1);
dat=dat./max(dat);
i=0;j=0;cont=1;
b=find(dat==max(dat));

size=length(dat);

tiempo=(0:0.0417:0.0417*(480-1));
t=tiempo(1:size)./1e9;

T=100000;
alpha=0.95;

modelFun =
@(mua,mus,t,t0)((4.*pi.*(0.333.*1./(mua+mus)).*(3e8./1.54)).^(-
3./2)).*((t-t0).^(-5./2)).*exp(-mua.*(3e8./1.54).*(t-t0)).*(((0.030)-
(1./mus)).*exp(-(0.030)-
(1./mus)).^2./(4.*(0.333.*1./(mua+mus)).*(3e8./1.54).*(t-t0))))-
((0.030)+(1./mus)).*exp(-

```

```

((0.030)+(1./mus)).^2./(4.*(0.333.*1./(mua+mus)).*(3e8./1.54).*(t-
t0)))+(3.*(0.030)-(1./mus)).*exp(-((3.*(0.030)-
(1./mus)).^2)/(4.*(0.333.*1./(mua+mus)).*(3e8./1.54).*(t-t0)))-
(3.*(0.030)+(1./mus)).*exp(-
((3.*(0.030)+(1./mus)).^2)/(4.*(0.333.*1./(mua+mus)).*(3e8./1.54).*(t-
t0)))));

```

```

mua=2;mus=500;
mua0=1;mus0=400;
muamax=20;musmax=1000;
muamin=0.0001;musmin=200;

```

```

t0=0;
f=real(feval(modelFun,mua,mus,t,t0));
f=f./max(f);
b0=find(f==max(f));
f(1)=0;

```

```

muap=abs(mua+(-10+(10+10)*rand(1,1)));
musp=abs(mus+(-100+(100+100)*rand(1,1)));
bp=(b-b0+1)+randi([-5 5],1,1);
t0p=t(bp);
fp=real(feval(modelFun,muap,musp,t,t0p));
fp=fp./max(fp);
fp(bp)=0;

```

```

cf=corrcoef(dat,f);
cfp=corrcoef(dat,fp);
figure; hold on
while 0.99>cfp(1,2) & cont<100000

```

```

    if cfp(1,2)>cf(1,2)

```

```

        cf=cfp;

```

```

        muap=abs(muap+(-10+(10+10)*rand(1,1)));
        if muap<muamin | muap>muamax
            muap=abs(mua0+(-10+(10+10)*rand(1,1)));
        end
        musp=abs(musp+(-100+(100+100)*rand(1,1)));
        if musp<musmin | musp>musmax
            musp=abs(mus0+(-100+(100+100)*rand(1,1)));
        end
        bp=abs((b-b0+1)+randi([0 5],1,1));
        t0p=t(bp);
        fp=real(feval(modelFun,muap,musp,t,t0p));
        fp=fp./max(fp);
        [row, col] = find(isnan(fp));fp(col)=0;
        cfp=corrcoef(dat,fp);

```

```

        i=i+1;

```

```

    else

```

```

        term=(cfp(1,2)-cf(1,2))./T;

```

```

if rand<exp(-term)

    cf=cfp;

    muap=abs(muap+(-10+(10+10)*rand(1,1)));
    if muap<muamin | muap>muamax
        muap=abs(mua0+(-10+(10+10)*rand(1,1)));
    end
    musp=abs(musp+(-100+(100+100)*rand(1,1)));
    if musp<musmin | musp>musmax
        musp=abs(mus0+(-100+(100+100)*rand(1,1)));
    end
    bp=(b-b0+1)+randi([0 5],1,1);
    t0p=t(bp);
    fp=real(feval(modelFun,muap,musp,t,t0p));
    fp=fp./max(fp);
    [row, col] = find(isnan(fp));fp(col)=0;
    cfp=corrcoef(dat,fp);
    j=j+1;

end
end
T=alpha*T;
subplot(4,1,1);plot(cont,musp,'. ');hold on;
subplot(4,1,2);plot(cont,muap,'. ');hold on;
subplot(4,1,3);plot(cont,t0p,'. ');hold on;
subplot(4,1,4);plot(cont,cfp(1,2),'. ');hold on;

cont=cont+1;
end
figure
plot(t,dat,'*');hold on;
plot(t,fp);

```

## 15. Apéndice B.

### Resultados de productividad académica.

Se enlistan a continuación algunos de los resultados principales en cuanto a productividad académica, adicionalmente se participó en varios congresos a nivel nacional e internacional, así como escuelas de verano y estancias breves en laboratorios nacionales.

1. (2017) Light Scattering of Silica Nanoparticles. ICO The 24th Congress of the International Commission for Optics.
2. (2017) Time and space intensity distribution maps to calculate optical properties in turbid media. ICO The 24th Congress of the International Commission for Optics.
3. (2018) Embedding Silicon Dioxide Nanospheres for Homogeneous Incorporation onto a Resin Matrix. *Microsc. Microanal.* 24 (Suppl 1), (2018).
4. (2018) Segundo premio en el Congreso de Microscopía y Microanálisis otorgado por la Sociedad Americana de Microscopía.
5. (2019) Controlled Growth of Silicon Dioxide Nanospheres by Regulation in the Addition Rate of the Precursor. *Microsc. Microanal.* 25 (Suppl 2), 2019.
6. (2020) Merging Mie solutions and the radiative transport equation to measure optical properties of scattering particles in optical phantoms. Vol. 59, No. 33 / 20 November 2020 / *Applied Optics*.
7. (2021) Deep photothermal effect induced by stereotactic laser beams in highly scattering media. Vol. 46, No 17 / 25 August 2021 / *Optics Letters*.