



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
ELÉCTRICA – INSTRUMENTACIÓN

REFLECTIVIDAD ÓPTICA DE PELÍCULAS INHOMOGÉNEAS Y SU  
APLICACIÓN A SENSORES

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTOR EN INGENIERÍA

PRESENTA:  
OMAR WILFRIDO VÁZQUEZ ESTRADA

TUTOR PRINCIPAL  
Dr. AUGUSTO GARCÍA VALENZUELA, CCADET-UNAM  
COMITÉ TUTOR  
Dra. MARÍA HERLINDA MONTIEL SÁNCHEZ, CCADET-UNAM  
Dr. NEIL CHARLES BRUCE DAVIDSON, CCADET-UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO DE 2017

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. ANA CECILIA NOGUEZ GARRIDO

Secretario: Dra. MARÍA HERLINDA MONTIEL SÁNCHEZ

Vocal 1: Dr. AUGUSTO GARCÍA VALENZUELA

Vocal 2: Dr. NEIL CHARLES BRUCE DAVIDSON

Vocal 3: Dr. GIUSEPPE PIRRUCCIO

Lugar donde se realizó la tesis

CCADET - UNAM

TUTOR DE TESIS:

Dr. AUGUSTO GARCÍA VALENZUELA

---

FIRMA



*Con cariño para mi esposa e hija:*

*Edith y Tonantzin*

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera ser breve pero muy emotivo. La culminación de este proyecto de investigación fue un arduo trabajo de cuatro años de inspiración que finalmente concluye en una tesis con temas de investigación de frontera relevantes dentro del área de sensores ópticos. Y que mejor motivación para culminar este trabajo que mis amadas musas, mi esposa Edith y mi hija Tonantzin, que siempre estuvieron a mi lado durante la escritura de este trabajo, brindándome un poco de su tiempo. Por tal razón, aprovecho este espacio para exclamar mi amor por mis dos mujeres, muchas gracias por cambiar mi vida. De igual manera, quiero agradecer de todo corazón, a mi familia cercana por motivarme siempre a realizar mis metas y objetivos, muy en especial a mi mamá Estela, a mi abuelita Gloria, a mi hermana Judith y a mi hermano Alejandro, que siempre me han apoyado durante toda mi trayectoria académica y que son el pilar fundamental de lo que soy ahora. Agradezco también a todos mis amigos por hacer más amena y divertida mi vida en cada momento de convivencia; muy en especial a Roberto, a Gesuri y al buen Huberto por los momentos divertidos que pasamos en el laboratorio P120 del CCADET, nuestro segundo hogar. También quiero agradecer muy emotivamente a mi comité y jurado por revisar este texto científico, dedicando su tiempo y profesionalismo en brindarme sus comentarios y sugerencias con el fin de mejorar esta obra de manera muy sustancial. En especial quiero agradecer al Dr. Augusto por permitirme realizarme como doctor y por brindarme sus conocimientos para la realización de este trabajo, nuevamente muchas gracias Dr. Augusto por todos sus consejos como amigo y como tutor.

No menos importante, está mi querida institución la gran UNAM de la cual me siento orgulloso. Muchas gracias por el brindarme el espacio y las condiciones necesarias para llevar a cabo mi proyecto de investigación durante el doctorado a través del CCADET. Además, de darme la oportunidad de impartir cátedra en esta gran institución a través de la Facultad de Ingeniería y de la Facultad de Ciencias. De igual manera, quiero agradecer a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM por el apoyo económico a través de PAPIIT – 100615 para el desarrollo de este proyecto de investigación. Considero que siempre es importante tener un apoyo económico con el fin de realizarnos en todos nuestros objetivos intelectuales esto con el propósito de servir mejor a nuestra sociedad, por tal motivo agradezco al CONACyT por brindarme la beca de doctorado, y espero que siempre mantenga este apoyo a todos los estudiantes de México que deseen superarse por el beneficio de nuestra sociedad.



## RESUMEN

Esta tesis se divide en dos partes principales: una teórica y una experimental. Dentro de la parte teórica se describe la deducción en detalle de un nuevo modelo teórico usando la Aproximación por Difracción Anómala (ADA), cuyas expresiones permiten calcular la reflectancia y transmitancia coherente esparcida por un sustrato cubierto parcialmente por una monocapa desordenada de partículas de bajo contraste, con dimensiones mayores a la longitud de onda de la radiación incidente. Las expresiones derivadas pueden ser usadas para partículas con formas geométricas complejas, para ángulos de incidencia bajos y moderados. Se estudian teóricamente los efectos sobre los espectros de reflectancia y transmitancia relativos a partir de la forma geométrica y de la orientación que poseen las partículas que conforman la monocapa depositada sobre una interface plana. Aunado a este estudio teórico, se simulan también las curvas de reflectancia y transmitancia, como función del ángulo incidencia, estudiando los efectos de la forma de la partícula y su orientación al ser depositadas sobre un sustrato plano. Para este análisis, se emplearon partículas con parámetros similares a partículas biológicas, como: tamaño de partícula, forma e índice de refracción. También se deduce, de manera complementaria, el modelo de esparcimiento múltiple (MME) para monocapas con partículas altamente esparcidoras para cualquier tamaño, pero restringido a partículas esféricas y a fracciones de cubierta superficiales bajas. En la parte experimental, se midieron los espectros relativos de reflectancia y transmitancia para dos tipos de partículas, biológicas y sintéticas, depositadas sobre un portaobjetos, además de obtener sus respectivas simulaciones teóricas. También, dentro de la parte experimental, se obtuvieron las curvas de reflectividad y transmitividad para este tipo de monocapas, como función del ángulo de incidencia, las cuales se compararon con el modelo teórico basado en ADA. Para este estudio experimental se empleó una monocapa hecha de partículas de poliestireno (monocapa sintética) y una monocapa de eritrocitos humanos (monocapa biológica). Finalmente, se presentan dos aplicaciones a sistemas biológicos usando el modelo nuevo basado en ADA y el MME. Dentro de la primera aplicación se desarrolla un método óptico novedoso para estimar la concentración de micro-partículas depositadas aleatoriamente sobre la superficie de un sustrato transparente usando MME y en la segunda aplicación se monitorea el proceso de hemólisis para una monocapa de eritrocitos humanos, el cual se describe teóricamente usando el modelo basado en ADA; ambos modelos han demostrado ser útiles para cada una de estas aplicaciones.

# ÍNDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1	MOTIVACIÓN DEL ESTUDIO .....	2
1.2	APORTACIONES DE ESTA TESIS .....	5
1.3	OBJETIVOS Y METAS .....	6
1.4	CONTENIDO.....	7
<b>2</b>	<b>MODELO DE ESPARCIMIENTO MÚLTIPLE (MME)</b> .....	<b>9</b>
2.1	TEORÍA DE ESPARCIMIENTO MÚLTIPLE .....	9
2.2	DERIVACIÓN SIMPLE DE MME PARA UNA MONOCAPA LIBRE Y ASILADA .....	10
2.3	INTRODUCIENDO EL SUSTRATO .....	15
2.4	REFLECTIVIDAD DE SUSTRATOS CUBIERTOS POR MONOCAPAS CON PARTÍCULAS DE ORO Y PLATA .....	17
<b>3</b>	<b>APROXIMACIÓN POR DIFRACCIÓN ANÓMALA</b> .....	<b>22</b>
3.1	CAMPO RADIADO POR UNA PARTÍCULA GRANDE Y DE BAJO CONTRASTE .....	23
3.2	MÉTODO DE RAYLEIGH DE FASE ESTACIONARIA .....	26
3.3	APROXIMACIÓN POR DIFRACCIÓN ANÓMALA (ADA).....	30
3.4	ALGUNOS EJEMPLOS NUMÉRICOS APLICANDO ADA Y TEORÍA DE MIE .....	33
<b>4</b>	<b>MODELO TEÓRICO Y SIMULACIONES NUMÉRICAS</b> .....	<b>41</b>
4.1	CAMPO TRANSMITIDO POR UNA PARTÍCULA GRANDE Y SUAVE SOBRE UN SUSTRATO PLANO.....	41
4.2	CAMPO REFLEJADO POR UNA PARTÍCULA GRANDE Y SUAVE SOBRE UN SUSTRATO PLANO .....	45
4.3	COEFICIENTE DE TRANSMISIÓN COHERENTE PARA UNA MONOCAPA .....	51
4.4	COEFICIENTE DE REFLEXIÓN COHERENTE PARA UNA MONOCAPA .....	55
4.5	SIMULACIONES NUMÉRICAS .....	58
4.5.1	<i>Efectos de la orientación y forma de la partícula con <math>c</math>, <math>\theta</math> y <math>\rho</math> constantes</i> .....	61
4.5.2	<i>Efectos por la altura en la partícula a <math>\theta</math> constante y <math>\rho</math> variable</i> .....	66
4.5.3	<i>Efectos por la altura en la partícula a <math>\theta</math> variable y <math>\rho</math> constante</i> .....	68
<b>5</b>	<b>RESULTADOS EXPERIMENTALES</b> .....	<b>71</b>
5.1	PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	71
5.2	ARREGLOS EXPERIMENTALES PARA MEDIR ESPECTROS DE R Y T.....	75
5.3	ARREGLOS EXPERIMENTALES PARA MEDIR CURVAS DE R Y T COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO .....	77
5.4	RESULTADOS EXPERIMENTALES.....	79
5.4.1	<i>Monocapa de partículas de poliestireno (PS)</i> .....	79
5.4.2	<i>Monocapa de eritrocitos humanos (RBCs)</i> .....	84
<b>6</b>	<b>APLICACIONES</b> .....	<b>95</b>
6.1	MONITOREO DE ESPORAS DE HONGO DEPOSITADOS SOBRE UN SUSTRATO .....	95
6.2	MONITOREO DEL PROCESO DE HEMÓLISIS.....	102
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>108</b>
7.1	CONCLUSIONES .....	108
<b>8</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>113</b>



# LISTA DE FIGURAS

FIG. 1-1 ILUSTRACIÓN DE LA COMPONENTE COHERENTE Y COMPONENTE DIFUSA PARA UN HAZ DE LUZ REFLEJADO Y TRANSMITIDO, CUANDO SE LE HACE INCIDIR UN HAZ COLIMADO A UN SUSTRATO CUBIERTO POR UNA MONOCAPA DESORDENADA DE PARTÍCULAS GRANDES. ....	4
FIG. 2-1 ESQUEMA DE ILUSTRACIÓN DE UNA ONDA PLANA INCIDIENDO SOBRE UN BLOQUE ALEATORIO DE PARTÍCULAS DE ANCHURA $d$ . LOS CENTROS DE LAS PARTÍCULAS ESTÁN RESTRINGIDOS A ESTAR DENTRO DEL BLOQUE. LA LÍNEA DISCONTINUA INDICA EL PLANO QUE DIVIDE AL BLOQUE EN DOS MITADES IGUALES, $d/2$ . EN PROMEDIO, LA MITAD DE PARTÍCULAS ESTÁ EN LA MITAD DEL BLOQUE SUPERIOR Y LA OTRA MITAD EN LA MITAD DEL BLOQUE INFERIOR. EL ORIGEN DE LAS COORDENADAS SE LOCALIZA SOBRE EL PLANO A LA MITAD DEL BLOQUE Y EL EJE-z APUNTA EN LA DIRECCIÓN DE TRANSMISIÓN. ....	12
FIG. 2-2 MONOCAPA DE PARTÍCULAS ESFÉRICAS CARACTERIZADAS CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_p$ , (A) EMBEBIDAS EN UNA MATRIZ CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_1$ Y DEPOSITADAS SOBRE UN SUSTRATO CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_2$ , Y (B) EMBEBIDAS EN UNA MATRIZ CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_2$ Y DEPOSITADAS SOBRE UN SUSTRATO CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_1$ , EN AMBOS CASOS ILUMINADOS DESDE LA MATRIZ. ....	16
FIG. 2-3 REFLECTANCIA PARA UNA MONOCAPA MONODISPERSA DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS DE ORO, CON UN RADIO DE $a = 30 \text{ nm}$ , INMERSAS EN AIRE Y SOPORTADAS POR UN SUSTRATO DE VIDRIO, COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA $\theta_i$ Y DE LA LONGITUD DE ONDA DEL HAZ INCIDENTE, $\lambda_0$ . ....	19
FIG. 2-4 REFLECTANCIA PARA UNA MONOCAPA MONODISPERSA DE NANOPARTÍCULAS ESFÉRICAS DE PLATA, CON UN RADIO DE $a = 30 \text{ nm}$ , INMERSAS EN AIRE Y SOPORTADAS POR UN SUSTRATO DE VIDRIO, COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA $\theta_i$ Y DE LA LONGITUD DE ONDA DEL HAZ INCIDENTE, $\lambda_0$ . ....	20
FIG. 3-1 (A) PARTÍCULA DE RADIO $a$ CON ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_p$ INMERSA EN UN MEDIO CON ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_m$ A LA QUE SE LE HACE INCIDIR UN CAMPO ELÉCTRICO $\mathbf{E}_0$ . (B) SOMBRA PROYECTADA POR LA PARTÍCULA SOBRE UN PLANO $V$ , DONDE EXISTE UN CAMPO TANGENCIAL $\mathbf{E}_\tau$ EN $z = 0$ . ....	24
FIG. 3-2 (A) LA LÍNEA PUNTEADA REPRESENTA EL CAMPO QUE ATRAVIESA LA PARTÍCULA, EL CUAL NO SUFRE DESVIACIÓN NI REFRACCIÓN AL INCIDIR EN ELLA. (B) SOMBRA PROYECTADA POR LA PARTÍCULA SOBRE EL PLANO $V$ , CORRESPONDIENTE AL PLANO $xy$ . ....	31
FIG. 3-3 (A) COMPARACIÓN ENTRE EL LOGARITMO DE LA MAGNITUD AL CUADRADO DEL COEFICIENTE DE AMPLITUD DE ESPARCIMIENTO $S(\theta)$ ENTRE ADA (LÍNEA CONTINUA ROJA) Y TEORÍA DE MIE (LÍNEA DISCRETA NEGRA). (B) COMPARACIÓN DE LA PARTE REAL E (C) IMAGINARIA DEL COEFICIENTE DE AMPLITUD DE ESPARCIMIENTO $S(\theta)$ ENTRE ADA (LÍNEA CONTINUA ROJA) Y TEORÍA DE MIE (LÍNEA DISCRETA NEGRA). ....	34
FIG. 3-4 (A) ERROR RELATIVO PORCENTUAL ENTRE ADA Y TEORÍA DE MIE COMO FUNCIÓN DEL RADIO DE LA PARTÍCULA, DEL ORDEN DE MICRÓMETROS, EN LA DIRECCIÓN DE INCIDENCIA ( $\theta = 0^\circ$ ). (B) ERROR RELATIVO PORCENTUAL ENTRE ADA Y TEORÍA DE MIE COMO FUNCIÓN DEL RADIO DE LA PARTÍCULA, DEL ORDEN DE NANÓMETROS, EN LA DIRECCIÓN DE INCIDENCIA ( $\theta = 0^\circ$ ). ....	35
FIG. 3-5 PARTÍCULA DE RADIO $a$ , DONDE LA LÍNEA PUNTEADA REPRESENTA EL CAMINO ÓPTICO RECORRIDO POR EL HAZ AL ATRAVESAR LA PARTÍCULA DENOTADO COMO $\Delta Q$ A INCIDENCIA NORMAL. ....	37
FIG. 3-6 (A) SUPERFICIE 3D DE UN ERITROCITO HUMANO EMPLEANDO LA EC. (3.50). (B) SUPERFICIE 3D DE UN ELIPSOIDE CON DIMENSIONES SIMILARES A LAS DE UN ERITROCITO HUMANO, EMPLEANDO LA EC. (3.49). ....	38
FIG. 3-7 PATRÓN DE ESPARCIMIENTO COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE ESPARCIMIENTO $\theta$ PARA TRES TIPOS DE PARTÍCULAS: PARTÍCULA ESFÉRICA (LÍNEA CONTINUA NEGRA), PARTÍCULA ESFEROIDAL (LÍNEA DISCONTINUA PEQUEÑA VERDE) Y PARA UNA PARTÍCULA CON FORMA DE ERITROCITO (LÍNEA DISCONTINUA LARGA ROJA). ....	39
FIG. 4-1 RAYOS PASANDO A TRAVÉS DE UNA PARTÍCULA ESFEROIDAL CON UN ÁNGULO DE INCIDENCIA $\theta_i$ RESPECTO AL EJE-z. LA PARTÍCULA ESTÁ INMERSA EN UN MEDIO MATRIZ CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_m$ Y SOPORTADA POR UN SUSTRATO CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_2$ . LA PARTÍCULA TIENE UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN $n_p$ . ....	42

FIG. 4-2 RAYOS PASANDO A TRAVÉS DE UNA PARTÍCULA ELIPSOIDAL A UN ÁNGULO DE INCIDENCIA $\theta_i$ , LOS CUALES SON REFLEJADOS POR UN SUSTRATO, PASANDO NUEVAMENTE A TRAVÉS DE LA PARTÍCULA, CON UN DESFASE TOTAL ADQUIRIDO DE $\Psi_r(x, y, \theta_i)$ .....	46
FIG. 4-3 USO DE UNA PARTÍCULA IMAGEN PARA CALCULAR EL CAMINO ÓPTICO TOTAL RECORRIDO POR LA ONDA INCIDENTE AL ATRAVESAR LA PARTÍCULA EN SU CAMINO HACIA EL PLANO DE EXPANSIÓN, $h_r(x, y, \theta_i)$ .....	48
FIG. 4-4 PARTE REAL (LÍNEA CONTINUA AZUL) Y PARTE IMAGINARIA (LÍNEA DISCONTINUA ROJA) DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN ASUMIDO PARA UNA PARTÍCULA DADA POR LA EC. (4.76). LA PARTE IMAGINARIA DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN DE LA PARTÍCULA CORRESPONDE A UNA FUNCIÓN LORENTZIANA, CON UN PICO EN $\lambda_0 = 630 \text{ nm}$ . ....	60
FIG. 4-5 ESPECTROS TEÓRICOS CORRESPONDIENTES A LA REFLECTIVIDAD RELATIVA CALCULADOS PARA TRES MONOCAPAS CON TRES FORMAS DIFERENTES (A) A INCIDENCIA NORMAL, (B) A INCIDENCIA OBLICUA PARA UNA SECCIÓN TRANSVERSAL CIRCULAR, Y (C-D) A INCIDENCIA OBLICUA PARA UNA SECCIÓN TRANSVERSAL ELÍPTICA CON DIFERENTES ORIENTACIONES. ....	62
FIG. 4-6 ESPECTROS TEÓRICOS CORRESPONDIENTES A LA TRANSMITIVIDAD RELATIVA CALCULADOS PARA TRES MONOCAPAS CON TRES FORMAS DIFERENTES (A) A INCIDENCIA NORMAL, (B) A INCIDENCIA OBLICUA PARA UNA SECCIÓN TRANSVERSAL CIRCULAR, Y (C-D) A INCIDENCIA OBLICUA PARA UNA SECCIÓN TRANSVERSAL ELÍPTICA CON DIFERENTES ORIENTACIONES. ....	63
FIG. 4-7 CURVAS DE REFLECTIVIDAD RELATIVA COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA PARA UNA MONOCAPA (A) CON PARTÍCULAS CUYA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$ SON CÍRCULOS, CON $a = b = 2.93 \mu\text{m}$ Y (B-C) CON PARTÍCULAS CUYA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$ SON ELIPSES. PARA LAS CURVAS DEL INCISO (B) $a = 1.0 \mu\text{m}$ Y $b = 8.59 \mu\text{m}$ . PARA LAS CURVAS DEL INCISO (C) $a = 2.0 \mu\text{m}$ Y $b = 4.29 \mu\text{m}$ . PARA TODAS LAS GRÁFICAS, $\theta = 45\%$ Y $v_p = 90\text{FL}$ . ....	64
FIG. 4-8 CURVAS DE TRANSMITIVIDAD RELATIVA COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA PARA UNA MONOCAPA (A) CON PARTÍCULAS CUYA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$ SON CÍRCULOS, CON $a = b = 2.93 \mu\text{m}$ Y (B-C) CON PARTÍCULAS CUYA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$ SON ELIPSES. PARA LAS CURVAS DEL INCISO (B) $a = 1.0 \mu\text{m}$ Y $b = 8.59 \mu\text{m}$ . PARA LAS CURVAS DEL INCISO (C) $a = 2.0 \mu\text{m}$ Y $b = 4.29 \mu\text{m}$ . PARA TODAS LAS GRÁFICAS, $\theta = 45\%$ Y $v_p = 90\text{FL}$ . ....	65
FIG. 4-9 ESPECTROS CORRESPONDIENTES A LA REFLECTIVIDAD RELATIVA A INCIDENCIA NORMAL DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN DADO POR LA EC. (4.76), INMERSAS EN AGUA PARA DIFERENTES LONGITUDES DEL SEMEJE- $c$ . PARA CADA ESPECTRO LA FRACCIÓN DE CUBIERTA DE SUPERFICIE SE AJUSTÓ A UN VALOR CONSTANTE DE $\theta = 45\%$ . EL NÚMERO DE PARTÍCULAS POR UNIDAD DE ÁREA PARA CADA ESPECTRO FUE DE $\rho =$ (A) $6.67 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , (B) $1.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (C) $2.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (D) $4.0 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , Y (E) $5.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ . ....	67
FIG. 4-10 ESPECTROS CORRESPONDIENTES A LA TRANSMITIVIDAD RELATIVA A INCIDENCIA NORMAL DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS CON UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN DADO POR LA EC. (4.76), INMERSAS EN AGUA PARA DIFERENTES LONGITUDES DEL SEMEJE- $c$ . PARA CADA ESPECTRO LA FRACCIÓN DE CUBIERTA DE SUPERFICIE SE AJUSTÓ A UN VALOR CONSTANTE DE $\theta = 45\%$ . EL NÚMERO DE PARTÍCULAS POR UNIDAD DE ÁREA PARA CADA ESPECTRO FUE DE $\rho =$ (A) $6.67 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , (B) $1.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (C) $2.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (D) $4.0 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , Y (E) $5.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ . ....	68
FIG. 4-11 ESPECTROS CORRESPONDIENTES A LA REFLECTIVIDAD RELATIVA A INCIDENCIA NORMAL DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS CON UNA DENSIDAD $\rho = 7.0 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ Y UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN DADO POR LA EC. (4.76), INMERSA EN AGUA PARA DIFERENTES LONGITUDES DEL SEMEJE- $c$ . LA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$ TIENE FORMA CIRCULAR. LOS VALORES DE $c$ Y DE LA FRACCIÓN DE CUBIERTA DE SUPERFICIE $\theta$ SE INDICAN EN CADA UNO DE LOS ESPECTROS. EL VOLUMEN DE LAS PARTÍCULAS SE MANTIENE CONSTANTE, CON UN VALOR DE $v_p = 90 \text{ FL}$ . ....	69
FIG. 4-12 ESPECTROS CORRESPONDIENTES A LA TRANSMITIVIDAD RELATIVA A INCIDENCIA NORMAL DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS CON UNA DENSIDAD $\rho = 7.0 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ Y UN ÍNDICE DE REFRACCIÓN DADO POR LA EC. (4.76),	

INMERSA EN AGUA PARA DIFERENTES LONGITUDES DEL SEMIEJE- $c$ . LA SECCIÓN TRANSVERSAL SOBRE EL PLANO- $xy$  TIENE FORMA CIRCULAR. LOS VALORES DE  $c$  Y DE LA FRACCIÓN DE CUBIERTA DE SUPERFICIE  $\theta$  SE INDICAN EN CADA UNO DE LOS ESPECTROS. EL VOLUMEN DE LAS PARTÍCULAS SE MANTIENE CONSTANTE, CON UN VALOR DE  $v_p = 90$  FL. ....70

- FIG. 5-1 ARREGLO EXPERIMENTAL EMPLEADO PARA DEPOSITAR LAS PARTÍCULAS DE PS SOBRE LA SUPERFICIE PLANA DE UN PORTAOBJETOS. EN ESTA FIGURA SE MUESTRA UNA MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE DEL PORTAOBJETOS CON LA MONOCAPA DE PARTÍCULAS DE PS DEPOSITADA (TOMADA POR UN MICROSCOPIO MARCA LEICA), DONDE SE PUEDEN APRECIAR LAS MICROESFERAS DE PS.....72
- FIG. 5-2 DEPÓSITO DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS DE PS (O ERITROCITOS) SOBRE UN PORTAOBJETOS E INMERSA EN GLICERINA (O EN PLASMA) CUBIERTA POR UN CUBREOBJETOS.....73
- FIG. 5-3 ARREGLO EXPERIMENTAL EMPLEADO PARA DEPOSITAR ERITROCITOS-RBCs SOBRE LA SUPERFICIE PLANA DE UN PORTAOBJETOS. EN ESTA FIGURA SE MUESTRA UNA MICROGRAFÍA DE LA SUPERFICIE DEL PORTAOBJETOS CON LA MONOCAPA DE RBCs DEPOSITADA (TOMADA POR UN MICROSCOPIO MARCA LEICA), DONDE SE PUEDEN APRECIAR LA FORMA DE LOS ERITROCITOS. ....74
- FIG. 5-4 ESQUEMA DEL ARREGLO EXPERIMENTAL EMPLEADO PARA MEDIR EL ESPECTRO DE REFLECTANCIA DE UNA MONOCAPA CON PARTÍCULAS DE PS O RBCs. ....75
- FIG. 5-5 ESQUEMA DEL ARREGLO EXPERIMENTAL EMPLEADO PARA MEDIR EL ESPECTRO DE TRANSMITANCIA DE UNA MONOCAPA CON PARTÍCULAS DE PS O RBCs. ....76
- FIG. 5-6 ESQUEMA DEL ARREGLO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA MEDIR LA REFLECTANCIA COHERENTE DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS DE PS O RBCs.....77
- FIG. 5-7 ESQUEMA DEL ARREGLO EXPERIMENTAL UTILIZADO PARA MEDIR LA TRANSMITANCIA COHERENTE DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS DE PS O RBCs.....78
- FIG. 5-8 ESPECTROS DE REFLECTANCIA RELATIVA PARA CUATRO MUESTRAS DISTINTAS DE MONOCAPAS CON PARTÍCULAS DE POLIESTIRENO-PS. LAS CURVAS CONTINUAS DE COLOR ROJO CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS EXPERIMENTALES DE REFLECTANCIA RELATIVA. LAS LÍNEAS DISCONTINUAS CORTAS, DE COLOR NEGRO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS BASADOS EN ADA Y LAS LÍNEAS DISCONTINUAS LARGAS, DE COLOR AZUL, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS USANDO MME. ....80
- FIG. 5-9 ESPECTROS DE TRANSMITANCIA RELATIVA PARA CUATRO MUESTRAS DISTINTAS DE MONOCAPAS DE PARTÍCULAS DE POLIESTIRENO-PS. LAS CURVAS CONTINUAS, DE COLOR ROJO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS EXPERIMENTALES DE TRANSMITANCIA RELATIVA. LAS LÍNEAS DISCONTINUAS CORTAS, DE COLOR NEGRO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS BASADOS EN ADA Y LAS LÍNEAS DISCONTINUAS LARGAS, DE COLOR AZUL, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS USANDO MME. ....81
- FIG. 5-10 CURVAS DE A) REFLECTANCIA Y B) TRANSMITANCIA COHERENTE DE UNA MONOCAPA DE PARTÍCULAS DE POLIESTIRENO COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA,  $\theta_i$ . EN AMBAS GRÁFICAS, LOS CÍRCULOS, DE COLOR AZUL, CORRESPONDEN A LAS MEDICIONES EXPERIMENTALES DE REFLECTANCIA (Y TRANSMITANCIA) DE LA MONOCAPA, LOS DIAMANTES ROJOS CORRESPONDEN A LA REFLECTANCIA EXPERIMENTAL (O TRANSMITANCIA EXPERIMENTAL) DEL SUSTRATO-MATRIZ-CUBREOBJETOS SIN LA MONOCAPA DEPOSITADA, Y LA LÍNEA CONTINUA DE COLOR NEGRO CORRESPONDEN A LOS DATOS TEÓRICOS SIMULADOS PARA LA MONOCAPA. ....83
- FIG. 5-11 ÍNDICE DE REFRACCIÓN DE UN ERITROCITO HUMANO OXIGENADO (RBC) COMO FUNCIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA. LA PARTE REAL DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN SE REPRESENTA CON UNA LÍNEA CONTINUA (COLOR AZUL), Y LA PARTE IMAGINARIA SE REPRESENTA CON UNA LÍNEA DISCONTINUA (COLOR ROJO).....85
- FIG. 5-12 ESPECTROS DE REFLECTANCIA RELATIVA PARA CUATRO MUESTRAS DISTINTAS DE MONOCAPAS CON ERITROCITOS HUMANOS (RBCs). LAS CURVAS CONTINUAS DE COLOR ROJO CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS EXPERIMENTALES DE REFLECTANCIA RELATIVA. LAS LÍNEAS DISCONTINUAS CORTAS, DE COLOR NEGRO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS USANDO ADA.....86
- FIG. 5-13 ESPECTROS DE TRANSMITANCIA RELATIVA PARA CUATRO MUESTRAS DISTINTAS DE MONOCAPAS DE ERITROCITOS HUMANOS (RBCs). LAS CURVAS CONTINUAS, DE COLOR ROJO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS EXPERIMENTALES

DE TRANSMITANCIA RELATIVA PARA LAS CUATRO MUESTRAS DE MONOCAPAS. LAS LÍNEAS DISCONTINUAS CORTAS, DE COLOR NEGRO, CORRESPONDEN A LOS ESPECTROS TEÓRICOS USANDO ADA. EN EL RECUADRO DEL INCISO (A) SE PRESENTAN LOS ESPECTROS DE TRANSMITANCIA TEÓRICO-EXPERIMENTAL PARA LA HEMÓLISIS DE ERITROCITOS EN AGUA TRIDESTILADA, LÍNEA DISCONTINUA COMPUESTA (COLOR CAFÉ).....	88
FIG. 5-14 ESPECTROS EXPERIMENTALES DE A) REFLECTANCIA RELATIVA Y B) TRANSMITANCIA RELATIVA PARA DOS MULTIMONOCAPAS DESORDENADAS CON ERITROCITOS HUMANOS (RBCs). LA MONOCAPA DEL INCISO (A) SE DEPOSITÓ SOBRE UNA PELÍCULA DE ALUMINIO, Y LA MONOCAPA DEL INCISO (B) SE DEPOSITÓ DIRECTAMENTE SOBRE LA SUPERFICIE DE UN PORTAOBJETOS. EN CADA UNA DE LAS CURVAS SE ADJUNTA UNA IMAGEN CORRESPONDIENTE A LA MICROGRAFÍA DE LAS MULTICAPAS DE ERITROCITOS DEPOSITADAS SOBRE UN PORTAOBJETOS, NOTE EL COLOR DE FONDO DE CADA MICROGRAFÍA. ....	91
FIG. 5-15 CURVAS DE (A) REFLECTANCIA Y (B) TRANSMITANCIA COHERENTE PARA UN SUSTRATO CUBIERTO POR UNA MONOCAPA DE ERITROCITOS HUMANOS COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA, $\theta_i$ . EN AMBAS GRÁFICAS, LOS CÍRCULOS DE COLOR AZUL, CORRESPONDEN A LAS MEDICIONES EXPERIMENTALES DE LA MONOCAPA, LOS DIAMANTES ROJOS CORRESPONDEN A LA REFLECTANCIA EXPERIMENTAL (O TRANSMITANCIA EXPERIMENTAL) DEL SUSTRATO-MATRIZ-CUBREOBJETOS SIN MONOCAPA DEPOSITADA, Y LA LÍNEA CONTINUA DE COLOR NEGRO CORRESPONDEN A LOS DATOS TEÓRICOS SIMULADOS PARA LA MONOCAPA. ....	93
FIG. 6-1 MONOCAPA DE ESPORAS DE HONGO <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i> DEPOSITADA SOBRE LA SUPERFICIE DE UN PORTAOBJETOS (LA ESCALA MÍNIMA DE LA PLATINA MICROMÉTRICA ES DE $2 \mu m$ ). ....	96
FIG. 6-2 CURVAS TEÓRICAS DE (A) REFLECTANCIA Y (B) TRANSMITANCIA COHERENTE COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA PARA UNA MONOCAPA POLIDISPERSA DE ESPORAS DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i> A DIFERENTES CONCENTRACIONES $\rho$ , USANDO UNA POLARIZACIÓN TE. ....	97
FIG. 6-3 ARREGLO EXPERIMENTAL PARA MEDIR SIMULTÁNEAMENTE LA REFLECTANCIA Y TRANSMITANCIA COHERENTE DE UN HAZ LÁSER ENFOCADO SOBRE UNA REGIÓN PEQUEÑA DE LA MONOCAPA DE ESPORAS DEPOSITADA SOBRE EL PORTAOBJETOS. ....	98
FIG. 6-4 DATOS EXPERIMENTALES DE REFLECTANCIA COHERENTE PARA SIETE MUESTRAS DE MONOCAPAS DE ESPORAS DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i> , CON DISTINTAS CONCENTRACIONES $\rho_i$ , COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA. ...	99
FIG. 6-5 DATOS EXPERIMENTALES DE TRANSMITANCIA COHERENTE PARA SIETE MUESTRAS DE MONOCAPAS DE ESPORAS DE <i>PENICILLIUM DIGITATUM</i> , CON DISTINTAS CONCENTRACIONES $\rho_i$ , COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA. .	100
FIG. 6-6 CURVAS EXPERIMENTALES PARA $\Xi$ COMO FUNCIÓN DEL ÁNGULO DE INCIDENCIA $\theta_i$ , CON POLARIZACIÓN TE PARA DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ESPORAS SOBRE LA SUPERFICIE DE UN SUSTRATO. ....	101
FIG. 6-7 SIMULACIÓN DE LA REFLECTIVIDAD RELATIVA DURANTE EL PROCESO DE HEMOLISIS PARA UNA MONOCAPA DE ERITROCITOS CUBRIENDO UN SUSTRATO PLANO, A INCIDENCIA NORMAL, Y PARA ERITROCITOS DE DIMENSIONES $a_0 = b_0 = 3.5 \mu m$ Y $c_0 = 2.5 \mu m$ . LA FRACCIÓN DE CUBIERTA SUPERFICIAL INICIAL SE TOMÓ DE, $\theta_0 = 38\%$ . LA LÍNEA PUNTEADA CORRESPONDE A LA PRIMERA ETAPA Y LA SEGUNDA ETAPA SE DESCRIBE CON LA LÍNEA CONTINUA. LA SIMULACIÓN SE REALIZÓ PARA DOS LONGITUDES DE ONDA, $\lambda_1 = 420 nm$ (LÍNEA AZUL) Y $\lambda_2 = 670 nm$ . ....	104
FIG. 6-8 SIMULACIÓN DE LA TRANSMITIVIDAD RELATIVA DURANTE EL PROCESO DE HEMOLISIS PARA UNA MONOCAPA DE ERITROCITOS CUBRIENDO UN SUSTRATO PLANO, A INCIDENCIA NORMAL, Y PARA ERITROCITOS DE DIMENSIONES $a_0 = b_0 = 3.5 \mu m$ Y $c_0 = 2.5 \mu m$ . LA FRACCIÓN DE CUBIERTA SUPERFICIAL INICIAL SE TOMÓ DE, $\theta_0 = 38\%$ . LA LÍNEA PUNTEADA CORRESPONDE A LA PRIMERA ETAPA Y LA SEGUNDA ETAPA SE DESCRIBE CON LA LÍNEA CONTINUA. LA SIMULACIÓN SE REALIZÓ PARA DOS LONGITUDES DE ONDA, $\lambda_1 = 420 nm$ (LÍNEA AZUL) Y $\lambda_2 = 670 nm$ . ....	105
FIG. 6-9 ARREGLO EXPERIMENTAL PARA MONITOREAR EL PROCESO DE HEMÓLISIS EN UNA MONOCAPA DE ERITROCITOS INMERSAS EN AGUA TRIDESTILADA, A TRAVÉS DE LA TRANSMITANCIA RELATIVA. ....	106
FIG. 6-10 TRANSMITANCIAS RELATIVAS EXPERIMENTALES PARA TRES MUESTRAS DE MONOCAPAS CON ERITROCITOS HUMANOS INMERSAS EN AGUA. ....	107





# 1 INTRODUCCIÓN

Uno de los fenómenos más comunes en la naturaleza, y sin duda, el más percibido por nuestro sentido de la visión es la interacción de la luz con la materia. En general podemos definir algunas propiedades ópticas de la materia a partir de esta interacción, tales como: contraste, brillo, color, opacidad, transparencia, etc. Esta interacción depende de las características de los campos electromagnéticos de la luz, así como de la composición, de la microestructura y de la forma macroscópica de los materiales. En consecuencia, al interactuar las ondas electromagnéticas con la materia, éstas propagan las perturbaciones locales en sus campos a través del material. De manera muy general podemos afirmar que la luz, junto con nuestro sentido de la visión o un fotodetector, se comportan como un sensor óptico simple. Sin embargo, nuestro sentido de la visión es limitado y subjetivo por lo que requerimos de detectores opto-eléctricos bien caracterizados cuando se desean estudiar algunas de las propiedades ópticas en los materiales de una manera cuantitativa y reproducible. Por ejemplo: medir el índice de refracción, la polarización, la reflectividad, la transmitividad, etc. De aquí la importancia de emplear una onda electromagnética como sensor con el fin de conocer la composición y estado de la materia; para su aplicación en el monitoreo de procesos físicos o químicos [1-6]. Por ejemplo, de manera muy general podemos monitorear la reflectividad de una película o monocapa metálica depositada sobre algún sustrato plano e inmersa en una matriz, como un gas, un líquido o un sólido. Al interactuar las partículas con la matriz o entre sí, ya sea de manera física o química, hacen que las propiedades de ésta cambien con el tiempo, provocando que la luz reflejada por el sustrato cubierto por la película (o monocapa) se vea afectada. De esta manera es posible detectar cambios en las propiedades de la película (o la monocapa) aprovechando la interacción de la luz con ésta.

Muchas de estas películas o monocapas metálicas están constituidas de nanopartículas metálicas, comúnmente oro o plata, depositadas sobre alguna interface plana o inmersas en algún medio, donde se aprovechan sus propiedades plasmónicas en la aplicación de sensores eléctricos o biológicos [7- 5]; incluyendo sensores ultra sensitivos [14-22]. En todo caso es necesario entender de qué parámetros dependen la reflexión de una onda electromagnética al incidir sobre un sustrato parcialmente cubierto por un sistema aleatorio de partículas, o una película, ambas constituidas de materiales metálicos o dieléctricos, esto con el fin de caracterizar este tipo de sistemas y usar la reflexión, i.e. la onda electromagnética reflejada, como un sensor óptico-eléctrico, véase las siguientes referencias [23, 24].

Para el caso que nos concierne, en este trabajo de investigación, nos encaminamos a estudiar los efectos en la reflexión y transmisión de luz coherente de sistemas granulares de una sola capa compuestos por partículas con tamaños mayores a la longitud de onda de la radiación incidente, con un índice de refracción, en magnitud, similar al índice de refracción de la matriz que las rodea, con formas aleatorias, y depositadas sobre la superficie de un sustrato plano. A este tipo de sistemas compuestos por partículas depositadas de manera aleatoria sobre la superficie plana de un sustrato, de una sola capa, se les conoce con el nombre de monocapas desordenadas. Por lo tanto, para estudiar este tipo de sistemas es necesario desarrollar un modelo teórico y validar este modelo a través de la experimentación. El tener un modelo teórico validado experimentalmente puede ser de gran utilidad por su aplicabilidad a monocapas con características muy particulares. Por ejemplo, si las partículas biológicas se fijan a la superficie de un sustrato plano y están posicionadas aleatoriamente sobre una gran porción de la superficie podemos considerar la biopelícula resultante como una monocapa desordenada de partículas biológicas. Además, la mayoría de este tipo de partículas tienen bajo contraste y sus tamaños son del orden de micrómetros, [25, 26]. El contar con un modelo teórico con expresiones relativamente sencillas y que no se restringe únicamente a partículas con formas esféricas, nos abre la posibilidad de adentrarnos al estudio de sistemas biológicos como lo es la óptica de biopelículas, abriéndonos nuevos tópicos de investigación dentro del área médico-biológicas.

## **1.1 Motivación del estudio**

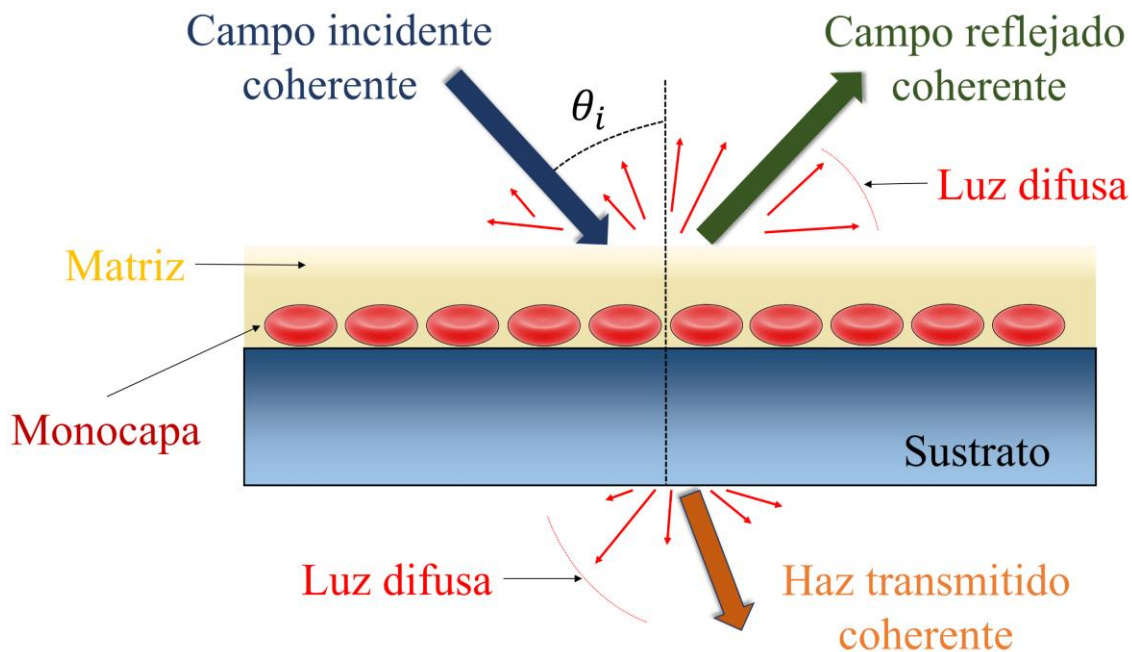
La óptica de biopelículas ha ganado la atención de la comunidad científica en las últimas décadas debido al alto potencial que habría en muchas aplicaciones tecnológicas en la actualidad [27-31]. Muchos materiales biológicos están hechos de células y, desde



un punto de vista óptico, muchas de ellas en su medio natural pueden ser consideradas como partículas grandes y tenues. Por partículas grandes queremos decir que sus dimensiones son comparables o más grandes que la longitud de onda del haz que incide sobre éstas, y por partículas tenues nos referimos a que la diferencia entre el índice de refracción del medio interior de la célula  $n_p$ , y del índice de refracción del medio que rodea a ésta  $n_m$ , es pequeña. En otras palabras, el índice de refracción relativo definido como  $m = n_p/n_m$  es cercano a uno.

Las células biológicas han sido estudiadas ópticamente por muchos años. Muchas veces se suspenden en soluciones transparentes y la luz esparcida por el sistema es analizado [32- 41]. Por otra parte, es posible estudiarlas depositándolas sobre un sustrato plano para su análisis óptico. Por ejemplo, cuando las células deben ser visualizadas con un microscopio óptico, éstas se depositan sobre un portaobjetos y se retienen con la ayuda de un cubreobjetos, ver Ref. [42]. Pero la imagen visualizada por el microscopio, usualmente analiza un número relativamente pequeño de células por imagen. Por ende, para obtener más información sobre un gran número de células, por ejemplo, conocer acerca de su tamaño, forma, composición química, fracción de cubierta, el microscopio requiere de ser complementado con otras mediciones para este estudio. Una técnica óptica atractiva para el estudio de estas propiedades sería midiendo la reflectancia y transmitancia como función de la longitud de onda, o bien, mediante las curvas de reflectividad y transmitividad como función del ángulo de incidencia [1, 5, 23, 43]. Las ventajas de emplear técnicas ópticas, es que no son invasivas, su implementación es sencilla, y son sensibles al monitoreo de procesos físicos o químicos.

Por otra parte, los espectros de transmitancia de un conjunto de células que contienen alguna solución compleja de moléculas biológicas serán en general diferentes del espectro de absorción de la propia solución, debido al esparcimiento de luz originado por las partículas biológicas. Por lo tanto, en la actualidad para obtener los espectros de absorción del fluido dentro de la célula es necesario romper la membrana de la célula de manera tal que el fluido se diluya con el medio matriz que rodea a la célula, para posteriormente obtener sus espectros. El trabajo desarrollado en esta tesis puede ser de gran utilidad en situaciones donde se requiera diferenciar los espectros de absorción del interior de la célula sin necesidad de destruirla usando técnicas ópticas.



**Fig. 1-1** Ilustración de la componente coherente y componente difusa para un haz de luz reflejado y transmitido, cuando se le hace incidir un haz colimado a un sustrato cubierto por una monocapa desordenada de partículas grandes.

Con el fin de realizar un análisis óptico detallado de un conjunto de células biológicas, es conveniente tener a la mano modelos teóricos simples que nos permitan determinar la reflectividad y transmitividad de luz en superficies parcialmente cubiertas por monocapas de partículas biológicas. Por reflectividad y transmitividad, se quiere decir la reflectancia y transmitancia óptica de un haz de luz bien colimado. En general, éstas se pueden modelar con la componente coherente de la reflectancia y transmitancia. En sistemas aleatorios de partículas, uno puede dividir el campo reflejado (o transmitido) en dos componentes: una componente coherente y una componente difusa. La componente coherente corresponde al campo promedio configuracional tomando todas las configuraciones posibles permitidas por el sistema y la componente difusa corresponde a las fluctuaciones sobre el campo promedio [5,23,44-46]. En el caso de un haz bien colimado el cual incide sobre una monocapa desordenada de partículas cubriendo una superficie plana la onda coherente, reflejada o transmitida, permanecerá colimada, es decir en un cono angular muy delgado, mientras que la componente difusa se distribuye suavemente sobre un cono angular mucho más ancho, véase la Fig. 1.1. La contribución de luz difusa a un detector direccional usado para medir la componente coherente de luz es usualmente despreciable. Por lo tanto, el cuadrado del coeficiente de reflexión coherente de una monocapa desordenada de partículas nos da directamente la reflectividad, mientras que la transmitividad puede deducirse con el coeficiente de

transmisión coherente como si la luz hubiera sido transmitida a través de una interfaz plana [47, 48]. De aquí la motivación de desarrollar un modelo teórico que nos permita calcular los coeficientes de reflexión y transmisión coherente de un sustrato cubierto por una monocapa desordenada de partículas grandes y tenues. Dada la complejidad matemática del problema, para obtener expresiones simples, útiles en aplicaciones de mediciones ópticas, es necesario obtener una solución aproximada al problema. Como es usual en este tipo de problemas, al derivar el modelo teórico resulta ser complicado conocer el régimen de validez de la teoría deducida. Por lo que es necesario poner a prueba los modelos derivados comparándolos con mediciones experimentales en sistemas controlados.

El modelo derivado en esta tesis para superficies parcialmente cubiertas por partículas grandes y tenues, viene a complementar un modelo previamente propuesto que ha demostrado ser muy bueno para describir la reflectancia y transmitancia coherente en monocapas de partículas altamente esparcidoras de luz, denominado Modelo de Esparcimiento Múltiple (MME), ver Refs. [5, 23]. Sin embargo, el MME se sospecha estar limitado a partículas con un tamaño mayor a la longitud de onda del haz incidente y ángulos de incidencia bajos. El nuevo modelo toma en cuenta la interacción de la luz con la partícula y su imagen en el sustrato, a diferencia del MME que toma en cuenta este efecto de manera promedio únicamente. Ambos modelos se complementan y nos dan una teoría de reflexión y transmisión de luz coherente para sustratos cubiertos parcialmente por monocapas de partículas pequeñas y grandes.

## 1.2 Aportaciones de esta tesis

En la actualidad existen diferentes modelos teóricos para estudiar el esparcimiento de luz en sistemas de partículas, por lo general estos se pueden dividir en dos tipos, *modelos de esparcimiento simple* [44] y *modelos de esparcimiento múltiple* [23]. Muchos de ellos con soluciones aproximadas y otros que requieren cálculos numéricos avanzados. Para el caso que nos concierne, con partículas comparables o más grandes que la longitud de onda del campo incidente y de bajo contraste, el esparcimiento y absorción puede ser calculado usando la *Aproximación por Difracción Anómala (ADA)*, independientemente de la forma que posea la partícula. Sin embargo, para nuestro conocimiento ADA sólo se ha utilizado para partículas en suspensión. No tenemos conocimiento previo de un análisis teórico enfocado a estudiar el esparcimiento de luz coherente de monocapas con partículas biológicas depositadas sobre un sustrato plano. Por lo tanto, en este trabajo se desarrolla un modelo teórico simple basado en ADA que

permite calcular la reflectancia y transmitancia coherente de un sustrato cubierto parcialmente por una monocapa desordenada de partículas grandes y de bajo contraste, no necesariamente esféricas, para su aplicación en el estudio óptico de monocapas biológicas. De manera general, la deducción del modelo se basa en aproximar el campo eléctrico esparcido sobre la región correspondiente a la forma geométrica que posee la partícula proyectada sobre un plano usando ADA, y posteriormente propagar este campo al campo lejano usando un procedimiento de expansión de una onda plana vectorial. Posteriormente, se obtiene el promedio configuracional de este campo sobre diferentes posiciones de la partícula, obteniéndose así el campo promedio, es decir la componente coherente del campo esparcido. Finalmente, para darle sustento al modelo teórico se desarrolla una parte experimental en este trabajo para poner a prueba el modelo desarrollado con dos tipos de monocapas desordenadas, una empleando partículas esféricas sintéticas de poliestireno y otra con partículas biológicas, específicamente eritrocitos humanos (glóbulos rojos). Finalmente, ilustramos algunas aplicaciones sencillas en sensores de partículas biológicas empleando el Modelo de Esparcimiento Múltiple (MME) y el modelo basado en ADA.

El trabajo de investigación recabado en esta tesis nos permitió la publicación de dos artículos de investigación y un en proceso de revisión los cuales se citan a continuación:

- O. Vázquez-Estrada, G. Morales-Luna, A. Reyes-Coronado, A. Calles-Martínez y A. García-Valenzuela, «*Sensitivity of optical reflectance to deposition of plasmonic nanoparticles and limits of detection,*» *JNP*, Vol. 10 (2), p. 026019, 2016.
- O. Vázquez-Estrada y A. García-Valenzuela, «*Collimated light reflection and transmission of a surface partially covered by large and tenuous particles,*» *Appl. Opt.*, Vol. 55 (31), pp. 8657-8666, 2016.

Y en revisión el siguiente artículo para la revista *Applied Optics (OSA)*, con el título y autores siguientes:

- O. Vázquez-Estrada y A. García-Valenzuela, «*Reflectivity and transmissivity of a surface covered by a disordered monolayer of large and tenuous particles: Theory versus experiment*».

### **1.3 Objetivos y metas**

Los objetivos y metas primordiales que nos guiaron a llevar al cabo la investigación en este trabajo son:

- Desarrollar un modelo teórico que nos permita calcular la reflectancia y transmitancia coherentes en sustratos cubiertos por monocapas con partículas de bajo contraste, con dimensiones mayores a la longitud de onda del haz incidente, con forma geométrica arbitraria, depositadas sobre un sustrato plano.
- Corroborar el modelo teórico de manera experimental, midiendo curvas de reflectancia y transmitancia como función de la longitud de onda y como función del ángulo de incidencia, para dos tipos de monocapa.
- Comparar el modelo teórico con el modelo de esparcimiento múltiple MME [23], usando los resultados experimentales (en partículas esféricas sintéticas), con el fin de verificar si el modelo describe mejor los resultados experimentales en el caso de partículas de bajo contraste, tamaño grande y el ángulo de incidencia bajo.
- Validada la utilidad del modelo teórico mediante la comparación con experimentos, extender el estudio a una aplicación de los modelos existentes de reflectividad coherente de monocapas desordenadas dentro del área biológica.

Entre las metas principales se contemplaron,

- Implementar código de cómputo para evaluar eficientemente el modelo teórico desarrollado con ADA para simular la reflectividad y transmitividad como función de la longitud de onda y del ángulo de incidencia.
- Implementar el arreglo experimental, usando la configuración por reflexión externa, para medir la reflectancia y transmitancia como función de la longitud de onda, a incidencia normal, de un sustrato plano cubierto por una monocapa.
- Implementar el arreglo experimental, usando la configuración por reflexión externa, para medir curvas de reflectancia y transmitancia coherentes como función del ángulo de incidencia, para un haz monocromático, de un sustrato cubierto por una monocapa.
- Explorar un par de aplicaciones a biopelículas de la reflectividad y/o transmitividad de luz, ya sea para el monitoreo de la fracción de cubierta o de la forma o tamaño de células sobre un sustrato plano.

## 1.4 Contenido

El trabajo presentado a continuación se divide en dos partes principales: una parte teórica abordada en los capítulos 2, 3, y 4, y una parte experimental, desarrollada en los capítulos 5 y 6. En el capítulo 2 se presenta una deducción alterna del modelo de

esparcimiento múltiple MME, de la Ref. [23], adjuntando algunas simulaciones numéricas de la reflectancia y transmitancia, como función del ángulo de incidencia y de la longitud de onda, para dos tipos de monocapas metálicas (oro y plata). En el capítulo 3 se presenta una deducción detallada de la Aproximación por Difracción Anómala (ADA), alterna a la presentada en el libro de van de Hulst [49], junto con algunas simulaciones numéricas. Dentro del capítulo 4 se desarrolla formalmente el modelo teórico usando ADA. Además, se presentan varias simulaciones numéricas de reflectividad y transmitividad, analizando los efectos en éstas, como función de la longitud de onda y del ángulo de incidencia, al cambiar la forma y orientación del conjunto de partículas que conforman la monocapa; manteniendo una fracción de cubierta de superficie constante, o bien, una densidad de partículas constante. Los resultados experimentales se presentan en el capítulo 5, donde se comparan teórica y experimentalmente los espectros relativos de reflectancia y transmitancia para dos tipos de monocapas, unas con partículas de poliestireno de  $1.8 \mu m$  de diámetro y otras con eritrocitos humanos, a incidencia normal. Además, se hace una comparación teórico-experimental de las curvas de reflectancia y transmitancia coherente, como función del ángulo de incidencia a una longitud de onda específica, para los dos tipos de monocapas. En el capítulo 6 se presentan de manera breve algunas aplicaciones importantes del MME y del nuevo modelo basado en ADA empleando partículas biológicas. El trabajo finaliza en el capítulo 7, apartado donde se presentan las conclusiones generales correspondientes a la parte teórica y experimental.

# 2 MODELO DE ESPARCIMIENTO MÚLTIPLE (MME)

Un modelo de esparcimiento múltiple fue desarrollado relativamente hace poco tiempo [23], el cual permite calcular la reflexión y transmisión de luz coherente esparcida por una monocapa desordenada con y sin sustrato. Por simplicidad aquí nos referiremos a este modelo como el Modelo de Esparcimiento Múltiple (MME). En la Ref. [23] se da una derivación formal y detallada de MME usando rigurosamente la teoría de esparcimiento múltiple [50]. En este capítulo se presenta una derivación alterna más simple, pero hasta cierto punto heurística de las mismas fórmulas obtenidas en la Ref. [23]. Junto con la deducción teórica se presentan gráficas 3D de la reflectancia coherente como función de la longitud de onda y como función del ángulo de incidencia para dos monocapas de partículas metálicas (oro y plata).

## 2.1 Teoría de Esparcimiento Múltiple

Si las partículas de una monocapa desordenada no son muy pequeñas en comparación con la longitud de onda de la radiación incidente, no es posible aproximar el campo esparcido por las partículas que conforman la monocapa como la radiada por un dipolo eléctrico oscilante. En general, multipolos de orden superior son inducidos en las partículas y la complejidad matemática de las ecuaciones de esparcimiento múltiple se incrementa considerablemente. Conforme se incrementa la eficiencia de esparcimiento de las partículas que conforman una monocapa, la componente difusa de la luz llega a ser

importante. Sin embargo, el esparcimiento de luz difusa se extiende sobre grandes ángulos sólidos y uno puede restringir su atención sólo a la luz colimada que se refleja y se transmite por una monocapa desordenada. La reflexión y transmisión de luz, colimada a colimada, pueden aproximarse bien con los coeficientes de reflexión y transmisión coherentes, que corresponden a los respectivos coeficientes para el ensamble o promedio configuracional de los campos electromagnéticos. Con el fin de llegar a fórmulas analíticas útiles se debe encontrar un modelo que se pueda aplicar a monocapas con una fracción de cubierta relativamente baja. En este caso es posible hacer aproximaciones válidas que conducen a expresiones simples de considerable valor en muchas aplicaciones.

De hecho, para monocapas diluidas con partículas de tamaño arbitrario, la estrategia del MME es resolver primero los coeficientes de reflexión y transmisión para una monocapa aislada y libre de soporte, para luego introducir el sustrato teniendo en cuenta las múltiples reflexiones del campo coherente entre la interfaz del sustrato y la monocapa de partículas. De esta manera se elude tratar con partículas imagen lo cual es matemáticamente complicado cuando las partículas no son muy pequeñas. Esta estrategia es consistente con la aproximación de campo efectivo en el que se supone que las partículas son excitadas por el campo promedio siempre que la densidad de volumen sea baja. En otras palabras, se supone que el campo local y el campo promedio son aproximadamente iguales, tomando en cuenta los efectos de esparcimiento múltiple, aunque de manera limitada.

## **2.2 Derivación simple de MME para una monocapa libre y asilada**

Supongamos que una onda plana incide sobre un conjunto diluido de partículas esféricas monodispersas (con tamaño idéntico), de radio  $a$  y con un índice de refracción  $n_p$ ; cuyos centros están distribuidos aleatoriamente dentro de un bloque con un espesor  $d$ . Supongamos que las dimensiones laterales del bloque son muy grandes en comparación con el tamaño de las partículas y de la longitud de onda de la radiación incidente. Por otra parte, definamos la fracción de volumen  $f_v$  como el cociente del volumen ocupado por todas las partículas dividido por el volumen del bloque que las contiene. Tomando el límite  $d \rightarrow 0$  el sistema se convierte en una monocapa aleatoria de partículas con fracción de cubierta superficial pequeña, denotada como  $\Theta$ .



Usando la Aproximación de Esparcimiento Simple (AES), las ondas reflejadas y transmitidas coherentes, fuera de la región del espacio ocupado por las partículas, están dadas por [51],

$$\langle \mathbf{E}_{\text{sca}}^t \rangle = -\alpha E_0 S(0), \quad (2.1)$$

$$\langle \mathbf{E}_{\text{sca}}^r \rangle = -\alpha E_0 \left( \frac{\sin k_z^i d}{k_z^i d} \right) S_n(\pi - 2\theta_i), \quad (2.2)$$

donde,  $n = 1$  o  $2$  para polarización TE o TM,  $\theta_i$  es el ángulo de incidencia para el haz incidente,  $k_z^i = k_m \cos \theta_i$ , siendo  $k_m$  el número de onda en el medio matriz que depende del índice de refracción de la matriz y de la longitud de onda del haz incidente en el vacío,  $S_1(\theta)$  y  $S_2(\theta)$  son los elementos de la diagonal de la matriz de amplitud de esparcimiento de una partícula aislada embebida en la matriz definida en la Ref. [52] y  $S(0) = S_1(\theta = 0) = S_2(\theta = 0)$  son los llamados elementos de amplitud de esparcimiento en la dirección de incidencia (*forward scattering*). Las funciones  $S_1(\theta)$  y  $S_2(\theta)$  se calculan usando la teoría de Mie, ver Ref. [52]. El factor  $\alpha$  está dado por,

$$\alpha = \frac{3k_m d}{2 \cos \theta_i} \left( \frac{f_v}{\chi^3} \right), \quad (2.3)$$

donde  $\chi = k_m a$  es el parámetro de tamaño de la partícula. El coeficiente de reflexión coherente de una monocapa desordenada y diluida de partículas, usando AES, se obtiene dividiendo el campo esparcido coherentemente en el hemisferio de reflexión por la amplitud de la onda incidente, mientras que el coeficiente de transmisión coherente se obtiene añadiendo la onda incidente y el campo esparcido coherentemente en el hemisferio de transmisión, y luego dividiendo por la amplitud de la onda incidente. Haciendo el grosor del bloque pequeño, es decir:  $d \rightarrow 0$ , se obtiene una expresión para el coeficiente de transmisión coherente dado por,

$$t_{\text{coh}} = 1 - \alpha S(0), \quad (2.4)$$

y para el coeficiente de reflexión coherente,

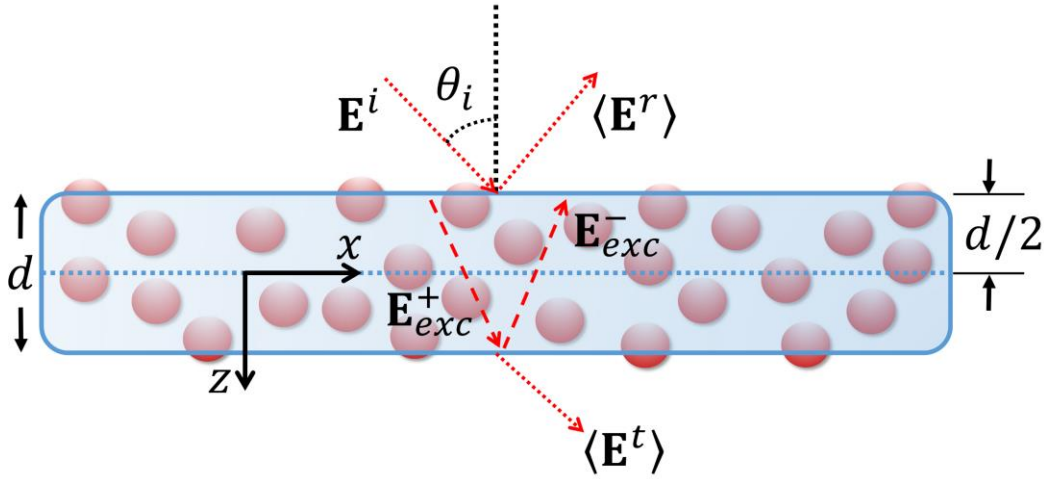
$$r_{\text{coh}} = -\alpha S_n(\pi - 2\theta_i). \quad (2.5)$$

En el límite cuando  $d \rightarrow 0$  se tiene que  $\alpha$  se reduce a la expresión,

$$\alpha = \frac{2\Theta}{\chi^2 \cos \theta_i}, \quad (2.6)$$

donde  $\Theta = N(\pi a^2)/A$  es la fracción de cubierta superficial, siendo  $N$  el número total de partículas y  $A$  el área donde se encuentran depositada la monocapa.

Claramente, ambos coeficientes en la AES, Ecs. (2.4) y (2.6), divergen cuando el ángulo de incidencia  $\theta_i$  tiende a ángulos rasantes, ver Ec. (2.6), ya que  $\alpha \rightarrow \infty$  cuando  $\theta_i \rightarrow \pi/2$ . Esto quiere decir que la aproximación AES está limitada para ángulos de incidencia bajos. Aunado a esto, el coeficiente de transmisión en la aproximación AES falla, incluso en el límite diluido, ya que su transmitancia, es decir, la magnitud al cuadrado del coeficiente suele ser mayor a uno cuando las partículas son pequeñas comparadas a la longitud de onda de la radiación incidente, ver Refs. [23, 44].



**Fig. 2-1** Esquema de ilustración de una onda plana incidiendo sobre un bloque aleatorio de partículas de anchura  $d$ . Los centros de las partículas están restringidos a estar dentro del bloque. La línea discontinua indica el plano que divide al bloque en dos mitades iguales,  $d/2$ . En promedio, la mitad de partículas está en la mitad del bloque superior y la otra mitad en la mitad del bloque inferior. El origen de las coordenadas se localiza sobre el plano a la mitad del bloque y el eje- $z$  apunta en la dirección de transmisión.

Para corregir las fallas de AES debemos tomar en cuenta los efectos debido a las contribuciones de esparcimiento múltiple sobre el campo que excita las partículas. Podemos hacer esto de una manera promedio, esto es, dividiendo artificialmente el bloque de partículas en dos bloques muy delgados y resolviendo el campo promedio sobre el plano entre ellas, ver Fig. 2.1. De esta manera, cualquier partícula dada será iluminada en promedio por los campos de esparcimiento originado por las otras partículas, además del campo incidente. Para este fin asumimos que, entre la mitad de los dos bloques delgados, ver Fig. 2.1, la onda promedio consiste de dos ondas planas. Una viajando en la dirección de incidencia y la otra viajando en la dirección especular, que podemos escribir como,

$$\mathbf{E}_{exc} = E_{exc}^+ e^{ik^i \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_i + E_{exc}^- e^{ik^r \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_r, \quad (2.7)$$

donde  $\mathbf{k}^i = k_m \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x + k_m \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z$ ,  $\mathbf{k}^r = k_m \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x - k_m \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z$ , y los vectores unitarios  $\hat{\mathbf{e}}_i$  y  $\hat{\mathbf{e}}_r$  son los vectores de polarización respectivos a la onda incidente y a la onda reflejada especularmente. Esto puede ser para polarización TE o TM. Supongamos que ambas mitades del bloque de partículas (cada una de anchura  $d/2$ ) son excitadas por estas dos ondas, entonces podemos calcular los campos promedios esparcidos en el plano imaginario que hay entre las dos mitades del bloque (el plano correspondiente a  $z = 0$ ), véase la Fig. 2.1. Para ser auto consistente con esta afirmación usamos la siguiente argumentación.

Para determinar el campo promedio en cualquier punto del espacio debemos sumar el campo incidente más el campo promedio de los campos radiados por todas las partículas que conforman el bloque entero. Ignorando el tamaño real de las partículas y asumiendo que estas son fuentes emisoras puntuales de Mie, los campos radiados pueden calcularse fácilmente en cualquier punto del espacio dentro del bloque de partículas (excepto dentro de las partículas puntuales). Esto se hace suponiendo que, independientemente de la ubicación de las partículas esféricas, sólo hay dos direcciones en la que los campos esparcidos interfieren constructivamente, por lo tanto, las dos ondas planas excitadoras en la Ec. (2.7) son, en promedio, los únicos campos incidentes sobre cualquier partícula. Enseguida utilizamos las fórmulas derivadas para AES para cada una de las mitades del bloque. En sistemas diluidos de partículas se puede considerar a las partículas como partículas puntuales, esto quiere decir, que en promedio las partículas están alejadas unas de otras, ver Ref. [51]. Esto es equivalente a ignorar la correlación estadística entre las posiciones de las partículas debido a su tamaño finito y por esta razón la función de correlación para dos partículas no aparece en las fórmulas finales.

En el plano  $z = 0$  el campo promedio viajando en la dirección de incidencia,  $\mathbf{E}_{exc}^+$ , está dado por el campo incidente más el campo radiado por la mitad del bloque superior en la dirección de incidencia, esto considerando partículas puntuales. Estos campos radiados pueden ser calculados como aquellos que corresponderían a los transmitidos y reflejados desde la mitad del bloque superior de partículas ( $-d/2 < z < 0$ ); dentro AES, como si una onda plana  $E_{exc}^+ e^{i\mathbf{k}^i \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_i$  estuviera incidiendo desde arriba y una onda plana  $E_{exc}^- e^{i\mathbf{k}^r \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_r$  incidiera desde abajo. De la misma manera, se puede calcular el campo promedio viajando en la dirección especular,  $E_{exc}^-$ , en  $z = 0$  como los campos que podrían ser transmitidos y reflejados desde la mitad del bloque inferior de partículas ( $0 < z < d/2$ ); dentro AES, como si una onda plana  $E_{exc}^+ e^{i\mathbf{k}^i \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_i$  fuera incidente desde arriba y una onda plana  $E_{exc}^- e^{i\mathbf{k}^r \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_r$  fuera incidente desde abajo. Ahora requerimos que el campo

promedio en  $z = 0$  sea igual al campo excitado. Esta es la llamada aproximación de campo efectivo [50]. Consistentemente se obtienen las siguientes ecuaciones,

$$E_{exc}^+ e^{ik^i \cdot r} \hat{e}_i = \left[ E_0 - \frac{1}{2} \alpha S(0) E_{exc}^+ - \frac{1}{2} \alpha S_n(\pi - 2\theta_i) E_{exc}^- \right] e^{ik^i \cdot r} \hat{e}_i, \quad (2.8)$$

y,

$$E_{exc}^- e^{ik^r \cdot r} \hat{e}_r = \left[ -\frac{1}{2} \alpha S_n(\pi - 2\theta_i) E_{exc}^+ - \frac{1}{2} \alpha S(0) E_{exc}^- \right] e^{ik^r \cdot r} \hat{e}_r, \quad (2.9)$$

donde el factor  $(1/2)$ , multiplicando  $\alpha$  en las Ecs. (2.8) y (2.9), se debe a que la anchura del bloque superior e inferior corresponde a la mitad del bloque completo, ver Fig. 2.1, (por lo tanto, en promedio, la mitad de las partículas pertenece a un bloque y la otra mitad pertenece al otro). Al derivar las Ecs. (2.8) y (2.9) se usó el hecho de que una onda plana se desplaza en la dirección de incidencia cuando se refleja por un bloque de partículas, cambiando su vector de polarización de  $\hat{e}_i$  a  $\hat{e}_r$ , y una onda plana, viajando en la dirección especular, cuando se refleja, cambia su polarización de  $\hat{e}_r$  a  $\hat{e}_i$ . Resolviendo las Ecs. (2.8) y (2.9), obtenemos el siguiente par de expresiones respectivas,

$$E_{exc}^+ = \frac{\left[ 1 + \frac{1}{2} \alpha S_n(0) \right] E_0}{1 + \alpha S(0) + \frac{1}{4} \alpha^2 [S^2(0) - S_n^2(\pi - 2\theta_i)]}, \quad (2.10)$$

y,

$$E_{exc}^- = \frac{\left[ -\frac{1}{2} \alpha S_n(\pi - 2\theta_i) \right] E_0}{1 + \alpha S(0) + \frac{1}{4} \alpha^2 [S^2(0) - S_n^2(\pi - 2\theta_i)]}. \quad (2.11)$$

Para calcular los coeficientes de reflexión y transmisión de la onda promedio, es decir, los llamados coeficientes de reflexión y transmisión coherentes, es necesario determinar los campos promedio fuera del bloque de partículas. Se debe sumar el campo incidente y los campos promediados radiados. Esto puede calcularse fácilmente suponiendo que dos ondas planas excitadoras inciden sobre todas las partículas inmersas en el bloque entero de anchura  $d$  y utilizando las fórmulas de AES. El campo promedio total transmitido es,

$$\mathbf{E}_{coh}^t = \mathbf{E}^i + \langle \mathbf{E}_{coh}^t \left( z > \frac{d}{2} \right) \rangle = \left[ E_0 - \frac{\alpha E_{exc}^+}{\cos \theta_i} S(0) - \frac{\alpha E_{exc}^-}{\cos \theta_i} S_n(\pi - 2\theta_i) \right] e^{ik^i \cdot r} \hat{e}_i,$$

y el campo total reflejado se simplifica como,

$$\mathbf{E}_{coh}^r = \langle \mathbf{E}_{sca}^r \left( z < -\frac{d}{2} \right) \rangle = \left[ -\frac{\alpha E_{exc}^+}{\cos \theta_i} S_n(\pi - 2\theta_i) - \frac{\alpha E_{exc}^-}{\cos \theta_i} S(0) \right] e^{ik_z^r \cdot \mathbf{r}} \hat{\mathbf{e}}_r.$$

donde  $n = 1$  o  $2$  para polarización TE o TM, y se ha tomado en cuenta que  $k_z^i \ll 1$  en las expresiones de AES. Por otra parte, los coeficientes de reflexión y transmisión coherente se pueden expresar como,  $r_{coh} = E_{coh}^r/E_0$  y  $t_{coh} = E_{coh}^t/E_0$ .

Tomando el limite  $d \rightarrow 0$  y usando la Ec. (2.6), los coeficientes de reflexión y transmisión coherentes para una monocapa de partículas monodispersas de radio  $a$  aislada y libre, están dados como,

$$r_{coh} = -\frac{\alpha S_n(\pi - 2\theta_i)}{1 + \alpha S(0) + \frac{1}{4} \alpha^2 [S^2(0) - S_n^2(\pi - 2\theta_i)]}, \quad (2.12)$$

y,

$$t_{coh} = \frac{1 - \frac{1}{4} \alpha^2 [S^2(0) - S_n^2(\pi - 2\theta_i)]}{1 + \alpha S(0) + \frac{1}{4} \alpha^2 [S^2(0) - S_n^2(\pi - 2\theta_i)]}. \quad (2.13)$$

Como nota adicional, pudimos haber elegido la localización del plano en otra posición distinta a la usada en  $z = 0$ , para las Ecs. (2.8) y (2.9), y se habrían obtenido resultados algo diferentes. Por ejemplo, si hubiéramos elegido el plano en  $z = d/2$ , es decir, justo después del bloque completo de partículas, habríamos llegado a los coeficientes de reflexión y transmisión propuestos en la siguiente Ref. [3]. Una comparación entre las predicciones de MME y del modelo en [3] para algunos ejemplos se da en la Ref. [23].

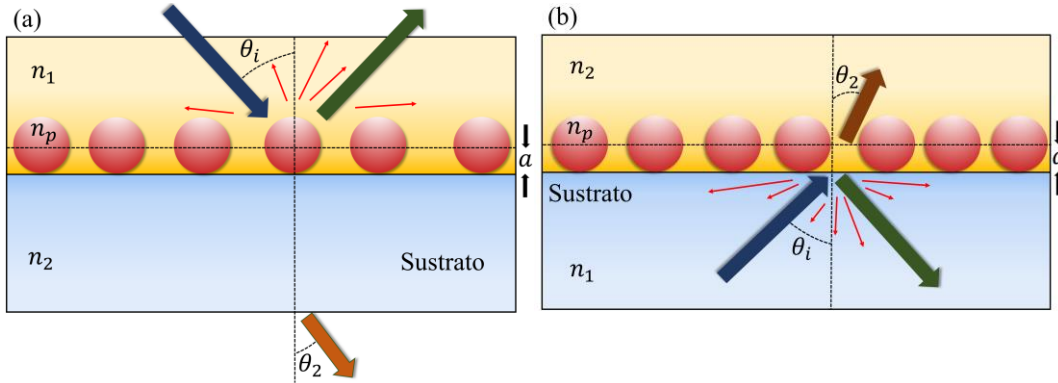
### 2.3 Introduciendo el sustrato

La idea de esta subsección es determinar los coeficientes de reflexión y transmisión coherentes para una monocapa monodispersa de partículas de radio  $a$  depositadas sobre la superficie de un sustrato plano. Para ello, vamos a suponer que las partículas están adsorbidas sobre una interface plana entre dos medios, denotados como medio 1 y medio 2, véase la Fig 2.2 (a-b). Vamos a suponer, como lo habíamos hecho previamente, que la monocapa la podemos representar como una superficie efectiva (como una película infinitamente delgada), con coeficientes de reflexión y transmisión dados por las expresiones (2.12) y (2.13) y una partícula de radio  $a$  localizada lejos de la interfaz. Entonces podemos calcular las múltiples reflexiones entre el plano efectivo de la monocapa y la interface entre el medio 1 y 2. Puesto que el radio de las partículas puede

ser comparable o más grande que la longitud de onda de la radiación incidente, debemos tomar en cuenta el retardo de fase de la onda promedio que viaja entre la interface y la superficie efectiva de la monocapa. Existen dos casos diferentes que se pueden considerar respecto a la ubicación de la monocapa, el primero de ellos es que las partículas pueden estar en el medio de incidencia [ver Fig. 2.2 (a)], y en el segundo caso, pueden estar en el medio de transmisión [ver Fig. 2.2 (b)]. Viendo el sistema desde el medio de incidencia, las partículas pueden estar antes o después de la interfaz. Si las partículas están localizadas antes de la interfaz, ver Fig. 2.2 (a), nosotros obtenemos [23],

$$r(\theta_i) = r_{coh}(\theta_i) + \frac{r_{12}(\theta_i)t_{coh}^2(\theta_i)e^{i\beta_1}}{1 - r_{12}(\theta_i)r_{coh}(\theta_i)e^{i\beta_1}}, \quad (2.14)$$

donde  $\beta_1 = 2ak_0n_1 \cos \theta_i$ ,  $r_{12}(\theta_i)$  y  $t_{12}(\theta_i)$  son los coeficientes de reflexión y transmisión de Fresnel de la interface entre el medio 1 y medio 2 para una polarización dada (ya sea TE o TM). En la Ec. (2.14),  $r_{coh}$  y  $t_{coh}$  deben ser calculados para una monocapa de partículas embebida en un medio matriz con índice de refracción  $n_1$ , usando las Ecs. (2.12) y (2.13), respectivamente.



**Fig. 2-2** Monocapa de partículas esféricas caracterizadas con un índice de refracción  $n_p$ , (a) embebidas en una matriz con un índice de refracción  $n_1$  y depositadas sobre un sustrato con un índice de refracción  $n_2$ , y (b) embebidas en una matriz con un índice de refracción  $n_2$  y depositadas sobre un sustrato con un índice de refracción  $n_1$ , en ambos casos iluminados desde la matriz.

Para este tipo de configuración el coeficiente de transmisión lo podemos expresar como,

$$t(\theta_i) = \frac{t_{12}(\theta_i)t_{coh}(\theta_i)e^{\frac{i\beta_1}{2}}}{1 - r_{12}(\theta_i)r_{coh}(\theta_i)e^{i\beta_1}}. \quad (2.15)$$

Si las partículas están localizadas después de la interfaz como se muestra en la Fig. 2.2 (b), la onda incidente se refracta en la interfaz de acuerdo a la ley de Snell e ilumina a la monocapa con un ángulo transmitido de,

$$\theta_2 = \sin^{-1} \left( \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_i \right). \quad (2.16)$$

Para este caso el coeficiente de reflexión se puede escribir como [23],

$$r(\theta_i) = \frac{r_{12}(\theta_i) + r_{coh}(\theta_2)e^{i\beta_2}}{1 - r_{12}(\theta_i)r_{coh}(\theta_2)e^{i\beta_2}}, \quad (2.17)$$

donde  $\beta_2 = 2k_0an_2$  y en este caso  $r_{coh}$  debe ser calculado para una monocapa de partículas embebida en una matriz con índice de refracción  $n_2$ . La reflectancia coherente del sistema completo está dada por el producto del coeficiente de reflexión coherente por su complejo conjugado, i.e.,

$$R_{coh}(\theta_i) = r(\theta_i)r^*(\theta_i) = |r(\theta_i)|^2. \quad (2.18)$$

Las Ecs. (2.14), (2.15) y (2.16) pueden ser extendidas a sistemas de monocapas con partículas polidispersas, ver Ref. [5]; en este trabajo citado se comparan cálculos teóricos con curvas experimentales de reflectividad y transmitividad de una interfaz plana cubierta por una monocapa polidispersa de partículas altamente esparcidas. Los resultados comparados mostraron un muy buen ajuste entre la teoría y el experimento, incluso para monocapas moderadamente densas, a pesar de que las expresiones de MME se restringen a fracciones de cubierta bajas.

## 2.4 Reflectividad de sustratos cubiertos por monocapas con partículas de oro y plata

Hoy en día existen muchos procesos de fabricación para el depósito de nanopartículas metálicas sobre una superficie plana, por mencionar algunos ejemplos: deposición química de vapor, evaporación, *sputtering*, litografía, depósito por baño químico, etc., [53-58]. Sin embargo, durante su proceso de fabricación un parámetro deseable que se desea conocer es la cantidad de partículas depositadas sobre el sustrato i.e. la fracción de cubierta de superficie,  $\Theta$ . No obstante, a menudo no es posible examinar el depósito de las nanopartículas sobre la superficie del sustrato en tiempo real [14, 15, 59, 60]. Con frecuencia, muchos investigadores observan sus muestras fabricadas en un microscopio electrónico de barrido (SEM) o a un microscopio de fuerza atómica (FEM) con el fin de examinar la cantidad de nanopartículas depositadas sobre la superficie de un sustrato [61]; incluso algunos llegan a realizar una inspección visual. Para solucionar este

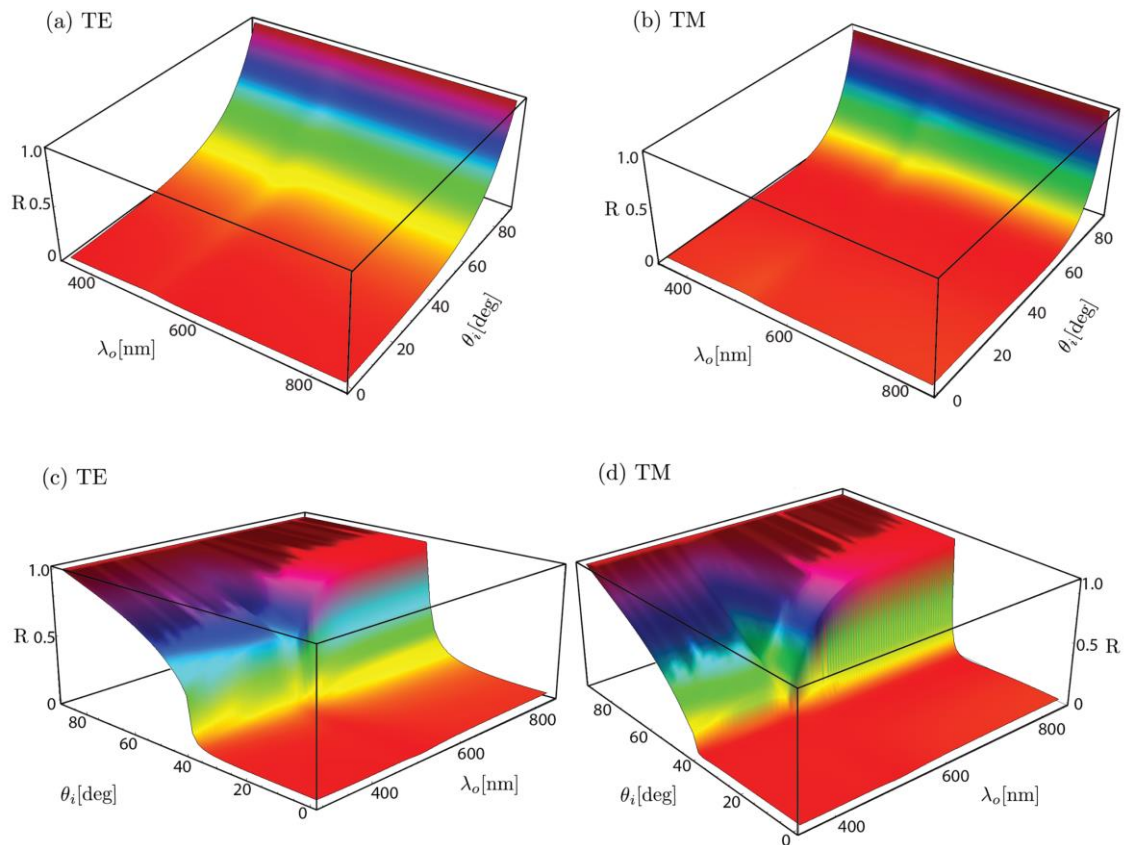
problema, podríamos emplear técnicas ópticas las cuales son rápidas, no invasivas y relativamente simples para ser empleadas *in situ*, proporcionándonos así información en tiempo real del depósito de la monocapa. De hecho, algunos investigadores han empleado mediciones de reflectividad óptica en el pasado para detectar y cuantificar la presencia de nanopartículas sobre un sustrato durante el proceso de fabricación de la monocapa, esto con el fin de tener un control de calidad, en tiempo real, sobre la muestra [1- 4, 15]. Sin embargo, hasta donde sabemos, estas mediciones se han realizado empíricamente y el estudio en la sensibilidad usando la reflectividad óptica, para detectar nanopartículas metálicas sobre un sustrato, no se ha evaluado con profundidad hasta la fecha. De aquí la importancia de emplear el MME para estudiar las propiedades ópticas de monocapas con nanopartículas metálicas [62]. De manera más específica, el MME nos permitiría estudiar teóricamente los límites en la sensibilidad de la reflectividad coherente, empleada como sensor, con el fin de inferir la mínima fracción de cubierta superficial detectable sobre un sistema constituido por nanopartículas plasmónicas formando una monocapa la cual está depositada sobre la superficie plana de un sustrato. Recordemos que una de las ventajas del modelo teórico presentado previamente es que no se limita a tamaños de partículas específicos, excepto para fracciones de cubierta de superficie moderadas, aproximadamente menores al 30%, y en monocapas con partículas esféricas [23]; el cual ha sido corroborado experimentalmente en monocapas con partículas altamente esparcidas, ver Ref. [5].

En general, es necesario elegir un método óptico óptimo antes de aplicar la reflectividad óptica como una herramienta de inspección durante el crecimiento de nanopartículas sobre un sustrato (o crecimiento de una monocapa). Por ejemplo, cuando el sustrato es transparente, podemos realizar mediciones en una configuración por reflexión externa o interna [48]. En el primer caso, la luz incide desde un medio con un índice de refracción menor al medio de transmisión, mientras que para la segunda opción la luz incide desde un material con un índice de refracción mayor que el medio de transmisión, para este último caso se puede presentar reflexión total interna. Además de elegir la longitud de onda, la polarización y el ángulo de incidencia óptimos para mediciones ópticas.

En la Fig. 2.3 mostramos gráficas en 3D correspondientes a la reflectancia para una monocapa de partículas de oro embebidas en aire ( $n_1 = 1.0$ ), soportadas por un sustrato de vidrio ( $n_2 = 1.518$ ), como función del ángulo de incidencia  $\theta_i$  y de la longitud de onda de la radiación incidente  $\lambda_0$ , para polarización TE [ver Fig. 2.3 (a)] y polarización

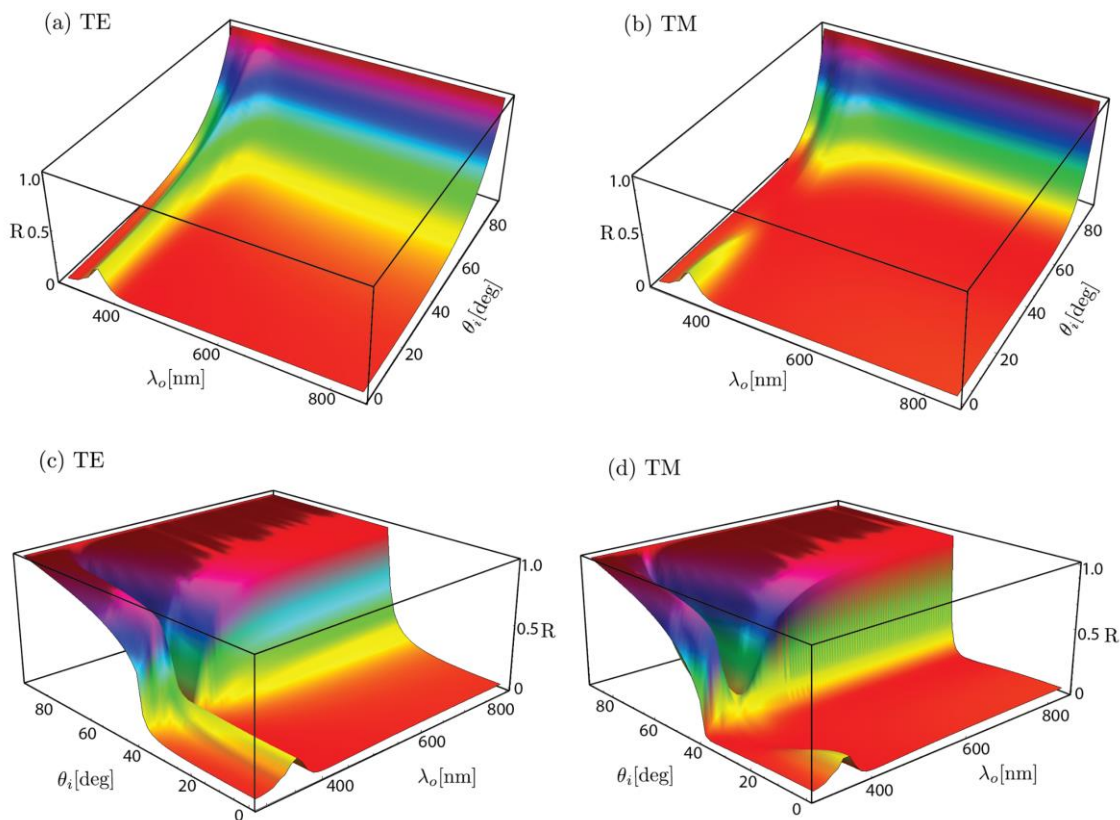


TM [ver Fig. 2.3 (b)], ambos en una configuración por reflexión externa, i.e. el haz que incide sobre el sistema viaja desde un medio con un índice de refracción menor a un medio con un índice de refracción mayor [48]. Para generar estas gráficas en 3D, se usaron las Ecs. (2.14), (2.17) y (2.18), donde se asumió un radio en las partículas de  $a = 30 \text{ nm}$ , todas del mismo tamaño (monocapa monodispersa) y con una fracción de cubierta superficial de  $\Theta = 12\%$ . El índice de refracción para las nanopartículas de oro (Au) y plata (Ag) se tomaron de los datos correspondientes a sus valores en bulto tabulados por *Johnson*



**Fig. 2-3** Reflectancia para una monocapa monodispersa de nanopartículas esféricas de oro, con un radio de  $a = 30 \text{ nm}$ , inmersas en aire y soportadas por un sustrato de vidrio, como función del ángulo de incidencia  $\theta_i$  y de la longitud de onda del haz incidente,  $\lambda_o$ . *and Christy* [63]. En las Figs. 2.3 (c-d) se grafican las reflectancias de la misma monocapa para polarización TE y TM respectivamente; pero en este caso la monocapa es iluminada usando una configuración por reflexión interna, esto es, la luz que incide sobre el sistema pasa de un medio con un índice de refracción mayor a un medio con un índice de refracción menor; esto da origen a que exista un ángulo crítico en  $41.8^\circ$ . Note que, para ambas configuraciones, con polarización TM, aparece un ángulo de Brewster, donde no existe reflexión en el sistema. Por otra parte, para la configuración por reflexión externa

(en ambas polarizaciones) alrededor de  $503 \text{ nm}$  podemos observar que hay un pequeño pico apenas apreciable [más notable para polarización TE, ver figura 2.3 (a)] que resalta sobre la superficie de la reflectancia 3D, ver Figs. 2.3 (a-b). Para una configuración por reflexión interna se puede observar una fuerte extinción de la reflectancia después del ángulo crítico, en el intervalo de longitudes de onda que va de los  $300$  a los  $573 \text{ nm}$ . Dentro de este rango de longitudes de onda el valor mínimo se produce en  $503 \text{ nm}$  [ver Figs. 2.3 (c-d)] para ambas polarizaciones. El pico observado en la configuración por reflexión externa se convierte en un valle cuando se usa una configuración por reflexión interna, para la misma longitud de onda. Estos picos y valles se deben a las oscilaciones colectivas de electrones libres dentro de las partículas esféricas metálicas, conocidas como resonancias de plasmón superficial.



**Fig. 2-4** Reflectancia para una monocapa monodispersa de nanopartículas esféricas de plata, con un radio de  $a = 30 \text{ nm}$ , inmersas en aire y soportadas por un sustrato de vidrio, como función del ángulo de incidencia  $\theta_i$  y de la longitud de onda del haz incidente,  $\lambda_0$ .

Usando los mismos parámetros que los empleados para caracterizar la monocapa de nanopartículas de oro (el mismo tamaño de partícula, la misma fracción de cubierta superficial y la misma interfaz aire-vidrio), consideraremos ahora una monocapa de nanopartículas esféricas de plata para la cual simulamos su reflectancia como función de la longitud de onda,  $\lambda_0$ , y del ángulo incidencia,  $\theta_i$ . En las Figs. 2.4 (a-b) se muestran las

reflectancias 3D usando la configuración por reflexión externa para dos polarizaciones, (a) TE y (b) TM; y en los incisos (c-d) se grafican las reflectancias para la misma monocapa empleando la configuración por reflexión interna con polarización (c) TE y (d) TM. Para la monocapa de partículas de plata, la resonancia del plasmón se localiza a una longitud de onda de  $363 \text{ nm}$ , ver Figs. 2.4 (a-b). Para la configuración por reflexión interna, véase las Figs. 2.4 (c-d), podemos observar el ángulo crítico y una fuerte extinción de la reflectancia, después del ángulo crítico, para un ancho espectral que va de los  $300$  a los  $450 \text{ nm}$ . Para la configuración externa, antes del ángulo crítico hay un pico que coincide con la longitud de onda donde se observa la resonancia plasmónica, esto es en  $363 \text{ nm}$ . Para ángulos mayores que el ángulo crítico, sobre el intervalo de  $300$  a  $450 \text{ nm}$ , el valor de reflectancia mínimo se localiza en  $363 \text{ nm}$  que corresponde a la resonancia del plasmón. En las Figs. 2.4 (b-d), podemos observar que el pico de la resonancia del plasmón se elimina debido al efecto del ángulo de Brewster alrededor de  $56.6^\circ$  para una configuración por reflexión externa y en  $33.4^\circ$  para una configuración por reflexión interna, ambas con una polarización TM. Además, para la monocapa de partículas de plata, el ángulo de Brewster es más notable que para la monocapa de partículas de oro, véase las Figs. 2.3 y 2.4 (b-d).

# 3 APROXIMACIÓN POR DIFRACCIÓN ANÓMALA

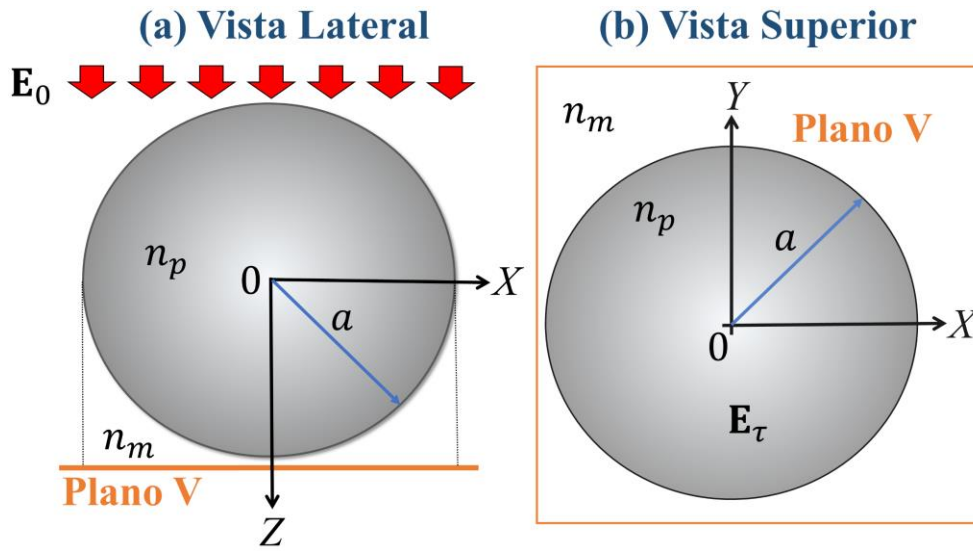
Como se mencionó al inicio de este trabajo uno de los objetivos principales de este proyecto de investigación es el desarrollo de un nuevo modelo teórico que nos permita deducir los coeficientes de reflexión y transmisión de luz coherente esparcida por un sustrato cubierto parcialmente por una monocapa de partículas de bajo contraste, con dimensiones mayores a la longitud de onda de la radiación incidente y con forma arbitraria. Una de las teorías que nos fue de gran apoyo para desarrollar el modelo teórico es la **Aproximación por Difracción Anómala (ADA)**, presentada por primera vez en 1957 por van de Hulst, en su libro “*Light scattering by small particles*” [49], la cual es en principio aplicable a cualquier forma de partícula y es una aproximación complementaria a la teoría de Mie [52]. La ventaja de ADA en comparación a otras aproximaciones es su simplicidad, cuya primacía principal es su aplicabilidad a partículas con forma arbitraria impuesta bajo dos condiciones: partículas de bajo contraste y tamaños mayores a la longitud de onda del haz incidente. Sin embargo, el planteamiento teórico de ADA formulado por van de Hulst [49], no es del todo claro y, puede llegar a ser un poco ambiguo. Previo a presentar el planteamiento y desarrollo del modelo teórico (presentado en el Cap. 4), la idea principal de esta sección es ejemplificar una deducción alternativa, formal y clara para ADA, usando el método de Rayleigh de fase estacionaria con el fin de simplificar la integral correspondiente a la amplitud del campo esparcido lejano por una partícula esférica de radio  $a \gg \lambda_0$ , usando un desarrollo matemático muy similar al presentado en la referencia [64], en el que se determina el campo radiado por una abertura con forma aleatoria.

### 3.1 Campo radiado por una partícula grande y de bajo contraste

Desde el siglo pasado y hasta el presente ADA ha sido usada ampliamente en muchos campos de la ciencia [65-70], y su validez ha sido estudiada en distintas ocasiones, [71-77]. Dentro del campo de las ciencias biológicas ha sido usada ampliamente en el estudio del esparcimiento de luz en células, bacterias, hongos, etc. [65], especialmente en eritrocitos [37, 65, 78]; hasta en el campo de las ciencias de la atmósfera, por mencionar, en el estudio de la absorción de la radiación solar en gotitas de nubes [66]. Una de las ventajas de esta aproximación es su aplicabilidad a partículas con formas geométricas complejas, como, esferoides, elipsoides, esferulitos [69, 78, 79], cilindros [68, 70], formas cúbicas [80, 81] u otra forma compleja que posea la partícula [67, 82].

ADA se basa en la premisa de que la luz que atraviesa una partícula es el resultado de la interferencia entre los “rayos” que pasan a través de la partícula con aquellos que no [49]. ADA impone dos condiciones: la primera de ellas (i) que el radio de la partícula sea mayor que la longitud de onda correspondiente a la radiación incidente, en otras palabras, un parámetro de tamaño mucho mayor a uno,  $\chi = k_m a \gg 1$ , donde  $k_m$  es el número de onda en el medio matriz con una expresión dada por,  $k_m = (2\pi n_m)/\lambda_0$ , siendo  $n_m$  el índice de refracción del medio matriz y  $\lambda_0$  la longitud de onda del haz incidente en el vacío, finalmente  $a$  es el radio de la partícula. La segunda condición impone que (ii) el índice de refracción relativo, expresado como  $m$ , debe ser cercano a uno, esto es,  $m = n_p/n_m \approx 1$ , donde  $n_p$  representa el índice de refracción de la partícula. La primera condición nos permite describir a la onda incidente, que atraviesa la partícula, como un conjunto de rayos; mientras que la segunda condición nos permite evitar reflexiones y refracciones de este conjunto de rayos cuando atraviesan la partícula, ya que el índice de refracción del medio matriz y el de la partícula son muy similares.

Supongamos que tenemos una partícula esférica de radio  $a$ , con índice de refracción  $n_p$  embebida en un medio con un índice de refracción  $n_m$  con un valor muy próximo al índice de la partícula (bajo contraste) y con un parámetro de tamaño,  $\chi \gg 1$ , a la cual se le hace incidir una onda electromagnética con campo eléctrico  $\mathbf{E}_0$ . Cercano a la partícula tenemos un plano  $V$ , donde se proyecta la sección transversal de la partícula sobre el plano  $xy$ , que corresponde a una sombra circular de radio  $a$ , véase la Fig. 3.1 (a-b). Supongamos que conocemos la componente tangencial del campo eléctrico sobre la sombra proyectada de la partícula sobre el plano  $V$ , denotamos este campo como  $\mathbf{E}_\tau$  (NOTA: El plano debe



**Fig. 3-1** (a) Partícula de radio  $a$  con índice de refracción  $n_p$  inmersa en un medio con índice de refracción  $n_m$  a la que se le hace incidir un campo eléctrico  $\mathbf{E}_0$ . (b) Sombra proyectada por la partícula sobre un plano  $V$ , donde existe un campo tangencial  $E_\tau$  en  $z = 0$ .

estar muy próximo a la partícula). Este campo satisface la ecuación de Helmholtz, que podemos escribirla como,

$$\nabla \times \nabla \times \mathbf{E} - k_m^2 \mathbf{E} = \nabla \nabla \cdot \mathbf{E} - \nabla^2 \mathbf{E} - k_m^2 \mathbf{E} = -i\omega\mu \mathbf{J}. \quad (3.1)$$

Para la región  $z > 0$  hemos denotado al campo eléctrico como  $\mathbf{E}$ , y en esta región donde la densidad de corriente  $\mathbf{J}$  es cero, por lo que la expresión (3.1) la podemos simplificar en el siguiente par de ecuaciones (para  $z > 0$ ):

$$\nabla^2 \mathbf{E} + k_m^2 \mathbf{E} = \left( \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} + k_m^2 \right) \mathbf{E}(x, y, z) = 0, \quad (3.2)$$

y

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \frac{\partial E_x}{\partial x} + \frac{\partial E_y}{\partial y} + \frac{\partial E_z}{\partial z} = 0. \quad (3.3)$$

Para las expresiones (3.2) y (3.3) se tiene que  $E_x = E_x(x, y, z)$ ,  $E_y = E_y(x, y, z)$ , y  $E_z = E_z(x, y, z)$ . Para resolver este par de ecuaciones aplicamos la transformada de Fourier, usando la siguiente identidad:  $F_x \frac{\partial u(x, y)}{\partial x} = -ik_x F_x u(x, y)$ ; de donde se obtienen, para las expresiones (3.2) y (3.3), las siguientes ecuaciones respectivas:

$$\left[ \frac{\partial^2}{\partial z^2} + (k_m^2 - k_x^2 - k_y^2) \right] \mathbf{E}(k_x, k_y, z) = \frac{\partial^2 E_z(k_x, k_y, z)}{\partial z^2} + k_z^2 \mathbf{E}(k_x, k_y, z) = 0, \quad (3.4)$$

y

$$k_x E_x(k_x, k_y, z) + k_y E_y(k_x, k_y, z) + i \frac{\partial}{\partial z} E_z(k_x, k_y, z) = 0. \quad (3.5)$$

En la expresión (3.4) se utilizó la identidad:  $k_z^2 = k_m^2 - k_x^2 - k_y^2$ . Ya que el campo consiste de dos ondas propagándose fuera del eje  $z$  entonces la solución general a la ecuación diferencial parcial (3.4) se puede escribir como,

$$\mathbf{E}(k_x, k_y, z) = \mathbf{f}(k_x, k_y) e^{-ik_z z} = (f_x, f_y, f_z) e^{-ik_z z}. \quad (3.6)$$

Sustituyendo (3.6) en la expresión (3.5), y tomando en cuenta que  $f_z = f_z(k_x, k_y)$ , el desarrollo de la expresión obtenida es:

$$k_x f_x e^{-ik_z z} + k_y f_y e^{-ik_z z} + f_z k_z e^{-ik_z z} = 0. \quad (3.7)$$

De la expresión (3.7) podemos concluir que  $\mathbf{k} \cdot \mathbf{f} = 0$ , siendo  $\mathbf{k} = (k_x, k_y, k_z)$  y  $\mathbf{f} = (f_x, f_y, f_z)$ , esto implica que sólo dos componentes del vector  $\mathbf{f}$  son independientes. Finalmente, aplicamos la Transformada de Fourier Inversa a la expresión (3.6), para obtener el campo eléctrico esparcido a partir de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $V$ , de donde se obtiene,

$$\mathbf{E}(x, y, z) = \frac{1}{4\pi^2} \iint_{-\infty}^{\infty} \mathbf{f}(k_x, k_y) e^{-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}} dk_x dk_y, \quad (3.8)$$

Hemos definido  $k_z$  tal que  $|\mathbf{k}| = k_m$  de forma que  $k_x^2 + k_y^2 \geq k_m^2$ , donde la constante de propagación  $k_z$  es imaginaria, y las ondas planas en esta parte del espectro son evanescentes en la dirección  $z$ . Estas ondas llamadas evanescentes conforman el campo cerca de la zona frente a la sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $V$ , ver Fig. 3.1 (a-b). Sólo aquellas ondas planas que vienen desde la parte del espectro correspondiente a los valores  $k_x^2 + k_y^2$  dentro del radio  $k_m$  del círculo en el plano  $k_x k_y$  contribuyen a la radiación del campo propagándose hacia el exterior. Ahora, cuando  $z = 0$ , la solución para las componentes  $(x, y)$  del campo eléctrico deben ser iguales al campo conocido en la sombra circular proyectada por la partícula sobre el plano  $V$ . Es decir,

$$\mathbf{E}_\tau(x, y) = \mathbf{E}(x, y, z = 0) = \frac{1}{4\pi^2} \iint_{-\infty}^{\infty} \mathbf{f}(k_x, k_y) e^{-ik_x x - ik_y y} dk_x dk_y. \quad (3.9)$$

Aplicando la Transformada de Fourier a la ecuación (3.9) se obtiene que,

$$\mathbf{f}_\tau(k_x, k_y) = \iint_{C_a} \mathbf{E}_\tau(x, y) e^{ik_x x + ik_y y} dx dy, \quad (3.10)$$

donde  $\mathbf{f}_\tau$  es la función tangencial vectorial que consiste sólo de las componentes  $(x, y)$  de la función  $\mathbf{f}$  y  $C_a$  corresponde a la región circular de radio  $a$  donde se evalúa la doble integral.  $\mathbf{f}_\tau$  está dado en términos de la transformada de Fourier del campo eléctrico en la sombra proyectada por la partícula. Para hallar la componente  $f_z$  empleamos la expresión (3.7), de manera que,

$$f_z = -\frac{-k_x f_x - k_y f_y}{\sqrt{k_m^2 - k_x^2 - k_y^2}}. \quad (3.11)$$

Con las expresiones (3.8), (3.10) y (3.11) podemos calcular el campo eléctrico en cualquier región para  $z > 0$ , particularmente para una partícula esférica de radio  $a$ , con un índice de refracción  $n_p$  inmersa en una matriz con un índice  $n_m$ .

### 3.2 Método de Rayleigh de fase estacionaria

La idea principal de esta subsección es hallar una solución aproximada del campo eléctrico Ec. (3.8) en la región  $z > 0$  a partir de conocer el campo eléctrico  $\mathbf{E}_\tau$  que existe en la sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $V$ , suponiendo que el punto de observación es mucho mayor que la longitud de onda incidente, es decir,  $r \gg \lambda_0$ , y empleando para ello el método de Rayleigh de fase estacionaria, ver Ref. [64]. Para el caso en el que  $r \gg \lambda_0$  se tiene que  $e^{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}$  es una función que oscila muy rápidamente por lo que las contribuciones a la integral de la Ec. (3.8) en varios puntos sobre el plano  $k_x k_y$  tienden a cancelarse debido a que hay una falta de adición en fase en estas diversas regiones. Una excepción es un punto donde  $\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}$  para primer orden, el cual es función de  $k_x$  y  $k_y$ , no varían con cambios pequeños en  $k_x$ ,  $k_y$ . A tal punto suele llamarse **punto de fase estacionario**, y se caracteriza por el desvanecimiento de las primeras derivadas de  $\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}$  con respecto a  $k_x$  y  $k_y$  respectivamente, es decir,  $\frac{\partial \mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}{\partial k_x} = 0$  y  $\frac{\partial \mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}{\partial k_y} = 0$ . En otras palabras, en un punto de fase estacionario la función  $e^{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}$  no varía rápidamente por lo que una contribución a la integral, es distinta de cero, y puede ser obtenida desde esta región en el plano  $k_x k_y$ . En esta pequeña región, alrededor del punto de fase estacionario, denotados como  $k_x = k_1$  y  $k_y = k_2$ , la función  $\mathbf{f}(k_x, k_y)$  varía lentamente, y por lo tanto  $\mathbf{f}(k_x, k_y)$  se evalúa en los puntos de fase estacionarios. En consecuencia, la integral obtenida sólo involucra la función  $e^{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}}$  para ser evaluada.

Sea  $|\mathbf{r}| = r$  la longitud del punto de observación expresado en coordenadas esféricas de manera que,  $x = r \sin \theta \cos \phi$ ,  $y = r \sin \theta \sin \phi$ ,  $z = r \cos \theta$ . Con este cambio de variables podemos expresar el producto punto  $\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}$  como,



$$\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} = r \left( k_x \sin \theta \cos \phi + k_y \sin \theta \sin \phi + \sqrt{k_m^2 - k_x^2 - k_y^2} \cos \theta \right), \quad (3.12)$$

donde hemos usado la expresión,  $k_z^2 = k_m^2 - k_x^2 - k_y^2$ , en la Ec. (3.12). Derivando la Ec. (3.12) respecto a  $k_x$  e igualando a cero, se obtiene lo siguiente:

$$\frac{\partial \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x} = r \sin \theta \cos \phi - \frac{r k_x \cos \theta}{\sqrt{k_m^2 - k_x^2 - k_y^2}} = 0. \quad (3.13)$$

Elevando al cuadrado la expresión (3.13) y despejando  $k_x^2$  se obtiene que,

$$k_x^2 = \frac{(k_m^2 - k_y^2) \sin^2 \theta \cos^2 \phi}{\cos^2 \theta + \sin^2 \theta \cos^2 \phi}. \quad (3.14)$$

Similar al procedimiento anterior, derivamos la Ec. (3.12) ahora respecto a  $k_y$  y nuevamente igualamos a cero. Con la expresión obtenida, la elevamos al cuadrado y despejamos  $k_y^2$  para obtener,

$$k_y^2 = \frac{(k_m^2 - k_x^2) \sin^2 \theta \sin^2 \phi}{\cos^2 \theta + \sin^2 \theta \sin^2 \phi}. \quad (3.15)$$

Sustituyendo y simplificando la Ec. (3.15) en la Ec. (3.14), obtenemos lo siguiente:

$$k_x = k_1 = k_m \sin \theta \cos \phi. \quad (3.16)$$

Sustituyendo y simplificando la Ec. (3.16) en la Ec. (3.15), se obtiene,

$$k_y = k_2 = k_m \sin \theta \sin \phi. \quad (3.17)$$

Las expresiones (3.16) y (3.17) denotadas como  $k_1$  y  $k_2$ , respectivamente, corresponden a los puntos de fase estacionarios. Ahora aplicamos el desarrollo de Taylor a la Ec. (3.12) alrededor del punto de fase estacionario ( $k_1 = k_m \sin \theta \cos \phi$ ,  $k_2 = k_m \sin \theta \sin \phi$ ), para obtener (ignoramos los términos de tercer orden),

$$\begin{aligned} \mathbf{k} \cdot \mathbf{r} &= k_m r + \frac{\partial \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x} (k_x - k_1) + \frac{\partial \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_y} (k_y - k_2) + \\ &+ \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x \partial k_y} (k_x - k_1)(k_y - k_2) + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x^2} (k_x - k_1)^2 + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_y^2} (k_y - k_2)^2 + \dots \end{aligned}$$

El desarrollo anterior se puede simplificar teniendo en cuenta que,  $\frac{\partial \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x} = 0$  y  $\frac{\partial \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_y} = 0$ , por lo tanto:

$$\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} \approx k_m r - (A u^2 + B v^2 + C u v), \quad (3.18)$$

donde:  $A = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x^2}$ ,  $B = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_y^2}$ ,  $C = -\frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x \partial k_y}$ ,  $u = k_x - k_1$ , y  $v = k_y - k_2$ . Con esta solución asintótica podemos expresar el campo eléctrico lejano, ver Ec. (3.8), como,

$$\mathbf{E} \approx \frac{e^{-ik_m r}}{4\pi^2} \mathbf{f}(k_m \sin \theta \cos \phi, k_m \sin \theta \sin \phi) \iint_{\Delta s} e^{i(Au^2 + Bv^2 + Cuv)} dudv. \quad (3.19)$$

Donde  $\mathbf{f}$  se evalúa en los valores correspondientes al punto de fase estacionario  $(k_1, k_2)$ ,  $\Delta s$  es una región pequeña centrada sobre el punto de fase estacionario en  $u = v = 0$ , sobre el plano  $uv$ . Nuevamente usaremos el argumento de fase estacionario para hacer notar que  $e^{i(Au^2 + Bv^2 + Cuv)}$  oscila muy rápido cuando  $u$  y  $v$  son distintos de cero. Esto debido a que las constantes  $A$ ,  $B$  y  $C$  son proporcionales a  $r$ , y por consecuencia tienen valores grandes cuando  $r$  tiende a valores grandes también. Por lo tanto, la integral puede ser extendida a cubiertas muy grandes sobre todo el plano  $uv$ , ya que cuando  $r \rightarrow \infty$  las contribuciones de  $u$  y  $v$  fuera de  $\Delta s$  se cancelarán en las interferencias de fase. La doble integral de la Ec. (3.19) se puede reescribir como,

$$I = \iint_{\Delta s} e^{i(Au^2 + Bv^2 + Cuv)} dudv = \iint_{-\infty}^{\infty} e^{i(Au^2 + Bv^2 + Cuv)} dudv. \quad (3.20)$$

El argumento de la función exponencial de la Ec. (3.20) lo podemos reescribir como  $Au^2 + Bv^2 + Cuv = \left(\sqrt{A}u + \frac{Cv}{2\sqrt{A}}\right)^2 - \frac{C^2v^2}{4A} + Bv^2 = w^2 - \frac{C^2v^2}{4A} + Bv^2$ , donde  $w = \sqrt{A}u + \frac{Cv}{2\sqrt{A}}$ . Sustituyendo este cambio de variable en la Ec. (3.20), se obtiene la siguiente expresión:

$$I = \iint_{-\infty}^{\infty} e^{iw^2} e^{i\left(\frac{4AB - C^2}{4A}\right)v^2} \frac{dw}{\sqrt{A}} dv = \int_{-\infty}^{\infty} e^{iw^2} \frac{dw}{\sqrt{A}} \cdot \int_{-\infty}^{\infty} e^{i\eta v^2} dv, \quad (3.21)$$

donde  $\eta = (4AB - C^2)/4A$ . Cada integral de la Ec. (3.21), se puede resolver usando la siguiente identidad,

$$\int_{-\infty}^{\infty} e^{i\gamma(x-x_0)^2} dx = \sqrt{\frac{\pi}{\gamma}} e^{i\left(\frac{\pi}{4}\right)},$$

usando la expresión previa en (3.21), la solución a la integral que se obtiene es,

$$I = \frac{2\pi i}{\sqrt{4AB - C^2}}. \quad (3.22)$$

Los coeficientes constantes:  $A = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x^2}$ ,  $B = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_y^2}$  y,  $C = -\frac{\partial^2 \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}}{\partial k_x \partial k_y}$ , se pueden deducir usando la expresión (3.12) y evaluando posteriormente en los puntos de fase estacionarios  $(k_x, k_y) = (k_1, k_2)$ . De donde se obtienen las siguientes expresiones:

$$A = \frac{r}{2} \left( \frac{1}{k_m} + \frac{k_1^2}{k_m^3 \cos^2 \theta} \right), \quad (3.23)$$

$$B = \frac{r}{2} \left( \frac{1}{k_m} + \frac{k_2^2}{k_m^3 \cos^2 \theta} \right), \quad (3.24)$$

y finalmente para el coeficiente  $C$  tenemos,

$$C = \frac{rk_1 k_2}{k_m^3 \cos^2 \theta}. \quad (3.25)$$

Para cada coeficiente hemos tomado en cuenta que  $k_m^2 - k_1^2 - k_2^2 = k_m^2 - (k_m^2 \sin^2 \theta \cos^2 \phi + k_m^2 \sin^2 \theta \sin^2 \phi) = k_m^2 \cos^2 \theta$ . Tomando el discriminante de la Ec. (3.22) y usando las Ecs. (3.23), (3.24) y (3.25) podemos ver que,

$$\begin{aligned} 4AB - C^2 &= \frac{4r^2}{4} \left( \frac{1}{k_m} + \frac{k_1^2}{k_m^3 \cos^2 \theta} \right) \left( \frac{1}{k_m} + \frac{k_2^2}{k_m^3 \cos^2 \theta} \right) - \frac{r^2 k_1^2 k_2^2}{k_m^6 \cos^4 \theta} = \\ &= r^2 \left[ \frac{k_m^4 \cos^4 \theta + (k_1^2 + k_2^2) k_m^2 \cos^2 \theta}{k_m^6 \cos^4 \theta} \right] = \frac{r^2}{k_m^2 \cos^2 \theta} \end{aligned}$$

donde hemos usado la siguiente expresión:  $k_1^2 + k_2^2 = k_m^2 \sin^2 \theta$ . Por lo tanto, la solución a la doble integral Ec. (3.20), se puede expresar como,

$$I = \frac{2\pi i}{r} (k_m \cos \theta). \quad (3.26)$$

Sustituyendo la Ec. (3.26) en (3.19) se obtiene que,

$$\mathbf{E} \approx \frac{k_m \cos \theta e^{-ik_0 r}}{2\pi r} \mathbf{f}(k_m \sin \theta \cos \phi, k_m \sin \theta \sin \phi) i. \quad (3.27)$$

La expresión (3.27) nos permite determinar el campo eléctrico en cualquier parte de la región en  $z > 0$  para un punto de observación lejano, esto es,  $r \gg \lambda_0$ . Este resultado muestra que el campo radiado lejos de la partícula, corresponde al patrón de difracción de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano V, que está relacionado a la transformada de Fourier del campo que existe en la sombra con  $k_x$  igualada a  $k_m \sin \theta \cos \phi$  y,  $k_y$  igualada a  $k_m \sin \theta \sin \phi$ , véase la Ecs.(3.10) y (3.11). Estas son las componentes apropiadas del vector de propagación, para una onda propagándose radialmente hacia afuera a lo largo de  $r$  en la dirección especificada por los ángulos  $\theta$  y

$\phi$ . Si tenemos una partícula cuyo radio es mucho mayor que la longitud de onda de la radiación incidente, la sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $V$  será también grande en términos de la longitud de onda, lo que implica que la función  $\mathbf{f}_\tau$  alcance su punto máximo en la dirección de propagación del eje  $z$ , y en esta dirección la componente  $f_z$  será muy pequeña, de manera que  $\cos \theta \approx 1$ . En conclusión, el campo radiado cerca de la región del plano  $V$ , se debe principalmente a  $\mathbf{f}_\tau$  el cual está relacionado directamente a la transformada de Fourier del campo  $\mathbf{E}_\tau$  que existe en la sombra proyectada por la partícula. Por otra parte, el campo dado por la Ec. (3.27) se puede expresar en términos de sus componentes esféricas, mediante la siguiente transformación de coordenadas,

$$\begin{aligned}\hat{\mathbf{a}}_x &= \sin \theta \cos \phi \hat{\mathbf{a}}_r + \cos \theta \cos \phi \hat{\mathbf{a}}_\theta - \sin \phi \hat{\mathbf{a}}_\phi, \\ \hat{\mathbf{a}}_y &= \sin \theta \sin \phi \hat{\mathbf{a}}_r + \cos \theta \sin \phi \hat{\mathbf{a}}_\theta + \cos \phi \hat{\mathbf{a}}_\phi, \\ \hat{\mathbf{a}}_z &= \cos \theta \hat{\mathbf{a}}_r - \sin \theta \hat{\mathbf{a}}_\theta,\end{aligned}$$

de manera que,

$$\mathbf{E} \approx ik_m \frac{e^{-ik_m r}}{2\pi r} [\hat{\mathbf{a}}_\theta (f_x \cos \phi + f_y \sin \phi) + \hat{\mathbf{a}}_\phi \cos \theta (f_y \cos \phi - f_x \sin \phi)]. \quad (3.28)$$

### 3.3 Aproximación por Difracción Anómala (ADA)

Teniendo la expresión del campo lejano esparcido por una partícula esférica de radio  $a$ , ver Ec. (3.28), la idea de esta subsección es simplificar esta expresión tomando en cuenta que el índice de refracción  $n_p$  de la partícula es similar al índice de refracción  $n_m$  que rodea a ésta (medio matriz); y como se mencionó al inicio de este capítulo, el radio de la partícula tiene una dimensión mucho mayor que la longitud de onda de la radiación incidente, lo que implica que el parámetro de tamaño,  $\chi \gg 1$ . Aunado a esto, vamos a suponer que el campo que incide en la partícula se puede expresar como,

$$\mathbf{E}_0 = E_0 \hat{\mathbf{a}}_x, \quad x^2 + y^2 \leq a^2. \quad (3.29)$$

Bajo estas condiciones, podemos asegurar que el rayo de luz que incide sobre la partícula no sufre reflexión ni refracción alguna al pasar por las dos fronteras de la partícula, véase Fig. 3.2 (a). Más aún, la energía reflejada en las fronteras de ésta es casi nula debido a que los coeficientes de Fresnel son cero cuando  $m \approx 1$ . Por lo tanto, el campo en el punto  $Q$  sobre el plano  $V$ , no sufre cambio en su amplitud cuando atraviesa la partícula, sino sólo un cambio en fase. Este cambio en fase está relacionado con el camino óptico recorrido por el rayo a través de la partícula, ver línea punteada de la Fig. 3.2 (a), el cual se puede expresar mediante la ecuación,

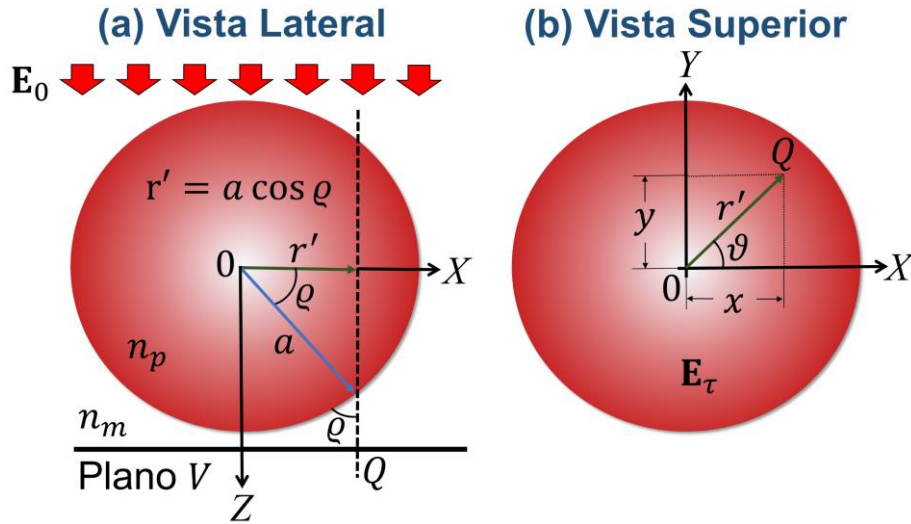
$$\gamma = 2a \sin \varrho. \quad (3.30)$$

De la Fig. 3.2 (a) y empleando la Ec. (3.30), podemos escribir el cambio de fase que sufre el campo eléctrico al atravesar la partícula como,

$$\Gamma = \gamma (m - 1) k_m = 2\chi(m - 1) \sin \varrho, \quad (3.31)$$

donde  $\chi$  es el parámetro de tamaño de la partícula y  $m$  es el índice de refracción relativo. El campo que hay fuera de la sombra proyectada por la partícula de radio  $a$ , es decir, fuera de la región  $C_a$ , corresponde al campo incidente  $\mathbf{E}_0$ . Dentro de la partícula, como se mencionó previamente, la onda eléctrica sufre un desfase proporcional al camino óptico recorrido por el rayo como función del ángulo  $\varrho$ , con una magnitud dado por  $E_0 e^{i\Gamma}$ . Por lo tanto, el campo tangencial  $\mathbf{E}_\tau$  que existe en la región  $C_a$  lo podemos expresar como la diferencia entre el campo fuera de la región  $C_a$  y el campo dentro de la partícula, es decir,

$$\mathbf{E}_\tau = E_\tau \hat{\mathbf{a}}_x = E_0 (e^{i\Gamma} - 1) \hat{\mathbf{a}}_x. \quad (3.32)$$



**Fig. 3-2** (a) La línea punteada representa el campo que atraviesa la partícula, el cual no sufre desviación ni refracción al incidir en ella. (b) Sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $V$ , correspondiente al plano  $xy$ .

La Ec. (3.32) es válida para la región correspondiente a la sombra circular de radio  $a$  proyectada por la partícula sobre el plano  $V$  a una distancia del centro de ésta de,  $r' = a \cos \varrho$ . En esta expresión no existe componente tangencial del campo sobre el eje  $y$ , en consecuencia, usando la Ec. (3.10), se tiene que  $f_y = 0$ . Con este par de argumentos la Ec. (3.28) se puede simplificar de la siguiente manera,

$$\mathbf{E} \approx k_m f_x \frac{e^{-ik_m r}}{2\pi r} [\cos \phi \hat{\mathbf{a}}_\theta - \sin \phi \cos \theta \hat{\mathbf{a}}_\phi] i, \quad (3.33)$$

donde,

$$f_x = \iint_{C_a} E_\tau(x, y) e^{ik_1x+ik_2y} dx dy = \iint_{C_a} E_0(e^{i\Gamma} - 1) e^{ik_1x+ik_2y} dx dy, \quad (3.34)$$

donde  $k_1$  y  $k_2$  son los puntos de fase estacionarios [ver Ecs. (3.16) y (3.17)]. La integral (3.34) se evalúa sobre el área de un círculo de radio  $a$ . Para evaluar la integral (3.34) es necesario hacer un cambio de variable a coordenadas cilíndricas sobre el plano  $xy$ . Con ayuda de la Fig. 3.2 (b), se tiene que  $r' = a \cos \varrho$ ,  $x = r' \cos \vartheta = a \cos \varrho \cos \vartheta$ ,  $y = r' \sin \vartheta = a \cos \varrho \sin \vartheta$ . Por otra parte, el jacobiano de coordenadas cartesianas a coordenadas cilíndricas se puede expresar de la siguiente manera,  $dx dy = r' dr' d\vartheta = a^2 \cos \varrho \sin \varrho d\varrho d\vartheta$ . Sustituyendo este cambio de variables en la Ec. (3.34), se obtiene,

$$f_x(k_1, k_2) = a^2 E_0 \cdot \iint_{C_a} [e^{2i\chi(m-1) \sin \varrho} - 1] e^{i[k_1(a \cos \varrho \cos \vartheta) + k_2(a \cos \varrho \sin \vartheta)]} \cos \varrho \sin \varrho d\varrho d\vartheta. \quad (3.35)$$

Para el caso de una partícula esférica, la amplitud de esparcimiento para una región circular es independiente del ángulo azimutal  $\phi = 0$ , por lo tanto,  $k_1 = k_m \sin \theta$  y  $k_2 = 0$ , usando este argumento la Ec. (3.35) se puede simplificar como,

$$f_x(\theta) = a^2 E_0 \cdot \int_0^{\pi/2} \left( \int_0^{2\pi} e^{i\chi \sin \theta \cos \varrho \cos \vartheta} d\vartheta \right) [e^{2i\chi(m-1) \sin \varrho} - 1] \cos \varrho \sin \varrho d\varrho. \quad (3.36)$$

La integral entre paréntesis de la Ec. (3.36), sobre la variable  $\vartheta$ , se puede resolver usando directamente la función de Bessel de primer tipo y orden cero [83], cuya solución es,

$$\int_0^{2\pi} e^{i\chi \sin \theta \cos \varrho \cos \vartheta} d\vartheta = 2\pi J_0(\chi \sin \theta \cos \varrho). \quad (3.37)$$

Sustituyendo la Ec. (3.37) en (3.36), se obtiene finalmente la componente  $f_x$  como,

$$f_x = 2\pi a^2 E_0 \int_0^{\pi/2} J_0(\chi \sin \theta \cos \varrho) [e^{2i\chi(m-1) \sin \varrho} - 1] \cos \varrho \sin \varrho d\varrho. \quad (3.38)$$

Finalmente, se sustituye la Ec. (3.38) en (3.33) para hallar el campo eléctrico lejano para una partícula esférica de radio  $a$ , dado como,

$$\mathbf{E} \approx (E_0 \hat{\mathbf{a}}_\theta) \chi^2 \frac{e^{-ik_m r}}{ik_m r} \int_0^{\pi/2} J_0(\chi \sin \theta \cos \varrho) [1 - e^{2i\chi(m-1) \sin \varrho}] \cos \varrho \sin \varrho d\varrho. \quad (3.39)$$

Recordemos que el ángulo azimutal  $\phi$ , tiene valor nulo, lo que implica que nos quede sólo la componente angular  $\hat{\mathbf{a}}_\theta$  dentro de la Ec. (3.39). Comparando este resultado con la definición general de la matriz de amplitud de esparcimiento para una partícula esférica, ver Ref. [52],

$$\begin{pmatrix} E_s^\parallel \\ E_s^\perp \end{pmatrix} = \frac{e^{-ikr}}{ikr} \begin{pmatrix} S_2 & 0 \\ 0 & S_1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_0^\parallel \\ E_0^\perp \end{pmatrix}. \quad (3.40)$$

Se concluye que,

$$S(\theta) = \chi^2 \int_0^{\pi/2} J_0(\chi \sin \theta \cos \varrho) [1 - e^{2i\chi(m-1) \sin \varrho}] \cos \varrho \sin \varrho d\varrho. \quad (3.41)$$

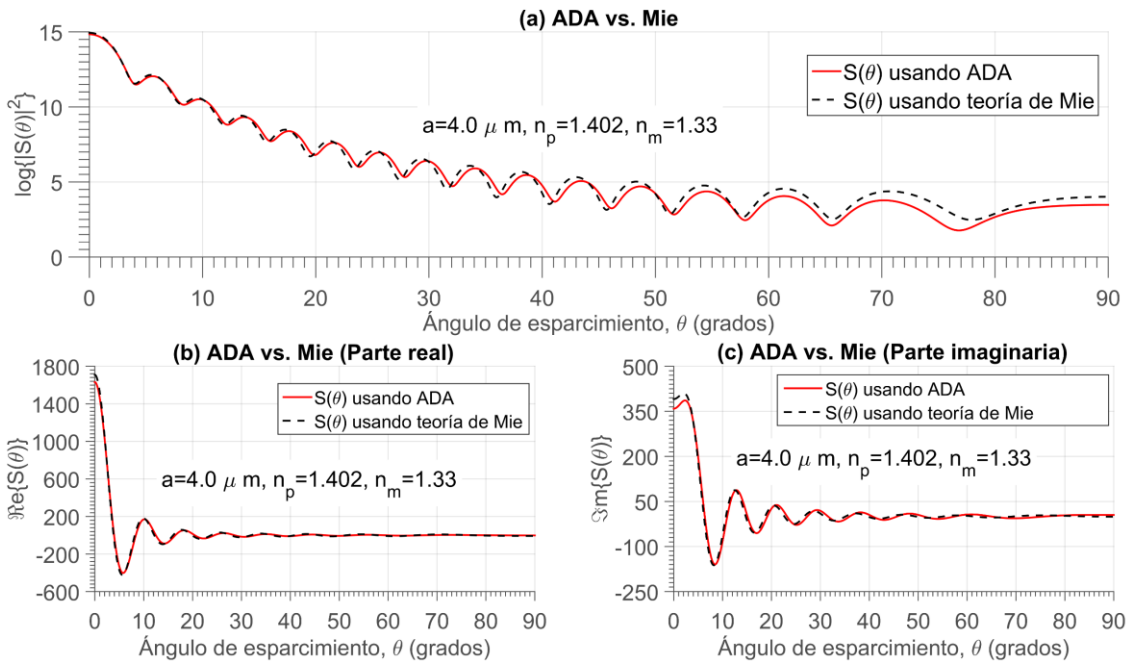
La expresión (3.41) es el coeficiente de amplitud de esparcimiento para una partícula esférica de radio  $a$ , y es la misma expresión que la que propone van de Hulst en su libro, Ref. [49]. Es importante reiterar que en partículas esféricas isotrópicas la teoría de Mie se ajusta muy bien a la aproximación de difracción anómala de van de Hulst siempre que el índice de refracción relativo  $m$ , de la partícula, se aproxima a uno y cuando el parámetro de tamaño de la partícula es mucho mayor a uno. Sin embargo, cuando las partículas no poseen una forma geométrica bien definida, isotrópica, tal como una esfera; es difícil encontrar una teoría exacta, tal como la teoría de Mie, que nos permita describir el esparcimiento de luz de este tipo de sistema. De aquí que se recurra algunos métodos numéricos u otras aproximaciones, como ADA, para describir el esparcimiento de luz en partículas con formas geométricas complejas.

### 3.4 Algunos ejemplos numéricos aplicando ADA y teoría de Mie

La intensidad del patrón de esparcimiento, para una partícula esférica de radio  $a$  y de bajo contraste  $m \approx 1$ , es directamente proporcional a la magnitud al cuadrado del coeficiente de amplitud de esparcimiento  $S(\theta)$ , ver Ec. (3.41), de manera que,

$$I(\theta) \propto |S(\theta)|^2. \quad (3.42)$$

En la Fig. 3.3 (a) se compara ADA versus la teoría de Mie usando las expresiones (3.41) y (3.42) para ADA y  $|S_1(\theta)|^2$  deducido con la teoría de Mie, ver la Ref. [52]. Esto

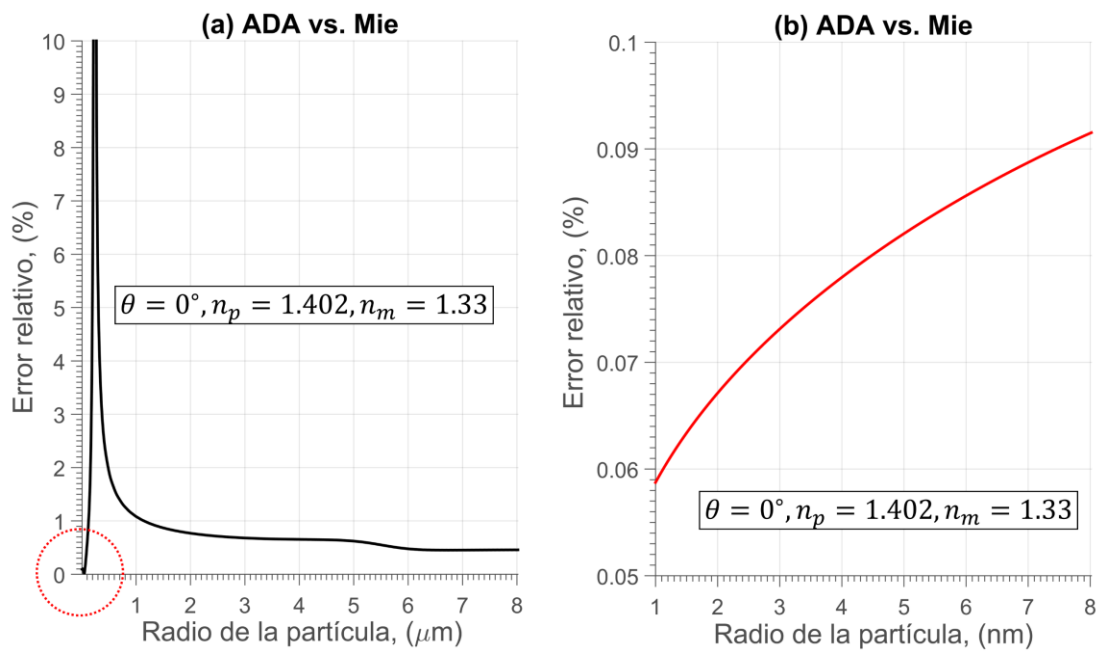


**Fig. 3-3** (a) Comparación entre el logaritmo de la magnitud al cuadrado del coeficiente de amplitud de esparcimiento  $S(\theta)$  entre ADA (línea continua roja) y teoría de Mie (línea discreta negra). (b) Comparación de la parte real e (c) imaginaria del coeficiente de amplitud de esparcimiento  $S(\theta)$  entre ADA (línea continua roja) y teoría de Mie (línea discreta negra).

para una partícula esférica de radio  $a = 4.0 \mu\text{m}$ , con un índice de refracción  $n_p = 1.402$ , inmersa en agua con un índice de refracción  $n_m = 1.33$ , para un haz con una longitud de onda  $\lambda_0 = 670 \text{nm}$ . Note que para la Fig. 3.3 (a) se obtiene el logaritmo, en base 10, para la magnitud al cuadrado del coeficiente de amplitud de esparcimiento, i.e.  $\log[I(\theta)]$ , usando la Ec. (3.42), respectivamente para cada teoría. De la Fig. 3.3 (a) podemos observar que cualitativamente las curvas se comportan de manera muy similar en estructura, para un ancho angular de esparcimiento de 0 a  $\pi/2$ . Sin embargo, se puede constatar que para ángulos rasantes ADA se separa de la teoría de Mie, pero en la dirección de incidencia (*forward scattering*) y para ángulos de esparcimiento menores a  $10^\circ$ , ADA y Mie son cuantitativamente iguales. Usando los mismos parámetros para la partícula, en la Fig. 3.3 se compara la (b) parte real e (c) imaginaria del coeficiente de amplitud de esparcimiento  $S(\theta)$ , usando ADA y la teoría de Mie, respectivamente (sin aplicar logaritmo). Donde podemos constatar, de este par de figuras, que los cambios fuertes ocurren para la parte imaginaria del coeficiente  $S(\theta)$ , incluso para ángulos menores a  $10^\circ$  se pueden observar pequeñas diferencias en la parte imaginaria, [véase los máximo y mínimos de la Fig. 3.3 (c)]. Sin embargo, la parte real e imaginaria de  $S(\theta)$ , en ambas teorías, son cualitativamente similares, sobre todo para la parte real, véase la Fig.



3.3 (b). Se hace notar al lector que la partícula bajo ADA puede tener absorción y esparcimiento que se asocian a la parte imaginaria del índice de refracción de la partícula. Es decir, ADA no se restringe a partículas no absorbentes, el índice de refracción de la partícula  $n_p$ , puede tener una parte real e imaginaria, ver Ref. [49]. De manera concluyente, ADA y Mie son consistentes para ángulos de esparcimientos bajos, tanto cualitativa como cuantitativamente, sobre todo en la dirección de incidencia,  $\theta = 0^\circ$ ; esto bajo las dos condiciones impuestas para ADA y tomando una forma esférica para la partícula.



**Fig. 3-4** (a) Error relativo porcentual entre ADA y teoría de Mie como función del radio de la partícula, del orden de micrómetros, en la dirección de incidencia ( $\theta = 0^\circ$ ). (b) Error relativo porcentual entre ADA y teoría de Mie como función del radio de la partícula, del orden de nanómetros, en la dirección de incidencia ( $\theta = 0^\circ$ ).

Es interesante hacer notar la validez de ADA cuando se compara con la teoría de Mie al variar el tamaño de la partícula. Recordemos que ADA es válida para tamaños de partícula mucho mayores a la longitud de onda de la radiación incidente,  $a \gg \lambda_0$ . No obstante, bajo ciertas condiciones ADA podría aplicarse a cualquier tamaño de partícula. En la Fig. 3.4 (a-b) se muestra el error relativo que hay entre ADA y la teoría de Mie para partículas esféricas con bajo contraste  $m = 1.05$ , en la dirección de incidencia  $\theta = 0^\circ$ , como función del radio de la partícula. Para este par de gráficas, se tomó como valor exacto el logaritmo en base 10 de la magnitud al cuadrado del coeficiente de amplitud de esparcimiento,  $\log[|S_1(\theta)|^2]$ , usando teoría de Mie. Bajo estos parámetros, de la Fig. 3.4 (a) podemos notar que para partículas cuyos radios van de 1 a 8  $\mu\text{m}$ , el error relativo entre

ADA y Mie es menor al 1%. Sin embargo, para partículas entre 0.2 y 0.3  $\mu m$  el error relativo se dispara por encima del 5%, y para partículas con radios menores a 0.2  $\mu m$  el error relativo es menor al 5%. Podemos notar, además, que existe una zona donde el error relativo es menor al 0.1%, ver la región circular punteada roja de la figura 3.4 (a). ¡Que corresponden a partículas con radios mucho menores a 0.1  $\mu m$ ! En la Fig. 3.4 (b) amplificamos una parte de esta región, para partículas cuyos radios van de 1 a 8 nm, donde podemos apreciar con mayor facilidad que el error relativo es menor al 0.1%. Es decir, ADA y Mie son prácticamente iguales en esta región. Como consecuencia podríamos ratificar que ADA y la teoría de Mie son consistentes incluso para partículas pequeñas, es decir; partículas con tamaños mucho menores a la longitud de onda del haz incidente. Debemos tomar esta afirmación con cautela, pues recordemos que intervienen varios parámetros en ADA, como es el índice de refracción de la partícula ( $n_p = 1.402$ ), el índice de refracción del medio matriz ( $n_m = 1.33$ ) y, la forma que posee la partícula. Para este ejemplo, con estos parámetros, ADA y Mie se ajustan bien para partículas esféricas con radios menores a 0.1  $\mu m$ . Sin embargo, se debe extender este estudio a una gama amplia de valores con diferentes índices de refracción entre la partícula y el medio matriz, para diferentes tamaños de partícula, y determinar así, las regiones o zonas donde es válida ADA (restringido obviamente a partículas esféricas).

Como se mencionó previamente, una de las ventajas de utilizar ADA es su fácil aplicabilidad en ser utilizada en partículas con formas geométricas complejas. Una expresión “alternativa” para calcular el campo esparcido lejano por una partícula esférica de radio  $a$ , a partir de la Ec. (3.33), la podemos reescribir en coordenadas cartesianas como sigue,

$$\mathbf{E} \approx i(E_0 k_m \hat{\mathbf{a}}_\theta) \frac{e^{-ik_m r}}{2\pi r} \left[ \iint_{C_a} (e^{i\Gamma} - 1) e^{ik_1 x} dx dy \right], \quad (3.43)$$

para el caso de una partícula esférica, la amplitud de esparcimiento para una región circular es independiente del ángulo azimutal, i.e.  $\phi = 0$ , por lo tanto,  $k_1 = k_m \sin \theta$  y  $k_2 = 0$ . De la Ec. (3.43) se concluye el siguiente coeficiente de amplitud de esparcimiento (en coordenadas cartesianas),

$$S(\theta) = \frac{k_m^2}{2\pi} \iint_{C_a} (e^{i\Gamma} - 1) e^{ik_1 x} dx dy, \quad (3.44)$$

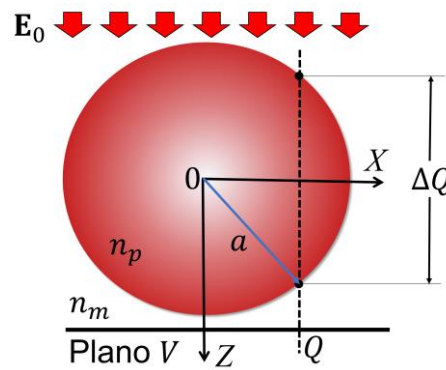
donde,  $C_a$  corresponde a la región circular de radio  $a$  donde se evalúa la doble integral,  $\Gamma$  es el cambio de fase que sufre el campo eléctrico al atravesar la partícula, el cual lo

podemos reescribir en términos del camino óptico que recorre el haz al atravesar la partícula como función de  $(x, y)$ , y  $k_m$  es el número de onda en el medio de incidencia del haz. Para deducir  $\Gamma$ , vamos hacer uso de la Fig. 3.5, que corresponde a una partícula esférica de radio  $a$ . La expresión de la forma geométrica correspondiente a esta partícula con centro en el origen, está dada por,

$$x^2 + y^2 + z^2 = a^2, \quad (3.45)$$

siendo  $a$  el radio de la partícula. De la Ec. (3.45) se deduce el camino óptico recorrido por el haz, a incidencia normal, expresado como,

$$\Delta Q = 2\Re e \left\{ \sqrt{a^2 - x^2 - y^2} \right\}. \quad (3.46)$$



**Fig. 3-5** Partícula de radio  $a$ , donde la línea punteada representa el camino óptico recorrido por el haz al atravesar la partícula denotado como  $\Delta Q$  a incidencia normal.

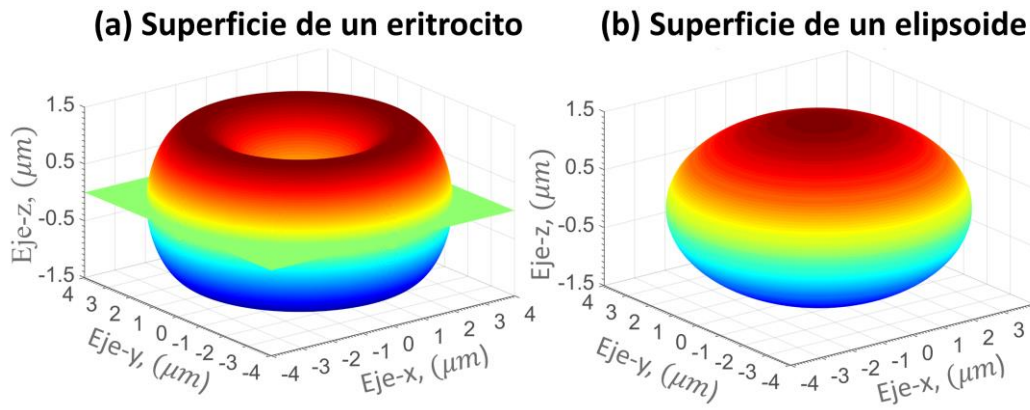
Finalmente, el cambio de fase que sufre el campo eléctrico al atravesar la partícula como función del camino óptico, está dado por,

$$\Gamma = \Delta Q(m - 1)k_m = 2\Re e \left\{ \sqrt{a^2 - x^2 - y^2} \right\} (m - 1)k_m, \quad (3.47)$$

donde,  $m = n_p/n_m$ , siendo  $n_p$  el índice de refracción de la partícula y  $n_m$  el índice de refracción del medio matriz que rodea a la partícula. Sustituyendo la Ec. (3.47) en la Ec. (3.44), se obtiene el coeficiente de amplitud de esparcimiento para una partícula esférica de radio  $a$  en coordenadas cartesianas, cuya expresión final es,

$$S(\theta) = \frac{k_m^2}{2\pi} \iint_{C_a} \left[ e^{2i\Re e \left\{ \sqrt{a^2 - x^2 - y^2} \right\} (m-1)k_m} - 1 \right] e^{i(k_m \sin \theta)x} dx dy. \quad (3.48)$$

Cabe hacer notar que la Ec. (3.48) y la Ec. (3.41) son equivalentes, pero en sistemas coordenados diferentes. La integral definida en la Ec. (3.48) se puede resolver numéricamente, por ejemplo, aplicando el método de cuadratura gaussiana, ver Refs. [84, 85]. Una de las ventajas de la Ec. (3.44) es su fácil aplicabilidad a partículas con formas



**Fig. 3-6** (a) Superficie 3D de un eritrocito humano empleando la Ec. (3.50). (b) Superficie 3D de un elipsoide con dimensiones similares a las de un eritrocito humano, empleando la Ec. (3.49).

geométricas complejas, por ejemplo: elipsoides, esferoides, cilindros, u otras formas geométricas; esto gracias a que se pueden representar mucho más fácilmente en coordenadas cartesianas; pero siempre teniendo en cuenta emplear un método numérico adecuado para resolver la doble integral. Siguiendo el mismo procedimiento para la partícula esférica, podemos usar ecuaciones cartesianas exactas para deducir el camino óptico recorrido por un haz para dos partículas con forma esferoidal y con forma de un eritrocito humano (*Red Blood Cell-RBC*); de manera que se pueda determinar el desfase  $\Gamma$  que sufre la onda al pasar a través de éstas. La superficie de una partícula elipsoidal la podemos representar mediante la siguiente ecuación cartesiana (centrada en el origen),

$$z_e = \pm \frac{c}{ab} \sqrt{(ab)^2 - b^2x^2 - a^2y^2}, \quad (3.49)$$

donde  $a = 4.0 \mu m$ ,  $b = 4.0 \mu m$  y  $c = 1.5 \mu m$  corresponden a las longitudes de los semiejes del elipsoide respecto de los ejes  $x$ ,  $y$  y  $z$ . Nótese que  $a = b$  en este caso (sección transversal circular de radio  $a$ ), por lo tanto, se trata de un esferoide. Por otra parte, la ecuación cartesiana de un eritrocito humano bicóncavo, sin deformación y medido experimentalmente [86], está dada por la expresión,

$$z_{RBC} = \pm a_0 \sqrt{1 - \frac{4(x^2 + y^2)}{a_0^2}} \left[ c_0 + \frac{c_1(x^2 + y^2)}{a_0^2} + \frac{c_2(x^2 + y^2)^2}{a_0^4} \right], \quad (3.50)$$

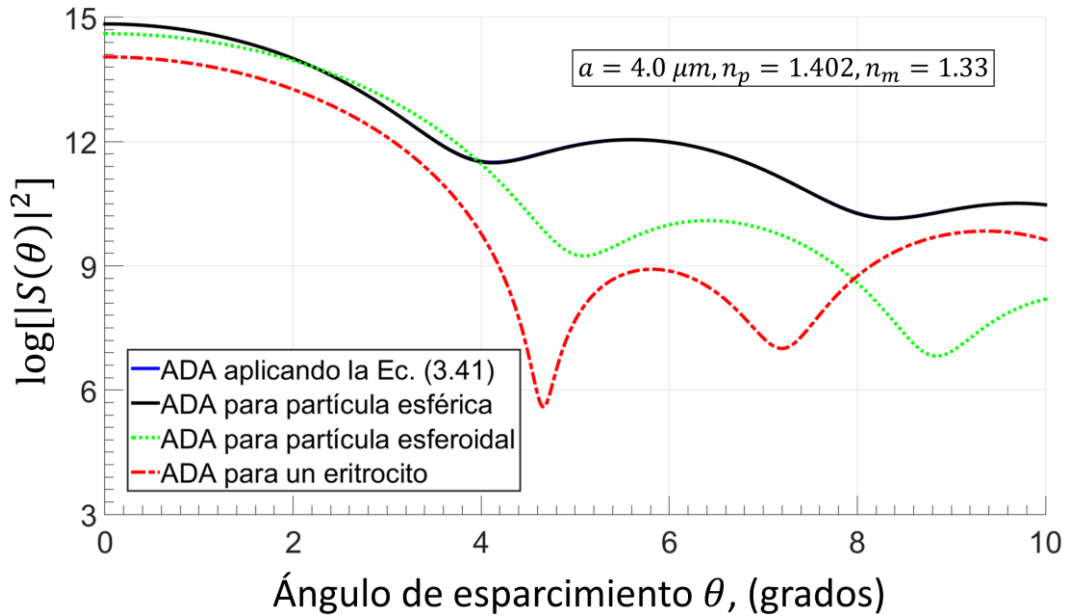
donde  $a_0 = 8.0 \mu m$  corresponde al diámetro de la célula,  $c_0 = 0.0518$ ,  $c_1 = 2.0026$  y  $c_2 = -4.491$ , son las constantes de morfología del eritrocito. En la Fig. 3.6 se muestran las formas geométricas para (a) un eritrocito humano y (b) un elipsoide con dimensiones similares, generadas con las Ecs. (3.50) y (3.49), respectivamente.

Como se mencionó previamente, con las Ecs. (3.49) y (3.50), se puede calcular el cambio de fase  $\Gamma$  que sufre el campo eléctrico al atravesar la partícula; y con ello, determinar el coeficiente de amplitud de esparcimiento empleando la Ec. (3.44). El desfase para la partícula esferoidal lo podemos escribir como,

$$\Gamma_e = \frac{2c}{ab} \Re \left\{ \sqrt{(ab)^2 - b^2x^2 - a^2y^2} \right\} (m-1)k_m, \quad (3.51)$$

y el desfase que sufre la onda eléctrica al atravesar una partícula con forma de eritrocito, se puede escribir como,

$$\Gamma_{RBC} = 2a_0 \sqrt{1 - \frac{4(x^2 + y^2)}{a_0^2}} \left[ c_0 + \frac{c_1(x^2 + y^2)}{a_0^2} + \frac{c_2(x^2 + y^2)^2}{a_0^4} \right] (m-1)k_m. \quad (3.52)$$



**Fig. 3-7** Patrón de esparcimiento como función del ángulo de esparcimiento  $\theta$  para tres tipos de partículas: partícula esférica (línea continua negra), partícula esferoidal (línea discontinua pequeña verde) y para una partícula con forma de eritrocito (línea discontinua larga roja).

En la Fig. 3.7 se muestra el patrón de esparcimiento como función del ángulo de esparcimiento, hasta un límite de  $10^\circ$ , para tres tipos de partículas: una partícula esférica (línea continua negra), una partícula esferoidal (línea discontinua pequeña verde) y para una partícula con forma de eritrocito (línea discontinua larga roja). Por patrón de esparcimiento, nos referimos a obtener el logaritmo, en base 10, para la magnitud al cuadrado del coeficiente de amplitud de esparcimiento empleando la Ec. (3.44), para cada uno de los desfases. Las integrales respectivas a cada forma se resolvieron utilizando el método de cuadratura de Gauss-Legendre, ver Refs. [84, 85]. Dentro de esta gráfica se

sobreponen el patrón de esparcimiento para una esfera de radio  $a = 4 \mu m$ , usando la Ec. (3.41) y la Ec. (3.48), para los dos tipos de coordenadas empleados (curva continua negra). Además, podemos notar que el patrón de esparcimiento para cada tipo de partícula difiere entre sí cualitativa y cuantitativamente, incluso para ángulos de esparcimiento bajos,  $\theta \approx 0^\circ$ . Sin embargo, en buena aproximación para un ángulo de esparcimiento,  $\theta = 0^\circ$ , el patrón de esparcimiento correspondiente a una partícula esférica es muy próximo al valor de una partícula esferoidal, incluso por debajo de los  $4^\circ$ , ver Fig. 3.7. Por otra parte, cualitativamente, para ángulos de esparcimiento menores a  $3^\circ$ , el patrón de esparcimiento originado por cada tipo de partícula es muy próximo. Por último, para cada forma, podemos observar en su patrón de esparcimiento dos valles localizados en diferentes ángulos de esparcimiento; para la partícula esférica se localizan en  $\theta = 4.1^\circ$  y  $8.3^\circ$ ; para la partícula esferoidal se localizan en  $\theta = 5.1^\circ$  y  $8.8^\circ$  y, finalmente, para la partícula con forma de eritrocito se localizan en  $\theta = 4.6^\circ$  y  $7.2^\circ$ . En conclusión, podemos ver que ADA puede aplicarse fácilmente a partículas con formas geométricas complejas como en el ejemplo descrito previamente, para un eritrocito. De aquí la importancia de usar ADA en nuestro modelo para monocapas con partículas de bajo contraste y con tamaños grandes en comparación con la longitud de onda de la radiación incidente.

# 4 MODELO TEÓRICO Y SIMULACIONES NUMÉRICAS

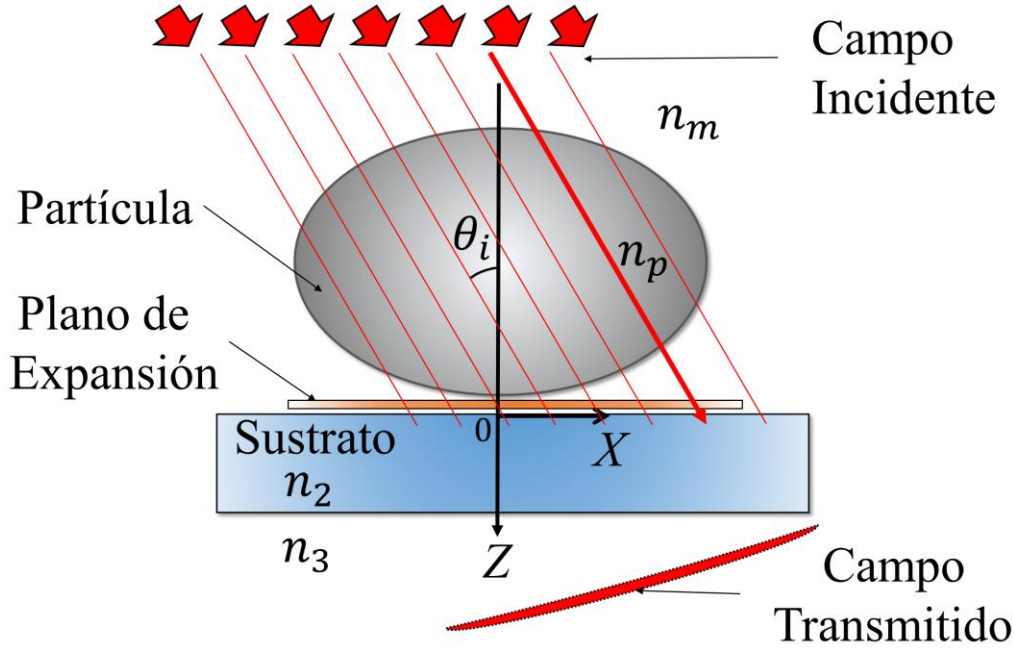
En este capítulo presentamos la derivación completa y detallada de un nuevo modelo teórico que nos permite calcular la reflectancia y transmitancia coherente de un sustrato cubierto parcialmente por una monocapa de partículas de bajo contraste y con dimensiones mayores a la longitud de onda de la radiación incidente usando ADA, ver Cap. 3. Las expresiones derivadas pueden aplicarse a partículas con formas geométricas complejas y para ángulos de incidencia bajos. Con ayuda de este modelo se estudian los efectos que se producen en los espectros de reflectividad y transmitividad relativos al cambiar la forma de la partícula y su orientación sobre el sustrato. También se presentan simulaciones de la reflectancia y transmitancia, como función del ángulo de incidencia, estudiando sus efectos al cambiar la forma de la partícula y su orientación sobre el sustrato. Para las simulaciones se trabajaron con partículas que contienen en su interior un cromóforo óptico en solución similar al de una célula bilógica [25, 26, 87].

## 4.1 Campo transmitido por una partícula grande y suave sobre un sustrato plano

Como en el capítulo previo, consideremos una partícula esferoidal con un índice de refracción  $n_p$  con su centro geométrico en  $(0,0,-c)$ , donde  $c$  es la longitud del semi-eje de la partícula a lo largo del eje-z embebida en un medio con un índice de refracción  $n_m$ ,

como se muestra en la Fig. 4.1. Supongamos que sobre esta partícula incide una onda linealmente polarizada viajando en el plano- $xz$ , dada por,

$$\mathbf{E}^i = E_0 e^{ik_x^i x + ik_z^i z} \hat{\mathbf{e}}_i, \quad (4.1)$$



**Fig. 4-1** Rayos pasando a través de una partícula esférica con un ángulo de incidencia  $\theta_i$  respecto al eje- $z$ . La partícula está inmersa en un medio matriz con un índice de refracción  $n_m$  y soportada por un sustrato con un índice de refracción  $n_2$ . La partícula tiene un índice de refracción  $n_p$ .

donde  $k_x^i = k_m \sin \theta_i$ ,  $k_z^i = k_m \cos \theta_i$ ,  $k_m = k_0 n_m$  es el número de onda en el medio matriz que rodea la partícula con un índice de refracción  $n_m$ ,  $k_0 = 2\pi/\lambda_0$  es el número de onda en el vacío, siendo  $\lambda_0$  la longitud de onda en el vacío,  $\hat{\mathbf{e}}$  es el vector de polarización y  $\theta_i$  es el ángulo de incidencia respecto al eje- $z$ . Nota: El vector de polarización  $\hat{\mathbf{e}}_i$  debe ser normal al vector de onda  $\mathbf{k}^i = k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x + k_z^i \hat{\mathbf{a}}_z$ . Por lo tanto, tenemos que,

$$\hat{\mathbf{e}}_i = \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x - \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z. \quad (4.2)$$

Nosotros asumimos que el contraste entre la partícula y el medio matriz que la rodea es pequeño, es decir,  $n_p/n_m \approx 1$ . Aplicando ADA y la Ec. (3.32), podemos calcular el campo eléctrico de la onda esparcida en el plano de expansión justo después de la partícula en  $z = 0$ , como,

$$\mathbf{E}_\perp^s(x, y, 0) = E_0 e^{ik_x^i x} [e^{ik_0(n_p - n_m)h_t(x, y, \theta_i)} - 1] \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} = E_\perp^s(x, y, 0) \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp}. \quad (4.3)$$



De la Ec. (4.3) sea  $\Psi_t(x, y, \theta_i) = k_0(n_p - n_m)h_t(x, y, \theta_i)$  el desfase que sufre un rayo al atravesar la partícula en  $(x, y)$ ,  $h_t(x, y, \theta_i)$  es el camino óptico recorrido, dentro de la partícula, por el rayo cruzando el plano  $z = 0$  en  $(x, y)$  a un ángulo de incidencia  $\theta_i$  y  $\hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} = \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x$ . NOTA: La función  $h_t$  es cero cuando el rayo no atraviesa la partícula, por lo tanto, lo que está entre corchetes de la Ec. (4.3) es nulo para el punto  $(x, y)$  en el plano de expansión fuera de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano.

El campo esparcido debajo del plano de la sombra proyectada por la partícula puede ser encontrado usando una expansión de onda plana en el plano  $z = 0$ , para ello aplicamos la transformada de Fourier del campo transversal, Ec. (4.3), sobre el plano  $xy$ ,

$$\tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(k_x, k_y, 0) = \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} \int E_{\perp}^s(x, y, 0) e^{-ik_x x - ik_y y} dx dy = \tilde{E}_{\perp}^s(k_x, k_y, 0) \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp}. \quad (4.4)$$

Tomando la transformada de Fourier inversa a la Ec. (4.4), se obtiene,

$$\mathbf{E}_{\perp}^s(x, y, 0) = \frac{\hat{\mathbf{e}}_{i,\perp}}{4\pi^2} \int \tilde{E}_{\perp}^s(k_x, k_y, 0) e^{ik_x x + ik_y y} dk_x dk_y. \quad (4.5)$$

El campo para  $z > 0$  se obtiene completando el integrando para convertirla en una onda plana vectorial, la cual es solución a las ecuaciones de Maxwell [47, 88-90] en un medio llenando el espacio para  $z > 0$ , la cual se reduce al *Kernel* original para  $z = 0$ . Podemos escribir este campo como,

$$\mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0} = \frac{1}{4\pi^2} \int \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} + ik_{z_1} z]} dk_x dk_y, \quad (4.6)$$

donde  $\mathbf{k}_{\perp} = (k_x, k_y)$ ,  $\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} = k_x x + k_y y$ ,  $k_{z_1} = \sqrt{n_m^2 k_0^2 - k_x^2 - k_y^2}$  y,  $\tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) = \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) + \hat{\mathbf{a}}_z \tilde{E}_z^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0)$ , siendo,

$$\tilde{E}_z^s = - \frac{\mathbf{k}_{\perp} \cdot \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0)}{\sqrt{n_m^2 k_0^2 - k_x^2 - k_y^2}}. \quad (4.7)$$

Ahora, consideremos un sustrato cercano a la partícula como se muestra en la Fig. 4.1. Vamos a suponer que el sustrato es un bloque con un índice de refracción  $n_2$  seguido de un medio con un índice de refracción,  $n_3$ . El campo esparcido por la partícula es reflejado y transmitido por el sustrato. Usando ADA, se tiene que la partícula no produce un campo reflejado. Así, el campo reflejado por el sustrato no se refleja de la partícula hacia el sustrato nuevamente. No se deben tomar en cuenta las múltiples reflexiones entre el sustrato y las partículas dentro de la aproximación ADA. El campo incidente esparcido sobre el sustrato es el campo dado por la Ec. (4.6). El campo esparcido pasando el sustrato,

esto es para  $z > 0^+$ , se obtiene transmitiendo cada onda plana dentro del núcleo de la Ec. (4.6) a través del sustrato y en el espacio para  $z > 0^+$ , de donde se obtiene,

$$\mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0^+} = \frac{1}{4\pi^2} \int \vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_\perp) \cdot \vec{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_\perp, 0) e^{[i\mathbf{k}_\perp \cdot \mathbf{r}_\perp + ik_{z_3}z]} dk_x dk_y, \quad (4.8)$$

donde  $\vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_\perp)$  es un tensor que depende de los coeficientes de transmisión para las dos polarizaciones TE y TM de una onda plana,  $k_{z_3} = \sqrt{k_3^2 - k_x^2 - k_y^2}$ , siendo  $k_3 = k_0 n_3$ .

Este tensor lo podemos escribir como,

$$\vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_\perp) = \hat{\mathbf{a}}_3^{TE} \hat{\mathbf{a}}_1^{TE} \mathbf{t}_{123}^{TE} + \hat{\mathbf{a}}_3^{TM} \hat{\mathbf{a}}_1^{TM} \mathbf{t}_{123}^{TM}, \quad (4.9)$$

donde  $\hat{\mathbf{a}}_1^{TE} = (\mathbf{k}_1 \times \hat{\mathbf{a}}_z) / |\mathbf{k}_1 \times \hat{\mathbf{a}}_z|$ ,  $\hat{\mathbf{a}}_1^{TM} = \hat{\mathbf{a}}_1^{TE} \times \hat{\mathbf{k}}_1$ ,  $\hat{\mathbf{a}}_3^{TE} = \hat{\mathbf{a}}_1^{TE}$ , y  $\hat{\mathbf{a}}_3^{TM} = \hat{\mathbf{a}}_1^{TE} \times \hat{\mathbf{k}}_3$ . Los coeficientes de transmisión para las dos polarizaciones de una onda plana,  $t_{123}^{TE}$  y  $t_{123}^{TM}$ , son los coeficientes de transmisión de Fresnel de tres medios y éstos se deducen en muchos libros de electromagnetismo, [47, 88-90]. Nota: Para ambos coeficientes de transmisión se toma que el medio de incidencia tiene un índice de refracción  $n_1$  el cual corresponde al medio matriz que rodea a la partícula con índice de refracción  $n_m$ , por lo tanto,  $n_1 = n_m$ .

Ahora vamos a determinar el camino óptico recorrido,  $h_t(x, y, \theta_i)$ , por un rayo que incide a un ángulo  $\theta_i$  al atravesar una partícula elipsoidal sobre el plano  $z = 0$ . Para este caso, vamos a considerar una partícula con forma elipsoidal con uno de sus ejes paralelo a la normal de la interfaz (eje- $z$ ). Los puntos  $(x, y, z)$  que viven en la superficie de la partícula satisfacen la siguiente ecuación,

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{(z+c)^2}{c^2} = 1. \quad (4.10)$$

La ecuación de un rayo que cruza el plano  $z = 0$  en  $(x', y')$ , a un ángulo  $\theta_i$ , satisface las ecuaciones:  $x = z \tan \theta_i + x'$  y  $y = y'$ . Entonces los puntos de intersección del rayo con la superficie del elipsoide satisfacen la Ec. (4.10), de manera que,

$$\frac{(z \tan \theta_i + x')^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2} + \frac{(z+c)^2}{c^2} = 1. \quad (4.11)$$

La ecuación (4.11) se puede simplificar a una ecuación algebraica de segundo orden como función de la variable  $z$ , de manera que,

$$A_1 z^2 + A_2 z + A_3 = 0, \quad (4.12)$$

donde  $A_1 = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A_2 = 2 \left( \frac{x' \tan \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c} \right)$  y  $A_3 = \frac{x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . En este caso  $a$ ,  $b$  y  $c$  son las longitudes de los semiejes del elipsoide respecto de los ejes  $x$ ,  $y$  y  $z$ , ver Ec. (4.10). Al resolver la Ec. (4.12) se encuentran las coordenadas de los puntos de intersección del rayo con la superficie de la partícula, los cuales son:  $(x_1, y_1, z_1)$  y  $(x_2, y_2, z_2)$ . Donde,

$$x_1 = z_1 \tan \theta_i + x' \quad \text{y} \quad x_2 = z_2 \tan \theta_i + x', \quad (4.13a)$$

$$y_1 = y_2 = y', \quad (4.13b)$$

$$z_1 = \frac{-A_2 - \sqrt{(A_2)^2 - 4A_1A_3}}{2A_1} \quad \text{y} \quad z_2 = \frac{-A_2 + \sqrt{(A_2)^2 - 4A_1A_3}}{2A_1}. \quad (4.13c)$$

Nota: En este caso se escoge  $z_1$  como un número negativo más grande que  $z_2$  de manera que  $z_2 - z_1$  es un número positivo. La longitud del camino óptico que recorre el rayo dentro de la partícula,  $h_t(x, y, \theta_i)$ , está dada por,

$$h_t(x, y, \theta_i) = \Re e \left\{ \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2 + (z_2 - z_1)^2} \right\}. \quad (4.14)$$

En la Ec. (4.14) tomamos la parte real de la función  $h_t(x, y, \theta_i)$  para que se convierta en cero cuando no exista solución real para la intersección entre la superficie de la partícula y el rayo. Sustituyendo las Ecs. (4.13) en (4.14), se obtiene la siguiente expresión,

$$h_t(x, y, \theta_i) = \frac{\Re e \left\{ \sqrt{(A_2)^2 - 4A_1A_3} \right\}}{A_1 \cos \theta_i}, \quad (4.15)$$

donde  $A_1 = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A_2 = 2 \left( \frac{x' \tan \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c} \right)$  y  $A_3 = \frac{x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . De manera general, se puede observar que la función  $h_t(x, y, \theta_i)$  depende de la forma geométrica que posee la partícula, en nuestro caso se considera una forma elipsoidal. La Ec. (4.15) se sustituye en la Ec. (4.3) y sustituyendo ésta en la Ec. (4.8) podemos determinar el campo transmitido esparcido pasando el sustrato para  $z > 0^+$ .

## 4.2 Campo reflejado por una partícula grande y suave sobre un sustrato plano

Como se mencionó previamente, dentro de ADA una partícula aislada no esparce luz hacia atrás (no hay reflexión). Pero cuando la partícula se deposita sobre la superficie de un sustrato plano, la onda incidente atraviesa la partícula, se refleja sobre el sustrato y nuevamente atraviesa la partícula en la dirección opuesta, ver Fig. 4.2. Por lo tanto, las partículas que se depositan sobre un sustrato esparcen la luz reflejada dentro de ADA. No

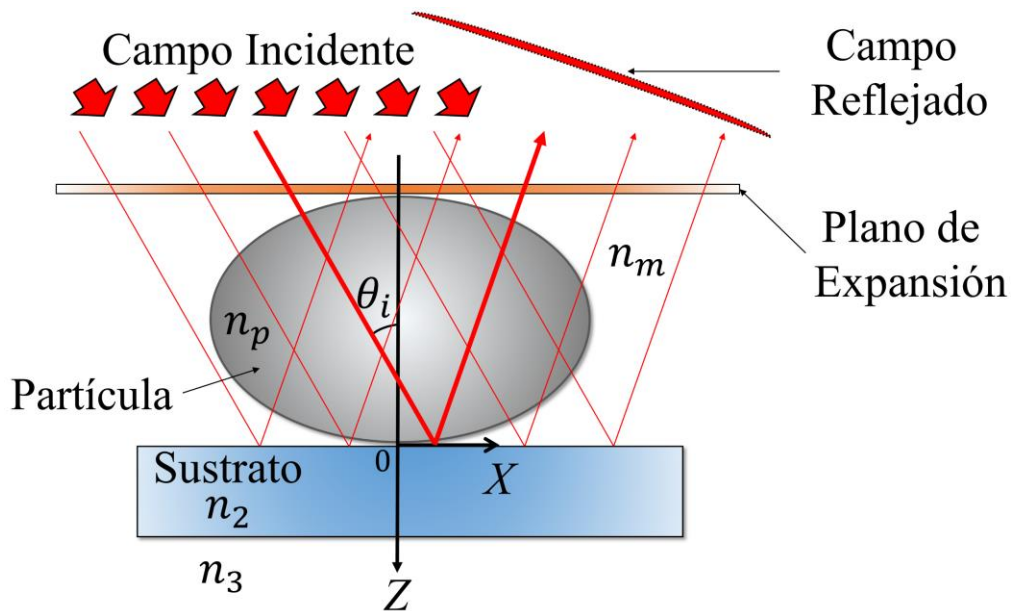
hay ningún trabajo previo a éste del cual tengamos conocimiento, en el que se use ADA para obtener expresiones simples que describan el esparcimiento de luz para una monocapa de partículas grandes y tenues depositadas sobre un sustrato plano.

Para resolver el problema de esparcimiento de luz que refleja una sola partícula depositada sobre un sustrato plano para un haz incidiendo sobre ésta, a un ángulo  $\theta_i$  empleando ADA; nosotros simplemente propagamos el campo incidente a la interfaz del sustrato multiplicando por el coeficiente de reflexión del sustrato, como función del ángulo de incidencia y de la polarización del haz, denotado como  $r_{123}(\theta_i)$ . Luego propagamos este campo de regreso al plano de expansión justo por encima de la partícula, véase la Fig. 4.2, donde realizamos la expansión de onda plana vectorial y propagamos dentro del espacio correspondiente a  $z < -2c$ . Como en el caso anterior, el plano de expansión se toma para  $z = -2c$ , siendo  $c$  la longitud del semieje- $z$  de la partícula elipsoidal. El campo reflejado en ausencia de una partícula está dado como,

$$\mathbf{E}^r = r_{123}(\theta_i)E_0 e^{ik_x^i x - ik_z^i z} \hat{\mathbf{e}}_r, \quad (4.16)$$

donde  $\hat{\mathbf{e}}_r$  es el vector de polarización de la onda reflejada. Note que  $\hat{\mathbf{e}}_r$  debe ser normal al vector de onda  $\mathbf{k}^r$ . El vector  $\hat{\mathbf{e}}_r$  lo podemos expresar como,

$$\hat{\mathbf{e}}_r = -\cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x - \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z. \quad (4.17)$$



**Fig. 4-2** Rayos pasando a través de una partícula elipsoidal a un ángulo de incidencia  $\theta_i$ , los cuales son reflejados por un sustrato, pasando nuevamente a través de la partícula, con un desfase total adquirido de  $\Psi_r(x, y, \theta_i)$ .

La Aproximación por Difracción Anómala para este caso, consiste en asumir que los rayos ópticos de la onda incidente hacia el eje-z positivo (hacia abajo), son reflejados por el sustrato en  $z = 0$  y redirigidos hacia el eje-z negativo (hacia arriba), sin sufrir alguna desviación o cambio en su amplitud, pero adquiriendo un desfase proporcional a la distancia total recorrida dentro de la partícula, denotada como  $h_r(x, y, \theta_i)$ . Por lo tanto, el camino óptico recorrido por la onda incidente, que se refleja por el sustrato y, pasa nuevamente por la partícula, corresponde a la suma de la distancia recorrida al ir hacia abajo, a través de la partícula, más la distancia recorrida al ir hacia arriba y atravesar nuevamente la partícula. Dentro de ADA, recalamos que el campo eléctrico de la onda esparcida, por una partícula dada, es el campo total menos el campo que habría sin la partícula que corresponde a la Ec. (4.16). Entonces, en el plano de expansión justo por encima de la partícula, en  $z = -2c$ , el campo esparcido por una partícula grande y tenue soportada por un sustrato plano (ver Fig. 4.2), tiene una expresión dentro de ADA como,

$$\mathbf{E}_{\perp}^s(x, y, -2c) = r_{123}(\theta_i)E_0 e^{ik_x^i x + 2ik_z^i c} [e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x, y, \theta_i)} - 1] \hat{\mathbf{e}}_{r, \perp}. \quad (4.18)$$

De la Ec. (4.18) sea  $\Psi_r(x, y, \theta_i) = k_0(n_p - n_m)h_r(x, y, \theta_i)$  el desfase que sufre un rayo al atravesar la partícula y cruzar el plano  $z = -2c$  en  $(x, y)$ . NOTA: La función  $h_r$  es cero cuando el rayo no atraviesa la partícula, ya sea en la dirección  $z > 0$  o en  $z < 0$ , del eje-z. Por lo tanto, lo que está entre corchetes de la Ec. (4.18) es nulo para el punto  $(x, y)$ , en el plano de expansión, fuera de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano a un ángulo de incidencia  $\theta_i$ . La expresión (4.18), la podemos reescribir como,

$$\mathbf{E}_{\perp}^s(x, y, -2c) = E_{\perp}^s(x, y, -2c) \hat{\mathbf{e}}_{r, \perp}, \quad (4.19)$$

donde,

$$E_{\perp}^s(x, y, -2c) = r_{123}(\theta_i)E_0 e^{ik_x^i x + 2ik_z^i c} [e^{i\Psi_r(x, y, \theta_i)} - 1]. \quad (4.20)$$

El campo esparcido por encima del plano de expansión se puede encontrar usando la expansión de onda plana vectorial en el plano  $z = -2c$ . Para ello, aplicamos la transformada de Fourier del campo transversal, Ec. (4.19), para obtener,

$$\tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(k_x, k_y, -2c) = \hat{\mathbf{e}}_{r, \perp} \int E_{\perp}^s(x, y, -2c) e^{-ik_x x - ik_y y} dx dy = \tilde{E}_{\perp}^s(k_x, k_y, -2c) \hat{\mathbf{e}}_{r, \perp}. \quad (4.21)$$

Tomando la transformada de Fourier inversa a la Ec. (4.21), se obtiene,

$$\mathbf{E}_{\perp}^s(x, y, -2c) = \frac{\hat{\mathbf{e}}_{r, \perp}}{4\pi^2} \int \tilde{E}_{\perp}^s(k_x, k_y, -2c) e^{ik_x x + ik_y y} dk_x dk_y. \quad (4.22)$$

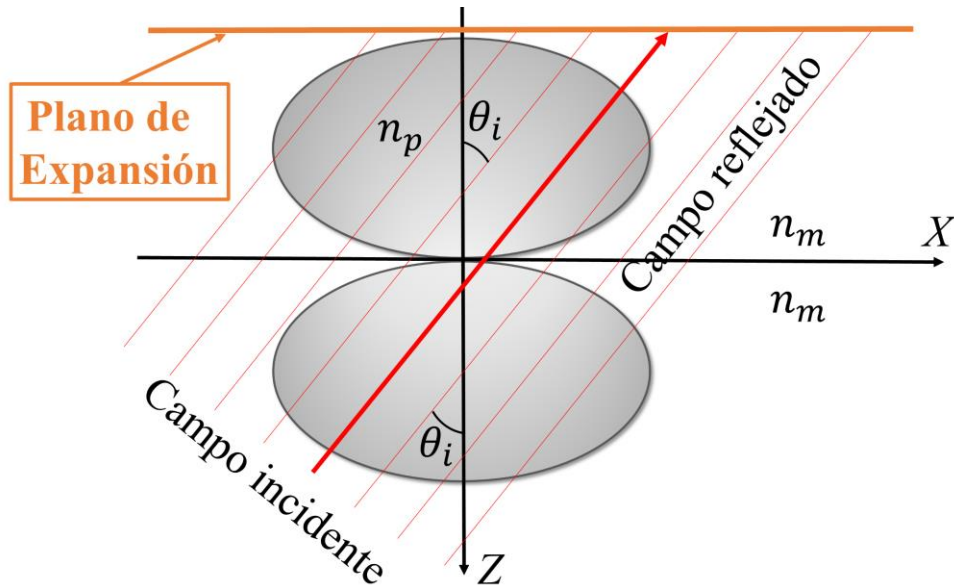
El campo para  $z < -2c$  se obtiene completando el integrando para convertirla en una onda plana vectorial, la cual es solución a las ecuaciones de Maxwell en un medio llenando el espacio para  $z < -2c$ , que se reduce al *Kernel* original para  $z = -2c$ . Podemos escribir esta onda plana vectorial como,

$$\mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z < -2c} = \frac{1}{4\pi^2} \int \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} - ik_{z_1}(z+2c)]} dk_x dk_y, \quad (4.23)$$

donde  $\mathbf{k}_{\perp} = (k_x, k_y)$ ,  $\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} = k_x x + k_y y$ ,  $k_{z_1} = \sqrt{n_m^2 k_0^2 - k_x^2 - k_y^2}$  y,  $\tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c) = \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c) + \hat{\mathbf{a}}_z \tilde{E}_z^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c)$ , siendo,

$$\tilde{E}_z^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c) = \frac{\mathbf{k}_{\perp} \cdot \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, -2c)}{\sqrt{n_m^2 k_0^2 - k_x^2 - k_y^2}}. \quad (4.24)$$

Para calcular el desfase que sufre la onda eléctrica en el plano de expansión de la Fig. 4.2 usando ADA, debemos tomar en cuenta que algunos rayos que van en la dirección del eje-z positivo no pasan por la partícula, pero al ser reflejados por el sustrato, pasan por ésta hacia el plano de expansión. Por otra parte, se tienen rayos que atraviesan la partícula cuando inciden sobre ésta, pero al ser reflejados por el sustrato, no la atraviesan de nuevo. Y tenemos también aquellos rayos que atraviesan la partícula y, al ser reflejados por el sustrato, pasan nuevamente por ésta, ver Fig. 4.2. Para tomar en cuenta estos casos, es más fácil si pesamos en dos partículas idénticas centradas, donde un conjunto de rayos incide por debajo del par de partículas como se muestra en la Fig. 4.3.



**Fig. 4-3** Uso de una partícula imagen para calcular el camino óptico total recorrido por la onda incidente al atravesar la partícula en su camino hacia el plano de expansión,  $h_r(x, y, \theta_i)$ .

La partícula superior, para  $z < 0$ , corresponde a la partícula física y la partícula inferior, para  $z > 0$ , corresponde a su imagen. El centro de la partícula física está en  $(0,0,-c)$  y el centro de la partícula imaginaria está en  $(0,0,c)$ . El par ordenado de los puntos que viven en la superficie, para cada una de estas partículas, satisfacen la siguiente ecuación correspondiente a un elipsoide,

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{(z \pm c)^2}{c^2} = 1, \quad (4.25)$$

donde el signo  $+$  se toma para la partícula superior y el signo  $-$  se toma para la partícula inferior, ver Fig. 4.3. La distancia recorrida por un rayo atravesando el plano de expansión  $z = -2c$  en  $(x', y')$  es la suma de la distancia recorrida a través de la partícula física más la recorrida a través de la partícula imagen, tomando en cuenta también, los rayos que atraviesan una sola vez a la partícula (para el haz incidente y para el haz reflejado). Estos rayos obedecen el siguiente par de ecuaciones,  $x = -(z + 2c) \tan \theta_i + x'$  y  $y = y'$ . Entonces los puntos de intersección del rayo con la superficie de la partícula superior satisfacen la Ec. (4.25) de manera que,

$$\frac{[-(z + 2c) \tan \theta_i + x']^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2} + \frac{(z + c)^2}{c^2} = 1, \quad (4.26)$$

La ecuación (4.26) se puede simplificar a una ecuación algebraica de segundo orden como función de la variable  $z$ , de manera que,

$$A'_1 z^2 + A'_2 z + A'_3 = 0, \quad (4.27)$$

donde  $A'_1 = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A'_2 = 2 \left[ \frac{2c \tan^2 \theta_i - x' \tan \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c} \right]$  y  $A'_3 = \frac{4c \tan \theta_i (x' + c \tan \theta_i) + x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . Como en el caso anterior:  $a$ ,  $b$  y  $c$  son las longitudes de los semiejes del elipsoide respecto de los ejes  $x$ ,  $y$  y  $z$ , ver Ec. (4.25). Al resolver la Ec. (4.27) se encuentran las coordenadas de los puntos de intersección del rayo con la superficie de la partícula, los cuales son:  $(x'_1, y'_1, z'_1)$  y  $(x'_2, y'_2, z'_2)$ . Donde,

$$x'_1 = -(z_1 + 2c) \tan \theta_i + x' \quad \text{y} \quad x'_2 = -(z_2 + 2c) \tan \theta_i + x', \quad (4.28a)$$

$$y'_1 = y'_2 = y', \quad (4.28b)$$

$$z'_1 = \frac{-A'_2 - \sqrt{(A'_2)^2 - 4A'_1 A'_3}}{2A'_1} \quad \text{y} \quad z'_2 = \frac{-A'_2 + \sqrt{(A'_2)^2 - 4A'_1 A'_3}}{2A'_1}. \quad (4.28c)$$

La longitud del camino óptico que recorre el rayo dentro de la partícula física,  $h_r^p(x, y, \theta_i)$ , está dada por,

$$h_r^p(x, y, \theta_i) = \Re \left\{ \sqrt{(x'_2 - x'_1)^2 + (y'_2 - y'_1)^2 + (z'_2 - z'_1)^2} \right\}. \quad (4.29)$$

Sustituyendo las Ecs. (4.28) en la Ec. (4.29), se obtiene la siguiente expresión simplificada,

$$h_r^p(x, y, \theta_i) = \frac{\Re \left\{ \sqrt{(A'_2)^2 - 4A'_1 A'_3} \right\}}{A'_1 \cos \theta_i}, \quad (4.30)$$

donde  $A'_1 = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A'_2 = 2 \left[ \frac{2c \tan^2 \theta_i - x' \tan \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c} \right]$  y  $A'_3 = \frac{4c \tan \theta_i (x' + c \tan \theta_i) + x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . Para el caso de la partícula imagen, los puntos de intersección del rayo con la superficie de la partícula, con centro en  $(x = 0, y = 0, z = c)$ , satisfacen la Ec. (4.25) de manera que,

$$\frac{[-(z + 2c) \tan \theta_i + x']}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2} + \frac{(z - c)^2}{c^2} = 1, \quad (4.31)$$

Como en los casos previos, la ecuación (4.31) se puede simplificar a una ecuación algebraica de segundo orden como función de la variable  $z$ , de manera que,

$$A''_1 z^2 + A''_2 z + A''_3 = 0, \quad (4.32)$$

donde  $A''_1 = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A''_2 = 2 \left[ \frac{2c \tan^2 \theta_i - x' \tan \theta_i}{a^2} - \frac{1}{c} \right]$  y  $A''_3 = \frac{4c \tan \theta_i (x' + c \tan \theta_i) + x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . Al resolver la Ec. (4.32) se encuentran las coordenadas de los puntos de intersección del rayo con la superficie de la partícula imaginaria, denotados como:  $(x''_1, y''_1, z''_1)$  y  $(x''_2, y''_2, z''_2)$ . Donde,

$$x''_1 = -(z_1 + 2c) \tan \theta_i + x' \quad \text{y} \quad x''_2 = -(z_2 + 2c) \tan \theta_i + x', \quad (4.33a)$$

$$y''_1 = y''_2 = y', \quad (4.33b)$$

$$z''_1 = \frac{-A''_2 - \sqrt{(A''_2)^2 - 4A''_1 A''_3}}{2A''_1} \quad \text{y} \quad z''_2 = \frac{-A''_2 + \sqrt{(A''_2)^2 - 4A''_1 A''_3}}{2A''_1}. \quad (4.33c)$$

La longitud del camino óptico que recorre el rayo dentro de la partícula imaginaria,  $h_r^i(x, y, \theta_i)$ , está dada por la expresión,

$$h_r^i(x, y, \theta_i) = \Re \left\{ \sqrt{(x''_2 - x''_1)^2 + (y''_2 - y''_1)^2 + (z''_2 - z''_1)^2} \right\}. \quad (4.34)$$

Sustituyendo las Ecs. (4.33) en la Ec. (4.34), se obtiene la siguiente expresión simplificada,



$$h_r^i(x, y, \theta_i) = \frac{\Re e\{\sqrt{(A_2'')^2 - 4A_1''A_3''}\}}{A_1'' \cos \theta_i}, \quad (4.35)$$

donde  $A_1'' = \frac{\tan^2 \theta_i}{a^2} + \frac{1}{c^2}$ ,  $A_2'' = 2 \left[ \frac{2c \tan^2 \theta_i - x' \tan \theta_i}{a^2} - \frac{1}{c} \right]$  y  $A_3'' = \frac{4c \tan \theta_i (x' + c \tan \theta_i) + x'^2}{a^2} + \frac{y'^2}{b^2}$ . La función  $h_r(x, y, \theta_i)$  es la suma de las funciones  $h_r^p(x, y, \theta_i)$  y  $h_r^i(x, y, \theta_i)$ , que corresponden a la distancia recorrida por el rayo en la partícula física más la distancia recorrida por el rayo en la partícula imagen, respectivamente. Por lo tanto,

$$h_r(x, y, \theta_i) = h_r^p(x, y, \theta_i) + h_r^i(x, y, \theta_i). \quad (4.36)$$

### 4.3 Coeficiente de transmisión coherente para una monocapa

Para deducir los coeficientes de transmisión y reflexión en la dirección especular, para un conjunto de partículas que conforman la monocapa nosotros consideramos el promedio de las ondas transmitidas y reflejadas de este conjunto, apoyándonos de las expresiones (4.8) y (4.23), respectivamente; que corresponden al campo esparcido de la transmitancia y reflectancia de una sola partícula depositada sobre un sustrato plano. En la dirección especular las ondas esparcidas, debido a cada una de las partículas, se suman coherentemente, ya que la fase relativa entre los campos esparcidos de las partículas localizadas aleatoriamente sobre la superficie de un sustrato, es cero.

Vamos a suponer que tenemos  $N$  partículas localizadas aleatoriamente sobre la superficie de un sustrato de área  $A$ , en el plano  $z = -c$ . Supongamos que para la  $j$ -ésima partícula su centro geométrico está localizado en  $(x, y, z) = (x_j, y_j, -c)$ . Para esta partícula, dada su ubicación, podemos emplear el siguiente cambio de variables (que corresponden a una traslación del sistema coordenado),

$$x = x'' + x_j, \quad y = y'' + y_j, \quad z = z''.$$

Haciendo el cambio de variables previo, podemos reescribir la Ec. (4.4) para la partícula  $j$ -ésima como,

$$\begin{aligned} \tilde{\mathbf{E}}_{j,\perp}^S(k_x, k_y, 0) &= \\ &= \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} e^{-ik_x x_j - ik_y y_j} \int E_{j,\perp}^S(x'' + x_j, y'' + y_j, 0) e^{-ik_x x'' - ik_y y''} dx'' dy'', \end{aligned} \quad (4.37)$$

usando la expresión (4.3) con el nuevo cambio de variable, se obtiene que,

$$\mathbf{E}_{j,\perp}^S(x'' + x_j, y'' + y_j, 0) = E_0 e^{ik_x^i(x'' + x_j)} [e^{ik_0(n_p - n_1)h_t(x'', y'', \theta_i)} - 1] \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp}. \quad (4.38)$$

Note que el cambio de variable para la función  $h_t(x'', y'', \theta_i)$  de la Ec. (4.38) respecto a la Ec. (4.3), corresponde a trasladar el plano de expansión a:  $x'' = x - x_j$  y  $y'' = y - y_j$ , ya que la ubicación de la  $j$ -ésima partícula se encuentra en  $(x_j, y_j, -c)$ . La expresión (4.38) se puede denotar de manera simplificada como,

$$\mathbf{E}_{j,\perp}^s(x'' + x_j, y'' + y_j, 0) = e^{ik_x^i x_j} \mathbf{E}_{\perp}^s(x'', y'', 0). \quad (4.39)$$

Sustituyendo la Ec. (4.39) en la Ec. (4.37), se obtiene la expresión,

$$\tilde{\mathbf{E}}_{j,\perp}^s(k_x, k_y, 0) = e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} \int \mathbf{E}_{\perp}^s(x'', y'', 0) e^{-ik_x x'' - ik_y y''} dx'' dy''. \quad (4.40)$$

Nota: Sin pérdida de generalidad en la expresión (4.40) podemos hacer un cambio de notación como sigue:  $x'' \rightarrow x$  y  $y'' \rightarrow y$ . La Ec. (4.40) la podemos reescribir como,

$$\tilde{\mathbf{E}}_{j,\perp}^s(k_x, k_y, 0) = e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0). \quad (4.41)$$

Por lo tanto, para la  $j$ -ésima partícula su campo esparcido usando la Ec. (4.8) se puede escribir como,

$$\mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} = \frac{e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j}}{4\pi^2} \int_{\vec{\mathbf{t}}_{123}}(\mathbf{k}_{\perp}) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} + ik_{z_3} z]} dk_x dk_y. \quad (4.42)$$

El siguiente paso consiste en sumar el campo esparcido por cada partícula depositada sobre el sustrato, desde  $j = 1$  hasta  $N$ , sobre cada una de sus posiciones, para así obtener el campo total esparcido, el cual se puede escribir como,

$$\mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0} = \sum_{j=1}^N \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0}. \quad (4.43)$$

El campo transmitido coherentemente, para la monocapa de partículas, corresponde al promedio configuracional sobre todas las posiciones permitidas de las partículas sobre el sustrato. El promedio del campo total es la suma del promedio configuracional del campo esparcido por cada una de las partículas que conforman la monocapa. Siendo que todas las partículas son equivalentes, esto implica que, todos los términos en la suma son iguales y podemos reemplazar la suma por un factor  $N$ , por lo tanto,

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \sum_{j=1}^N \langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = N \langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle. \quad (4.44)$$

Vamos a suponer que la densidad de probabilidad de encontrar el centro para cualquier partícula, en una posición aleatoria  $(x_j, y_j)$ , es uniforme y está dada por  $1/A$ .

Vamos también a suponer que la densidad de superficie de las partículas es pequeña y que podemos, por lo tanto, ignorar las correlaciones entre las posiciones que hay en cualquier par de partículas. Entonces, el promedio configuracional para el campo esparcido por cualquiera de las partículas, decimos para la  $j$ -ésima partícula, está dada por,

$$\langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \frac{1}{A} \int_{-\infty}^{\infty} \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} dx_j dy_j. \quad (4.45)$$

Sustituyendo la Ec. (4.42) en la Ec. (4.45), se obtiene la siguiente expresión,

$$\langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \frac{1}{4\pi^2 A} \cdot \int \left[ \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} dx_j dy_j \right] \vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_{\perp}) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} + ik_{z_3} z]} dk_x dk_y. \quad (4.46)$$

El siguiente paso es sustituir la Ec. (4.46) en la Ec. (4.44) para encontrar el campo transmitido coherentemente,

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \frac{\rho}{4\pi^2} \cdot \int \left[ \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} dx_j dy_j \right] \vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_{\perp}) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} + ik_{z_3} z]} dk_x dk_y, \quad (4.47)$$

donde hemos definido la densidad de partículas por unidad de área como:  $\rho \equiv N/A$ . Lo que está fuera de los corchetes de la Ec. (4.47) no depende de las variables  $x_j$  y  $y_j$ . Por lo tanto, desarrollando las integrales sobre  $dx_j dy_j$ , tenemos que,

$$\int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} dx_j dy_j = 4\pi^2 \delta(k_x - k_x^i) \delta(k_y). \quad (4.48)$$

Sustituyendo la solución de la Ec. (4.48) en la Ec. (4.47), y resolviendo las integrales sobre  $dk_x dk_y$ , las deltas de Dirac se simplifican de manera sencilla usando la siguiente expresión [83],

$$\int_{-\infty}^{\infty} \delta(x - a) f(x) dx = f(a)$$

de manera que,

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \frac{\rho}{4\pi^2} \cdot \int 4\pi^2 \delta(k_x - k_x^i) \delta(k_y) \vec{\mathbf{t}}_{123}(\mathbf{k}_{\perp}) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_{\perp}, 0) e^{[i\mathbf{k}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{\perp} + ik_{z_3} z]} dk_x dk_y =$$

$$= \rho \vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0) e^{ik_x^i x + ik_z^t z}, \quad (4.49)$$

donde  $k_z^t = \sqrt{n_3^2 k_0^2 - (k_x^i)^2}$ . Por lo tanto, la onda promedio transmitida es una onda plana en la dirección de refracción de la onda incidente dentro del medio de transmisión. La onda coherente total transmitida es la onda transmitida sin partículas más el campo esparcido promedio, de manera que,

$$\begin{aligned} & \langle \mathbf{E}^T(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \\ & = E_0 [\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \hat{\mathbf{e}}_i] e^{ik_x^i x + ik_z^t z} + \rho [\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0)] e^{ik_x^i x + ik_z^t z}. \end{aligned} \quad (4.50)$$

Recordemos que  $\tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_\perp, 0) = \tilde{\mathbf{E}}_\perp^s(\mathbf{k}_\perp, 0) + \hat{\mathbf{a}}_z \tilde{E}_z^s(\mathbf{k}_\perp, 0)$ . Por lo tanto, usando la Ec. (4.7), podemos reescribir  $\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0)$  de la expresión (4.50) como,

$$\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0) = \left( \vec{\mathbf{I}} - \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x}{k_z^i} \right) \cdot \tilde{\mathbf{E}}_\perp^s(k_x^i, 0, 0). \quad (4.51)$$

Usando la Ecs. (4.40) y (4.41) en la Ec. (4.51), podemos simplificar esta última como,

$$\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0) = \left( \vec{\mathbf{I}} - \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x}{k_z^i} \right) \cdot \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} \int E_\perp^s(x, y, 0) e^{-ik_x^i x} dx dy, \quad (4.52)$$

donde:

$$\left( \vec{\mathbf{I}} - \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x}{k_z^i} \right) \cdot \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} = \hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} - \frac{k_x^i \cos \theta_i}{k_z^i} \hat{\mathbf{a}}_z = \hat{\mathbf{e}}_i. \quad (4.53)$$

Para simplificar la Ec. (4.53) hicimos uso de las siguientes expresiones,  $\hat{\mathbf{e}}_{i,\perp} = \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x$ ,  $k_x^i = k_m \sin \theta_i$ ,  $k_z^i = k_m \cos \theta_i$ , y  $\hat{\mathbf{e}}_i = \cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x - \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z$ . Por lo tanto, la Ec. (4.52) se puede reescribir como,

$$\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, 0) = \hat{\mathbf{e}}_i \int E_\perp^s(x, y, 0) e^{-ik_x^i x} dx dy. \quad (4.54)$$

Con la Ec. (4.54) podemos simplificar la Ec. (4.50) como,

$$\begin{aligned} & \langle \mathbf{E}^T(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle = \\ & = [\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \hat{\mathbf{e}}_i] \left[ E_0 + \rho \int E_\perp^s(x, y, 0) e^{-ik_x^i x} dx dy \right] e^{ik_x^i x + ik_z^t z}. \end{aligned} \quad (4.55)$$

La Ec. (4.55) la podemos simplificar usando la Ec. (4.3), de manera que,

$$\langle \mathbf{E}^T(\mathbf{r})|_{z>0} \rangle =$$

$$= E_0 [\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \hat{\mathbf{e}}_i] \left[ 1 + \rho \int [e^{ik_0(n_p - n_1)h_t(x,y,\theta_i)} - 1] dx dy \right] e^{ik_x^i x + ik_z^t z}. \quad (4.56)$$

El coeficiente de transmisión coherente se obtiene realizando el cociente entre la amplitud de la onda coherente transmitida dividida por la amplitud de la onda incidente. De la Ec. (4.56) se obtiene finalmente que,

$$t_{coh}(\theta_i) = t_{123}(\theta_i) \left\{ 1 + \rho \int [e^{ik_0(n_p - n_1)h_t(x,y,\theta_i)} - 1] dx dy \right\}, \quad (4.57)$$

donde la función  $h_t(x, y, \theta_i)$  para un elipsoide está dado por la Ec. (4.15),  $t_{123}(\theta_i)$  es la amplitud del vector  $\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \hat{\mathbf{e}}_i$ . Para el caso de un haz incidente con polarización TE o TM, se tiene que  $\vec{\mathbf{t}}_{123}(k_x^i, 0) \cdot \hat{\mathbf{e}}_i = t_{123}^{TE}(\theta_i)$  o  $t_{123}^{TM}(\theta_i)$ , respectivamente.

#### 4.4 Coeficiente de reflexión coherente para una monocapa

Siguiendo un procedimiento similar al anterior, vamos a suponer que tenemos  $N$  partículas localizadas aleatoriamente sobre la superficie de un sustrato de área  $A$ , en el plano  $z = -c$ . Supongamos que para la  $j$ -ésima partícula su centro geométrico está localizado en  $(x, y, z) = (x_j, y_j, -c)$ . El promedio configuracional del campo total esparcido sobre el plano  $z = -2c$  se puede escribir como (ver Fig. 4.2),

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r}) |_{z < -2c} \rangle = N \langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r}) |_{z < -2c} \rangle. \quad (4.58)$$

Para la partícula  $j$ -ésima, dada su ubicación, podemos emplear el siguiente cambio de variables (que corresponden a una traslación del sistema coordenado),

$$x = x'' + x_j, \quad y = y'' + y_j, \quad z = z''.$$

De manera que usando la Ec. (4.23) y aplicando el cambio de variables previo, el campo esparcido para una partícula dada, decimos para la  $j$ -ésima partícula, está dada por,

$$\mathbf{E}_j^s(\mathbf{r}) |_{z < -2c} = \frac{1}{4\pi^2} \int \tilde{\mathbf{E}}_j^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) e^{[i\mathbf{k}_\perp \cdot \mathbf{r}_\perp - ik_{z_1}(z+2c)]} dk_x dk_y, \quad (4.59)$$

donde,

$$\tilde{\mathbf{E}}_j^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) = e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_\perp, -2c). \quad (4.60)$$

La Ec. (4.60) se deduce empleando la Ec. (4.21) y la Ec. (4.18) respectivamente. De manera que usando la expresión (4.21) y el cambio de variables, tenemos que,

$$\tilde{\mathbf{E}}_{j,\perp}^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) =$$

$$= \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} \int E_{j,\perp}^s(x'' + x_j, y'' + y_j, -2c) e^{-ik_x(x''+x_j) - ik_y(y''+y_j)} dx'' dy'', \quad (4.61a)$$

de la Ec. (4.18) se obtiene que,

$$\begin{aligned} E_{j,\perp}^s(x'' + x_j, y'' + y_j, -2c) &= \\ &= E_0 r_{123}(\theta_i) e^{ik_x^i(x''+x_j) + 2ik_z^i c} [e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x'', y'', \theta_i)} - 1], \end{aligned} \quad (4.61b)$$

sustituyendo la Ec. (4.61b) en la Ec. (4.61a), se deduce que,

$$\begin{aligned} \tilde{\mathbf{E}}_{j,\perp}^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) &= e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} \cdot \\ \cdot \int \left\{ E_0 r_{123}(\theta_i) e^{ik_x^i x'' + 2ik_z^i c} [e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x'', y'', \theta_i)} - 1] \right\} e^{-ik_x x'' - ik_y y''} dx'' dy'' &= \\ &= e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} \int E_\perp^s(x'', y'', -2c) e^{-ik_x x'' - ik_y y''} dx'' dy''. \end{aligned} \quad (4.62)$$

Comparando la Ec. (4.60) y la Ec. (4.62), podemos relacionar que,

$$\tilde{\mathbf{E}}_\perp^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) = \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} \int E_\perp^s(x'', y'', -2c) e^{-ik_x x'' - ik_y y''} dx'' dy'', \quad (4.63)$$

de donde,

$$E_\perp^s(x'', y'', -2c) = E_0 r_{123}(\theta_i) e^{ik_x^i x'' + 2ik_z^i c} [e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x'', y'', \theta_i)} - 1]. \quad (4.64)$$

Nota: En las expresiones (4.63) y (4.64) podemos hacer un cambio de notación como sigue:  $x'' \rightarrow x$  y  $y'' \rightarrow y$ . Sustituyendo la Ec. (4.59) en la Ec. (4.58), se obtiene la siguiente expresión,

$$\begin{aligned} N \langle \mathbf{E}_j^s(\mathbf{r}) |_{z < -2c} \rangle &= \frac{N}{4\pi^2 A} \cdot \\ \cdot \int \left[ \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i(k_x - k_x^i)x_j - ik_y y_j} dx_j dy_j \right] \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) e^{[i\mathbf{k}_\perp \cdot \mathbf{r}_\perp - ik_{z_1}(z+2c)]} dk_x dk_y. \end{aligned} \quad (4.65)$$

Lo que está fuera de los corchetes de la Ec. (4.65) no depende de las variables  $x_j$  y  $y_j$ . Por lo tanto, desarrollando las integrales sobre  $dx_j dy_j$ , tenemos que,

$$\begin{aligned} \langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r}) |_{z < -2c} \rangle &= \frac{\rho}{4\pi^2} \cdot \\ \cdot \int 4\pi^2 \delta(k_x - k_x^i) \delta(k_y) \tilde{\mathbf{E}}^s(\mathbf{k}_\perp, -2c) e^{[i\mathbf{k}_\perp \cdot \mathbf{r}_\perp - ik_{z_1}(z+2c)]} dk_x dk_y. \end{aligned} \quad (4.66)$$

Como en el caso anterior, definimos la densidad de partículas por unidad de área como:  $\rho \equiv N/A$ . Resolviendo las integrales sobre  $dk_x dk_y$ , el par de deltas de Dirac se simplifican de manera sencilla, obteniendo lo siguiente,

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z < -2c} \rangle = \rho \tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, -2c) e^{[ik_x^i x - ik_z^i(z+2c)]}, \quad (4.67)$$

donde,

$$\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, -2c) = \left( \vec{\Gamma} + \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x}{k_z^i} \right) \cdot \tilde{\mathbf{E}}_{\perp}^s(k_x^i, 0, -2c). \quad (4.68)$$

Usando las expresiones,  $\hat{\mathbf{e}}_r = -\cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x - \sin \theta_i \hat{\mathbf{a}}_z$ ,  $\hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} = -\cos \theta_i \hat{\mathbf{a}}_x$ ,  $k_x^i = k_m \sin \theta_i$ , y  $k_z^i = k_m \cos \theta_i$ , se puede demostrar que,

$$\left( \vec{\Gamma} - \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_x^i \hat{\mathbf{a}}_x}{k_z^i} \right) \cdot \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} = \hat{\mathbf{e}}_{r,\perp} - \hat{\mathbf{a}}_z \frac{k_m \sin \theta_i \cos \theta_i}{k_m \cos \theta_i} = \hat{\mathbf{e}}_r, \quad (4.69)$$

Sustituyendo la Ec. (4.63) en la Ec. (4.68), se deduce que,

$$\tilde{\mathbf{E}}^s(k_x^i, 0, -2c) = \hat{\mathbf{e}}_r \int E_{\perp}^s(x, y, -2c) e^{-ik_x^i x} dx dy, \quad (4.70)$$

donde se ha usado la Ec. (4.69) en esta última. Finalmente, el campo esparcido por la monocapa se obtiene sustituyendo la Ec. (4.70) en la Ec. (4.67), de manera que,

$$\langle \mathbf{E}^s(\mathbf{r})|_{z < -2c} \rangle = \rho e^{[ik_x^i x - ik_z^i(z+2c)]} \int E_{\perp}^s(x, y, -2c) e^{-ik_x^i x} dx dy \hat{\mathbf{e}}_r. \quad (4.71)$$

La onda coherente total reflejada es la onda reflejada sin monocapa más el campo esparcido promedio por la monocapa, de manera que,

$$\begin{aligned} & \langle \mathbf{E}^T(\mathbf{r})|_{z < -2c} \rangle = \\ & = E_0 r_{123}(\theta_i) e^{ik_x^i x - ik_z^i z} \hat{\mathbf{e}}_r + \rho e^{[ik_x^i x - ik_z^i(z+2c)]} \int E_{\perp}^s(x, y, -2c) e^{-ik_x^i x} dx dy \hat{\mathbf{e}}_r. \end{aligned} \quad (4.72)$$

donde  $E_{\perp}^s(x, y, -2c)$  está dado por la expresión (4.64). El coeficiente de reflexión coherente se define como el cociente entre la amplitud de la onda reflejada coherentemente y la onda incidente, de la Ec. (4.72) se deduce que,

$$r_{coh}(\theta_i) = r_{123}(\theta_i) \left\{ 1 + \rho \int (e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x, y, \theta_i)} - 1) dx dy \right\}, \quad (4.73)$$

donde la función  $h_r(x, y, \theta_i)$  para un elipsoide está dado por la Ec. (4.36),  $r_{123}(\theta_i)$  es el coeficiente de Fresnel de los tres medios (medio de incidencia, sustrato y medio de transmisión). La reflectancia de un haz bien colimado (un haz láser),  $R_{coh}$ , se define como la magnitud al cuadrado del coeficiente de reflexión coherente, ver Ec. (4.73). La

transmitancia, en general, depende de los índices de refracción del medio de incidencia y el medio de transmisión. Si se asume que éstos son iguales, tal como es el caso donde el sustrato es un bloque de material transparente inmerso en un medio matriz que rodea las partículas, la transmitancia es simplemente la magnitud al cuadrado del coeficiente de transmisión coherente, ver Ec. (4.57).

## 4.5 Simulaciones numéricas

En esta subsección se presentan algunas simulaciones numéricas usando los coeficientes de reflexión y transmisión derivados en la sección previa, con el objetivo de investigar los efectos de la forma y orientación de la partícula sobre los espectros de transmitancia y reflectancia relativos, y su dependencia como función del ángulo de incidencia. Supongamos que tenemos un sustrato plano de un material transparente (por ejemplo, plástico o vidrio), en el que se depositan partículas formando con ello una monocapa desordenada sobre éste. En general, sólo nos preocupamos por las propiedades de la monocapa y no por las propiedades de reflexión y transmisión del sustrato. Podemos así definir los coeficientes de reflexión y transmisión relativos, para la monocapa de partículas, independientemente de las características del sustrato. Para ello solo necesitamos dividir por el coeficiente de reflexión o transmisión del sustrato, según sea el caso. De hecho, en la práctica cuando se desea caracterizar una monocapa de partículas, uno puede medir la reflectividad, o transmitividad, de un sustrato con y sin monocapa, depositada sobre éste, y tomar el cociente entre ambas mediciones.

La reflectividad relativa coherente,  $\tilde{R}_{coh}$ , se define como el cociente entre la reflectancia coherente de un sustrato inmerso en un medio matriz con un índice de refracción  $n_m$  y con una monocapa depositada sobre éste dividida por la reflectancia del mismo sustrato inmerso en la misma matriz, pero sin la monocapa depositada en éste. De la Ec. (4.73), se deduce la reflectancia relativa coherente como,

$$\tilde{R}_{coh} = \left| 1 + \rho \int (e^{ik_0(n_p - n_m)h_r(x,y,\theta_i)} - 1) dx dy \right|^2. \quad (4.74)$$

Similarmente, nosotros definimos la transmitancia relativa,  $\tilde{T}_{coh}$ , a partir de la Ec. (4.57) como,

$$\tilde{T}_{coh} = \left| 1 + \rho \int [e^{ik_0(n_p - n_1)h_t(x,y,\theta_i)} - 1] dx dy \right|^2. \quad (4.75)$$

Como se mencionó previamente, nuestro objetivo aquí es ilustrar los efectos de la forma y orientación de la partícula sobre los espectros de reflexión y transmisión de



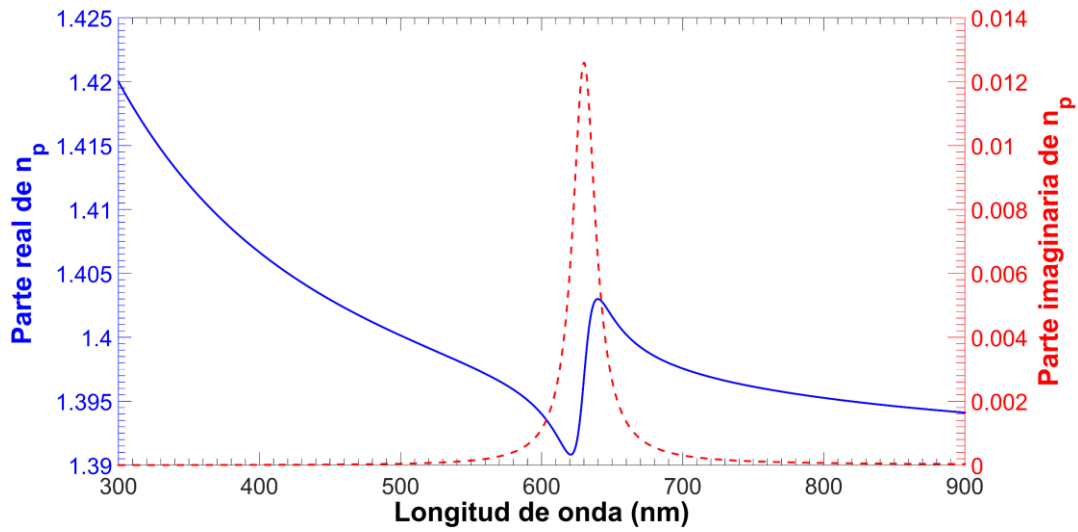
monocapas con partículas que tienen propiedades ópticas similares a células biológicas. Comúnmente, las células biológicas tienen dimensiones del orden de micrómetros y algunas de ellas presentan bandas de absorción bien definidas (por ejemplo, las células rojas RBCs, cloroplastos, y algunas bacterias, etc.), y en su entorno natural su índice de refracción  $n_p$  es cercano al medio que la rodea [25, 26, 87]. Para las simulaciones numéricas desarrolladas en esta subsección, consideraremos partículas con forma elipsoidal con sus semiejes a lo largo de los ejes coordenados,  $(x, y, z)$ . Como en el capítulo previo, denotamos la longitud de los semiejes a lo largo de los ejes  $x$ ,  $y$  y  $z$ , como  $a$ ,  $b$  y  $c$ , respectivamente. Vamos a suponer que en el interior de las partículas hay una solución homogénea de un cromóforo óptico que consiste de líquido transparente que presenta una banda de absorción Lorentziana simple, contenida por una membrana cuyo índice de refracción lo despreciamos para esta simulación. Además, se asume que el índice de refracción de la partícula depende de la longitud de onda de la radiación incidente,  $\lambda$ , dada por la siguiente expresión,

$$n_p(\lambda) = \left( 1.39 + \frac{A}{\lambda^2} + \frac{B}{\lambda^4} \right) + \frac{C}{\left( \frac{1}{\lambda_0^2} - \frac{1}{\lambda^2} \right) - \frac{Di}{\lambda}}, \quad (4.76)$$

donde el primer término entre paréntesis corresponde a una cantidad real y representa la contribución al índice de refracción del fluido transparente. El segundo término es complejo y corresponde a un oscilador de Lorentz para una resonancia simple, con una frecuencia de resonancia en  $\omega_0 = 2\pi\nu_0/\lambda_0$ , donde  $\nu_0$  y  $\lambda_0$  son la velocidad de fase y la longitud de onda en el vacío, respectivamente. Los valores de  $A$ ,  $B$ ,  $C$  y  $D$  de la Ec. (4.76) se eligieron indirectamente, de manera que, la parte real e imaginaria del índice de refracción de la partícula tome valores numéricos del orden del índice de refracción para una partícula biológica, como en el caso de un eritrocito, ver Refs. [26, 91, 92]. Para la Ec. (4.76), se eligieron los siguientes valores,  $A = 2700 \text{ nm}^2$ ,  $B = 10^6 \text{ nm}^4$ ,  $C = 10^{-9} \text{ nm}^{-2}$ , y  $D = 0.00005 \text{ nm}$ . Se eligió la banda de absorción centrada en  $\lambda_0 = 630 \text{ nm}$ . En la Fig. 4.4 se grafica la parte real e imaginaria del índice de refracción  $n_p$  de la partícula, ver Ec. (4.76), como función de la longitud de onda,  $\lambda$ .

Como se mencionó previamente, sólo estamos interesados en los efectos de las partículas que conforman la monocapa ignorando los efectos ópticos del sustrato. Por lo tanto, solo graficaremos la reflectancia y transmitancia relativa usando las Ecs. (4.74) y (4.75), respectivamente, en todas las simulaciones teóricas que se muestran a continuación. Se hace hincapié que la reflectividad relativa y la transmitividad relativa no

dependen de la polarización de la luz (dentro de ADA). En consecuencia, para los ejemplos mostrados en esta subsección, no es necesario especificar el estado de polarización del haz incidente, pues no existe una dependencia por este efecto.



**Fig. 4-4** Parte real (línea continua azul) y parte imaginaria (línea discontinua roja) del índice de refracción asumido para una partícula dada por la Ec. (4.76). La parte imaginaria del índice de refracción de la partícula corresponde a una función Lorentziana, con un pico en  $\lambda_0 = 630 \text{ nm}$ .

Por otra parte, la fracción de cubierta superficial  $\Theta$ , en una monocapa de partículas de bajo contraste y grandes, es generalmente medible desde una micrografía óptica. Por lo tanto, es significativo comparar la reflectividad y la transmitividad para diferentes monocapas dado un valor de  $\Theta$ , ver la Ref. [5]. Las simulaciones numéricas presentadas aquí, nos hacen plantear posibles experimentos en el sea posible aplanar, alargar o deformar, las partículas fijadas en un sustrato, manteniendo así el número de partículas por unidad de área constante,  $\rho$ , pero variando la fracción de cubierta de superficie,  $\Theta$ .

A continuación, se ilustran los efectos de la forma de la partícula y la orientación sobre la reflectividad y transmitividad como función de la longitud de onda,  $\lambda$ , y del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . En todos los ejemplos considerados, asumiremos que todas las partículas tienen el mismo volumen,  $v_p$ , independientemente de su forma geométrica. Para partículas elípticas, la fracción de cubierta de superficie está dada por,

$$\Theta = \pi ab\rho, \quad (4.77)$$

donde  $\rho$ , es el número de partículas por unidad de área y el volumen para una partícula elíptica se expresa como,  $v_p = (4/3)\pi abc$ . Por lo tanto, podemos analizar los siguientes casos: si se quiere mantener una altura constante en las partículas, i.e. si la longitud del

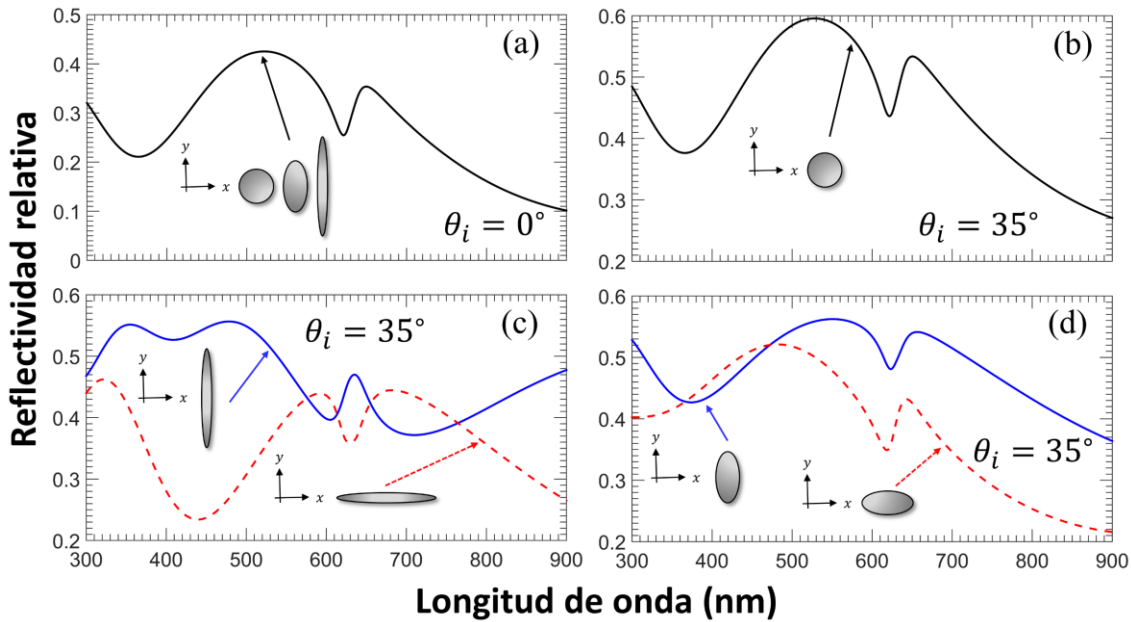
semieje  $c$  se mantiene fijo, podemos cambiar su sección transversal sobre el plano  $xy$  cambiando la longitud de los semiejes  $a$  y  $b$ , manteniendo el volumen de la partícula constante (esto equivale a mantener el producto  $ab$  constante), lo que implica que  $\Theta$  y  $\rho$  se mantengan constantes. Por otra parte, sí cambiamos la altura de la partícula y el volumen de la partícula permanece constante, podemos modificar  $\Theta$  o  $\rho$ , pero no ambas, manteniendo sólo una de ellas constante.

Los límites para evaluar las integrales de las Ecs. (4.74) y (4.75), respectivos a la reflectancia y transmitancia relativa, corresponden a los límites de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano de expansión de la onda plana reflejada o transmitida, véase las Figs. 4.2 y 4.3, la cual depende del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . Para nuestro caso en particular, se estudian partículas con forma elipsoidal, por tanto, la forma geométrica que proyecta una partícula sobre el plano  $xy$  corresponde a una sombra elíptica con centro en el origen. Dado que el ángulo de incidencia se mide respecto al plano  $yz$ , los límites de evaluación sobre la variable de integración  $y$  corresponden a la longitud del semieje  $b$  de la elipse, es decir, la integral respecto a  $y$  se evalúa de  $-b$  a  $b$ . Mientras que los límites de integración sobre la variable  $x$  se evalúan de  $-a$  a  $a + 2c \tan \theta_i$ , siendo  $c$  la longitud del semieje del elipsoide sobre el eje  $z$ . Observe que sí  $\theta_i = 0^\circ$ , para un haz a incidencia normal, la doble integral se evalúa de  $-b$  a  $b$  sobre la variable  $y$ ; y de  $-a$  a  $a$ , sobre la variable  $x$ , correspondientes a las longitudes de los semiejes de la elipse proyectada por la partícula elipsoidal sobre el plano  $xy$ . Observe también, que cuando  $\theta_i \rightarrow \pi/2$  los límites de integración sobre la variable  $x$  divergen. Recordemos que el modelo se restringe a ángulos de incidencia bajos. Por otra parte, el valor de esta doble integral es cero cuando se evalúa fuera de la sombra proyectada por la partícula sobre el plano  $xy$ , independientemente del ángulo de incidencia. Por último, este par de límites fueron usados para calcular las curvas teóricas del capítulo 5.

#### **4.5.1 Efectos de la orientación y forma de la partícula con $c$ , $\Theta$ y $\rho$ constantes**

En la Fig. 4.5 se grafican los espectros correspondientes a la reflectividad relativa para una monocapa de partículas elipsoidales, para diferentes secciones transversales sobre el plano- $xy$ , para un ancho espectral de 300 a 900  $nm$ , inmersas en agua. Los parámetros constantes teóricos empleados para obtener estos espectros fueron: un volumen para la partícula de  $v_p = 90$  fl, una fracción de cubierta de superficie por las partículas, que conforman la monocapa, de  $\Theta = 45\%$  y una longitud para el semieje del elipsoide a lo largo del eje- $z$  de  $c = 2.5 \mu m$ . Usando la Ec. (4.77) se deduce que el número

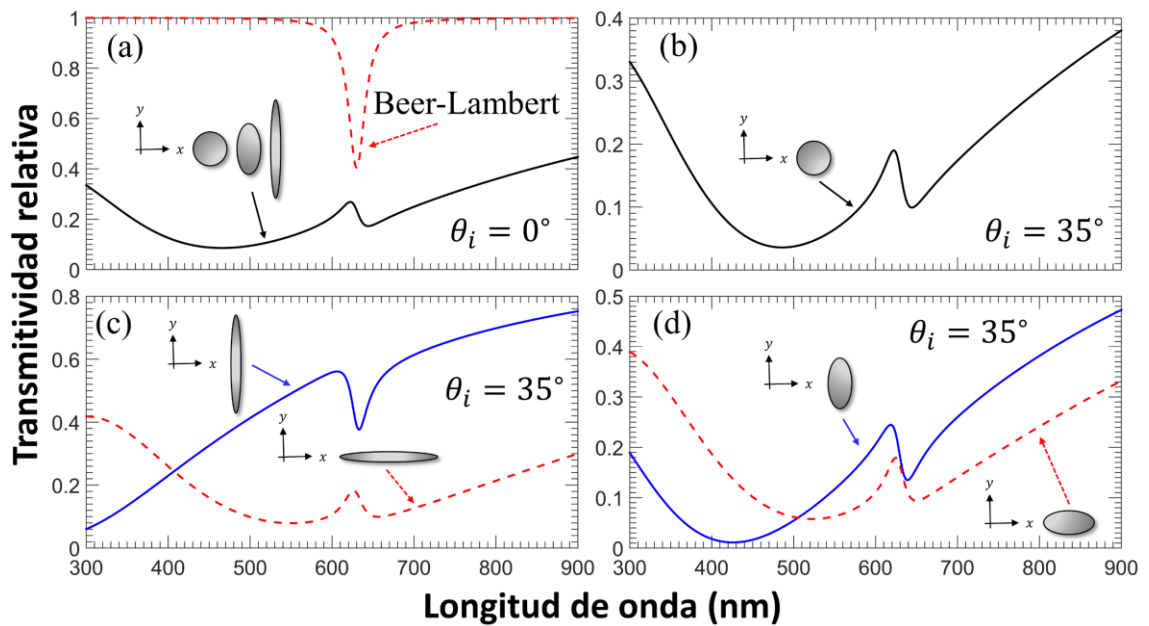
de partículas por unidad de área, con estos parámetros, es de  $\rho = 1.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ . El índice de refracción para la partícula está dado por la expresión (4.76).



**Fig. 4-5** Espectros teóricos correspondientes a la reflectividad relativa calculados para tres monocapas con tres formas diferentes (a) a incidencia normal, (b) a incidencia oblicua para una sección transversal circular, y (c-d) a incidencia oblicua para una sección transversal elíptica con diferentes orientaciones.

En la Fig. 4.5 graficamos los espectros a (a) incidencia normal, y para (b-d) ángulos de incidencia oblicuos a  $35^\circ$ . La forma de la partícula proyectada sobre el plano- $xy$  se indica en éstas. La longitud de los semiejes  $a$  y  $b$ , respectivamente, para el espectro de la Fig. 4.5 (a) son:  $(a, b) = (2.93\mu\text{m}, 2.93\mu\text{m}), (2.0\mu\text{m}, 4.29\mu\text{m}), (1.0\mu\text{m}, 8.59\mu\text{m})$ . Para el espectro de la Fig. 4.5 (b)  $(a, b) = (2.93\mu\text{m}, 2.93\mu\text{m})$ . Para el par de espectros de la Fig. 4.5 (c)  $(a, b) = (1.0\mu\text{m}, 8.59\mu\text{m})$  y  $(a, b) = (8.59\mu\text{m}, 1.0\mu\text{m})$ . Para el par de espectros de la Fig. 4.5 (d)  $(a, b) = (2.0\mu\text{m}, 4.29\mu\text{m})$  y  $(a, b) = (4.29\mu\text{m}, 2.0\mu\text{m})$ . Se hace notar al lector que, en cada uno de estos ejemplos, la posición de las partículas sobre el plano- $xy$  es aleatoria, pero su orientación no. Es decir, todas las partículas que conforman la monocapa están orientadas en la misma dirección, dicha orientación sobre el plano- $xy$ , se ilustra en cada recuadro de la Fig. 4.5. De la Fig. 4.5 (a), a incidencia normal, independientemente de la sección transversal que posea la partícula, sus correspondientes espectros coinciden entre sí, i.e. son iguales; esto para un mismo volumen- $v_p$ , una misma altura- $c$  y la misma densidad de partículas,  $\rho$ . En conclusión, los espectros de reflectancia a incidencia normal son insensibles a la forma que posea la partícula sobre el plano- $xy$ . Sin embargo, para ángulos de incidencia oblicuos,  $\theta_i = 35^\circ$ ,

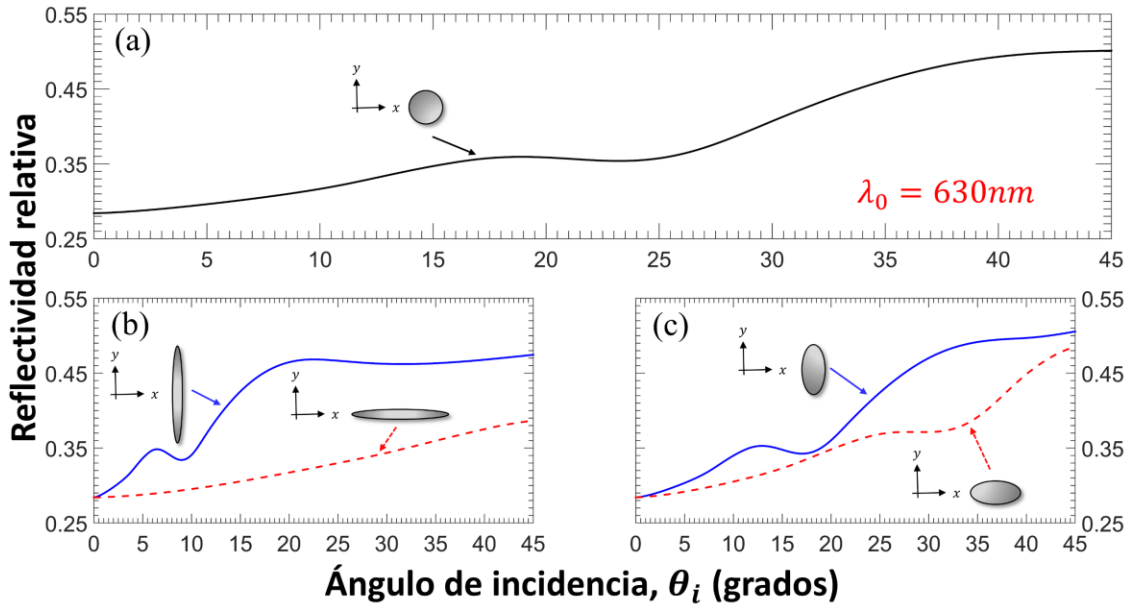
para un mismo volumen- $v_p$ , una misma altura- $c$  y la misma densidad de partículas,  $\rho$ , los espectros difieren entre sí para cada forma y orientación que posea la partícula sobre el plano- $xy$ , ver Fig. 4.5 (b-d).



**Fig. 4-6** Espectros teóricos correspondientes a la transmitividad relativa calculados para tres monocapas con tres formas diferentes (a) a incidencia normal, (b) a incidencia oblicua para una sección transversal circular, y (c-d) a incidencia oblicua para una sección transversal elíptica con diferentes orientaciones.

En la Fig. 4.6 se grafican los espectros correspondientes a la transmitividad relativa para una monocapa de partículas elipsoidales, para diferentes secciones transversales sobre el plano- $xy$ , para un ancho espectral de 300 a 900  $nm$ , inmersas en agua. Los parámetros constantes teóricos empleados para obtener los espectros de transmitividad son los mismos a los usados en los espectros de reflectividad. De la Fig. 4.6 (a), nuevamente como en el caso de reflectividad relativa, a incidencia normal, la transmitividad óptica no es sensible a la forma que posea la partícula sobre el plano- $xy$ , siempre que:  $v_p$ ,  $c$  y  $\rho$  se mantengan constantes. Sin embargo, para ángulos de incidencia oblicuos el espectro de transmisión depende notoriamente de la sección transversal de la partícula a lo largo del plano- $xy$  y de la orientación de ésta, ver Fig. 4.6 (b-d). Además, por comparación con el espectro de un sustrato recubierto por una monocapa, en la Fig. 4.6 (a) graficamos el espectro de transmitancia (línea discontinua color rojo) para una película delgada de una solución homogénea usando la parte imaginaria del índice de refracción que poseen las partículas, ver Ec. (4.76), y tomando un grosor de 3.6  $\mu m$  para la muestra. Esta transmitancia teórica se calculó usando Beer-Lambert. Es interesante

hacer notar que los espectros de transmitancia relativa son cualitativamente diferentes a los espectros de absorción de una solución homogénea, esto usando la misma parte imaginaria del índice de refracción de las partículas. La razón de esta diferencia es simple, la intensidad de luz colimada cuando se transmite a través de la

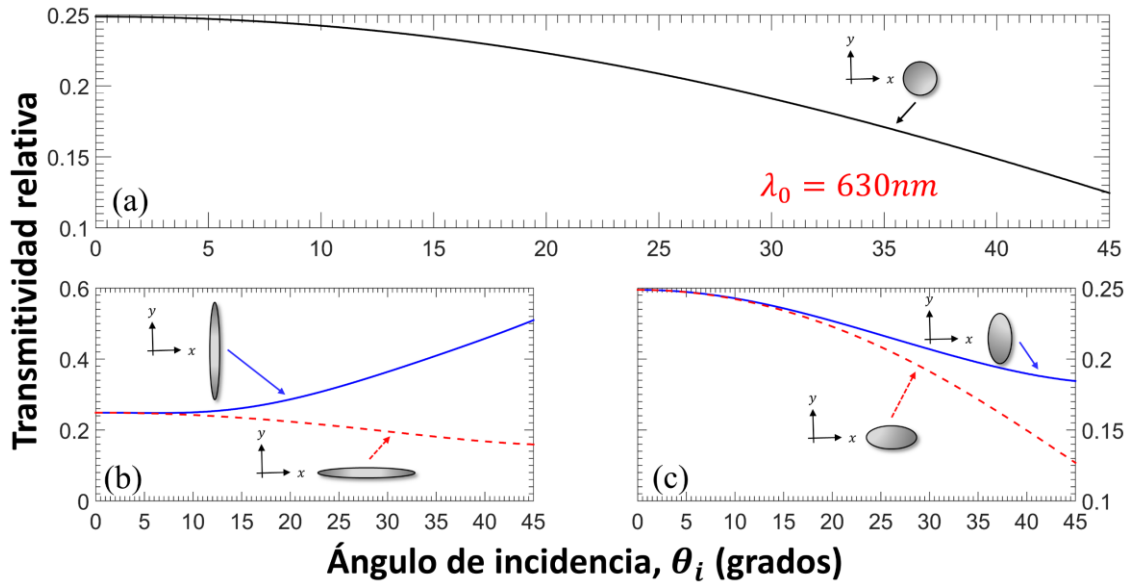


**Fig. 4-7** Curvas de reflectividad relativa como función del ángulo de incidencia para una monocapa (a) con partículas cuya sección transversal sobre el plano- $xy$  son círculos, con  $a = b = 2.93 \mu m$  y (b-c) con partículas cuya sección transversal sobre el plano- $xy$  son elipses. Para las curvas del inciso (b)  $a = 1.0 \mu m$  y  $b = 8.59 \mu m$ . Para las curvas del inciso (c)  $a = 2.0 \mu m$  y  $b = 4.29 \mu m$ . Para todas las gráficas,  $\Theta = 45\%$  y  $v_p = 90fl$ .

monocapa de partículas, se reduce por esparcimiento además de absorción, mientras que, en el caso de transmisión a través de una película homogénea delgada, la luz decae debido sólo a la absorción. De hecho, los picos en las curvas de reflectividad y transmitividad son apenas reconocibles como un pico de absorción, véase las Figs. 4.5 y 4.6, cuando se les compara con la parte imaginaria del índice de refracción de la partícula,  $n_p$ , ver Ec. (4.76) y Fig. 4.4. De la Fig. 4.6 (a), podemos señalar que el espectro de transmitancia de la sustancia homogénea (línea discontinua roja) tiene su pico en  $630 \text{ nm}$ , el cual corresponde a un mínimo. Este pico coincide con el pico visto en la parte imaginaria del índice de refracción de la partícula, véase la Fig. 4.4. Para el espectro de transmitancia de la monocapa, en la Fig. 4.6 (a), el pico está en  $622 \text{ nm}$  y corresponde a un máximo (línea continua negra).

De las Figs. 4.5 y 4.6, concluimos que, para ángulos de incidencia oblicuos ( $\theta_i \neq 0$ ), la reflectividad y transmitividad son sensibles a la sección transversal de la partícula

sobre el plano- $xy$  y a la orientación que pueda tener ésta sobre un sustrato. Sin embargo, a incidencia normal, la reflectividad y transmitividad son independientes de la forma que posea la partícula sobre el plano- $xy$  y de la orientación que tenga ésta; donde para ambos casos  $v_p$ ,  $c$  y  $\rho$  deben ser constantes. Esto indica que la dependencia angular de  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$  son disímiles para formas de partículas diferentes.



**Fig. 4-8** Curvas de transmitividad relativa como función del ángulo de incidencia para una monocapa (a) con partículas cuya sección transversal sobre el plano- $xy$  son círculos, con  $a = b = 2.93 \mu\text{m}$  y (b-c) con partículas cuya sección transversal sobre el plano- $xy$  son elipses. Para las curvas del inciso (b)  $a = 1.0 \mu\text{m}$  y  $b = 8.59 \mu\text{m}$ . Para las curvas del inciso (c)  $a = 2.0 \mu\text{m}$  y  $b = 4.29 \mu\text{m}$ . Para todas las gráficas,  $\Theta = 45\%$  y  $v_p = 90\text{fl}$ .

Para estudiar cómo la dependencia angular de  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$  se ve afectada por la forma de las partículas, se presentan gráficas de  $\tilde{R}_{coh}$  versus  $\theta_i$  en la Fig. 4.7 y de  $\tilde{T}_{coh}$  versus  $\theta_i$  en la Fig. 4.8, esto para monocapas de partículas elipsoidales para un haz incidente con una longitud de onda,  $\lambda = 630\text{ nm}$ , inmersas en agua. Para estas gráficas, se supuso una fracción de cubierta de superficie de  $\Theta = 45\%$ , una densidad de partículas de  $\rho = 1.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$  y un volumen para la partícula de  $v_p = 90 \text{ fl}$ . En las Figs. 4.7 (a) y 4.8 (a) se muestran las curvas de reflectancia y transmitancia coherente, respectivamente, para una partícula con forma esferoidal cuya sección transversal sobre el plano- $xy$  es circular ( $a = b = 2.93 \mu\text{m}$ ), esto como función del ángulo de incidencia, hasta un máximo de  $45^\circ$ . Recordemos que los coeficientes de reflexión y transmisión son válidos para ángulos de incidencia bajos. Por otra parte, en las Figs. 4.7 (b-c) y 4.8 (b-c) se muestran las curvas de reflectancia y transmitancia coherente, respectivamente, para una partícula con forma elipsoidal. En cada uno de los recuadros se muestran dos curvas

que corresponden a una monocapa con partículas cuya orientación sobre el plano- $xy$  es vertical (representada con una línea continua azul), y una monocapa de partículas con orientación horizontal (representada con una línea discontinua roja). Cabe mencionar que la posición de cada partícula que conforma la monocapa es aleatoria. Las dimensiones para los semiejes  $b$  y  $c$  de la partícula elipsoidal del inciso (b) son: partícula vertical  $a = 1.0 \mu m$  y  $b = 8.59 \mu m$ , para la partícula horizontal,  $a = 8.59 \mu m$  y  $b = 1.0 \mu m$ . Para el inciso (c) en la partícula vertical  $a = 2.0 \mu m$  y  $b = 4.29 \mu m$  y para la partícula horizontal  $a = 4.29 \mu m$  y  $b = 2.0 \mu m$ .

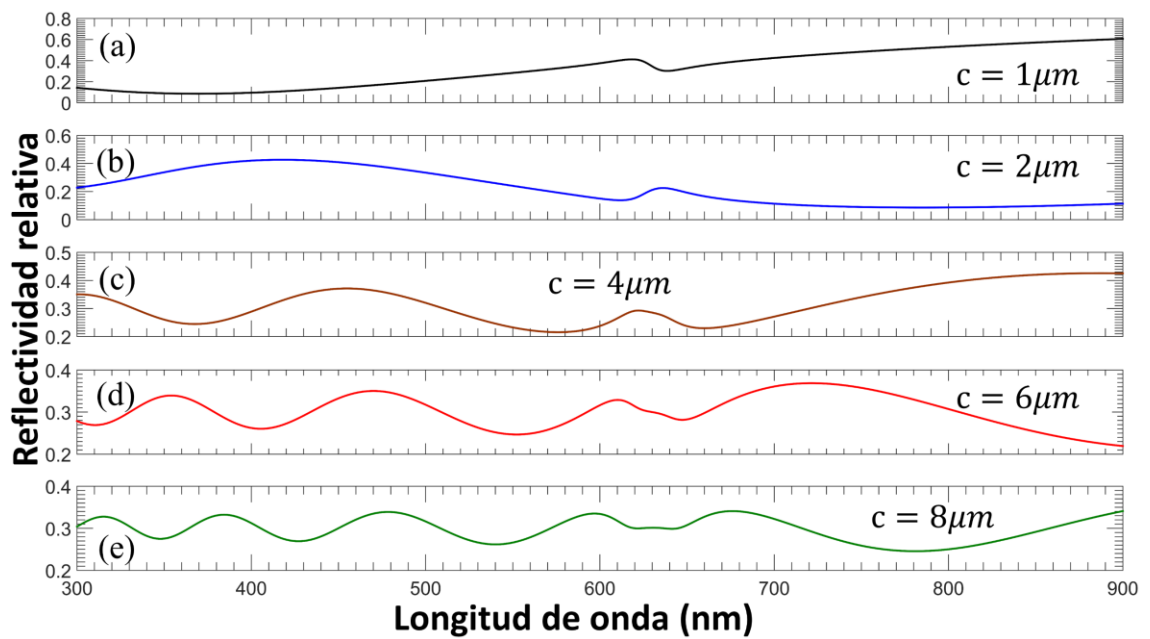
Podemos notar de las Figs. 4.7 y 4.8 que la reflectividad y transmitividad, como función del ángulo de incidencia, cambia notablemente con la forma de la partícula y con la orientación de ésta. Nótese que para  $\theta_i = 0^\circ$  todas las curvas tienen el mismo valor; para la reflectancia relativa se tiene un valor de 0.28 y para la transmitancia relativa de 0.25, esto independientemente de la forma que posee la partícula. Podemos apreciar de este par de figuras, para cambios en la sección transversal de la partícula, la sensibilidad en la reflectividad y la transmitividad relativa es muy similar en magnitud. Sin embargo, de las Figs. 4.7 y 4.8, podemos observar que las curvas de reflectividad presentan una mayor estructura que las curvas de transmitividad. Sin duda, este par de ejemplos sugieren que una manera efectiva de estudiar y caracterizar la forma y tamaño de las partículas que forman parte de una monocapa es midiendo sus respectivas curvas de reflectividad y transmitividad como función del ángulo de incidencia.

#### 4.5.2 Efectos por la altura en la partícula a $\Theta$ constante y $\rho$ variable

En la Fig. 4.9 (a-e) se grafican los espectros de reflectividad relativa, para cinco monocapas inmersas en agua, con un ancho espectral de 300 a 900  $nm$  a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ ; para cinco longitudes diferentes del semieje  $c$  de la partícula esferoidal. Todas las partículas tienen una sección transversal, sobre el plano- $xy$ , circular y un volumen, para cada partícula, de 90  $fl$ . La monocapa, de cada espectro, tiene una fracción de cubierta superficial asumida de,  $\Theta = 45\%$ . En la Fig. 4.10 (a-e) se grafican los espectros de transmitividad relativa, para cinco monocapas inmersas en agua, con un ancho espectral de 300 a 900  $nm$  a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ . Como en el caso de los espectros de reflectividad relativa, Fig. 4.9, todas las partículas tienen una sección transversal, sobre el plano- $xy$ , circular y un volumen constante de 90  $fl$  para cada partícula. La fracción de cubierta de superficie para simular cada espectro fue de  $\Theta = 45\%$ . Las longitudes para el semieje  $c$ , para los espectros de las Figs. 4.9 y 4.10, fueron de (a) 1  $\mu m$ , (b) 2  $\mu m$ , (c) 4  $\mu m$ , (d) 6  $\mu m$  y (e) 8  $\mu m$ .



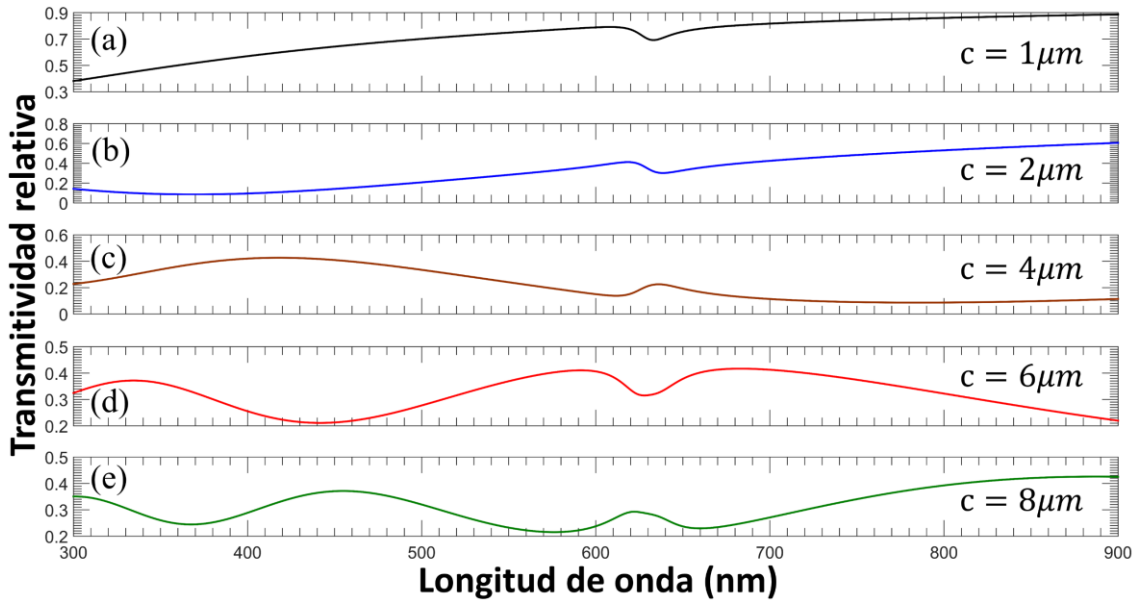
A diferencia de los espectros mostrados en las Figs. 4.5 y 4.6 donde la reflectividad y la transmitividad relativa es insensible a la forma de la partícula que tiene sobre el plano- $xy$ , para ambos casos, manteniendo una longitud del semieje- $c$  constante; podemos observar de las Figs. 4.9 y 4.10 que al variar la longitud del parámetro  $c$  los espectros de reflectividad y transmitividad relativa son sensibles a cambios en este parámetro, esto a incidencia normal  $\theta_i = 0^\circ$ , ya que la forma de los espectros, para cada monocapa de las Figs. 4.9 y 4.10 (a-e), cambia cuando la altura de la partícula es variable, siendo que la sección transversal de las partículas es la misma en cada espectro.



**Fig. 4-9** Espectros correspondientes a la reflectividad relativa a incidencia normal de una monocapa de partículas con un índice de refracción dado por la Ec. (4.76), inmersas en agua para diferentes longitudes del semieje- $c$ . Para cada espectro la fracción de cubierta de superficie se ajustó a un valor constante de  $\Theta = 45\%$ . El número de partículas por unidad de área para cada espectro fue de  $\rho =$  (a)  $6.67 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , (b)  $1.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (c)  $2.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (d)  $4.0 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , y (e)  $5.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ .

Cabe mencionar, que el número de partículas por unidad de área es variable en cada uno de los espectros mostrados en las Figs. 4.9 y 4.10, pero con una fracción de cubierta de superficie constante. La densidad de partículas para cada espectro, de las Figs. 4.9 y 4.10, fue respectivamente de,  $\rho =$ (a)  $6.67 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , (b)  $1.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (c)  $2.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (d)  $4.0 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$  y (e)  $5.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ . Finalmente, podemos ver que la sensibilidad en la reflectividad y transmitividad relativa respecto a las alturas en la partícula es muy similar. Pero como en el caso anterior, los

espectros de reflectividad presentan mucha más estructura en sus curvas que los espectros de transmitividad, donde se puede apreciar en estas curvas, para longitudes más grandes en el semieje- $c$ , se presentan más oscilaciones en los espectros, véase las Figs. 4.9 (e) y 4.10 (e).

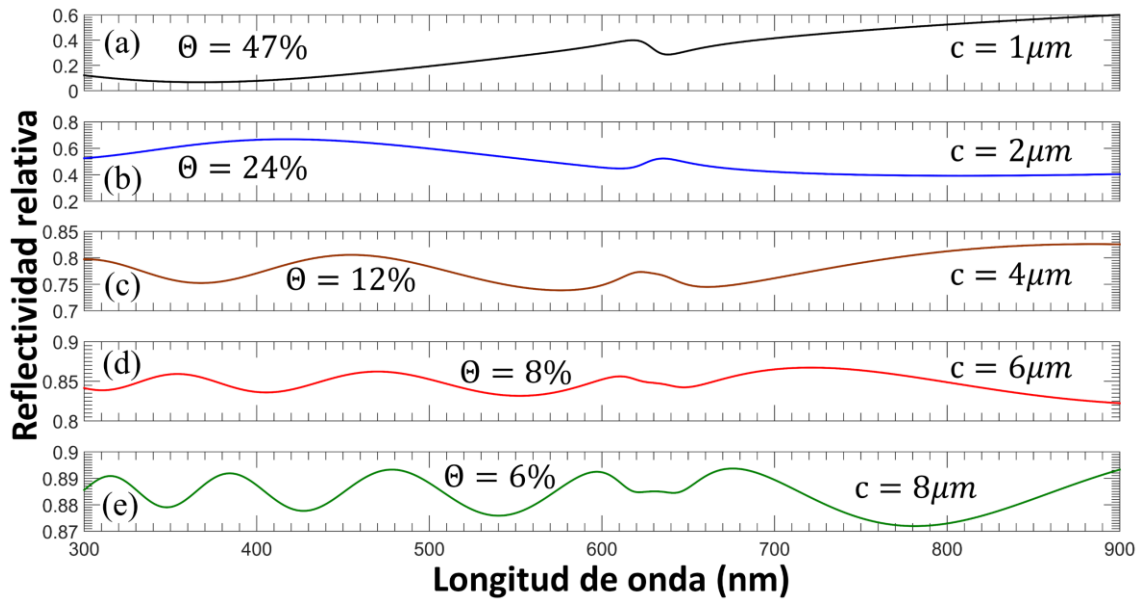


**Fig. 4-10** Espectros correspondientes a la transmitividad a incidencia normal de una monocapa de partículas con un índice de refracción dado por la Ec. (4.76), inmersas en agua para diferentes longitudes del semieje- $c$ . Para cada espectro la fracción de cubierta de superficie se ajustó a un valor constante de  $\Theta = 45\%$ . El número de partículas por unidad de área para cada espectro fue de  $\rho =$  (a)  $6.67 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , (b)  $1.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (c)  $2.67 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , (d)  $4.0 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ , y (e)  $5.33 \times 10^4 \text{ part./mm}^2$ .

#### 4.5.3 Efectos por la altura en la partícula a $\Theta$ variable y $\rho$ constante

En la Fig. 4.11 se muestran cinco espectros de reflectividad relativa respectivos a cinco monocapas, inmersas en agua, para un ancho espectral de 300 a 900  $nm$  para una densidad de partículas constante, con un valor de  $\rho = 7.0 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$ , y para un ángulo de incidencia,  $\theta_i = 0^\circ$ , constante. Por otra parte, en la Fig. 4.12 se muestran los espectros de transmitividad relativa correspondientes a cinco monocapas, inmersas en agua, para un ancho espectral de 300 a 900  $nm$ ; como en el caso de la reflectancia, para una densidad de partículas constante y a incidencia normal. Para cada uno de los espectros, en ambas figuras 4.11 y 4.12, el volumen de la partícula se mantiene constante  $v_p = 90 \text{ fl}$  y la forma de la sección transversal de la partícula, sobre el plano- $xy$ , corresponde a un círculo. Los valores de la longitud para el semieje  $c$ , usados en los espectros de las Figs. 4.11 y 4.12, fueron de (a)  $1 \mu m$ , (b)  $2 \mu m$ , (c)  $4 \mu m$ , (d)  $6 \mu m$  y (e)

8  $\mu\text{m}$ . La fracción de cubierta de superficie para simular cada espectro fue de  $\Theta =$  (a) 47%, (b) 24%, (c) 12%, (d) 8% y (e) 6%.

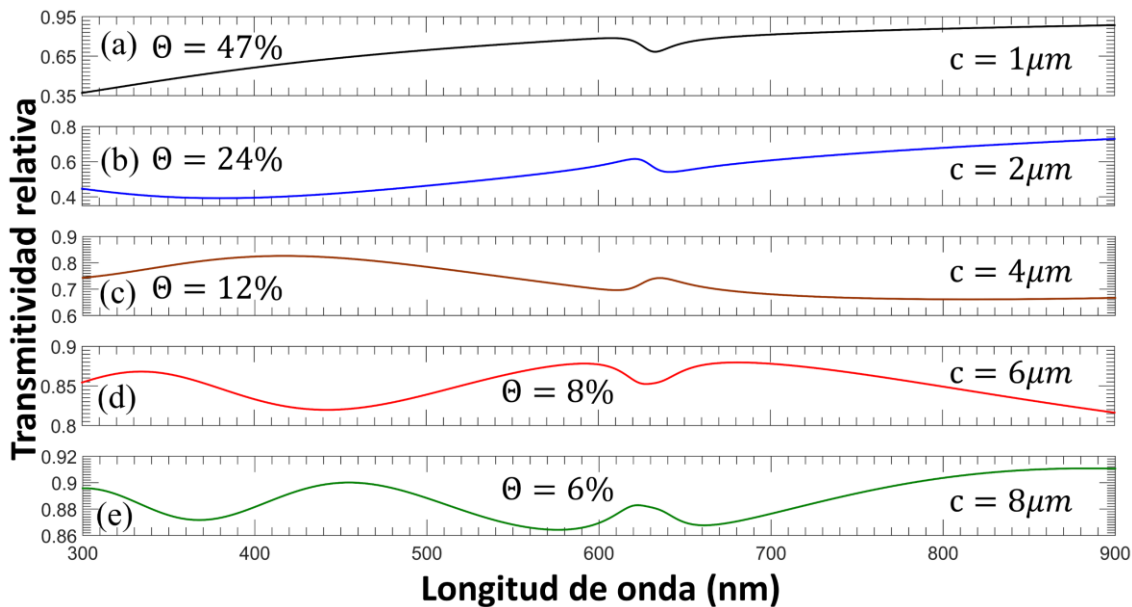


**Fig. 4-11** Espectros correspondientes a la reflectividad relativa a incidencia normal de una monocapa de partículas con una densidad  $\rho = 7.0 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$  y un índice de refracción dado por la Ec. (4.76), inmersa en agua para diferentes longitudes del semieje  $c$ . La sección transversal sobre el plano- $xy$  tiene forma circular. Los valores de  $c$  y de la fracción de cubierta de superficie  $\Theta$  se indican en cada uno de los espectros. El volumen de las partículas se mantiene constante, con un valor de  $v_p = 90 \text{ fl}$ .

Nuevamente, al analizar los espectros de reflectividad y transmitividad de las Figs. 4.11 y 4.12 (a-e), vemos que son sensibles a cambios en la altura de la partícula, que corresponde a cambiar el valor del semieje  $c$ . De igual manera que en el caso anterior, cuando la altura de la partícula se incrementa se presentan un número mayor de oscilaciones en los espectros, véase las Figs. 4.11 (e) y 4.12 (e). Finalmente, podemos notar que cualitativamente los espectros de la Fig. 4.9 (a-e) son iguales a los espectros de reflectividad relativa mostrados en la Fig. 4.11 (a-e). Sin embargo, cuantitativamente no lo son; y esto se debe a que la fracción de cubierta de superficie no es constante. Lo mismo ocurre en los espectros de transmitividad relativa, compare las Figs. 4.10 (a-e) y 4.12 (a-e). Por lo tanto, la forma de los espectros se debe por la altura en la partícula y por el ángulo de incidencia del haz. La intensidad de los espectros se ve afectada principalmente al variar la fracción de cubierta de superficie que ocupa la monocapa sobre el sustrato.

Las simulaciones presentadas en esta sección no son exhaustivas en mostrar todos los efectos posibles debido a la forma de las partículas, al índice de refracción de éstas y

a su orientación que tienen sobre el sustrato. Pero creemos que ilustran la importancia del esparcimiento de luz de biopelículas como en el caso de monocapas con partículas de células biológicas. Los resultados numéricos indican la posibilidad de caracterizar este tipo de biopelículas por medios ópticos. En el siguiente capítulo nos adentramos a caracterizar monocapas con eritrocitos humanos y partículas sintéticas usando poliestireno, apoyándonos del modelo teórico presentado en este capítulo.



**Fig. 4-12** Espectros correspondientes a la transmitividad relativa a incidencia normal de una monocapa de partículas con una densidad  $\rho = 7.0 \times 10^3 \text{ part./mm}^2$  y un índice de refracción dado por la Ec. (4.76), inmersa en agua para diferentes longitudes del semieje- $c$ . La sección transversal sobre el plano- $xy$  tiene forma circular. Los valores de  $c$  y de la fracción de cubierta de superficie  $\Theta$  se indican en cada uno de los espectros. El volumen de las partículas se mantiene constante, con un valor de  $v_p = 90 \text{ fl.}$

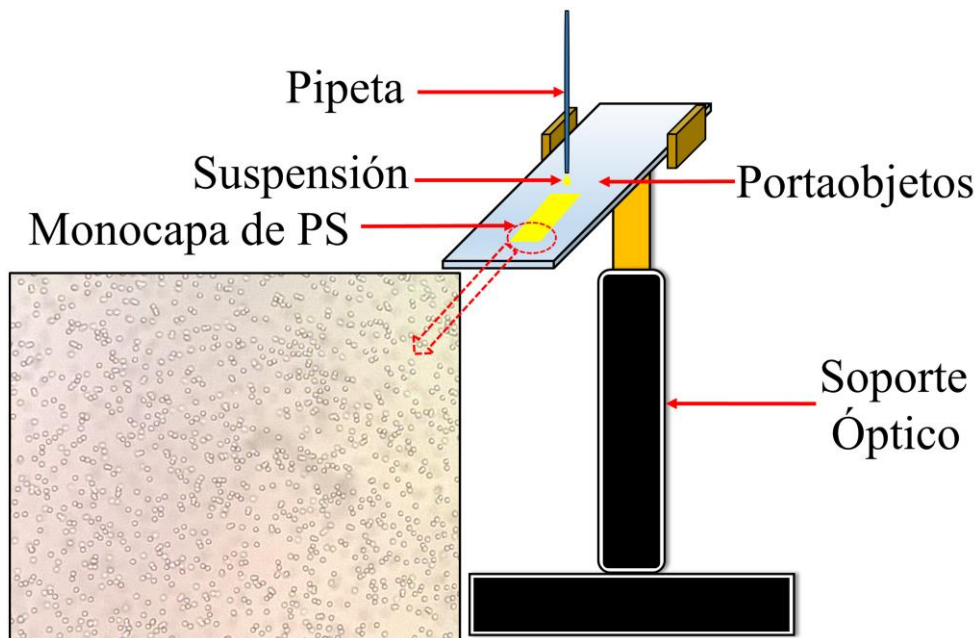
# 5 RESULTADOS EXPERIMENTALES

En este capítulo se presentan mediciones experimentales correspondientes a espectros de reflectancia-R y transmitancia-T relativa para dos tipos de monocapas, con partículas sintéticas y con partículas biológicas. Para las monocapas con partículas sintéticas se usaron partículas de poliestireno (PS) y para las monocapas con partículas biológicas se usaron eritrocitos humanos (glóbulos rojos o células rojas-RBCs). Los espectros experimentales de reflectancia y transmitancia relativa, para cada tipo de monocapa, se comparan con sus respectivos espectros teóricos usando los coeficientes de reflexión y transmisión coherentes, deducidos en el capítulo previo. La comparación teoría y experimento, para ambas monocapas, se presentan en este capítulo. Además, dentro de este capítulo se comparan los espectros de transmitancia para una película delgada líquida de hemoglobina-Hb con los espectros de transmitancia para una monocapa de eritrocitos. Se comparan cualitativamente las diferencias entre los espectros de reflectancia y transmitancia relativa para una multicapa desordenada de eritrocitos con los espectros de reflectancia y transmitancia relativa de una monocapa de eritrocitos. Aunado con la parte teórica-experimental de los espectros, se presentan curvas experimentales de reflectancia y transmitancia, como función del ángulo de incidencia, para cada tipo de monocapa junto con sus respectivas simulaciones teóricas.

## 5.1 Preparación de muestras

En esta sección se describe brevemente el procedimiento experimental que se realizó para la fabricación de las monocapas, con partículas PS y con partículas RBCs,

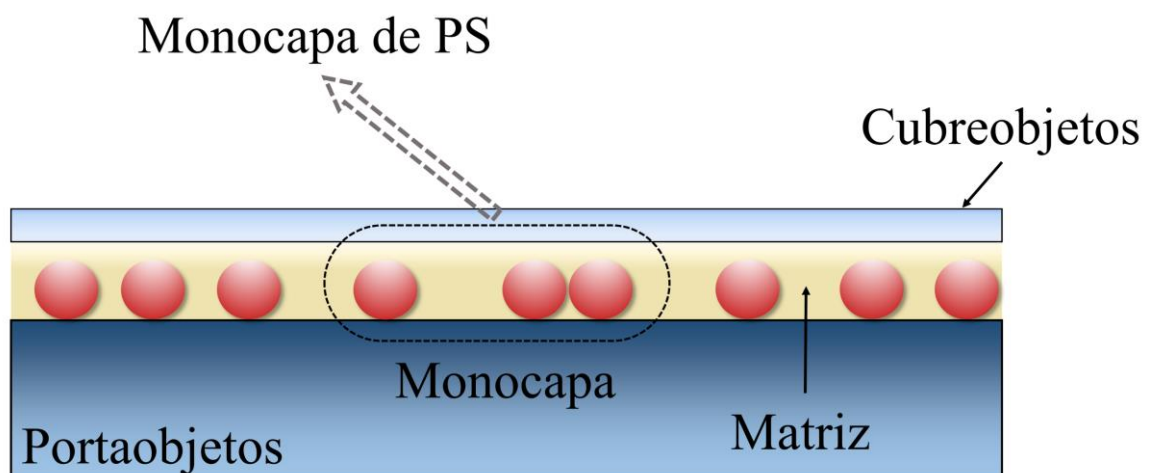
depositadas sobre un portaobjetos con dimensiones de  $27 \times 75 \times 1 \text{ mm}$ . La preparación de las monocapas, para ambos casos, se divide en dos partes principales: la limpieza del portaobjetos y el depósito de la monocapa sobre el portaobjetos. Pevio a realizar el depósito de la monocapa sobre el portaobjetos, es importante realizar un proceso de limpieza exhaustiva del portaobjetos. Para ello, el portaobjetos se lava con detergente, acetona, alcohol isopropílico y agua tridestilada con el fin de remover polvo, grasa, resinas y otros agentes que impidan el depósito correcto de la monocapa sobre éste. La limpieza del portaobjetos nos garantiza evitar contaminar la monocapa con algún tipo de partícula ajena y con ello garantizamos mediciones experimentales precisas. Una vez realizada la limpieza del portaobjetos, el siguiente paso es proceder al depósito de la monocapa sobre la superficie plana del portaobjetos.



**Fig. 5-1** Arreglo experimental empleado para depositar las partículas de PS sobre la superficie plana de un portaobjetos. En esta figura se muestra una micrografía de la superficie del portaobjetos con la monocapa de partículas de PS depositada (tomada por un microscopio marca *Leica*), donde se pueden apreciar las microesferas de PS.

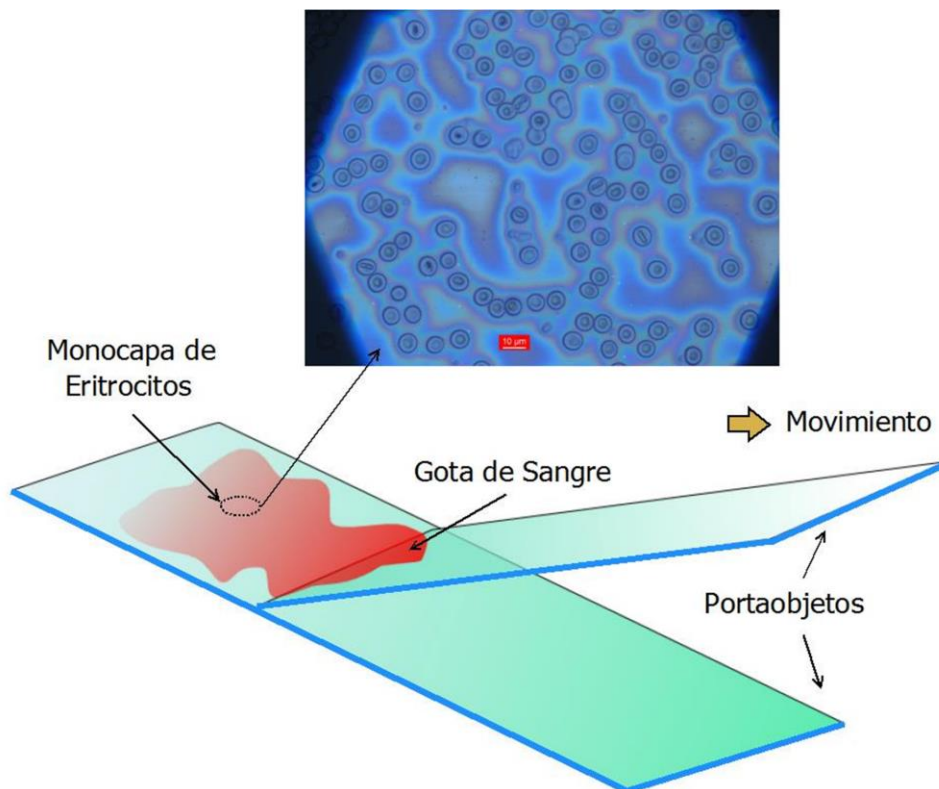
Para el caso de la monocapa con partículas de PS, se procedió a la preparación de una suspensión de partículas de poliestireno, que consiste de una mezcla de  $1 \mu\text{l}$  de una suspensión de microesferas de poliestireno monodispersas (fabricadas por *Duke Standards* con una concentración del 1% en agua y un tamaño promedio de  $1.8 \mu\text{m}$  de diámetro) con  $1 \text{ ml}$  de alcohol isopropílico. La suspensión de partículas de PS se sometió a un baño ultrasónico por  $10 \text{ min}$  con el fin de eliminar conglomerados de partículas en la suspensión y evitar con ello, durante su depósito, aglomeraciones de éstas sobre la

superficie plana del portaobjetos. Para depositar la monocapa de PS, el portaobjetos limpio fue colocado alrededor de  $85^\circ$  de inclinación (con respecto al plano de la mesa de trabajo), y con la ayuda de una pipeta se dejó caer una gota de la suspensión preparada con partículas de PS sobre la superficie del sustrato, como se muestra en la Fig. 5.1, hasta que se cubrió un 90% de la superficie del portaobjetos. Posteriormente, dejamos que se evapore el alcohol y que se drene parte de éste en la parte inferior del portaobjetos, véase la Fig. 5.1. Una vez que se ha evaporado el alcohol, finalmente nos queda la monocapa de partículas de PS depositada sobre la superficie del portaobjetos, ver Fig. 5.1. Esta monocapa de partículas se encuentra inmersa en aire ( $n_m \approx 1.0$ ), siendo el índice de refracción de una partícula de PS de  $n_p = 1.514$  para una longitud de onda de  $\lambda = 670 \text{ nm}$  [93]; i.e. no hay bajo contraste. Para lograr el bajo contraste, la monocapa de partículas de PS fue inmersa en glicerina líquida (se dejó caer una pequeña gota de glicerina sobre la monocapa), esto debido a que el índice de refracción de la glicerina es similar al índice de refracción del poliestireno, véase las Refs. [94, 95]. Por último, para contener la glicerina y evitar que se derrame, colocamos sobre está un cubreobjetos marca *Corning* de  $22 \times 22 \text{ mm}$  con un grosor de  $0.168 \text{ mm}$ , ver Fig. 5.2. El cubreobjetos y la tensión superficial de la glicerina nos permite formar una película delgada de glicerina en la cual se encuentran inmersas las partículas de poliestireno, véase la Fig. 5.2. El valor de la fracción de cubierta de superficie  $\theta$ , usando el procedimiento descrito previamente, depende del ángulo de inclinación del sustrato y de la concentración de las partículas en la suspensión o mezcla preparada, i.e. la cantidad de micro-litros de la suspensión de microesferas usada en la mezcla. Con esta técnica descrita, podemos fabricar monocapas con distintos valores para  $\theta$  sobre la superficie de un portaobjetos.



**Fig. 5-2** Depósito de una monocapa de partículas de PS (o eritrocitos) sobre un portaobjetos e inmersa en glicerina (o en plasma) cubierta por un cubreobjetos.

Para el caso de partículas biológicas, el depósito de la monocapa con eritrocitos-RBCs sobre un portaobjetos se realizó de la siguiente manera: usando un alfiler esterilizado (por ejemplo, la aguja de una jeringa) y punzando la yema de algún dedo de nuestra mano, previamente lavadas y desinfectadas, se extrae una pequeña gota de sangre la cual se dejó caer sobre la superficie de un portaobjetos limpio, ver Fig. 5.3, con la ayuda de un segundo portaobjetos adherido a la gota de sangre (por tensión superficial), se arrastró éste en la dirección limpia de la superficie del sustrato con el fin de extender la gota de sangre uniformemente sobre la superficie plana del portaobjetos y obtener así una monocapa de RBCs sobre la superficie del primer portaobjetos, véase la Fig. 5.3. Esta técnica, dentro del ámbito médico, se le conoce como **frotis**. Cabe mencionar que la monocapa de eritrocitos se encuentra inmersa en su plasma, siguiendo el procedimiento para contener la glicerina en la monocapa con partículas de PS, hacemos uso de un cubreobjetos para retener el plasma en la monocapa de eritrocitos, como en el esquema que se muestra en la Fig. 5.2. El índice de refracción entre el plasma y la monocapa es similar, por lo que se tiene el bajo contraste en la monocapa de RBCs y su matriz, ver Refs. [25, 26, 91, 96-99].

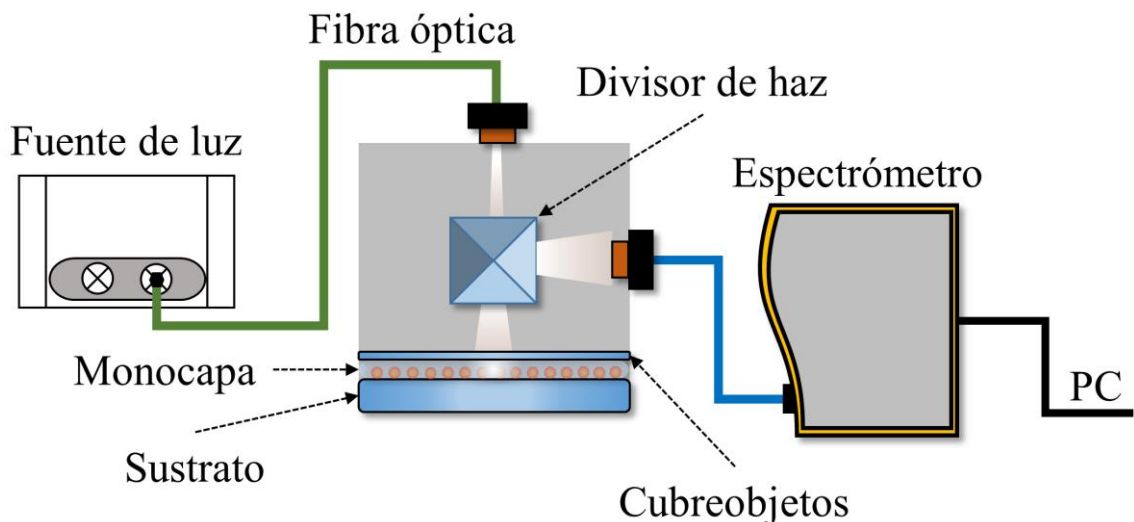


**Fig. 5-3** Arreglo experimental empleado para depositar eritrocitos-RBCs sobre la superficie plana de un portaobjetos. En esta figura se muestra una micrografía de la superficie del portaobjetos con la monocapa de RBCs depositada (tomada por un microscopio marca *Leica*), donde se pueden apreciar la forma de los eritrocitos.



## 5.2 Arreglos experimentales para medir espectros de R y T

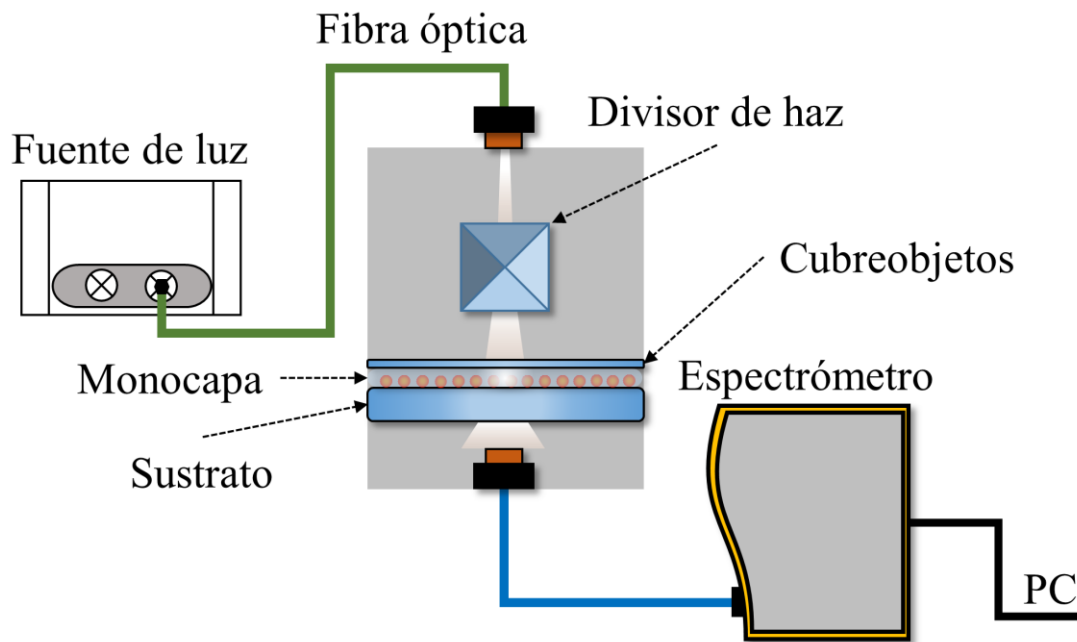
En la Fig. 5.4 se muestra el arreglo experimental empleado para medir los espectros de reflectancia para los dos tipos de monocapa (sintética o biológica) a incidencia normal. El equipo y material empleado para este arreglo fue una fuente de luz blanca (*Mikropack DH-2000*) con un rango espectral de 215 – 2000 nm la cual se conectó a una fibra óptica multimodal (*Thorlabs 600 μm*) donde la luz guiada, por la fibra, se enfocó sobre un divisor de haz el cual permitió iluminar la monocapa. Se hace notar que al trabajar con partículas grandes el esparcimiento difuso es fuerte en la componente reflejada y, por tanto, la intensidad del haz coherente reflejado es pobre, en consecuencia, es necesario que el portaobjetos sea recubierto con una película delgada de aluminio de manera tal que al depositar la monocapa sobre ésta, la intensidad del haz coherente reflejado, por la monocapa, se incremente notoriamente. El índice de refracción para la película de aluminio, como función de la longitud de onda, fue tomado de la referencia [100]. La luz reflejada por la monocapa, más el sustrato con la película depositada, pasa por el divisor de haz el cual lo transmite hacia otra fibra óptica multimodal (*Ocean Optics 600 μm*), guiando la luz a un espectrómetro (*Ocean Optics Model USB4000*) el cual nos permite realizar el análisis de los espectros reflejados por las monocapas con la ayuda de una PC, véase la Fig. 5.4.



**Fig. 5-4** Esquema del arreglo experimental empleado para medir el espectro de reflectancia de una monocapa con partículas de PS o RBCs.

En la Fig. 5.5 se muestra el arreglo experimental empleado para medir los espectros de transmitancia para los dos tipos de monocapas, a incidencia normal. Como se puede apreciar en esta figura, el arreglo experimental es similar al arreglo experimental empleado para medir el espectro de reflectancia, ver Fig. 5.4. Para este arreglo se usó una

fuente de luz blanca (*Mikropack DH-2000*) conectada a una fibra óptica multimodal (*Thorlabs 600  $\mu\text{m}$* ) la cual nos permite guiar la luz y hacerla incidir sobre un divisor de haz, éste a su vez nos permite iluminar la monocapa, como se puede apreciar en la Fig. 5.5. NOTA: Para este arreglo en particular, el sustrato no se recubrió con una película delgada metálica, pues se desea que la luz transmitida, por la monocapa, pase libremente a través del sustrato sin ser reflejado. Finalmente, la luz transmitida por la monocapa es capturada por una fibra óptica multimodal (*oceanoptics 600  $\mu\text{m}$* ), la cual se conectó a un espectrómetro (*oceanoptics Model USB4000*) para su posterior análisis empleando una PC como apoyo, véase la Fig. 5.5.

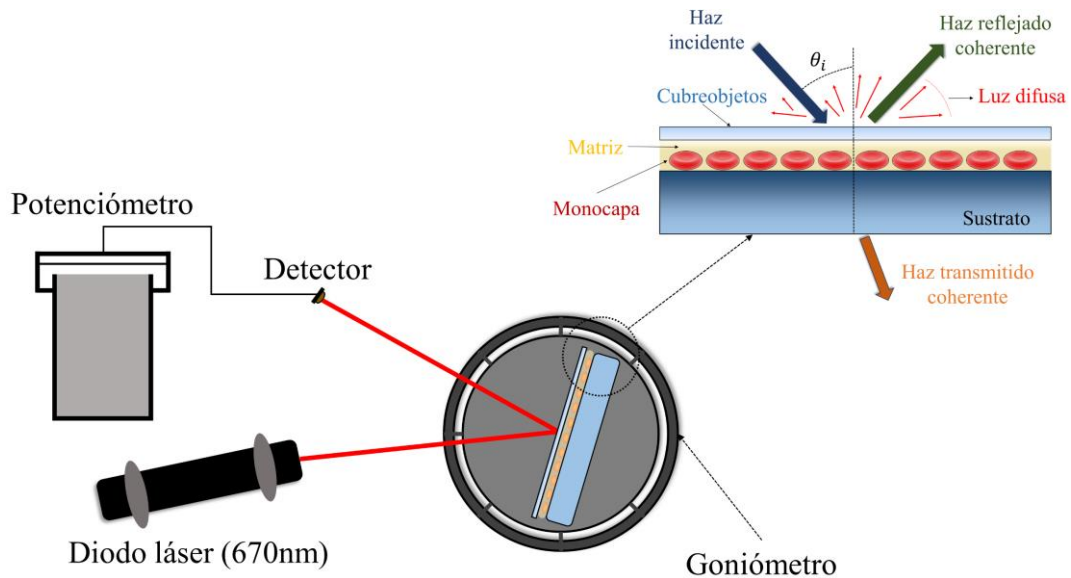


**Fig. 5-5** Esquema del arreglo experimental empleado para medir el espectro de transmitancia de una monocapa con partículas de PS o RBCs.

Es importante recalcar que con este par de arreglos se desea medir, respectivamente, el espectro de reflectividad relativa  $\tilde{R}$  y el espectro de transmitividad relativa  $\tilde{T}$ . Experimentalmente se quiere decir que se mide primero la intensidad reflejada  $I_{or}$  (o transmitida  $I_{ot}$ ) por el sustrato-matriz-cubreobjetos como función de la longitud de onda (a incidencia normal) pero **sin monocapa** y posteriormente, se mide la intensidad reflejada  $I_r$  (o transmitida  $I_t$ ) del sistema sustrato-monocapa-matriz-cubreobjetos como función de la longitud de onda (a incidencia normal) **con monocapa**. Siendo la reflectividad relativa el cociente entre la intensidad reflejada con monocapa entre la intensidad reflejada sin monocapa. i.e.  $\tilde{R} = I_r/I_{or}$ . Esto equivale a medir únicamente el espectro de reflectancia para una monocapa asilada sin tomar en cuenta el sustrato. De manera equivalente para la transmitancia relativa se tiene que,  $\tilde{T} = I_t/I_{ot}$ .

### 5.3 Arreglos experimentales para medir curvas de R y T como función del ángulo

El arreglo experimental empleado para medir las curvas de reflectancia coherente para los dos tipos de monocapas, como función del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ , se muestra en la Fig. 5.6. Para este montaje experimental se utilizó un diodo láser de 670 nm (marca *Lasiris*), un goniómetro (marca *Thorlabs*) el cual nos permitió controlar y medir el ángulo de incidencia del haz láser sobre la monocapa. La monocapa se colocó sobre un soporte

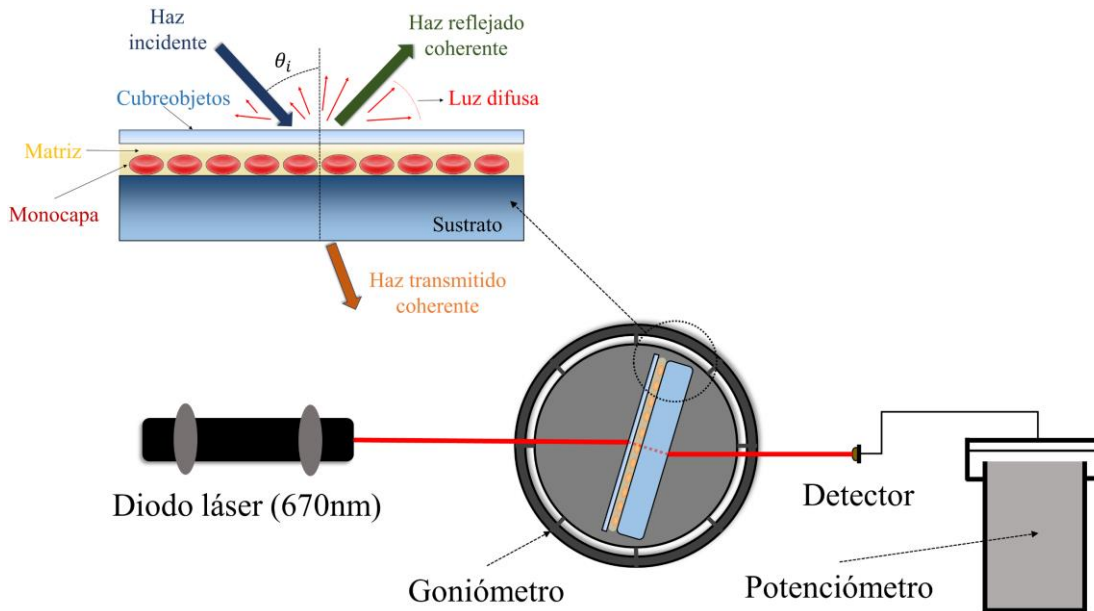


**Fig. 5-6** Esquema del arreglo experimental utilizado para medir la reflectancia coherente de una monocapa de partículas de PS o RBCs.

el cual nos permitió mantenerla fija y perpendicular a la base del goniómetro. La intensidad o potencia del haz reflejado, versus el ángulo de incidencia, se midió con un fotodetector conectado a un potenciómetro (marca *Thorlabs PM320E*). En este arreglo experimental la posición del fotodetector, véase la Fig. 5.6, se ajustó manualmente de manera que el spot reflejado siempre incidiera sobre el sensor del fotodetector. Para este arreglo experimental se tuvo especial cuidado en la alineación Diodo-Monocapa-Detector con el fin de asegurar que la monocapa soportada por el portaobjetos coincida con el eje de rotación del goniómetro, asegurándonos con ello que el haz láser incida en el centro del eje de rotación; además, de asegurar que el spot incida siempre sobre la misma zona de la monocapa, esto independientemente del ángulo de incidencia. El rango de mediciones para el ángulo de incidencia fue de  $0^\circ$  a  $80^\circ$  grados.

En la Fig. 5.7 se muestra el arreglo experimental para medir las curvas de transmitancia coherente, para los dos tipos de monocapas, como función del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . El arreglo experimental para medir la transmitancia es similar al arreglo

experimental para medir la reflectancia, ver Fig. 5.6, sólo que en este caso se mide la potencia del haz transmitido por la monocapa soportada por el sustrato, para un rango angular de  $0^\circ$  a  $80^\circ$  grados. El equipo y material empleado en este montaje es el mismo al descrito previamente para medir la reflectancia como función del ángulo de incidencia.



**Fig. 5-7** Esquema del arreglo experimental utilizado para medir la transmitancia coherente de una monocapa de partículas de PS o RBCs.

Cabe mencionar que las partículas que conforman la monocapa tienen diámetros mayores a la longitud de onda de la radiación incidente, por lo que la luz reflejada (y transmitida) tendrán una *componente coherente* y una *componente difusa*, como se puede observar en los pequeños recuadros de las Figs. 5.6 y 5.7. La *componente coherente* viaja en una sola dirección y su amplitud es independiente de la ubicación aleatoria de las partículas que tienen sobre el portaobjetos, mientras que la componente difusa viaja en muchas direcciones con amplitudes que dependen de la posición específica de la partícula. En consecuencia, si se toma el promedio configuracional del campo eléctrico sobre las posiciones aleatorias de las partículas, únicamente quedará la componente coherente, ver Refs. [5, 23]. De aquí la importancia de medir únicamente la componente coherente del haz reflejado (y del haz transmitido) con el fotodetector para un ángulo de incidencia dado. Dentro de la parte experimental la reflectancia coherente (o transmitancia coherente) corresponde a realizar el cociente entre la potencia reflejada (o potencia transmitida) por el sustrato-monocapa-matriz para un ángulo dado dividida por la potencia incidente del láser a incidencia normal.

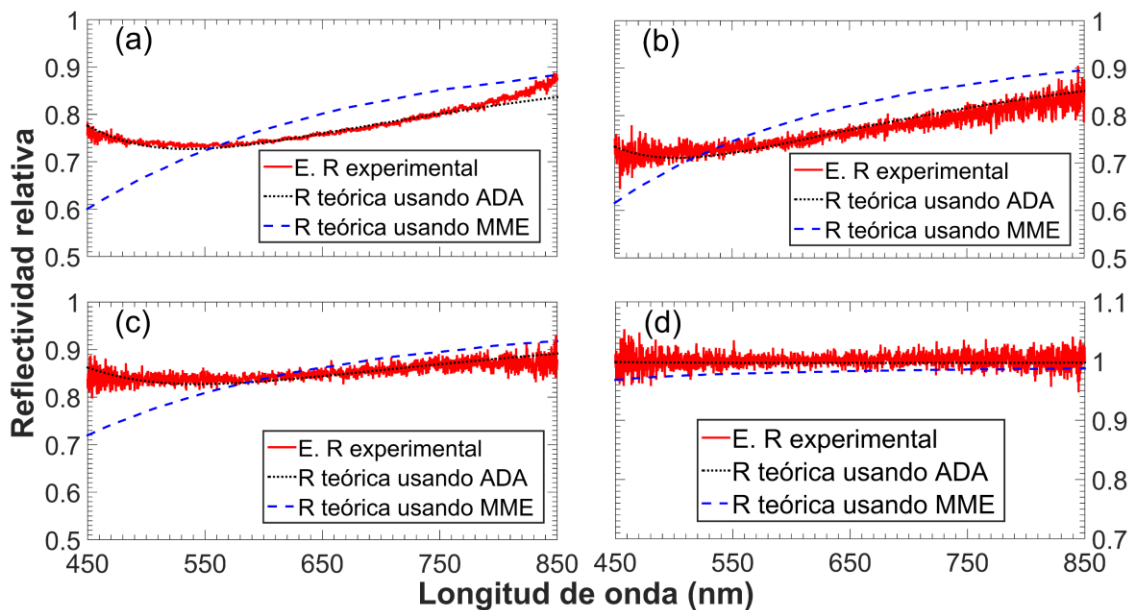
## 5.4 Resultados experimentales

En esta sección se presentan los resultados experimentales-teóricos para los dos tipos de monocapas, partículas de poliestireno-PS y eritrocitos-RBCs. Dentro de los resultados experimentales se muestran los espectros de reflectancia y transmitancia relativa usando los arreglos experimentales de las Figs. 5.4 y 5.5; aunado con las curvas de reflectancia y transmitancia usando los arreglos experimentales de las Figs. 5.6 y 5.7, como función del ángulo de incidencia. Para cada uno de los arreglos experimentales se usó una *configuración por reflexión externa*, esto quiere decir, que el haz de láser se hace incidir primeramente en aire hasta llegar al sustrato con la monocapa depositada, i.e. el haz pasa de un índice de refracción menor a un índice de refracción mayor, ver Ref. [48].

### 5.4.1 Monocapa de partículas de poliestireno (PS)

En la Fig. 5.8 (a-d) se muestran cuatro espectros experimentales de reflectancia relativa respectivos a cuatro muestras distintas, para monocapas de poliestireno-PS, con un rango espectral de 450 a 850 nm a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ . Los espectros experimentales se representan por líneas continuas de color rojo. Como se mencionó previamente, el espectro de reflectividad relativa, para la parte experimental, corresponde a medir el espectro de reflectancia (o transmitancia) del sustrato-matriz-cubreobjetos sin monocapa dividiendo al espectro de reflectancia (o transmitancia) del sustrato-matriz-monocapa-cubreobjetos con la monocapa depositada. En este caso el medio matriz donde se encuentra inmersa la monocapa es glicerina líquida. En la Fig. 5.8 (a-d) se muestran, además, las curvas teóricas representadas por líneas discontinuas cortas (color negro) ajustadas a los datos experimentales, que fueron calculadas con la Ec. (4.74) del Cap. 4, como función de la longitud de onda (a incidencia normal). Dado que la forma geométrica, que poseen las partículas de poliestireno en la monocapa, es esférica; los parámetros  $a, b$  y  $c$  son iguales en la Ec. (4.25) del elipsoide. Por lo tanto, el desfase que sufre la onda eléctrica al atravesar la partícula y ser reflejado por el sustrato está dado por la Ec. (4.36), siendo  $a = b = c = r$ , donde  $r$  es el radio de la partícula. Aunado a este estudio, podemos usar el MME para calcular curvas de reflectancia como función de la longitud de onda, empleando la Ec. (2.14); y así comparar qué modelo teórico se ajusta mejor a los datos experimentales. NOTA: Recordemos que el MME es válido para partículas con forma esférica y para fracciones de cubierta de superficie bajas [5, 23, 62]. Los espectros de reflectancia usando MME se representan con líneas discontinuas largas (color azul). Como se mencionó previamente, la monocapa se encuentra depositada sobre una película de aluminio, y la película de aluminio se encuentra depositada, a su vez, sobre el portaobjetos, esto con el fin de capturar mejor la luz reflejada por la monocapa.

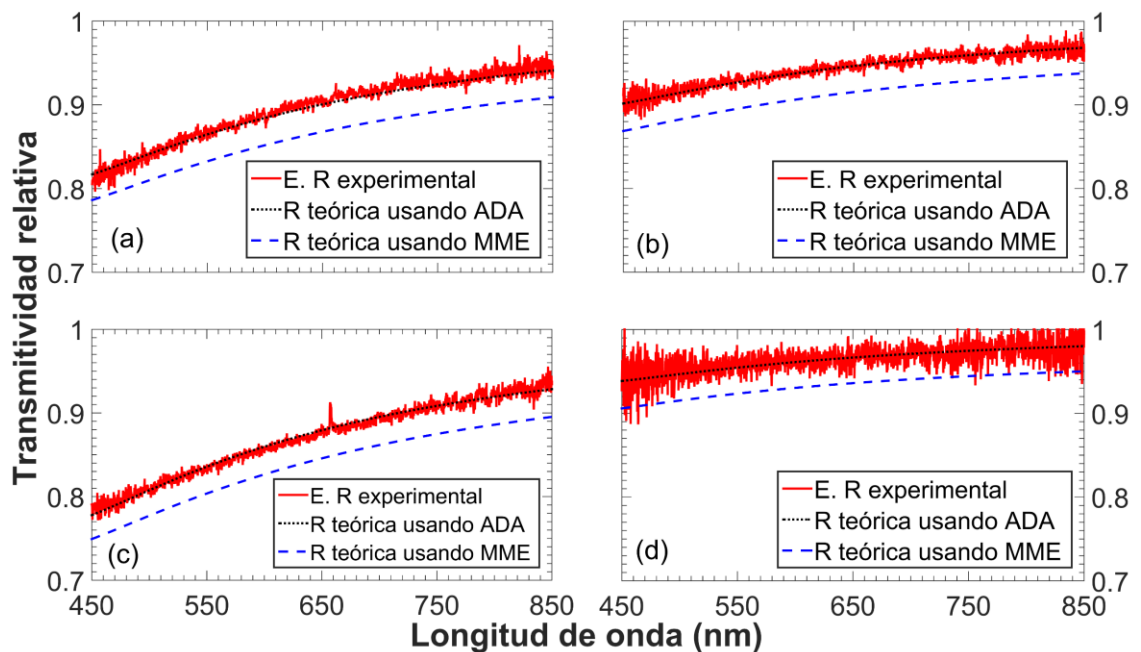
Los índices de refracción, de la película de aluminio, del portaobjetos (vidrio BK7), del medio matriz (glicerina) y del poliestireno (PS) usados en las simulaciones teóricas, como función de la longitud de onda, se tomaron de las siguientes Refs. [93, 94, 100, 101], respectivamente. Por otra parte, dentro de las simulaciones teóricas se ajustaron dos parámetros para reproducir el mejor ajuste entre los resultados experimentales y los dos modelos teóricos, la fracción de cubierta de superficie- $\theta$  y el radio de la partícula- $r$ . Para cada espectro teórico (en ambos modelos), se usó una fracción de cubierta de superficie y un radio de partícula, respectivamente, de (a)  $\theta = 9.3\%$ ,  $r = 900 \text{ nm}$ , (b)  $\theta = 9.9\%$ ,  $r = 850 \text{ nm}$ , (c)  $\theta = 5.7\%$ ,  $r = 850 \text{ nm}$ , y (d)  $\theta = 1.0\%$ ,  $r = 900 \text{ nm}$ . Dos de los radios usados en las simulaciones caen dentro del tamaño reportado por el fabricante; sin embargo, dos muestras experimentales no (partículas de radio de  $850 \text{ nm}$ ). Esta diferencia se puede deber al proceso de fabricación de las monocapas; ya que la suspensión se elabora con alcohol isopropílico, véase la Sec. 5.1, por lo tanto, algunas partículas de PS se pueden deformar durante la preparación de la suspensión y el depósito de éstas sobre el sustrato, dando lugar a un tamaño promedio en la muestra de  $2r = 1.7 \mu\text{m}$  para las partículas en la monocapa.



**Fig. 5-8** Espectros de reflectancia relativa para cuatro muestras distintas de monocapas con partículas de poliestireno-PS. Las curvas continuas de color rojo corresponden a los espectros experimentales de reflectancia relativa. Las líneas discontinuas cortas, de color negro, corresponden a los espectros teóricos basados en ADA y las líneas discontinuas largas, de color azul, corresponden a los espectros teóricos usando MME.

De la Fig. 5.8 podemos observar que el modelo basado en ADA reproduce muy bien los datos experimentales tanto cualitativa como cuantitativamente; mientras que el

modelo basado en esparcimiento múltiple MME, usando los mismos parámetros que en el modelo basado en ADA, no se ajusta a los espectros de reflectancia experimentales de cada muestra. Esta diferencia principal estriba en que el modelo basado en ADA, véase la Sec. 4.4, toma en cuenta el campo que atraviesa la partícula más el campo reflejado por el sustrato, el cual atraviesa nuevamente la partícula, usando la imagen de ésta para determinar el desfase total que sufre la onda incidente (véase la Fig. 4.3). Debemos mencionar que, si la monocapa no se encontrará depositada sobre un sustrato o portaobjetos, la monocapa por sí misma no reflejaría el campo que incide sobre ésta, pues el índice de refracción entre las partículas y el medio matriz que las rodea son similares ( $n_p \approx n_m$ ), i.e. por un bajo contraste no hay reflexión ni refracción; por lo que el sustrato hace posible la reflexión del campo incidente para nuevamente incidir sobre la monocapa de partículas desde el plano  $z = 0$ , Ref. [102]. Por otra parte, de la Fig. 5.8 (a-c) podemos apreciar que cuando la fracción de cubierta de superficie es alta la forma de los espectros tienden a ser curvados; pero con fracciones de cubierta de superficie bajas, Fig. 5.8 (d), el espectro tiende a una forma plana. Además, en este último caso, el MME tiene un comportamiento muy similar al espectro experimental y al modelo basado en ADA, pero con una intensidad distinta para longitudes de onda mayores a 600 nm.



**Fig. 5-9** Espectros de transmitancia relativa para cuatro muestras distintas de monocapas de partículas de poliestireno-PS. Las curvas continuas, de color rojo, corresponden a los espectros experimentales de transmitancia relativa. Las líneas discontinuas cortas, de color negro, corresponden a los espectros teóricos basados en ADA y las líneas discontinuas largas, de color azul, corresponden a los espectros teóricos usando MME.

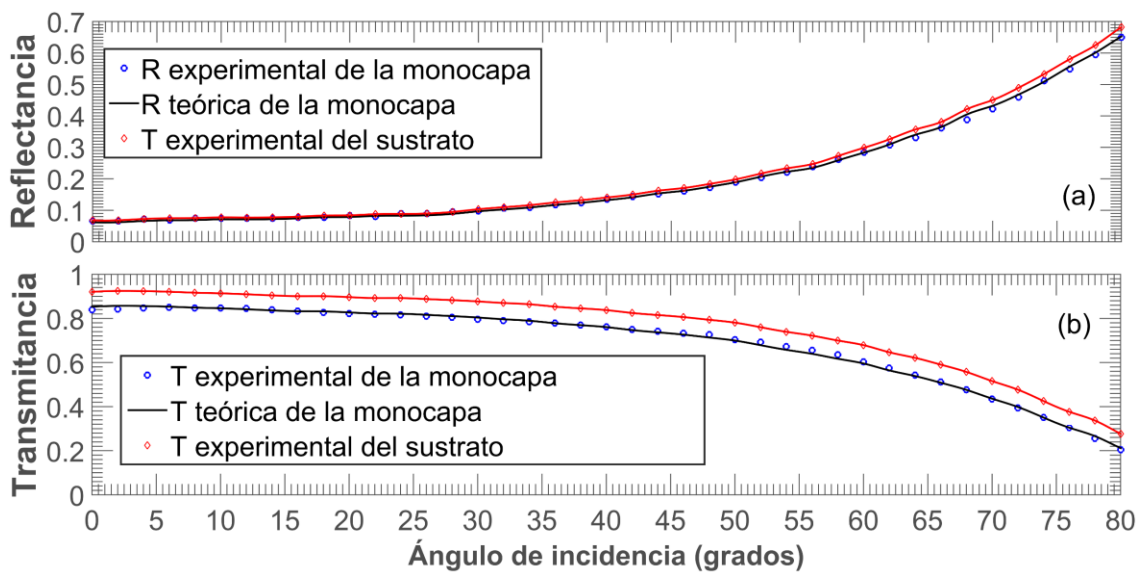
En la Fig. 5.9 (a-d) se muestran cuatro espectros de transmitancia relativa correspondientes a cuatro muestras de portaobjetos recubiertos por monocapas de poliestireno-PS, para un ancho espectral de 450 a 850  $nm$ , a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ . Los espectros experimentales se representan por líneas continuas de color rojo. En esta figura se incluyen también las curvas teóricas de transmitancia relativa calculadas con la expresión (4.75), correspondiente al modelo basado en ADA y representado con la línea discontinua corta, color negro. Se incluyen también las curvas teóricas de transmitancia relativa usando el MME calculadas con la Ec. (2.15) y representadas por líneas discontinuas largas de color azul. De manera similar al caso anterior con el ajuste teórico-experimental de los espectros de reflectancia, se ajustaron dos parámetros para reproducir el mejor ajuste entre los resultados experimentales y los dos modelos teóricos, la fracción de cubierta de superficie- $\Theta$  y el radio de la partícula- $r$ , para la transmitividad relativa. Para cada espectro teórico (en ambos modelos), se usó una fracción de cubierta de superficie y un radio de partícula, respectivamente, de (a)  $\Theta = 6.5\%$ ,  $r = 900\text{ nm}$ , (b)  $\Theta = 3.4\%$ ,  $r = 900\text{ nm}$ , (c)  $\Theta = 8.0\%$ ,  $r = 900\text{ nm}$ , y (d)  $\Theta = 2.1\%$ ,  $r = 900\text{ nm}$ . Los valores para el índice de refracción del sustrato, de la matriz y de las partículas fueron los mismos a los usados en los espectros teóricos de reflectividad relativa.

En este caso, los espectros teóricos usando la expresión de transmitancia del MME (línea discontinua larga) describen cualitativamente bien el comportamiento de los espectros de transmitividad relativa experimentales; sin embargo, la intensidad de éstos no se ajusta a los valores experimentales, ver Fig. 5.9 (a-d). Por otra parte, el modelo basado en ADA reproduce perfectamente los espectros experimentales de transmitividad relativa, usando los mismos parámetros que en el MME. También se puede constatar que, a longitudes de onda baja, los espectros de transmitividad presentan una intensidad relativa baja, y tienden a ser más curvos cuando la fracción de superficie de cubierta,  $\Theta$ , es alta. Por ejemplo, véase la Fig. 5.9 (c-d), siendo el espectro del inciso (c) más curvo que el espectro del inciso (d), cuyas fracciones de cubierta respectivas son, 8% y 2.1%. Finalmente, comparando los espectros de reflectancia y transmitancia (Figs. 5.8 y 5.9), para la monocapa de partículas de PS, observamos que los espectros de reflectancia tienen mucha más estructura que los espectros de transmitancia; i.e. nos dan más información en su forma.

En la Fig. 5.10 (a-b) se muestran las gráficas correspondientes a las mediciones experimentales de reflectancia-R y transmitancia-T coherente versus el ángulo de incidencia (de 0 a  $80^\circ$ ) respectivas a dos muestras, para una monocapa de partículas de



PS, para un haz láser incidiendo con una longitud de onda,  $\lambda = 670 \text{ nm}$ , sobre ésta. Las curvas experimentales se representan con círculos de color azul. El medio de incidencia, en la monocapa, fue glicerina líquida cubierta y contenida por un cubreobjetos, véase la Fig. 5.2. En la Fig. 5.10 se presentan las curvas teóricas (línea continua color negro) correspondientes a la reflectancia y transmitancia coherentes calculadas con las Ecs. (4.73) y (4.57), respectivamente, para una monocapa con partículas de PS. También se presentan las curvas de reflectancia- $|r_s|^2$  y transmitancia- $|t_s|^2$  experimentales para el sustrato-matriz-cubreobjetos sin la monocapa depositada, representadas por rombos de color rojo. Los datos experimentales  $|r_s|^2$  y  $|t_s|^2$ , como función del ángulo de incidencia, fueron usados en las Ecs. (4.73) y (4.57), respectivamente, para obtener las curvas teóricas de R y T. A diferencia de los espectros presentados previamente, en este caso no estamos hablando de reflectancia relativa (o transmitancia relativa), sino de la llamada reflectancia coherente (y transmitancia coherente), que corresponde al cuadrado de la magnitud del coeficiente de reflexión coherente dado por la Ec. (4.73). Para el caso experimental,  $|r_s|^2$  representa el cociente entre la potencia incidente del láser dividiendo a la potencia reflejada por el sustrato-matriz-cubreobjetos sin la monocapa depositada. De manera análoga para el coeficiente  $|t_s|^2$ .



**Fig. 5-10** Curvas de a) reflectancia y b) transmitancia coherente de una monocapa de partículas de poliestireno como función del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . En ambas gráficas, los círculos, de color azul, corresponden a las mediciones experimentales de reflectancia (y transmitancia) de la monocapa, los diamantes rojos corresponden a la reflectancia experimental (o transmitancia experimental) del sustrato-matriz-cubreobjetos **sin la monocapa depositada**, y la línea continua de color negro corresponden a los datos teóricos simulados para la monocapa.

Los parámetros usados para calcular las curvas teóricas de reflectancia y transmitancia fueron: una longitud de onda,  $\lambda = 670 \text{ nm}$ , un índice de refracción para las partículas de PS de  $n_p = 1.585$ , un índice de refracción para la matriz (glicerina) de  $n_1 = 1.4695$  y un índice de refracción para el sustrato de  $n_2 = 1.5139$ . Para la simulación se usó una forma esférica en las partículas con un radio de  $r = 850 \text{ nm}$ . Como en el caso de los espectros, la fracción de cubierta de superficie se ajustó de manera indirecta para reproducir las curvas experimentales lo mejor posible. Para la curva de reflectancia se usó una fracción de cubierta de superficie de  $\Theta = 3\%$  y para la transmitancia se usó un valor de  $\Theta = 5.5\%$ . De la Fig. 5.10 (a-b) podemos concluir que el modelo teórico basado en ADA reproduce muy bien las curvas experimentales, de reflectancia y transmitancia, hasta ángulos de incidencia de  $80^\circ$ , a pesar de que el modelo teórico se restringe para ángulos de incidencia bajos. Este buen ajuste para ángulos rasantes se puede deber a tres factores importantes, el valor muy próximo entre el índice de refracción de la partícula y el medio matriz (muy bajo contraste), la baja densidad de partículas depositadas sobre el sustrato, y la forma esférica que poseen las partículas que constituyen la monocapa.

#### 5.4.2 Monocapa de eritrocitos humanos (RBCs)

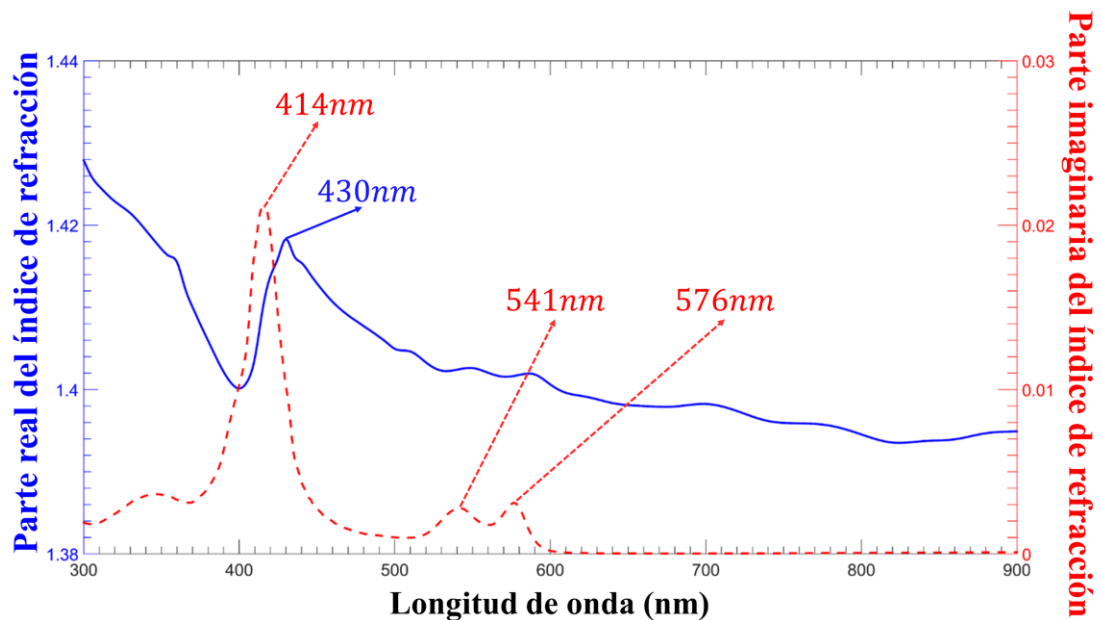
Antes de presentar los resultados experimentales, es pertinente aclarar cómo se calcula el índice de refracción para un eritrocito humano (RBC). Los eritrocitos humanos están constituidos enteramente por hemoglobina-Hb y una membrana muy delgada que la contiene [26, 91]. Debido a que el índice de refracción de la membrana es similar al índice de refracción del plasma, que rodea al eritrocito, se desprecia el índice de refracción de la membrana para las simulaciones teóricas presentadas a continuación. Por lo tanto, el índice de refracción para un eritrocito se toma igual al índice de refracción de la hemoglobina. La parte real del índice de refracción, para el eritrocito, está dada por la siguiente expresión [26, 92, 98, 99, 103, 104],

$$\Re\{n_{RBC}\} = n_{agua} + \alpha HC, \quad (5.1)$$

donde  $n_{agua}$  es el índice de refracción del agua (como función de  $\lambda$ ) [105],  $HC$  es la concentración de la hemoglobina tomando un valor aproximado para las simulaciones teóricas de  $340 \text{ g/l}$  [91, 99],  $\alpha$  es el incremento específico de refracción que depende de la longitud de onda el cual se tomó de la referencia [99]. Para la parte imaginaria, del índice de refracción del eritrocito, usamos la siguiente expresión [91, 92, 104, 106, 107],

$$\Im\{n_{RBC}\} = \log(10) \frac{\lambda}{4\pi M} \varepsilon_\mu HC, \quad (5.2)$$

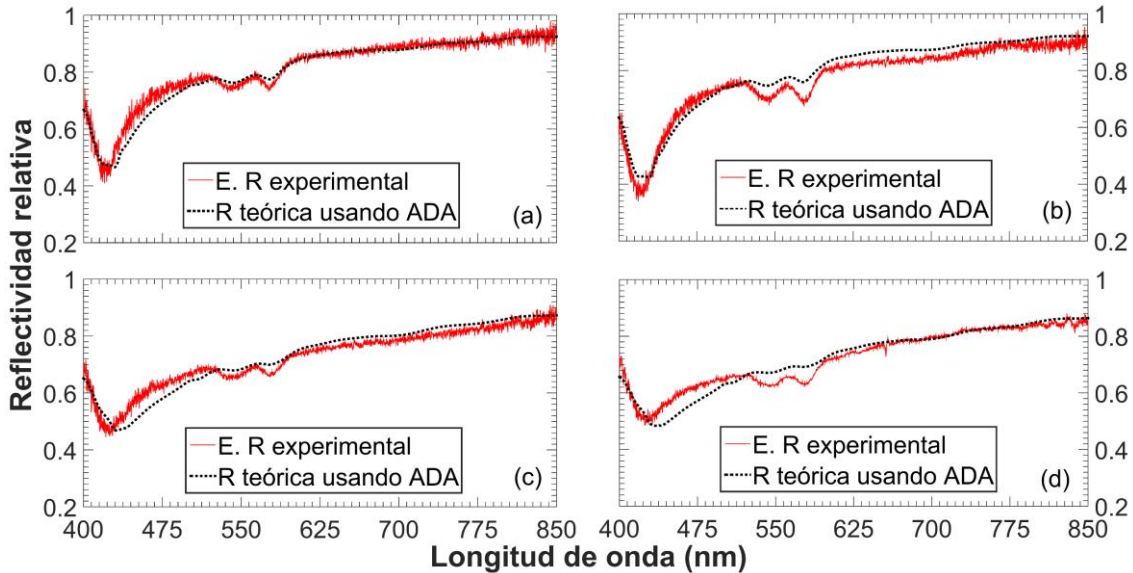
el cual depende de la concentración de la hemoglobina-HC (con un valor de  $340 \text{ g/l}$ ), la longitud de onda de la radiación incidente-  $\lambda$ , de su peso molecular  $M = 64500 \text{ g/mol}$ , del coeficiente de absorción molar  $\epsilon_{\mu}$  como función de la longitud de onda, obtenido de la Ref. [108] para hemoglobina oxigenada. En la Fig. 5.11 graficamos la parte real e imaginaria correspondiente al índice de refracción de un eritrocito humano oxigenado, usando las Ecs. (5.1) y (5.2), respectivamente; para un ancho espectral de  $300$  a  $900 \text{ nm}$ . De la Fig. 5.11, para la parte imaginaria correspondiente a la curva discontinua roja, observamos un pico principal en  $414 \text{ nm}$  y dos picos pequeños adyacentes en  $541$  y  $576 \text{ nm}$ . Para la parte real del índice de refracción (Fig. 5.11), curva continua azul, observamos un pico principal en  $430 \text{ nm}$ . Para generar este par de curvas, se usó un coeficiente de absorción molar con hemoglobina oxigenada, [108].



**Fig. 5-11** Índice de refracción de un eritrocito humano oxigenado (RBC) como función de la longitud de onda. La parte real del índice de refracción se representa con una línea continua (color azul), y la parte imaginaria se representa con una línea discontinua (color rojo).

En la Fig. 5.12 (a-d) se muestran cuatro espectros experimentales de reflectancia relativa respectivos a cuatro muestras de portaobjetos recubiertos por una película de aluminio y por una monocapa de eritrocitos humanos, para un rango espectral de  $400$  a  $850 \text{ nm}$  a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ , inmersas en su propio plasma sanguíneo (la matriz). Los espectros experimentales se representan por líneas continuas de color rojo, y se obtuvieron con ayuda del montaje experimental de la Fig. 5.4. Como se mencionó previamente, el espectro de reflectividad relativa, para la parte experimental, corresponde

a medir el espectro de reflectancia (o transmitancia) del sustrato-matriz-cubreobjetos sin monocapa dividiendo al espectro de reflectancia (o transmitancia) del sustrato-matriz-monocapa-cubreobjetos con la monocapa depositada. En este caso el medio matriz donde se encuentra inmersa la monocapa es su propio plasma el cual tiene un índice de refracción muy similar al índice de refracción del agua. Por lo tanto, para tomar el espectro de referencia se midió el espectro de reflectancia para una matriz de agua.

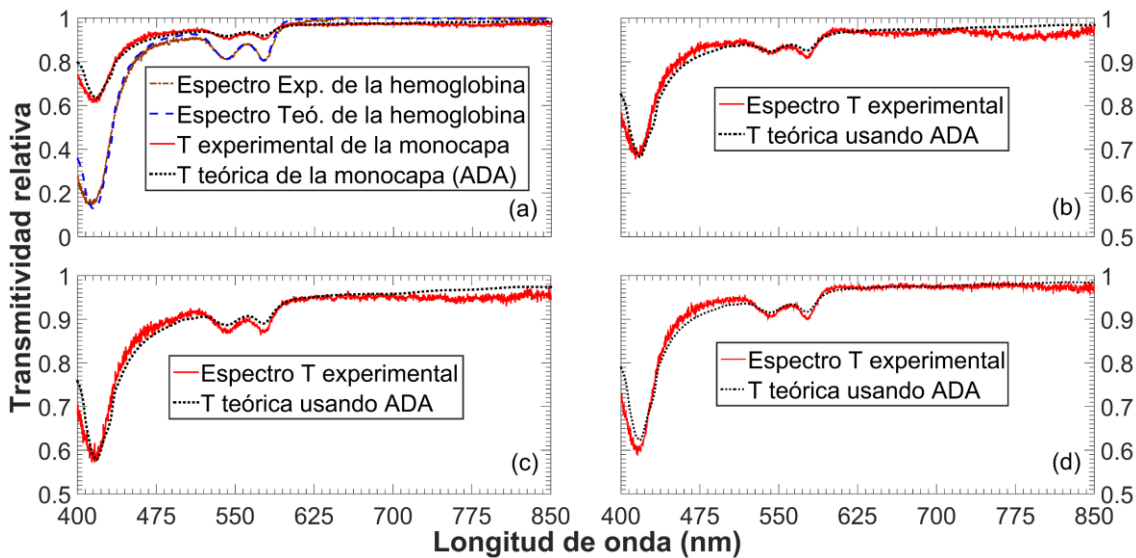


**Fig. 5-12** Espectros de reflectancia relativa para cuatro muestras distintas de monocapas con eritrocitos humanos (RBCs). Las curvas continuas de color rojo corresponden a los espectros experimentales de reflectancia relativa. Las líneas discontinuas cortas, de color negro, corresponden a los espectros teóricos usando ADA.

En la Fig. 5.12 (a-d) se muestran, además, las curvas teóricas representadas por líneas discontinuas cortas (color negro) ajustadas a los datos experimentales, que fueron calculadas con la Ec. (4.74) del Cap. 4, como función de la longitud de onda, usando una forma geométrica esferoidal para los eritrocitos, [37, 78, 109- 111]. Como se mencionó previamente, la monocapa se encuentra depositada sobre una película de aluminio, y la película de aluminio se encuentra depositada, a su vez, sobre el portaobjetos, esto con el fin de capturar mejor la luz reflejada por el sustrato, cubierto por la monocapa, a través de la fibra óptica. Los índices de refracción, de la película de aluminio, del portaobjetos (vidrio BK7) y del medio matriz (agua) usados en las simulaciones teóricas, como función de la longitud de onda, se tomaron de las siguientes Refs. [100, 101, 105], respectivamente. Por otra parte, dentro de las simulaciones teóricas se ajustaron dos parámetros para reproducir el mejor ajuste entre los resultados experimentales y el modelo teórico basado en ADA, la fracción de cubierta de superficie- $\theta$  y la longitud del

semieje- $z$  para el esferoide, correspondiente al parámetro  $c$ , ver Ec. (4.25). Las longitudes del semieje- $x$  y del semieje- $y$ , para todas las simulaciones, se tomaron constantes, con un valor de  $3.5 \mu m$ , ver Refs. [109, 111]. Para cada espectro teórico (en ambos modelos), se usó una fracción de cubierta de superficie y un parámetro  $c$  ajustado, respectivamente, de (a)  $\Theta = 40.0\%$ ,  $c = 1 \mu m$ , (b)  $\Theta = 45.0\%$ ,  $c = 1 \mu m$ , (c)  $\Theta = 28.0\%$ ,  $c = 1.2 \mu m$ , y (d)  $\Theta = 25.0\%$ ,  $c = 1.25 \mu m$ . Esta diferencia en el parámetro  $c$  puede ser debido al proceso de fabricación de la monocapa cuando se deposita sobre la película-sustrato, ya que el tamaño del eritrocito es muy susceptible a cambios en la salinidad del plasma que le rodea. Algunos eritrocitos se pueden reventar durante el depósito de la monocapa sobre el sustrato produciendo una variación en la salinidad del plasma (incluyendo un cambio ligero en el índice de refracción); por ende, se puede producir una deformación del eritrocito sobre el plano  $xy$ , pero recordemos que el espectro, a incidencia normal, no es sensible a cambios en la sección transversal de la partícula, ver Sec. 4.5; sólo a cambios en la altura de la partícula, de ahí la diferencia en el parámetro- $c$ .

De la Fig. 5.12 (a-d), podemos observar que los comportamientos de los espectros teóricos correspondientes a la reflectividad relativa reproducen cualitativa y cuantitativamente a sus respectivos espectros experimentales, esto a incidencia normal. Podemos ver que hay tres picos de absorción, en cada uno de los espectros, localizados en diferentes longitudes de onda. Para el espectro del inciso a) el pico principal ocurre en  $420 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $542$  y  $577 \text{ nm}$ ; para el espectro del inciso b) el pico principal ocurre en  $422 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $544$  y  $578 \text{ nm}$ ; para el espectro del inciso c) el pico principal ocurre en  $424 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $541$  y  $580 \text{ nm}$ ; y finalmente, para el espectro del inciso d) el pico principal ocurre en  $430 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $543$  y  $580 \text{ nm}$ . Si comparamos el espectro de la parte imaginaria del índice de refracción de un eritrocito, ver Fig. 5.11, con cualquiera de los espectros de un sustrato soportando una monocapa de eritrocitos, ver Fig. 5.12, observamos que cualitativamente son muy distintos. Sin embargo, se observan los tres picos de absorción presentes, pero en diferentes posiciones, respecto al espectro de absorción de un eritrocito humano simple. De los espectros (c) y (d), ver Fig 5.12, podemos ver que cuando  $\Theta$  tiene a un valor elevado el ancho del pico principal se ensancha, su intensidad disminuye y el espectro tiende a inclinarse más respecto al eje horizontal. En consecuencia, si  $\Theta$  tiene un valor alto el pico principal de absorción tiende a desvanecerse y el espectro a inclinarse más.



**Fig. 5-13** Espectros de transmitancia relativa para cuatro muestras distintas de monocapas de eritrocitos humanos (RBCs). Las curvas continuas, de color rojo, corresponden a los espectros experimentales de transmitancia relativa para las cuatro muestras de monocapas. Las líneas discontinuas cortas, de color negro, corresponden a los espectros teóricos usando ADA. En el recuadro del inciso (a) se presentan los espectros de transmitancia teórico-experimental para la hemólisis de eritrocitos en agua tridestilada, línea discontinua compuesta (color café).

En la Fig. 5.13 (a-d) se muestran los resultados correspondientes a los espectros de transmitancia relativa, teórico-experimentales, para cuatro portaobjetos recubiertos por una monocapa de eritrocitos humanos inmersos en su propio plasma a incidencia normal,  $\theta_i = 0^\circ$ , para un ancho espectral de 400 a 850 nm. Los espectros experimentales se representan por una línea continua, color rojo. Los espectros teóricos ajustados a cada espectro experimental se representan con una línea discontinua, color negro, los cuales fueron calculados con la expresión (4.75), correspondiente al modelo basado en ADA. Como en el caso anterior, para los espectros de reflectancia relativa (eritrocitos), los parámetros usados para generar los espectros teóricos, tales como: índice de refracción de los eritrocitos, la forma de los eritrocitos, el índice de refracción de la matriz (agua) y la longitud de los parámetros,  $a = b = 3.5 \mu m$ , fueron los mismos a los usados en los espectros de reflectividad mostrados en la Fig. 5.12. El índice de refracción para el portaobjetos (vidrio BK7), fue tomado de la Ref. [101]. De manera similar al caso anterior con el ajuste teórico-experimental de los espectros de reflectancia (eritrocitos), en la transmitividad relativa se ajustaron dos parámetros para reproducir el mejor ajuste entre los resultados experimentales y el modelo teórico basado en ADA, los cuales fueron la fracción de cubierta de superficie- $\Theta$  y la longitud del semieje-z para el esferoide,

correspondiente al parámetro  $c$ . Para cada espectro teórico, se usó una fracción de cubierta de superficie y una altura para el eritrocito, respectivamente, de a)  $\Theta = 48.0\%$ ,  $c = 1.1 \mu\text{m}$ , (b)  $\Theta = 40.0\%$ ,  $c = 1.1 \mu\text{m}$ , (c)  $\Theta = 50.0\%$ ,  $c = 1.2 \mu\text{m}$ , y (d)  $\Theta = 50.0\%$ ,  $c = 1.1 \mu\text{m}$ .

De la Fig. 5.13 (a-d) el modelo teórico basado en ADA reproduce perfectamente los espectros experimentales de transmitividad relativa para las cuatro muestras de sustratos recubiertos por la monocapa de eritrocitos. Podemos observar, para este caso, que los espectros de transmitancia son cualitativamente similares a los espectros de reflectividad, ver Fig. 5.12 (a-d); los cuales presentan tres picos de absorción uno de mayor intensidad y dos contiguos de poca intensidad, véase la Figs. 5.13. De esta última figura para el espectro del inciso a) el pico principal ocurre en  $416 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $543$  y  $576 \text{ nm}$ ; para el espectro del inciso b) el pico principal ocurre en  $417 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $541$  y  $578 \text{ nm}$ ; para el espectro del inciso c) el pico principal ocurre en  $417 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $542$  y  $577 \text{ nm}$ ; y finalmente, para el espectro del inciso d) el pico principal ocurre en  $415 \text{ nm}$  y los dos más pequeños contiguos en  $541$  y  $577 \text{ nm}$ . Podemos constatar que la ubicación de los tres picos observados en los espectros de transmitancia relativa, de la Fig. 5.13, se ubican en longitudes de onda distintas a los picos máximos de absorción correspondientes a la parte imaginaria del índice de refracción de un eritrocito, véase la Fig. 5.11. Además, de las Figs. 5.12 y 5.13, los picos de mayor intensidad, en los espectros de transmitancia son más angostos y de menor intensidad que los picos principales de los espectros de reflectancia; ya que los espectros de reflectancia presentan una ligera inclinación, mientras que los espectros de transmitancia tienden a mantener una estructura horizontal para todo el ancho espectral. Los dos picos de absorción adyacentes en las Figs. 5.11, 5.12 y 5.13 se deben principalmente a la oxigenación de los eritrocitos y tienden a disminuir su intensidad con el tiempo cuando el plasma empieza a evaporarse.

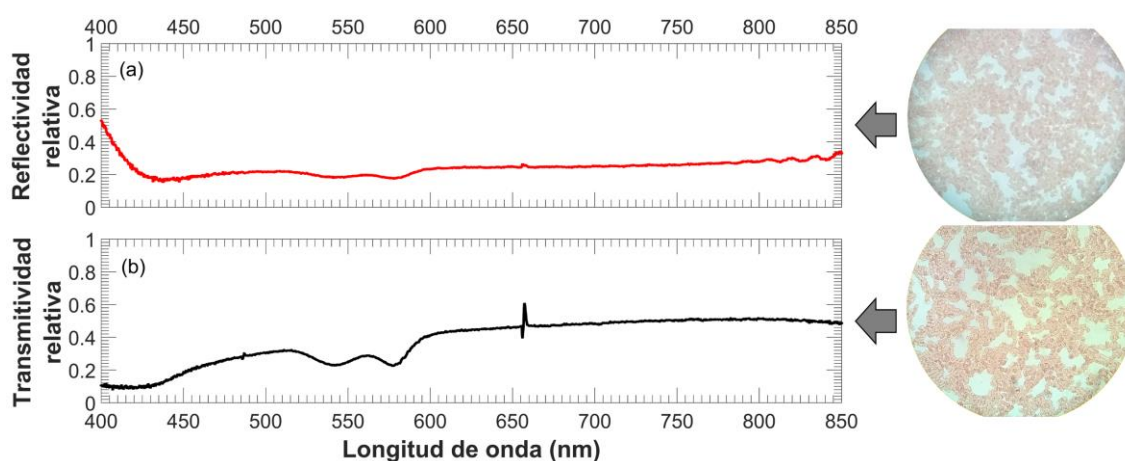
En la Fig. 5.13 (a), se adjuntan dos gráficas adicionales correspondientes al espectro de transmitancia experimental y teórica para una mezcla de agua tridestilada con eritrocitos inmersos en ella. Esta mezcla provoca la hemólisis en los eritrocitos y en consecuencia se produce una mezcla entre la hemoglobina y el agua; que equivale a la desintegración de la monocapa. El espectro de transmitancia experimental se representa con una línea continua (de color café) y el espectro de transmitancia teórico se representa por una línea discontinua larga (de color azul). El espectro teórico se calculó usando la fórmula de Beer-Lambert, para un grosor en la muestra de  $3600 \text{ nm}$  y usando la parte

imaginaria del índice de refracción del eritrocito, ver Ec. 5.2. Similarmente a lo que ocurre en los espectros de transmitancia con los portaobjetos recubiertos por monocapas de eritrocitos, en estos espectros se observan tres picos de absorción en ambas curvas, el principal o de mayor intensidad en  $412\text{ nm}$  y dos picos contiguos de menor intensidad en  $542$  y  $578\text{ nm}$ , respectivamente, véase la Fig. 5.13 (a). Comparando el espectro de transmitividad para un sustrato recubierto por una monocapa y el espectro de transmitividad para una película delgada homogénea de hemoglobina mezclada con agua, vemos que cualitativamente son distintos entre sí. Los picos de absorción, de los espectros de transmitancia para la mezcla de hemoglobina con agua, son de mayor intensidad en comparación a los espectros de transmitividad de un sustrato recubierto por una monocapa, i.e. los picos de absorción se encuentran mejor definidos para la mezcla. Además, para la región espectral de  $600$  a  $850\text{ nm}$  el espectro de transmitancia tiene una intensidad normalizada con un valor de una unidad, i.e. una estructura totalmente plana respecto a los espectros de transmitancia de los sustratos cubiertos por la monocapa de eritrocitos, los cuales presentan una muy ligera inclinación. Con esta comparación se muestra que los espectros de transmisión del contenido que hay en el interior de una partícula (o mejor dicho conjunto de partículas) difiere del espectro de transmisión de una monocapa para el mismo tipo de partículas. De aquí que se haga hincapié de poder caracterizar un sistema biológico (monocapa de partículas biológicas) por medio de estas dos técnicas ópticas. De hecho, una importante aplicación y con ayuda del modelo teórico, es su fácil aplicabilidad a monitorear procesos químicos o biológicos en monocapas con algún tipo célula, bacteria u otro sistema biológico depositado sobre un sustrato plano; por mencionar un ejemplo el monitoreo de hemólisis en eritrocitos como función del tiempo, véase la Sec. 6.2.

Adicional a este estudio, en la Fig. 5.14, se muestran dos espectros experimentales correspondientes a la (a) reflectividad y a la (b) transmitividad relativa respectivos a dos portaobjetos recubiertos por una multicapa aleatoria con eritrocitos (aglomerados y desordenados), inmersos en su plasma. Los espectros se midieron a incidencia normal,  $\theta_i = 0$  y para un ancho espectral de  $400$  a  $850\text{ nm}$ . Este par de monocapas se fabricaron relativamente fácil; se dejó caer una gota de sangre entera sobre la superficie plana de un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos para extender la gota de sangre sobre toda la superficie del portaobjetos. Para el caso de la reflectancia, la multicapa se depositó sobre una película de aluminio, de manera similar al caso de la reflectancia para el sustrato con la monocapa de eritrocitos depositada, con el fin de aumentar la reflectividad y



recolectar mejor la luz reflejada por la multicapa a través de la fibra óptica, véase el arreglo experimental de la Fig. 5.4.



**Fig. 5-14** Espectros experimentales de a) reflectancia relativa y b) transmitancia relativa para dos multi-monocapas desordenadas con eritrocitos humanos (RBCs). La monocapa del inciso (a) se depositó sobre una película de aluminio, y la monocapa del inciso (b) se depositó directamente sobre la superficie de un portaobjetos. En cada una de las curvas se adjunta una imagen correspondiente a la micrografía de las multicapas de eritrocitos depositadas sobre un portaobjetos, note el color de fondo de cada micrografía.

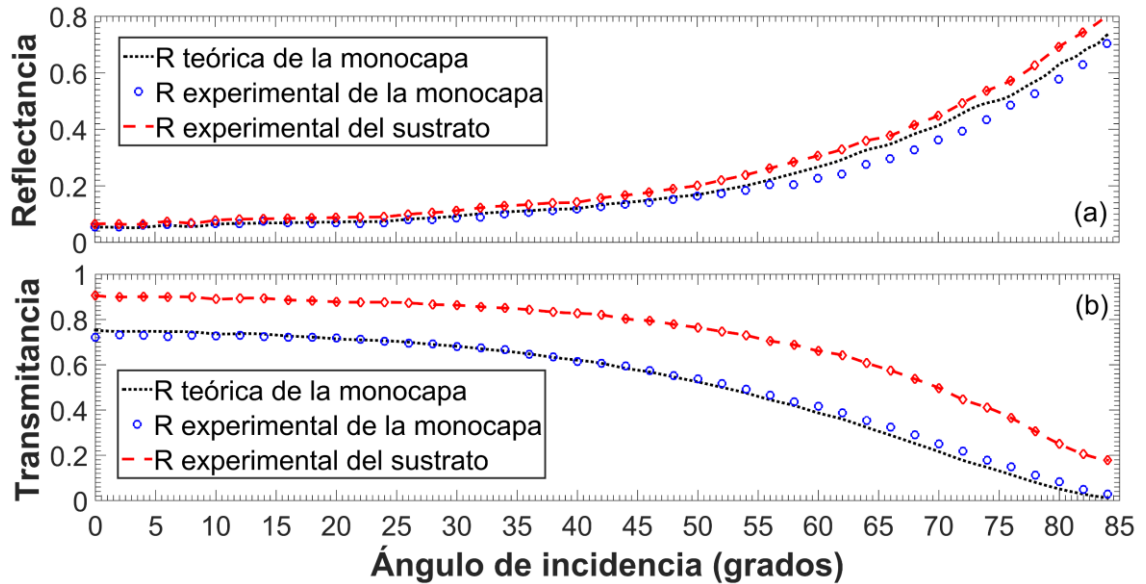
La forma de los espectros, reflectancia y transmitancia, de la Fig. 5.14 (a-b) difieren cualitativamente de los espectros de las Figs. 5.12 (a-d) y 5.13 (a-d), respectivos a la reflectancia y transmitancia relativa de los sustratos con monocapas de eritrocitos depositadas en éstos. Para el caso de la reflectancia, ver Fig. 5.14 (a), la forma del espectro tiende a ser plana respecto a los espectros de reflectividad de la Fig. 5.12 (a-d), donde el pico principal de absorción se ha borrado por completo y los dos picos adyacentes localizados en  $542$  y  $578$  nm tienen una intensidad baja, los cuales se encuentran mejor definidos en los espectros de reflectancia relativa de la Fig. 5.12. En el caso de la transmitancia relativa de la Fig. 5.14 (b), por debajo de los  $450$  nm, el espectro tiene una caída en intensidad ( $< 0.2$ ) y el pico de absorción principal no se aprecia como en el caso de los espectros de transmitancia relativa de la monocapa, ver Fig. 5.13 (a-d). La finalidad de mostrar este par de espectros es hacer notar que las propiedades ópticas de un sistema ordenado, tal como una monocapa y un sistema desordenado, como una multicapa, cambian notablemente; sobre todo cuando se trabaja con partículas biológicas como lo es en este caso. De ahí la importancia de tener un modelo teórico que nos permita estudiar sistemas controlados (monocapas con partículas de bajo contraste) donde podamos caracterizarlas a partir de sus parámetros, tales como: tamaño de partícula, la forma de la partícula, fracción de cubierta de superficie, índice de refracción de la partícula, etc. De

manera general, se podría extender el modelo teórico para monocapas donde se tome en cuenta las aglomeraciones entre partículas, incluyendo multicapas, para aplicarlo en tejidos u otros sistemas biológicos, como multicapas celulares.

A pesar de simular bastante bien los espectros de reflectividad y transmitividad de las Fig. 5.12 y 5.13 (a-d), podemos observar pequeñas diferencias entre los ajustes teórico-experimentales, esto puede deberse a cuatro factores principales: 1) Tomar en cuenta la forma real del eritrocito, en nuestro caso se consideró una forma esferoidal. 2) En el modelo teórico, todas las partículas que forman parte de la monocapa están orientadas en la misma dirección, pero sus posiciones sobre el sustrato, son aleatorias. Sin embargo, en la parte experimental los ejes sobre el plano- $xy$  de los elipsoides están orientados aleatoriamente, y no en una dirección como en el caso teórico. 3) Para el caso de las partículas biológicas, parte experimental, muchos eritrocitos tienden a hemolizar durante el proceso de fabricación de la monocapa, de modo que la hemoglobina se mezcla con el plasma, cambiando así el índice de refracción de la matriz y la fracción de cubierta de superficie. 4) Para el caso de partículas PS, partículas sintéticas, el tamaño de éstas sufre un cambio por estar inmersas en alcohol isopropílico esto durante el proceso de fabricación de la monocapa, ver la micrografía de la Fig. 5.1. Sin embargo, a pesar de estos inconvenientes experimentales los espectros teóricos describen cualitativamente bien los resultados experimentales.

Finalmente, en la Fig. 5.15 (a-b) se muestran las gráficas correspondientes a las mediciones experimentales de reflectancia-R y transmitancia-T coherente como función del ángulo de incidencia (de 0 a 85°) para dos muestras, de un portaobjetos soportando una monocapa de eritrocitos, al cual se le hace incidir un haz láser con una longitud de onda,  $\lambda = 670 \text{ nm}$  sobre este par. Los datos experimentales se representan con círculos de color azul. El medio de incidencia, en la monocapa, fue el propio plasma contenida por un cubreobjetos, véase la Fig. 5.2. En la Fig. 5.15 se adjuntan las curvas teóricas (línea discontinua de color negro) correspondientes a la reflectancia y transmitancia coherentes calculadas con las Ecs. (4.73) y (4.57). También se presentan las curvas de reflectancia- $|r_s|^2$  y transmitancia- $|t_s|^2$  experimentales para el sustrato-matriz-cubreobjetos sin la monocapa depositada, representadas por rombos de color rojo. Los datos experimentales  $|r_s|^2$  y  $|t_s|^2$ , como función del ángulo de incidencia, fueron usados en las Ecs. (4.73) y (4.57), respectivamente, para obtener las curvas teóricas de R y T. A diferencia de los espectros presentados previamente, en este caso no estamos hablando de reflectancia relativa (o transmitancia relativa), sino la llamada reflectancia coherente (y transmitancia

coherente), que corresponde al cuadrado de la magnitud del coeficiente de reflexión coherente dado por la Ec. (4.73). Para el caso experimental,  $|r_s|^2$  representa el cociente entre la potencia incidente del láser dividiendo a la potencia reflejada por el sustrato-matriz-cubreobjetos sin la monocapa depositada a un ángulo fijo. De manera análoga para el coeficiente  $|t_s|^2$ .



**Fig. 5-15** Curvas de (a) reflectancia y (b) transmitancia coherente para un sustrato cubierto por una monocapa de eritrocitos humanos como función del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . En ambas gráficas, los círculos de color azul, corresponden a las mediciones experimentales de la monocapa, los diamantes rojos corresponden a la reflectancia experimental (o transmitancia experimental) del sustrato-matriz-cubreobjetos **sin monocapa depositada**, y la línea continua de color negro corresponden a los datos teóricos simulados para la monocapa.

Para obtener las curvas teóricas de reflectancia y transmitancia, de la Fig. 5.15, los parámetros usados fueron: una longitud de onda,  $\lambda = 670 \text{ nm}$ , un índice de refracción para los eritrocitos de  $n_p = 1.398 + 0.00002i$ , un índice de refracción para la matriz (agua) de  $n_1 = 1.3311$  y un índice de refracción para el sustrato de  $n_2 = 1.5139$ . Como en el caso de los espectros, para la monocapa de eritrocitos, se usó una forma esferoidal. Para el caso de la reflectancia la longitud de los semiejes- $xy$  fueron de  $a = b = 3.0 \mu\text{m}$  y para el caso de la transmitividad se usó una longitud en los semiejes- $xy$  de  $a = b = 3.5 \mu\text{m}$ . Recordemos que el modelo teórico es sensible a ángulos de incidencia distintos de cero. La longitud del semieje- $z$  se ajustó para un valor de  $c = 1.2 \mu\text{m}$ , en ambas curvas. De manera similar a los resultados previos, la fracción de cubierta de superficie se ajustó de manera indirecta para reproducir los resultados experimentales los mejor

posible. Para la curva de reflectancia se usó una fracción de cubierta de superficie de  $\Theta = 7\%$  y para la transmitancia se usó un valor de  $\Theta = 19\%$ .

Nótese que la diferencia entre la reflectancia del sustrato con monocapa de eritrocitos, y sin monocapa, es mucho más notoria que en los sustratos con la monocapa de partículas de poliestireno para ángulos de incidencia bajos, ver Figs. 5.10 y 5.15. De la Fig. 5.15 (a-b) podemos concluir que el modelo teórico basado en ADA reproduce muy bien las curvas experimentales, de reflectancia y transmitancia coherente, hasta ángulos de incidencia de  $50^\circ$ , recordemos que el modelo teórico se restringe para ángulos de incidencia bajos. Sin duda, las curvas de reflectividad y transmitividad, como función del ángulo de incidencia, son una herramienta óptica eficaz para monitorear procesos biológicos donde la fracción de cubierta de superficie,  $\Theta$ , cambie con el tiempo.

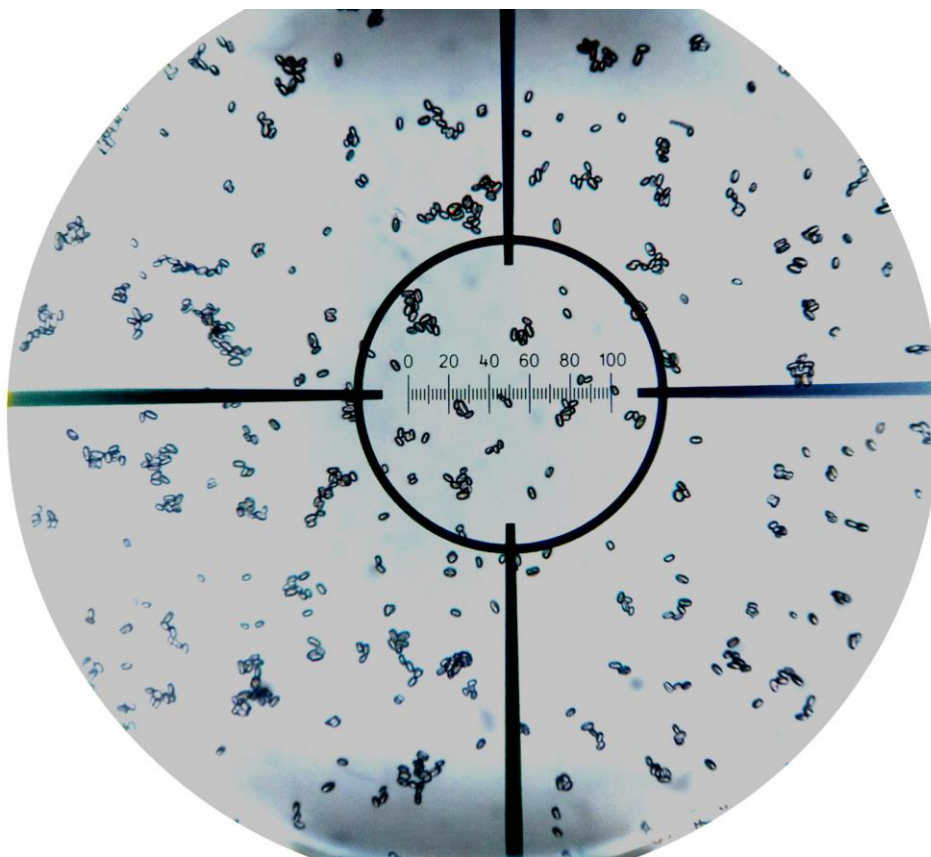
# 6 APLICACIONES

En el presente capítulo se exponen dos aplicaciones empleando los modelos presentados en esta tesis i.e. el modelo de esparcimiento múltiple MME y el modelo basado en ADA. Para la primera aplicación se desarrolla un método óptico simple y novedoso para estimar la concentración de micro-partículas depositadas aleatoriamente sobre la superficie de un sustrato transparente, las cuales forman una biopelícula de esporas de hongo “*penicillium digitatum*” para diferentes fracciones de cubierta superficiales. En la segunda aplicación se monitorea el proceso de hemólisis para una monocapa de eritrocitos o glóbulos rojos humanos depositados sobre la superficie plana de un portaobjetos, y de manera cualitativa se describe teóricamente el proceso de hemólisis como función del tiempo usando el modelo basado en ADA.

## 6.1 Monitoreo de esporas de hongo depositados sobre un sustrato

Las esporas *penicillium digitatum* se encuentran comúnmente en la superficie de frutos cítricos y es el principal responsable de pérdidas económicas en la industria cítrica, esto debido a su agresividad al infestar el fruto y su resistencia a fungicidas comunes. Estas esporas se encuentran inmersas en aire y las infestaciones se producen principalmente por heridas en la piel de los cítricos durante su manipulación, almacenamiento y comercialización, los cuales llegan a penetrar la superficie del fruto. Existen muchas técnicas de detección [112- 115], y muchas de éstas se basan en el conteo de partículas que se auxilian de elementos como microscopios y software de computadoras. Como se mencionó previamente, para esta primera aplicación usaremos el modelo de esparcimiento múltiple (MME) el cual se ha probado experimentalmente con éxito en monocapas de partículas altamente esparcidoras, tales como alúmina y dióxido

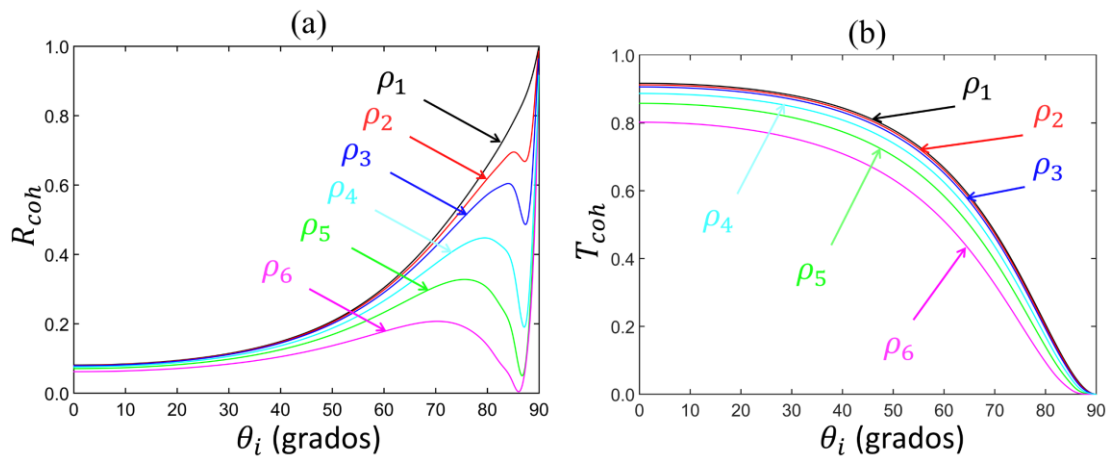
de titanio, para las cuales reproduce bastante bien sus respectivas curvas experimentales de reflectancia y transmitancia coherente. En particular, la reflectividad óptica ha demostrado ser altamente sensible a la fracción de cubierta superficial de las partículas depositadas sobre el sustrato [62]; permitiendo su uso como herramienta útil para determinar la fracción de cubierta superficial de manera rápida y eficiente. Aquí se propone realizar mediciones de reflectancia y transmitancia de luz coherente a ángulos de incidencia rasantes donde se encuentra la mayor sensibilidad. Se ilustra la técnica con monocapas desordenadas de esporas de *penicillium digitatum* con el fin de abrir una posibilidad para monitorear en tiempo real la fracción de cubierta superficial  $\Theta$ . El arreglo experimental es relativamente sencillo.



**Fig. 6-1** Monocapa de esporas de hongo *penicillium digitatum* depositada sobre la superficie de un portaobjetos (la escala mínima de la platina micrométrica es de  $2 \mu m$ ).

En la Fig. 6.1 mostramos una micrografía (a 400 X) de una monocapa desordenada con partículas de *penicillium digitatum* depositada sobre un portaobjetos de  $27 \times 75 \text{ mm}$  tomando un índice de refracción de  $n_2 = 1.5$  para el sustrato. De la micrografía observamos, de manera general, que las partículas varían en forma y tamaño; pero la mayoría de éstas posee una forma elipsoidal. De donde se determinó, además, una longitud promedio para el semieje mayor (sobre el eje- $x$ ) de  $a = 3 \mu m$  y una longitud de

$b = 2.1 \mu m$  para el semieje menor (sobre el eje-y), esto con la ayuda de una platina micrométrica la cual se adjunta en la micrografía de la Fig. 6.1. Tomando un índice de refracción para las esporas de  $n_p = 1.56 \mu m$  [116] y considerando que la monocapa se encuentra inmersa en aire ( $n_1 = 1.0$ ); en las Figs. 6.2 (a-b) se muestran las curvas teóricas correspondientes a la reflectancia y transmitancia coherente para diferentes concentraciones de esporas como función del ángulo de incidencia  $\theta_i$  (hasta  $90^\circ$ ) para una monocapa desordenada polidispersa a la cual se le hace incidir un haz láser con una longitud de onda de  $670 nm$  con polarización TE. Para generar las curvas de la Fig. 6.1 se consideró una distribución de tamaños *log-normal* con un ancho en la distribución de  $\sigma = 1.2$ , empleando una configuración por reflexión externa, ver Ref. [5]. Recordemos que el modelo de esparcimiento múltiple (MME) se utiliza actualmente para monocapas de partículas con forma esférica por lo que se consideró en la simulación esporas esféricas con un radio más probable de  $r = 2.1 \mu m$ . La densidad superficial de número de partículas  $\rho$ , que se usó para generar cada una de las curvas, en reflectancia y transmitancia, fue de  $\rho_1 = 10 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_2 = 160 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_3 = 360 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_4 = 1000 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_5 = 2000 \text{ part./mm}^2$  y  $\rho_6 = 4000 \text{ part./mm}^2$ . Si deseamos conocer la fracción de cubierta superficial  $\Theta$ , podemos emplear la Ec. (4.77) para deducirla, considerando una sección transversal circular con un radio de  $2.1 \mu m$ .

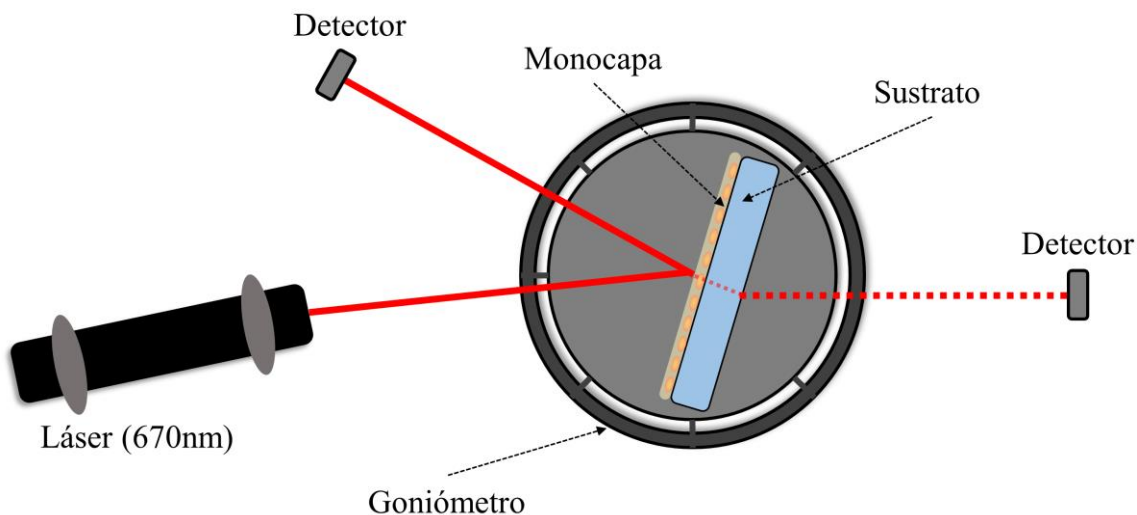


**Fig. 6-2** Curvas teóricas de (a) reflectancia y (b) transmitancia coherente como función del ángulo de incidencia para una monocapa polidispersa de esporas de *penicillium digitatum* a diferentes concentraciones  $\rho$ , usando una polarización TE.

Podemos observar de este par de figuras que las curvas de reflectancia presentan más estructura que las curvas de transmitancia, pues las curvas de reflectancia presentan un mínimo muy marcado a ángulos incidencia rasantes, entre los  $80^\circ$  y  $88^\circ$ , de aquí que la sensibilidad es máxima a ángulos rasantes y podamos aprovechar la región alrededor

del mínimo para monitorear la fracción de cubierta en este tipo de monocapas, (ver Ref. [62]).

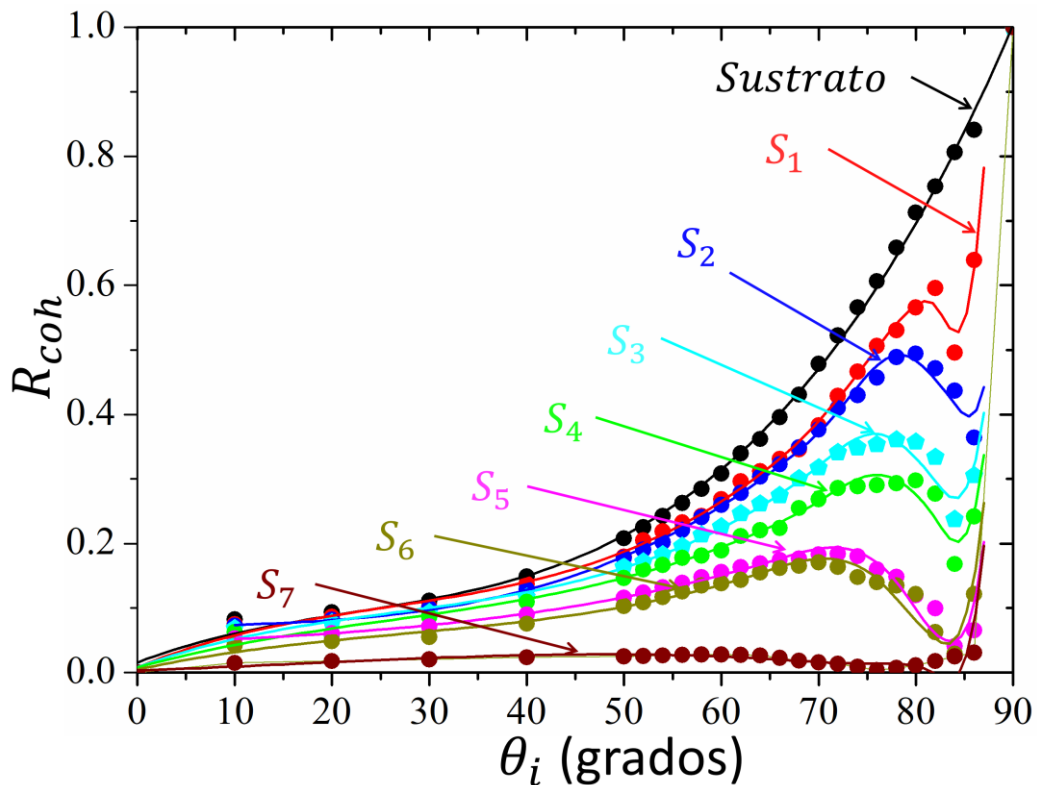
Dentro de la parte experimental, para la fabricación de las monocapas con esporas *penicillium digitatum*, se elaboró una suspensión de éstas en alcohol isopropílico. Las partículas de esporas se obtuvieron de la cáscara de una naranja infestada con moho verde, simplemente cepillando la superficie de la cáscara (el proceso para preparar la suspensión de esporas es muy similar al procedimiento que se realizó para preparar la suspensión con partículas de PS, véase la Sec. 5.1). Para depositar la monocapa de esporas, el portaobjetos fue colocado alrededor de  $85^\circ$  de inclinación (con respecto al plano de la mesa de trabajo), y con la ayuda de una pipeta se dejó caer una gota de la suspensión preparada con partículas de *penicillium digitatum*, sobre la superficie del sustrato, como se muestra en la Fig. 5.1, cubriendo la mayor parte de la superficie del portaobjetos. Posteriormente dejamos que se evaporara el exceso de alcohol, de esta manera nos queda la monocapa de partículas de *penicillium digitatum* depositada sobre la superficie del portaobjetos, ver Fig. 6.1. Esta monocapa de partículas se encuentra inmersa en aire ( $n_m \approx 1.0$ ). Si deseamos una mayor densidad de partículas depositadas sobre la superficie del sustrato, simplemente repetimos varias veces el procedimiento descrito previamente sobre la misma muestra, es decir, dejamos caer varias gotas de la suspensión de esporas sobre el sustrato inclinado. Con esto, se fabricaron siete muestras a diferentes concentraciones sin tener en mente un valor exacto de  $\theta$  (fracción de cubierta superficial). Cada una de estas muestras se denota como  $S_i$ , donde  $i = 1 \dots 7$ .



**Fig. 6-3** Arreglo experimental para medir simultáneamente la reflectancia y transmitancia coherente de un haz láser enfocado sobre una región pequeña de la monocapa de esporas depositada sobre el portaobjetos.

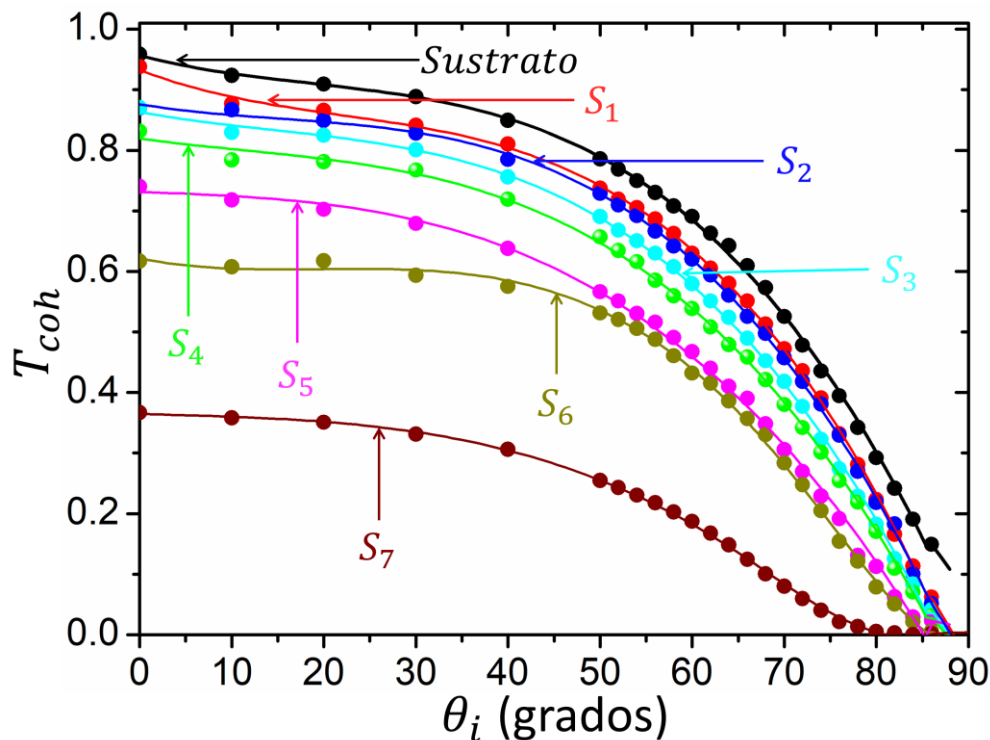


Con el arreglo experimental mostrado en la Fig. 6.3 se midió la reflectancia y transmitancia coherente, al mismo tiempo, para cada una de las muestras. Podemos observar de la Fig. 6.3 que el portaobjetos con la monocapa se monta sobre un soporte que nos permite mantener fijo y perpendicular al portaobjetos con la base del goniómetro. Con el fin de evitar errores en ambas mediciones se debe tener en cuenta que el *spot* de láser incida siempre sobre la misma zona de la monocapa, independientemente del ángulo de incidencia  $\theta_i$ , al girar el goniómetro. Para este arreglo experimental se utilizó un diodo láser de  $670\text{ nm}$  con polarización TE, un goniómetro *Thorlabs* para controlar y medir el ángulo de incidencia del haz. La intensidad del haz reflejado y transmitido, por el sustrato con la monocapa, como función del ángulo de incidencia, se midió con un potenciómetro *Thorlabs* PM320E, tomando mediciones cada  $10^\circ$  hasta un límite de  $50^\circ$ , y después, cada  $2^\circ$  hasta un límite de  $87^\circ$ . Cabe señalar, que la reflectancia coherente experimental corresponde al cociente entre la potencia del haz reflejado por la monocapa más sustrato, para cada ángulo de incidencia, entre la potencia directa del láser a incidencia normal. Mientras que la transmitancia coherente corresponde al cociente entre la potencia del haz transmitido por la monocapa más sustrato, como función de  $\theta_i$ , entre la potencia directa del láser a incidencia normal.



**Fig. 6-4** Datos experimentales de reflectancia coherente para siete muestras de monocapas de esporas de *penicillium digitatum*, con distintas concentraciones  $\rho_i$ , como función del ángulo de incidencia.

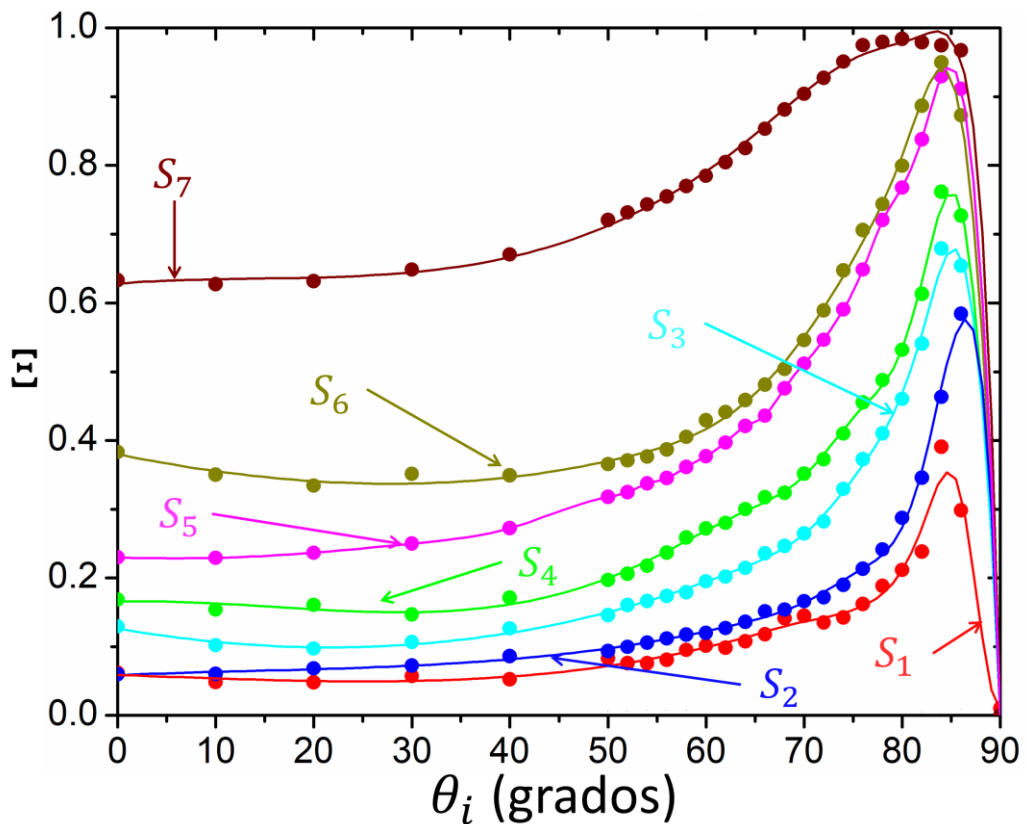
En la Figs. 6.4 y 6.5 se muestran los resultados experimentales correspondientes a la reflectancia y transmitancia coherente (círculos rellenos), respectivamente, para cada una de las muestras,  $S_1, S_2, \dots, S_7$  (diferentes densidades de esporas sobre la superficie), como función del ángulo de incidencia,  $\theta_i$ . Dentro de este par de figuras, 6.4 y 6.5, se adjuntan además las curvas de reflectancia y transmitancia, respectivamente, del sustrato sin la monocapa depositada como curvas de referencia. La densidad superficial de partículas en número depositadas sobre la superficie del portaobjetos se determinó de manera experimental con la ayuda de un microscopio óptico a través de una micrografía correspondiente al área donde se hizo incidir el haz láser para cada muestra  $S_i$ . Donde se obtuvieron los siguientes valores:  $\rho_1 = 1208 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_2 = 1321 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_3 = 2083 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_4 = 5065 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_5 = 6779 \text{ part./mm}^2$ ,  $\rho_6 = 6972 \text{ part./mm}^2$  y  $\rho_7 = 16577 \text{ part./mm}^2$ .



**Fig. 6-5** Datos experimentales de transmitancia coherente para siete muestras de monocapas de esporas de *penicillium digitatum*, con distintas concentraciones  $\rho_i$ , como función del ángulo de incidencia.

Podemos observar que las curvas teóricas reproducen bien, de manera cualitativa, el comportamiento de los datos experimentales obtenidos para la monocapa con esporas de *penicillium digitatum* inmersos en una matriz de aire, para ambos casos, reflectividad y transmitividad, véase las Figs. 6.2 (a-b), 6.4 y 6.5. Como se ha observado en trabajos previos [5], para partículas con alto contraste, la reflectancia, a ángulos de incidencia

rasantes, presenta una caída en intensidad para un rango angular entre  $75^\circ$  y  $88^\circ$ , ver Figs. 6.4 y 6.5, esto para cada una de las muestras ( $S_1, S_2, \dots, S_7$ ). Estos resultados teórico-experimentales indican que la técnica aquí desarrollada es altamente sensible al uso de la reflectancia de luz coherente para ángulos rasantes en comparación con la transmitancia. Sin embargo, podemos observar que la diferencia entre las densidades estimadas experimentalmente, son de 4 a 10 veces mayor, que las densidades que estimaríamos teóricamente con las simulaciones mostradas. Esto se puede deber principalmente a que se consideran partículas de forma esférica en los cálculos teóricos, siendo que su forma es elipsoidal para la mayoría de éstas. Por otro lado, se supuso un índice de refracción de 1.56 para todas las esporas cuando se sabe que hay una distribución de valores alrededor de este valor [116]. Además, en las muestras se formaron agregados de esporas sobre la superficie del sustrato que no se toman en cuenta dentro del modelo teórico, ver Fig. 6.1. Aunado a esto, también, la forma del *spot* del haz incidiendo sobre la monocapa se alarga para ángulos de incidencia rasantes, provocando que se ilumine una región más grande de la monocapa donde la densidad de partículas puede ser distinta a la estimada de las micrografías.



**Fig. 6-6** Curvas experimentales para  $\mathbb{E}$  como función del ángulo de incidencia  $\theta_i$ , con polarización TE para diferentes concentraciones de esporas sobre la superficie de un sustrato.

Finalmente, en la Fig. 6.6 se muestra la extinción experimental, definida como  $\bar{E} = 1 - (R + T)$ , como función del ángulo de incidencia para cada una de las muestras de esporas de hongo ( $S_1, S_2, \dots, S_7$ ). Donde se observa, además, que para muestras de esporas a bajas concentraciones y para ángulos de incidencia rasantes el esparcimiento es bajo y para altas fracciones de cubierta, a ángulos rasantes, la monocapa esparce mucho más. Estos estudios son aún muy preliminares; sin embargo, su objetivo es mostrar su aplicabilidad a inferir fracciones de cubierta en monocapas con partículas altamente esparcidoras de manera indirecta usando el MME, una vez bien caracterizados nuestros sistemas ópticos. Un atractivo de la reflectividad óptica a ángulos rasantes es que permitiría monitorear en tiempo real la desorción de esporas ante un flujo de aire controlado y poder, por ejemplo, inferir la energía de adsorción al sustrato de las partículas.

## 6.2 Monitoreo del proceso de hemólisis

En esta sección se discute brevemente el proceso de hemólisis para una monocapa de eritrocitos depositados sobre la superficie de un portaobjetos aplicando el modelo basado en ADA, ver Cap. 4. Para ello se extiende este modelo como función del tiempo ( $t$ ). Que en realidad, es simplemente tomar en cuenta la fracción de cubierta superficial como una función del tiempo,  $\Theta(t)$ , y tomar en cuenta las variaciones en los índices de refracción del eritrocito,  $n_p$ , y de la matriz,  $n_m$ . Como se sabe el proceso de hemólisis es la muerte de eritrocitos cuando el medio matriz (plasma sanguíneo) que rodea a la célula sufre una reducción considerable en su salinidad por mezclarse con otra sustancia (por ejemplo, agua). En consecuencia, el plasma diluido tiene una menor concentración de sal, lo que provoca que el eritrocito se hinche por ósmosis y posteriormente se reviente. Esto último provoca que la hemoglobina que estaba en el interior de los eritrocitos se mezcle con el plasma diluido [117, 118]. El proceso de hemólisis lo podemos dividir en dos etapas principales: la primera corresponde al aumento en volumen de los eritrocitos lo que produce que la fracción de cubierta superficial se incremente, hasta llegar a un volumen máximo límite (alrededor del 70% del volumen inicial del eritrocito [119, 120]). Durante esta etapa el índice de refracción del interior de los eritrocitos va disminuyendo. En la segunda etapa se produce el rompimiento de éstos que en consecuencia provoca que la fracción de cubierta superficial disminuya hasta llegar a un mínimo o a cero (dependiendo de la sustancia que se mezcle con el plasma). Durante esta etapa el índice de refracción de la matriz va aumentando debido a la incorporación de la hemoglobina. Por su simplicidad en la simulación tomaremos el índice de refracción de la hemoglobina

como real. Esto es válido a una longitud de onda específica. En consecuencia, dentro del modelo teórico se debe tomar en cuenta estas dos etapas. Para la primera etapa se debe considerar el cambio en la fracción de cubierta superficial como función del incremento del área proyectada por la partícula sobre el plano del sustrato, i.e.

$$\Theta = \Theta_0(1 + \delta)^2, \quad (6.1)$$

donde  $\Theta_0$  es la fracción de cubierta superficial inicial de la monocapa, de eritrocitos, sobre el sustrato (el cual depende del área total proyectada por todas las partículas sobre el sustrato) y  $\delta$  corresponde al incremento longitudinal porcentual de la célula sobre los ejes  $x, y$  y  $z$ . Un eritrocito puede alcanzar una longitud máxima del 20% de la longitud original, la cual depende del volumen máximo que puede alcanzar la célula. Además, se debe tomar en cuenta que el índice de refracción de la partícula cambia respecto al incremento de su volumen (que es una mezcla de la matriz con la hemoglobina en el interior de la célula roja), el cual se puede expresar como,

$$n_p = \frac{V_{p_0} n_{Hb} + (\Delta V) n_s}{V_{p_0} + \Delta V}, \quad (6.2)$$

donde  $V_{p_0}$  es el volumen inicial del eritrocito dado por  $V_{p_0} = (4/3)\pi a_0 b_0 c_0$  (tomando una forma elipsoidal para la partícula), siendo  $a_0, b_0$  y  $c_0$  las longitudes de los semiejes del elipsoide (para la simulación se tomó el caso en el que  $a_0 = b_0$ ),  $n_{Hb}$  es el índice de refracción de la hemoglobina dado por las expresiones (5.1) y (5.2) correspondientes a la parte real e imaginaria, respectivamente,  $n_s$  es el índice de refracción de la sustancia (que puede ser agua o suero) que a su vez se mezcla con la hemoglobina y  $\Delta V$  es el incremento que sufre la partícula respecto a su volumen inicial  $V_{p_0}$ , el cual podemos expresar como,

$$\Delta V = [(1 + \delta)^3 - 1]V_{p_0}. \quad (6.3)$$

Por otra parte, dentro de la segunda etapa el proceso se invierte, los eritrocitos llegan a un volumen máximo  $V_{max}$  y posteriormente empiezan a estallar provocando que la fracción de cubierta superficial  $\Theta$  empiece a disminuir hasta alcanzar un mínimo. Para este caso, la disminución en la densidad de partículas se puede expresar como,

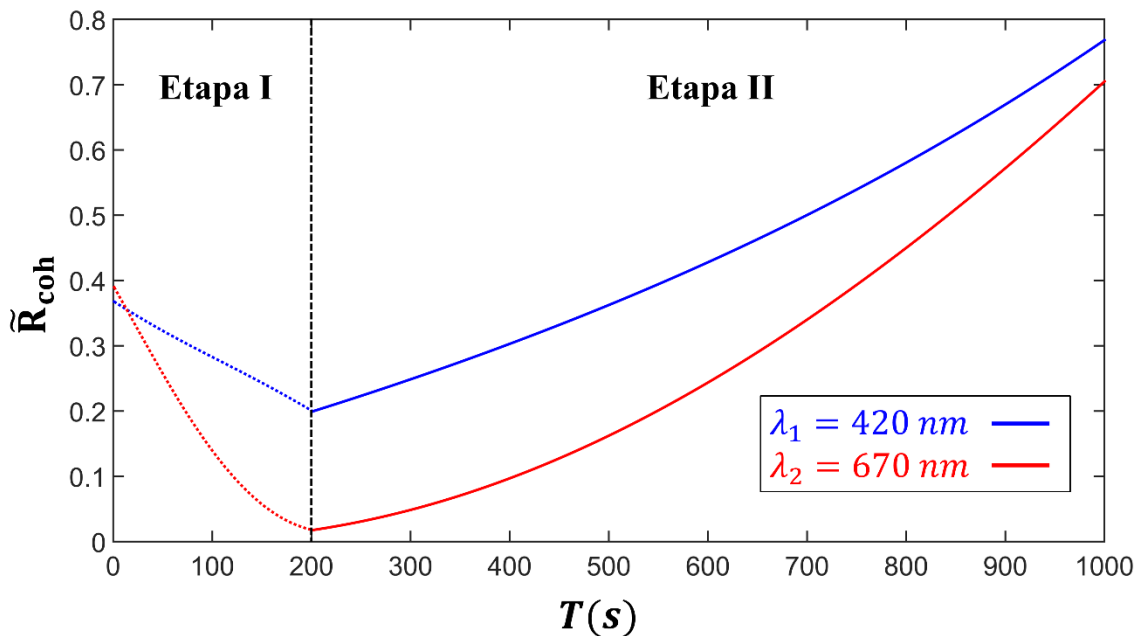
$$\rho = \rho_0(1 - \Delta), \quad (6.4)$$

donde  $\rho_0$  es el número inicial de partículas por unidad de área,  $\Delta$  es el decremento porcentual tal que  $\Delta \in [0,1]$ . Recordemos que  $\Theta$  lo podemos expresar en términos de  $\rho$ , ver Ec. 4.77. Nótese, que cuando  $\Delta \rightarrow 1$  entonces  $\rho \rightarrow 0$ . La variable  $\Delta$  depende del tipo de sustancia que se mezcla con la matriz. Por otra parte, el índice de refracción de la matriz

$n_m$ , se ve afectado cuando cada una de las células estalla, pues la hemoglobina que está en el interior de los eritrocitos se mezcla con la matriz al romperse la membrana de éstos. Recordemos que este caso, la hemoglobina se mezcló con un volumen pequeño de la matriz en el interior de las células,  $(\Delta V)n_S$ . Por lo tanto, el índice de refracción de la matriz lo podemos expresar como,

$$n_m = \frac{[(\gamma + 1)V_{p_0} - V_{max}]n_S + \Delta(V_{max} n_p)}{[(\gamma + 1)V_{p_0} - V_{max}] + V_{max} \Delta}, \quad (6.5)$$

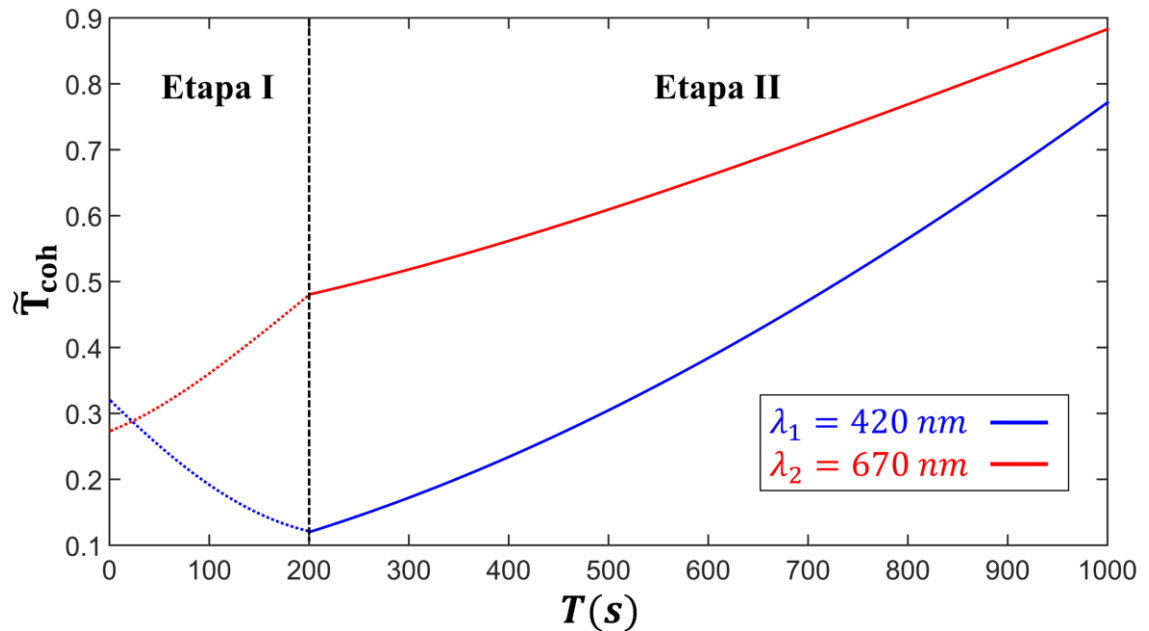
donde  $V_{max}$  es el volumen máximo del eritrocito,  $n_p$  es el índice de refracción de la partícula dado por la Ec. (6.2) y  $\gamma$  es la cantidad de volumen del medio matriz respecto al volumen de las N-partículas que conforman la monocapa, para la simulación se consideró un volumen de cinco veces mayor al volumen total de las partículas, i.e.  $\gamma = 5$ .



**Fig. 6-7** Simulación de la reflectividad relativa durante el proceso de hemólisis para una monocapa de eritrocitos cubriendo un sustrato plano, a incidencia normal, y para eritrocitos de dimensiones  $a_0 = b_0 = 3.5 \mu m$  y  $c_0 = 2.5 \mu m$ . La fracción de cubierta superficial inicial se tomó de,  $\Theta_0 = 38\%$ . La línea punteada corresponde a la primera etapa y la segunda etapa se describe con la línea continua. La simulación se realizó para dos longitudes de onda,  $\lambda_1 = 420 \text{ nm}$  (línea azul) y  $\lambda_2 = 670 \text{ nm}$ .

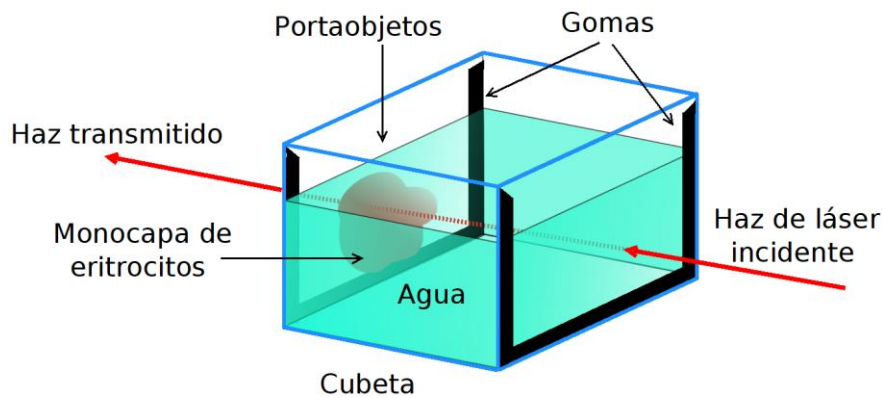
Finalmente, empleando cada una de estas expresiones, (6.1), (6.2), (6.3), (6.4) y (6.5), en las Ecs. (4.74) y (4.75), respectivos a la reflectancia y transmitancia relativa coherente, se obtienen sus respectivas simulaciones, véase las Figs. 6.7 y 6.8, como función de la fracción de cubierta; correspondientes a las dos etapas de hemólisis, con

eritrocitos humanos cubriendo un sustrato de vidrio plano, para dos longitudes de onda,  $\lambda_1 = 420 \text{ nm}$  (color azul) y  $\lambda_2 = 670 \text{ nm}$  (color rojo), a incidencia normal  $\theta_i = 0^\circ$ , tomando una fracción de cubierta superficial inicial de  $\Theta_0 = 38\%$  y un tamaño promedio para los eritrocitos de  $a_0 = b_0 = 3.5 \mu\text{m}$  y  $c_0 = 2.5 \mu\text{m}$  (una forma esferoidal). NOTA: Para la simulación  $\delta$  se tomó lineal al parámetro  $t$ .



**Fig. 6-8** Simulación de la transmitividad relativa durante el proceso de hemólisis para una monocapa de eritrocitos cubriendo un sustrato plano, a incidencia normal, y para eritrocitos de dimensiones  $a_0 = b_0 = 3.5 \mu\text{m}$  y  $c_0 = 2.5 \mu\text{m}$ . La fracción de cubierta superficial inicial se tomó de,  $\Theta_0 = 38\%$ . La línea punteada corresponde a la primera etapa y la segunda etapa se describe con la línea continua. La simulación se realizó para dos longitudes de onda,  $\lambda_1 = 420 \text{ nm}$  (línea azul) y  $\lambda_2 = 670 \text{ nm}$ .

Para la parte experimental se usaron tres muestras de monocapas con eritrocitos humanos obtenidas de tres individuos, uno de ellos diagnosticado con diabetes. Denotamos a estas monocapas como  $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ , siendo  $M_3$  del voluntario con diabetes. El procedimiento realizado para la fabricación de estas monocapas fue similar al descrito en la Sec. 5.1; salvo que se usó, en este caso, una cubeta con un espesor de  $1 \text{ mm}$  para agregar el agua tridestilada e iniciar así el proceso de hemólisis sobre la monocapa depositada sobre una de las paredes de la cubeta, véase la Fig. 6.9. (La figura no está a escala).



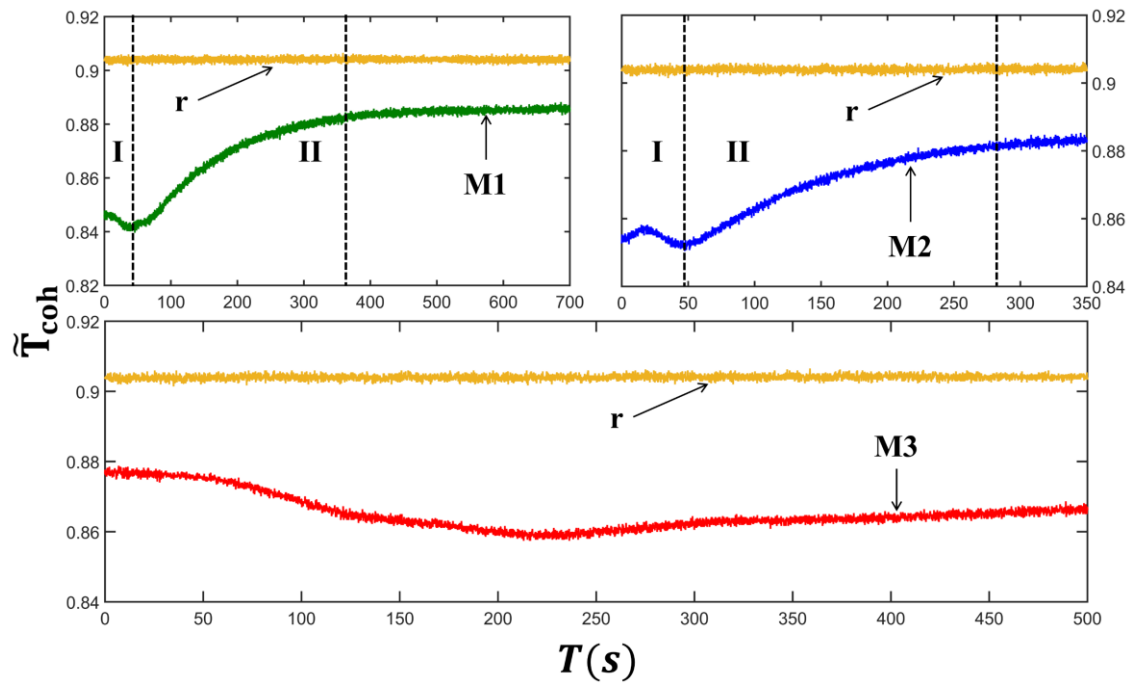
**Fig. 6-9** Arreglo experimental para monitorear el proceso de hemólisis en una monocapa de eritrocitos inmersas en agua tridestilada, a través de la transmitancia relativa.

Usando el arreglo experimental similar al mostrado en la Fig. 5.7, se procedió a monitorear la transmitancia relativa para cada una de las muestras. Donde se usó un diodo láser de  $420\text{ nm}$ , un goniómetro *Thorlabs* para ajustar el ángulo de incidencia del haz a  $\theta_i = 0^\circ$ , en el cual se colocó la cubeta con la monocapa de eritrocitos, ver Fig. 6.9. La intensidad del haz transmitido, a incidencia normal, se midió con un potenciómetro *Thorlabs* PM320E, tomando mediciones cada  $0.1\text{ s}$ , esto nos permitió monitorear el proceso de hemólisis de las tres muestras como función del tiempo. En la Fig. 6.10 se muestran las curvas experimentales de transmitancia relativa para cada una de las muestras donde en las dos primeras,  $M_1$  y  $M_2$ , podemos observar el proceso de hinchamiento en los eritrocitos correspondiente a la etapa I, donde constatamos que el modelo predice una caída en la transmitividad para esa longitud de onda ( $420\text{ nm}$ ), ver Fig. 6.8. Dentro de la segunda etapa observamos que la transmitividad tiene un aumento que corresponde a la ruptura de éstos, teóricamente el modelo predice esta subida, ver Fig. 6.8. Por otra parte, se midió la transmitancia del agua tridestilada (curva de referencia-r), la cual se mantiene constante con una intensidad del 92%, véase la Fig. 6.10, en cada una de las muestras. De hecho, podemos observar que más allá de la etapa II la transmitancia se mantiene constante para las muestras  $M_1$  y  $M_2$ , y nunca llega a tocar a la curva de referencia. Esto quiere decir que quedan residuos depositados sobre la superficie plana del sustrato, podríamos suponer que son las membranas que envuelven a la hemoglobina en los eritrocitos.

Finalmente, podemos notar que para la muestra 3 la curva de transmitancia no se comporta con lo predicho teóricamente en la curva de transmitancia de la Fig. 6.8 ( $420\text{ nm}$ ), esto puede deber a otros factores que intervienen en el proceso de hemólisis de una persona diabética, como puede ser la forma del eritrocito, el índice de refracción de éste, el índice de refracción de la matriz, etc. El trabajo presentado aquí es muy



prematureo pues faltaría estudiar otros procesos u aplicarlo a otras longitudes de onda, incluyendo medir curvas de reflectividad para compararlas con las curvas obtenidas en la Fig. 6.7. Sin embargo, la idea de esta sección es ilustrar una de las posibles aplicaciones del modelo basado en ADA para el monitoreo de procesos en monocapas con partículas biológicas, en nuestro caso la hemólisis en células rojas. Además de extender este estudio a otro tipo de partículas como: bacterias, hongos, incluso a partículas sintéticas donde el medio matriz se vea comprometido.



**Fig. 6-10** Transmitancias relativas experimentales para tres muestras de monocapas con eritrocitos humanos inmersas en agua.

# 7 CONCLUSIONES GENERALES

En este último capítulo se presentan las conclusiones correspondientes a la parte teórica y experimental presentadas en este trabajo de investigación.

## 7.1 Conclusiones

Dentro de la parte teórica, en este trabajo de investigación se derivó un modelo teórico simple que nos permite calcular la reflexión y transmisión coherente de una superficie parcialmente cubierta por una monocapa de partículas que esparcen luz, con forma arbitraria, grandes y tenues. Las expresiones fueron derivadas usando la llamada Aproximación por Difracción Anómala y tomando el promedio de las ondas reflejadas y transmitidas sobre diferentes posiciones de las partículas. Al realizar el promedio, asumimos que la probabilidad de encontrar cualquier partícula sobre el sustrato, en una posición dada, está uniformemente distribuida sobre un área grande de la superficie del sustrato, e ignoramos las correlaciones entre las posiciones de cualquiera de las partículas. Las expresiones derivadas suponen que las partículas están localizadas al azar sobre un sustrato; sin embargo, todas las partículas son idénticas y están igualmente orientadas. Se podría realizar un promedio adicional sobre la orientación y el tamaño de las partículas para extender estos resultados para monocapas de partículas no esféricas orientadas al azar incluyendo polidispersidad. Las fórmulas teóricas derivadas, i.e. los coeficientes de reflexión y transmisión coherentes, son proporcionales a los coeficientes de reflexión y transmisión del sustrato. Así, dentro del rango de validez de nuestras expresiones se pueden eliminar los efectos producidos por el sustrato simplemente dividiéndolos por el

coeficiente de reflexión o transmisión del sustrato, según sea el caso. La magnitud al cuadrado de las expresiones resultantes se nombraron reflectividad y transmitividad relativa,  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$ , respectivamente.

Usando los coeficientes de reflexión y transmisión se calculó la reflectividad y la transmitividad relativa en monocapas de partículas elípticas con un índice de refracción complejo teniendo una banda de absorción Lorentziana. Se calcularon curvas de reflectividad y transmitividad relativa,  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$ , como función de la longitud de onda y como función del ángulo de incidencia, respectivamente, para monocapas de partículas con formas y orientaciones diferentes. Para las simulaciones numéricas, se supuso que las partículas tenían la misma forma y orientación. Del estudio de estas simulaciones numéricas se concluye lo siguiente:

- Los espectros de reflectividad y transmitividad relativa,  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$ , no son sensibles a la sección transversal de la partícula sobre el plano-xy cuando la luz incide a cero grados,  $\theta_i = 0^\circ$ , esto es manteniendo  $\Theta$  y  $\rho$  constantes. Sin embargo, son muy sensibles a la altura de las partículas.
- En general, el espectro de extinción de una superficie cubierta por una monocapa de partículas absorbentes difiere cualitativamente y en ocasiones de manera importante, del espectro de absorción de la sustancia dentro de las partículas. Esto debido a que el esparcimiento y la absorción como función de la longitud de onda se combinan en la reflectancia y transmitancia coherente de luz.
- A un ángulo de incidencia oblicuo, los espectros de reflectividad y transmitividad relativa,  $\tilde{R}_{coh}$  y  $\tilde{T}_{coh}$ , son sensibles a la forma y orientación de las partículas con sensibilidad similar.
- Las curvas de reflectancia y transmitancia coherente, como función del ángulo de incidencia, son sensibles a la forma y altura de las partículas.
- Las curvas de reflectancia coherente como función de la longitud de onda o como función del ángulo de incidencia, en general, presentan más estructura que las curvas de transmitancia coherente.

Esta última conclusión no es sorprendente ya que la luz reflejada pasa dos veces a través de la monocapa de partículas. Primero en su camino hacia la monocapa cubriendo el sustrato, donde se refleja por este último, para pasar nuevamente por la monocapa. Mientras que la luz transmitida pasa a través de la monocapa de partículas sólo una vez.

Finalmente, los coeficientes derivados aquí para R y T pueden tener diversas aplicaciones en el estudio de propiedades de células biológicas depositadas y cubriendo un sustrato plano, véase el Cap. 6. De hecho, las simulaciones numéricas presentadas en el capítulo 4.5 indican que debería ser posible obtener información sobre el tamaño, la forma, la concentración y los espectros de absorción del medio interior de las células biológicas, a partir de una combinación de mediciones de la reflectancia y la transmitancia de una monocapa con células biológicas. El modelo teórico permite evaluar teóricamente, y con cálculos relativamente simples, la viabilidad de diversas metodologías que se pueden proponer para caracterizar células biológicas.

Dentro de la parte experimental, se obtuvieron espectros de reflectividad y transmitividad relativa, a incidencia normal, así como curvas de la reflectividad y transmitividad, como función del ángulo de incidencia, de una superficie plana cubierta por monocapas desordenadas de partículas grandes y tenues. Para los experimentos se utilizaron dos tipos de partículas: partículas esféricas de poliestireno de  $1.8 \mu\text{m}$  de diámetro y glóbulos rojos humanos.

El modelo teórico basado en ADA se ajusta bastante bien a todos los datos experimentales obtenidos para las superficies cubiertas por una monocapa desordenada de partículas de poliestireno. El modelo de esparcimiento múltiple (MME) que describe muy bien el esparcimiento de luz en monocapas altamente esparcidoras independientemente del ángulo de incidencia, ver Ref. [5], no pudo reproducir correctamente la forma de los espectros de reflectividad a incidencia normal para las monocapas de poliestireno. Esto último, recordemos que el modelo basado en ADA toma en cuenta que la luz reflejada pasa dos veces a través de la monocapa de partículas. El modelo basado en ADA reprodujo bastante bien las curvas experimentales de reflectividad y transmitividad como función del ángulo de incidencia para monocapas de poliestireno hasta ángulos de incidencia de  $\theta_i = 80^\circ$ , lo cual es bastante inesperado ya que la aproximación detrás de este modelo se limita a ángulos de incidencia bajos.

Para el caso de los espectros relativos de reflectividad/transmitividad de muestras con monocapas de glóbulos rojos, el modelo basado en ADA, reprodujo las curvas experimentales con bastante precisión, esto suponiendo que las partículas tenían forma esferoidal. Se demostró que los espectros para una monocapa de glóbulos rojos difieren notablemente de los espectros de una solución hídrica homogénea de hemoglobina y de una superficie cubierta por una multicapa desordenada de glóbulos rojos. Para las curvas angulares de la reflectividad/transmitividad de las muestras con monocapas de glóbulos

rojos, el modelo basado en ADA se ajustó bien a las curvas experimentales de reflectividad y transmitividad hasta ángulos de incidencia de  $50^\circ$ , que es en realidad el comportamiento esperado. Como se mencionó previamente, el modelo basado en ADA fue desarrollado para pequeños y moderados ángulos de incidencia, véase el capítulo 4.

A pesar de que el modelo basado en ADA se ajusta bastante bien a las curvas experimentales de reflectividad y transmitividad para las muestras con monocapas de glóbulos rojos, podemos observar algunas diferencias. Además de la naturaleza aproximada inherente del modelo basado en ADA, las diferencias observadas pueden deberse a otras tres causas posibles: i) La forma real de un eritrocito no es esférica. ii) Algunos de los glóbulos rojos pudieron haberse reventado durante la fabricación de las muestras, de modo que se mezcló algo de hemoglobina con el plasma sanguíneo que rodea a los eritrocitos restantes cambiando así el índice de refracción de la matriz, iii) La fracción de cubierta de superficie,  $\Theta$ , pudo haber cambiado con el tiempo, ya que muchos eritrocitos pueden separarse del sustrato. Aun así, los espectros experimentales se reproducen bastante bien con el modelo basado en ADA.

De manera general creemos que los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el modelo basado en ADA desarrollado en el Cap. 4 puede de hecho ser usado para predecir cualitativa y en cierto grado cuantitativamente la reflectividad y transmitividad óptica de una superficie cubierta por partículas grandes y tenues. Por lo tanto, el modelo basado en ADA es una nueva herramienta óptica útil que puede utilizarse en muchas aplicaciones interesantes, como el monitoreo de procesos físicos, químicos o biológicos sobre partículas grandes y tenues depositadas sobre una superficie plana. Además, cada uno de los montajes experimentales descritos en las secciones 5.2 y 5.3 son arreglos relativamente sencillos y simples de manera que su montaje es altamente viable y factible de reproducirlo en cualquier otra parte del mundo para corroborar o llevar a cabo nuevas mediciones experimentales y extender el modelo basado en ADA en otro tipo de partículas.

Finalmente, se ilustraron dos aplicaciones de la reflectividad y transmitividad de luz de superficies parcialmente cubiertas por células biológicas. Se demostró que la reflectividad a ángulos rasantes es una herramienta simple y muy sensible a la fracción de cubierta de las células (esporas de hongo) y que es posible monitorear en tiempo real la disminución del número de células absorbidas de manera efectiva y simple. También se mostró la posibilidad de monitorear el proceso de hemólisis en una monocapa de eritrocitos y se encontró que es posible simular este proceso de manera cualitativa, en

función del tiempo, usando el modelo basado en ADA observado dos etapas, el aumento de tamaño de los eritrocitos por absorción del agua y la desintegración de éstos.

## 8 REFERENCIAS

- [1] A. García-Valenzuela, E. Haro-Poniatowski, J. Toudert y R. Serna, «Evolution of the optical reflectivity of a monolayer of nanoparticles during its growth on a dielectric thin film,» *Appl. Phys. A*, vol. 110, nº 4, pp. 757-764, 2013.
- [2] M. C. Peña-Gomar, M. L. González-González, A. García-Valenzuela, J. Antó-Roca y E. Pérez, «Monitoring particle adsorption by use of laser reflectometry near the critical angle,» *Appl. Opt.*, vol. 43, nº 32, pp. 5963-5970, 2004.
- [3] M. C. Peña-Gomar, F. Castillo, A. García-Valenzuela, R. G. Barrera y E. Pérez, «Coherent optical reflectance from a monolayer of large particles adsorbed on a glass surface,» *Appl. Opt.*, vol. 45, nº 4, pp. 626-632, 2006.
- [4] S. Norimoto, S. Morimine, T. Shimoaka y T. Hasegawa, «Analysis of the surface coverage of a self-assembled monolayer of octadecyl silane on a Si(100) surface by infrared external-reflection spectroscopy,» *Anal. Sci.*, vol. 29, nº 10, pp. 979-984, 2013.
- [5] O. Vázquez-Estrada y A. García-Valenzuela, «Optical reflectivity of a disordered monolayer of highly scattering particles: coherent scattering model versus experiment,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 31, nº 4, pp. 745-754, 2014.
- [6] A. García-Valenzuela, M. C. Peña-Gomar y J. Villatoro, «Sensitivity analysis of angle-sensitive detectors based on a film resonator,» *Opt. Eng.*, vol. 42, nº 4, pp. 1084-1092, 2003.
- [7] M. I. Stockman, «Nanoplasmonics: the physics behind the applications,» *Phys. Today*, vol. 64, nº 2, pp. 39-44, 2011.
- [8] J. Cao, T. Sun y K. T. V. Grattan, «Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensors: a review,» *Sens. Actuators B: Chemical*, vol. 195, pp. 332-351, 2014.
- [9] J. Homola, «Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species,» *Chem. Rev.*, vol. 108, nº 2, pp. 462-493, 2008.

- [10] X. D. Hoa, A. G. Kirk y M. Tabrizian, «Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress,» *Biosens. Bioelectron.*, vol. 23, n° 2, pp. 151-160, 2007.
- [11] W. Cai, H. Hofmeister y T. Rainer, «Surface effect on the size evolution of surface plasmon resonances of Ag and Au nanoparticles dispersed within mesoporous silica,» *Phys. E: : Low-dimensional Systems and Nanostructures*, vol. 11, n° 4, pp. 339-344, 2001.
- [12] M. A. Garcia, «Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications,» *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 44, n° 28, p. 283001, 2011.
- [13] G. Xu, Y. Chen, M. Tazawa y P. Jin, «Influence of dielectric properties of a substrate upon plasmon resonance spectrum of supported Ag nanoparticles,» *Appl. Phys. Lett.*, vol. 88, n° 4, p. 043114, 2006.
- [14] A. V. Kabashin, P. Evans, S. Pastkovsky, W. Hendren, G. A. Wurtz, R. Atkinson, R. Pollard, V. A. Podolskiy y A. V. Zayats, «Plasmonic nanorod metamaterials for biosensing,» *Nat. Mater.*, vol. 8, n° 11, pp. 867-871, 2009.
- [15] T. Okamoto, I. Yamaguchi y T. Kobayashi, «Local plasmon sensor with gold colloid monolayers deposited upon glass substrates,» *Opt. Lett.*, vol. 25, n° 6, pp. 372-374, 2000.
- [16] T. D. P. Allsop, R. Neal, C. Mou, K. Kalli, S. Saied, S. Rehman, D. J. Webb, P. F. Culverhouse, J. L. Sullivan y I. Bennion, «Formation and Characterization of Ultra-Sensitive Surface Plasmon Resonance Sensor Based Upon a Nano-Scale Corrugated Multi-Layered Coated D-Shaped Optical Fiber,» *IEEE J. Quantum Electron.*, vol. 48, n° 3, pp. 394-405, 2012.
- [17] J. P. López-Neira, J. M. Galicia-Hernández, A. Reyes-Coronado, E. Pérez y F. Castillo-Rivera, «Surface Enhanced Raman Scattering of Amino Acids Assisted by Gold Nanoparticles and Gd(3+) Ions,» *J. Phys. Chem. A*, vol. 119, n° 18, pp. 4127-4135, 2015.
- [18] H. Wei, A. Reyes-Coronado, P. Nordlander, J. Aizpurua y H. Xu, «Multipolar Plasmon Resonances in Individual Ag Nanorice,» *ACS Nano*, vol. 4, n° 5, pp. 2649-2654, 2010.
- [19] E. M. Larsson, J. Alegret, M. Käll y D. S. Sutherland, «Sensing Characteristics of NIR Localized Surface Plasmon Resonances in Gold Nanorings for Application as Ultrasensitive Biosensors,» *Nano Lett.*, vol. 7, n° 5, pp. 1256-1263, 2007.
- [20] J. He, A. Karlsson, J. Swartling y S. Andersson-Engels, «Light scattering by multiple red blood cells,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 21, n° 10, pp. 1953-1961, 2004.
- [21] O. Peña-Rodríguez, U. Pal, V. Rodríguez-Iglesias, L. Rodríguez-Fernández y A. Oliver, «Configuring Au and Ag nanorods for sensing applications,» *J. Opt. Soc. Am. B*, vol. 28, n° 4, pp. 714-720, 2011.
- [22] L. He, M. D. Musick, S. R. Nicewarner, F. G. Salinas, S. J. Benkovic, M. J. Natan y C. D. Keating, «Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance for Ultrasensitive Detection of DNA Hybridization,» *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 122, n° 38, pp. 9071-9077, 2000.
- [23] A. García-Valenzuela, E. Gutiérrez-Reyes y R. G. Barrera, «Multiple-scattering model for the coherent reflection and transmission of light from a disordered monolayer of particles,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 29, n° 6, pp. 1161-1179, 2012.
- [24] R. G. Barrera, M. d. Castillo-Mussot, G. Monsivais, P. Villaseñor y L. Mochán, «Optical properties of two-dimensional disordered systems on a substrate,» *Phys. Rev. B*, vol. 43, n° 17, p. 13819, 1991.



- [25] S. L. Jacques, «Optical properties of biological tissues: a review,» *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, n° 11, pp. R37-R61, 2013.
- [26] R. Barer y S. Joseph, «Refractometry of Living Cells: Part I Basic Principles,» *Q. J. Microsc. Sci.*, vol. 95, n° 4, pp. 399-423, 1954.
- [27] H. Beyenal, L. Lewandowski, C. Yakymyshyn, B. Lemley y J. Wehri, «Fiber-optic microsensor to measure backscattered light intensity in biofilms,» *Appl. Opt.*, vol. 39, n° 19, pp. 3408-3412, 2000.
- [28] V. Reipa, J. Almeida y D. Cole, «Long-term of biofilm growth and disinfection using a quartz crystal microbalance and reflectance measurements,» *J. Microbiol. Meth.*, vol. 66, n° 3, pp. 449-459, 2006.
- [29] G. B. Jung, S. W. Nam, S. Choi, G. Lee y H. Park, «Evaluation of antibiotic effects on pseudomonas aeruginosa biofilm using Raman spectroscopy and multivariate analysis,» *Biomed. Opt. Express*, vol. 5, n° 9, pp. 3238-3251, 2014.
- [30] O. Samek, S. Bernatová, J. Ježek, M. Šiler, M. Šerý, V. Krzyzanek, K. Hrubanová, P. Zemánek, V. Holá y F. Ruzicka, «Identification of individual biofilm-forming bacterial cells using Raman tweezers,» *J. Biomed. Opt.*, vol. 20, n° 5, p. 051038, 2015.
- [31] T. Lauvvik y R. Bakke, «Biofilm thickness measurements by variance analysis of optical images,» *J. Microbiol. Meth.*, vol. 20, n° 3, pp. 219-224, 1994.
- [32] J. Plasek y T. Marik, «Determination of undeformable erythrocytes in blood samples using laser light scattering,» *Appl. Opt.*, vol. 21, n° 23, pp. 4335-4338, 1982.
- [33] G. Apostolopoulos, S. Tsinopoulos y E. Dermatas, «Estimation of human red blood cells using light scattering images,» *J. Comput. Methods Sci. Eng.*, vol. 9, n° 1, pp. 19-30, 2009.
- [34] M. A. Yurkin, K. A. Semyanov, P. A. Tarasov, A. V. Chernyshev, A. G. Hoekstra y V. P. Maltsev, «Experimental and theoretical study of light scattering by individual mature red blood cells by use of scanning flow cytometry and a discrete dipole approximation,» *Appl. Opt.*, vol. 44, n° 25, pp. 5249-5256, 2005.
- [35] C. Hsu, G. Chang, E. Li, Y. Lin y J. Chen, «Measurement of intrinsic optical backscattering characteristics of cells using fiber-guided near infrared light,» *Biomed. Eng. Online*, vol. 9, n° 12, pp. 1-16, 2010.
- [36] A. H. Hielscher, J. R. Mourant y I. J. Bigio, «Influence of particle size and concentration on the diffuse backscattering of polarized light from tissue phantoms and biological cell suspensions,» *Appl. Opt.*, vol. 36, n° 1, pp. 125-135, 1997.
- [37] G. J. Streekstra, A. G. Hoekstra, E. Nijhof y R. M. Heethaar, «Light scattering by red blood cells in ektacytometry Fraunhofer versus anomalous diffraction,» *Appl. Opt.*, vol. 32, n° 13, pp. 2266-2272, 1993.
- [38] R. J. Zdrojkowski y N. R. Pisharoty, «Optical transmission and reflection by blood,» *IEEE Biomed. Eng. BME*, vol. 17, n° 2, pp. 122-128, 1970.
- [39] W. P. v. D. Merwe, D. R. Huffman y B. V. Bronk, «Reproducibility and sensitivity of polarized-light scattering for identifying bacterial suspensions,» *Appl. Opt.*, vol. 28, n° 23, pp. 5052-5057, 1989.

- [40] W. S. Bickel y M. E. Stafford, «Polarized light scattering from biological systems: a technique for cell differentiation,» *J. Biol. Phys.*, vol. 9, n° 2, pp. 53-66, 1981.
- [41] B. V. Bronk, S. D. Druger, J. Czege y W. P. v. d. Merwe, «Measuring diameters of rod-shaped bacteria in vivo with polarized light scattering,» *Biophys. J.*, vol. 69, n° 3, pp. 1170-1177, 1995.
- [42] P. Roma, L. Siman, B. Hissa, U. Agero, E. Braga y O. Mesquita, «Profiling of individual human red blood cells under osmotic stress using defocusing microscopy,» *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, n° 9, pp. 0905051-0905054, 2016.
- [43] G. Bosi, «Optical response of a thin film of spherical particles upon a dielectric substrate: retarded multipolar treatment including multiple reflections,» *J. Opt. Soc. Am. B*, vol. 13, n° 8, pp. 1691-1696, 1996.
- [44] V. A. Loiko, V. P. Dick y V. I. Molochko, «Monolayers of discrete scatterers: comparison of the single-scattering and quasicrystalline approximations,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 15, n° 9, pp. 2351-2354, 1998.
- [45] K. M. Hong, «Multiple scattering of electromagnetic waves by a crowded monolayer of spheres: application to migration imaging films,» *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 70, n° 7, pp. 821-826, 1980.
- [46] V. Loiko y A. Konkolovich, «Interference effect of coherent transmittance quenching: theoretical study of optical modulation by surface ferroelectric liquid crystal droplets,» *J. Phys. D: Appl. Phys.*, vol. 33, n° 18, pp. 2201-2210, 2000.
- [47] M. Born y E. Wolf, *Principles of optics*, Oxford: Springer, 1980.
- [48] E. Hecht, *Óptica*, Madrid: Addison Wesley Iberoamericana, 2000.
- [49] H. C. v. d. Hulst, *Light scattering by small particles*, New York: Wiley, 1957.
- [50] L. Tsang y J. A. Kong, *Scattering of electromagnetic waves: Advanced topics*, New York: Wiley, 2001.
- [51] R. G. Barrera y A. García-Valenzuela, «Coherent reflectance in a system of random Mie scatterers and its relation to the effective-medium approach,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 20, n° 2, pp. 296-311, 2003.
- [52] C. F. Bohren y D. R. Huffman, *Absorption and scattering of light by small particles*, New York: Wiley-Interscience, 1983.
- [53] M. Arbab, «The base layer effect on the d.c. conductivity and structure of direct current magnetron sputtered thin films of silver,» *Thin Solid Films*, vol. 381, n° 1-2, pp. 15-21, 2001.
- [54] Z. Yuan, N. Dryden, J. J. Vittal y R. J. Puddephatt, «Chemical vapor deposition of silver,» *Chem. Mater.*, vol. 7, n° 9, pp. 1696-1702, 1995.
- [55] I. C. Estrada-Raygoza, M. Sotelo-Lerma y R. Ramírez-Bon, «Structural and morphological characterization of chemically deposited silver films,» *J. Phys. Chem. Solids*, vol. 67, n° 4, pp. 782-788, 2006.
- [56] M. Green y F. M. Liu, «SERS Substrates Fabricated by Island Lithography: The Silver/Pyridine System,» *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, n° 47, pp. 13015-13021, 2003.
- [57] R. K. Singh y J. Narayan, «Pulsed-laser evaporation technique for deposition of thin films: Physics and theoretical model,» *Phys. Rev. B*, vol. 41, n° 13, pp. 8843-8859, 1990.

- [58] R. Gupta, M. J. Dyer y W. A. Weimer, «Preparation and characterization of surface plasmon resonance tunable gold and silver films,» *J. Appl. Phys.*, vol. 92, n° 9, p. 5264, 2002.
- [59] D. Wang y C. Lin, «Density-dependent optical response of gold nanoparticle monolayers on silicon substrates,» *Opt. Lett.*, vol. 32, n° 15, pp. 2128-2130, 2007.
- [60] H. Xu y M. Käll, «Modeling the optical response of nanoparticle-based surface plasmon resonance sensors,» *Sens. Actuators B: Chemical*, vol. 87, n° 2, pp. 244-249, 2002.
- [61] M. Oćwieja, M. Morga y Z. Adamczyk, «Self-assembled silver nanoparticles monolayers on mica-AFM, SEM, and electrokinetic characteristics,» *J. Nanopart. Res.*, vol. 15, n° 3, pp. 1-14, 2013.
- [62] O. Vázquez-Estrada, G. Morales-Luna, A. Reyes-Coronado, A. Calles-Martínez y A. García-Valenzuela, «Sensitivity of optical reflectance to deposition of plasmonic nanoparticles and limits of detection,» *JNP*, vol. 10, n° 2, p. 026019, 2016.
- [63] P. B. Johnson y R. W. Christy, «Optical constants of the noble metals,» *Phys. Rev. B*, vol. 6, n° 12, p. 4370, 1972.
- [64] R. E. Collin, *Antennas and radiowave propagation*, New York: Mc Graw Hill, 1985.
- [65] V. J. Morris y B. R. Jennings, «Anomalous diffraction approximation to the low-angle scattering from coated spheres: A model for biological cells,» *Biophys. J.*, vol. 17, n° 1, pp. 95-101, 1977.
- [66] S. A. Ackerman y G. L. Stephens, «The absorption of solar radiation by cloud droplets: An application of anomalous diffraction theory,» *J. Atmos. Sci.*, vol. 44, n° 12, pp. 1574-1588, 1987.
- [67] P. Chýlek y J. Klett, «Extinction cross sections of nonspherical particles in the anomalous diffraction approximation,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 8, n° 2, pp. 274-281, 1991.
- [68] D. Cross y P. Latimer, «General solutions for the extinction and absorption efficiencies of arbitrarily oriented cylinders by Anomalous-Diffraction-Methods,» *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 60, n° 7, pp. 904-907, 1970.
- [69] G. Fournier y B. Evans, «Approximation to extinction efficiency for randomly oriented spheroids,» *Appl. Opt.*, vol. 30, n° 15, pp. 2042-2048, 1991.
- [70] G. L. Stephens, «Scattering of planewaves by soft obstacles: anomalous diffraction theory for circular cylinders,» *Appl. Opt.*, vol. 23, n° 6, pp. 954-959, 1984.
- [71] W. A. Farone y M. J. Robinson, «The range of validity of the anomalous diffraction approximation to electromagnetic scattering by a sphere,» *Appl. Opt.*, vol. 7, n° 4, pp. 643-645, 1968.
- [72] G. H. Meeten, «Refraction by spherical particles in the intermediate scattering region,» *Opt. Commun.*, vol. 134, n° 1-6, pp. 233-240, 1997.
- [73] P. Yang, Z. Zhang, B. A. Baum, H. Huang y Y. Hu, «A new look at anomalous diffraction theory (ADT) Algorithm in cumulative projected area distribution domain and modified ADT,» *J. Quant. Spectrosc. RA*, vol. 89, n° 1-4, pp. 421-442, 2004.
- [74] P. Chýlek y J. Li, «Light scattering by small particles in an intermediate region,» *Opt. Commun.*, vol. 117, n° 5-6, pp. 389-394, 1995.

- [75] J. Klett y R. Sutherland, «Approximate methods for modeling the scattering properties of nonspherical particles: evaluation of the Wentzel-Kramers-Brillouin method,» *Appl. Opt.*, vol. 31, n° 3, pp. 373-86, 1992.
- [76] Y. Liu, W. P. Arnott y J. Hallet, «Anomalous diffraction theory for arbitrarily oriented finite circular cylinders and comparison with exact T-matrix results,» *Appl. Opt.*, vol. 37, n° 21, p. 5019–5030, 1998.
- [77] S. Sharma, «On the Validity of the Anomalous Diffraction Approximation,» *J. Mod. Opt.*, vol. 39, n° 11, pp. 2355-2361, 1992.
- [78] G. J. Streekstra, A. G. Hoekstra y R. M. Heethaar, «Anomalous diffraction by arbitrarily oriented ellipsoids: applications in ektacytometry,» *Appl. Opt.*, vol. 33, n° 31, p. 7288–7296, 1994.
- [79] G. H. Meeten, «Small-angle light scattering by spherulites in the anomalous diffraction approximation,» *Opt. Acta*, vol. 29, n° 6, pp. 759-770, 2010.
- [80] A. Maslowska, P. J. Flatau y G. L. Stephens, «On the validity of the anomalous diffraction theory to light scattering by cubes,» *Opt. Commun.*, vol. 107, n° 1-2, pp. 35-40, 1994.
- [81] P. Chýlek y J. D. Klett, «Absorption and scattering of electromagnetic radiation by prismatic columns anomalous diffraction approximation,» *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 8, n° 11, pp. 1713-1720, 1991.
- [82] W. Sun y Q. Fu, «Anomalous diffraction theory for randomly oriented nonspherical particles: a comparison between original and simplified solutions,» *J. Quant. Spectrosc. RA*, vol. 70, n° 4-6, pp. 737-747, 2001.
- [83] G. Arfken, *Mathematical methods for Physicists*, San Diego Ca.: Academic Press, 1985.
- [84] J. Mathews y K. Fink, *Métodos numéricos con MATLAB*, Madrid: Prentice Hall, 2000.
- [85] R. Burden y D. Faires, *Análisis numérico*, México: Thomson-Learning, 2002.
- [86] E. Evans y R. Shalak, *Mechanics and thermodynamics of biomembranes*, Universidad de Michigan: CRC Press, 1980.
- [87] R. Barer y S. Joseph, «Refractometry of living cells part II. The immersion medium,» *Q. J. Microsc Sci.*, vol. 3, n° 33, pp. 1-27, 1955.
- [88] D. J. Griffiths y R. College, *Introduction to electrodynamics*, New Jersey: Prentice Hall, 1999.
- [89] J. D. Jackson, *Classical electrodynamics*, USA: John Wiley & Sons, 1998.
- [90] R. K. Wangsness, *Campos electromagnéticos*, México: Limusa, 2001.
- [91] M. Hammer, D. Schweitzer, B. Michel, E. Thamm y A. Kolb, «Single scattering by red blood cells,» *Appl. Opt.*, vol. 37, n° 31, pp. 7410-7418, 1998.
- [92] S. Lisenko y M. Kugeiko, «Rapid Analysis of Hemoglobins in Whole Blood by a Light Scattering Method,» *J. Appl. Spectrosc.*, vol. 80, n° 3, pp. 419-428, 2013.
- [93] N. G. Sultanova, S. Kasarova y I. Nikolov, «Dispersion properties of optical polymers,» *A. Phys. Pol. A*, vol. 116, n° 4, pp. 585-587, 2009.

- [94] R. D. Birkhoff, L. R. Painter y J. M. H. Jr., «Optical and dielectric functions of liquid glycerol from gas photoionization measurements,» *J. Chem. Phys.*, vol. 69, n° 9, pp. 4185-4188, 1978.
- [95] J. Rheims, J. Köser y T. Wriedt, «Refractive-index measurements in the near-IR using an Abbe refractometer,» *Meas. Sci. Technol.*, vol. 8, n° 6, pp. 601-605, 1997.
- [96] G. S. Adair y M. E. Robinson, «The specific refraction increments of serum-albumin and serum-globulin,» *Biochem. J.*, vol. 24, n° 4, pp. 993-1011, 1930.
- [97] J. Vörös, «The density and refractive index of adsorbing protein layers,» *Biophys. J.*, vol. 87, n° 1, pp. 553-561, 2004.
- [98] D. Tycko, M. Metz, E. Epstein y A. Grinbaum, «Flow-cytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration,» *Appl. Opt.*, vol. 24, n° 9, pp. 1355-1365, 1985.
- [99] M. Friebel y M. Meinke, «Model function to calculate the refractive index of native hemoglobin in the wavelength range of 250-1100 nm dependent on concentration,» *Appl. Opt.*, vol. 45, n° 12, pp. 2838-2842, 2006.
- [100] K. M. McPeak, S. V. Jayanti, S. J. P. Kress, S. Meyer, S. Iotti, A. Rossinelli y D. J. Norris, «Plasmonic films can easily be better: Rules and recipes,» *ACS Photonics*, vol. 2, n° 3, pp. 326-333, 2015.
- [101] SCHOTT glass made of ideas, «SCHOTT glass made of ideas,» SCHOTT, 22 07 2015. [En línea]. Available: <https://refractiveindex.info/download/data/2015/schott-optical-glass-collection-datasheets-july-2015-us.pdf>. [Último acceso: 1 12 2016].
- [102] O. Vázquez-Estrada y A. García-Valenzuela, «Collimated light reflection and transmission of a surface partially covered by large and tenuous particles,» *Appl. Opt.*, vol. 55, n° 31, pp. 8657-8666, 2016.
- [103] R. Barer, «Refractometry and interferometry of living cells,» *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 47, n° 6, pp. 545-556, 1957.
- [104] O. Sydoruk, O. Zhernovaya, V. Tuchin y A. Douplik, «Refractive index of solutions of human hemoglobin from the near-infrared to the ultraviolet range: Kramers-Kronig analysis,» *J. Biomed. Opt.*, vol. 17, n° 11, pp. 1150021-1150026, 2012.
- [105] K. F. Palmer y D. Williams, «Optical properties of water in the near infrared,» *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 64, n° 8, pp. 1107-1110, 1974.
- [106] M. Friebel y M. Meinke, «Determination of the complex refractive index of highly concentrated hemoglobin solutions using transmittance and reflectance measurements,» *J. Biomed. Opt.*, vol. 10, n° 6, p. 064019, 2005.
- [107] D. J. Faber, M. C. G. Aalders, E. G. Mik, B. A. Hooper, M. J. C. v. Gemert y T. G. v. Leeuwen, «Oxygen saturation-dependent absorption and scattering of blood,» *Phys. Rev. Lett.*, vol. 93, n° 2, p. 028102, 2004.
- [108] G. V. G. Baranoski, «Natural Phenomena Simulation Group,» University of Waterloo, 1 1 2000. [En línea]. Available: <http://www.npsg.uwaterloo.ca/data/blood.php>. [Último acceso: 1 12 2016].
- [109] E. Eremina, Y. Eremin y T. Wriedt, «Analysis of light scattering by erythrocyte based on discrete sources method,» *Opt. Commun.*, vol. 244, n° 1-6, pp. 15-23, 2005.

- [110] N. K. Uzunoglu, D. Yova and S. Stamatakos, "Light scattering by pathological and deformed erythrocytes: an integral equation model," vol. 2, no. 3, 1997.
- [111] S. Tsinopoulos y D. Polyzos, «Scattering of he-ne laser light by an average-sized red blood cell,» *Appl. Opt.*, vol. 38, nº 25, pp. 5499-5510, 1999.
- [112] J. Gruber, H. Nascimento, E. Yamauchi, R. Li, C. Esteves, G. Rehder, C. Gaylarde y M. Shirakawa, «A conductive polymer based electronic nose for early detection of *Penicillium digitatum* in post-harvest oranges,» *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*, vol. 33, nº 5, pp. 2766-9, 2013.
- [113] S. C. Morris y P. J. Nicholls, «An evaluation of optical density to estimate fungal spore concentrations in water suspensions,» *Phytopathology*, vol. 68, nº 8, pp. 1240-1242, 1978.
- [114] H. Chen y Y. Chen, «Characterization of intact *Penicillium* spores by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry,» *Rapid Commun Mass Spectrom.*, vol. 19, nº 23, pp. 3564-8, 2005.
- [115] F. Pallottino, C. Costa, F. Antonucci, M. Strano, M. Calandra, S. Solaini y P. Menesatti, «Electronic nose application for determination of *Penicillium digitatum* in Valencia oranges,» *J Sci Food Agric.*, vol. 92, nº 9, pp. 2008-12, 2012.
- [116] F. Barnaba, L. Fiorani, A. Palucci y P. Tarasov, «First characterization of marine particles by laser scanning cytometry flow,» *J. Quant. Spectrosc. Ra.*, vol. 102, nº 1, pp. 11-17, 2006.
- [117] E. Ponder y D. Marsland, «The escape of hemoglobin from the red cell during hemolysis,» *J. Gen. Physiol.*, vol. 19, nº 1, pp. 35-44, 1935.
- [118] W. F. Rosse y J. P. Adams, «The variability of hemolysis in the cold agglutinin syndrome,» *Blood*, vol. 56, nº 3, pp. 409-416, 1980.
- [119] Y. Alonso-Geli, Y. Alonso-Moreno, J. E. Falcón-Diéguez, L. Lucambio-Miró y M. Castro-Piñol, «Caracterización de la fragilidad osmótica de eritrocitos humanos en la anemia drepanocítica,» *Rev. Cubana Quím.*, vol. 27, nº 2, pp. 110-118, 2015.
- [120] R. I. Weed y A. J. Bowdler, «Metabolic dependence of the critical hemolytic volume of human erythrocytes: relationship to osmotic fragility and autohemolysis in hereditary spherocytosis and normal red cells,» *J. Clin. Invest.*, vol. 45, nº 7, pp. 1137-1149, 1966.