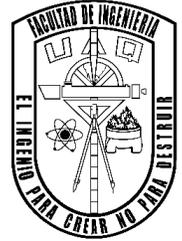




Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería



Síntesis y evaluación de nanopartículas de plata para el desarrollo de un sensor de cloruros inalámbrico

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:

Arruan David Beristain Valdez

Dirigido por:

Dra. Janet Ledesma García

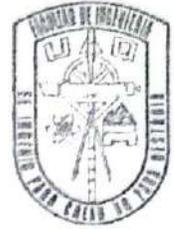
Codirector:

Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando

Centro Universitario
Querétaro, QRO.
México
Marzo 2022



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería



Síntesis y evaluación de nanopartículas de plata para el desarrollo de un sensor de cloruros inalámbrico

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:

Arruan David Beristain Valadez

Dirigido por:

Dra. Janet Ledesma García

Codirector:

Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando

SINODALES

Dra. Janet Ledesma García
Presidente

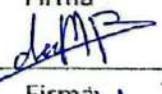
Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando
Secretario

Dra. Minerva Guerra Balcázar
Vocal

Dr. José Alberto Rodríguez Morales
Suplente


Firma

Ricardo Antonio Escalona Villalpando
Firma


Firma


Firma

Centro Universitario
Querétaro, QRO.
México
Marzo 2022

Dedicatoria

A mis padres, que me han educado y me han apoyado en todas mis decisiones, en los momentos buenos y malos, y que me han brindado todo lo imaginable. Siempre me han inculcado los valores que hoy me definen como persona y que me han ayudado en toda mi vida, tanto personal como académica y profesional.

A mis hermanos, con quienes he pasado momentos inolvidables, me han animado y apoyado cuando los he necesitado y de quienes también he aprendido lecciones de la vida, cada uno a su manera.

Agradecimientos

Al Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando por su constante apoyo, paciencia, enseñanza y consejo a lo largo del desarrollo del proyecto, por siempre estar presente y al pendiente de lo que necesité y por motivarme siempre a mejorar en todos los aspectos, además de todos los momentos compartidos en el laboratorio.

A la Dra. Janet Ledesma García, por haberme presentado esta oportunidad de proyecto y por su apoyo en toda su duración.

A todos mis compañeros de laboratorio y de clase, por todos los momentos que compartimos y las veces que nos apoyamos a lo largo de estos años.

Al Dr. Sergio Miguel Durón Torres por el amable recibimiento en el laboratorio de Electroquímica de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, proveyendo el equipo y los materiales, que fueron de vital importancia a lo largo de un mes de estancia en la ciudad de Zacatecas.

Al Dr. José Roberto Espinosa Lumbreras, por sus enseñanzas, su paciencia y el tiempo que me dedicó durante mi estancia en Zacatecas.

A Martín Josan Badillo Vázquez por su trabajo, su apoyo y el valioso tiempo prestado también durante mi estancia en Zacatecas.

Al Laboratorio Nacional de Micro y Nanofluídica por recibirme y apoyarme con todo el equipo y material necesario para la realización de esta investigación.

A la Facultad de Ingeniería y la carrera de Ingeniería en Nanotecnología por la educación que me brindaron, y por todo el material, espacios y tiempo que pusieron a nuestra disposición no sólo para este proyecto sino a lo largo de toda la carrera.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y toda su comunidad por brindarme una formación académica y profesional a lo largo de los últimos años, y por todas las experiencias que pasé no sólo entre sus muros sino también a la distancia.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por su apoyo a través del proyecto "Generación de Bioenergía Corporal y su Aprovechamiento en Biosensores Autónomos: Sudor Humano" - 845132 aprobado en la convocatoria de Ciencia de Frontera 2019.

Resumen

En este trabajo, se llevó a cabo la evaluación de diferentes tipos de nanopartículas (NPs) de plata con el propósito de aplicarlas en un sensor de cloruros inalámbrico orientado a su futura aplicación para la detección de fibrosis quística a partir de muestras de sudor. Las NPs de Ag utilizadas se obtuvieron por diferentes medios: una tinta comercial, síntesis química, y mediante el método de electrodeposición. Se colocaron estas NPs sobre diferentes electrodos de papel de carbón toray y se modificaron con cloruro férrico para la formación de una membrana sólida externa de AgCl. Para evaluar estos electrodos se realizaron pruebas de potencial a circuito abierto (OCP) en diferentes configuraciones: primero con uno de estos electrodos modificados (trabajo) contra un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl, ambos sumergidos en buffer de fosfatos (PBS) de pH 5.6 (0.1 M) en agitación, realizando adiciones de iones cloruro a este medio; después con una celda de electrodos modificados, uno descubierto (trabajo) y el segundo en un gel de agar de concentración 1 M de KCl, por el mismo método de adiciones en agitación, para posteriormente ser evaluados únicamente con gotas de concentración conocida. La respuesta en todos los casos fue de descenso en el potencial de manera logarítmica a medida en que se aumentaba la concentración, acorde a la ecuación de Nernst. Posteriormente, se acoplaron las celdas de electrodos a un sistema electrónico que hace uso de un MOSFET como elemento de amplificación del potencial medido a circuito abierto por la celda. Además, la implementación de una tarjeta ESP32 permitió crear un dispositivo independiente de potenciómetros para suministrar y medir potenciales, para después ser procesados y otorgar resultados en unidades de concentración a partir de los resultados de la curva de calibración.

Abstract

In this work different types of silver nanoparticles (NPs) were evaluated with the purpose of applying them as a wireless chloride sensor oriented towards its future application for the detection of cystic fibrosis from sweat samples. The Ag NPs were obtained per various sources: a commercial ink, through chemical synthesis, and through electrodeposition. These NPs were deposited on different toray carbon paper electrodes and were further modified with ferric chloride in order to form a solid external membrane of AgCl. To evaluate these electrodes, open circuit potential (OCP) experiments were made in different configurations: firstly, with one of these modified electrodes (working) versus a commercial Ag/AgCl reference electrode, both submerged in a phosphate buffer solution (PBS) at pH 5.6 with stirring, making chloride additions into this medium; next, with a cell made of modified electrodes, one uncovered (working) and the second one in an agar gel with KCl concentration of 1 M, tested with the same additions method, and followed by its evaluation only with drops of a known concentration. The response in all cases was a descent in the potential measured following a logarithmic behavior with increasing concentrations, as established by the Nernst equation. Then, the cells were coupled into an electronic system which makes use of a MOSFET as an amplifier of the measured open circuit potential of the cell. Furthermore, the implementation of an ESP32 card enabled the creation of a device independent of potentiostats to supply and measure voltages, subsequently processing them and delivering results in concentration units based on the results of the calibration curve.

Contenido

I. Introducción	1
II. Antecedentes	2
II.1 Fibrosis quística.....	2
II.1.1 Efectos principales y sus consecuencias.	3
II.1.2 Detección y su influencia en la expectativa de vida	4
II.1.2.1 Prueba de sudor	5
II.2 Sensores electroquímicos	6
II.2.1 Sensores potenciométricos	7
II.2.2 Sensores basados en transistores de efecto de campo	8
II.3 Nanopartículas metálicas.....	11
II.3.1 Métodos de obtención	12
II.3.1.1 Electrodeposición de nanopartículas	12
II.3.1.2 Síntesis química de nanopartículas	14
II.4 Justificación.....	14
II.5 Planteamiento del problema	16
II.6 Hipótesis.....	16
II.7 Objetivo general.....	16
II.8 Objetivos particulares	16
III. Experimental	17
III.1 Síntesis de nanopartículas de plata por vía química	17
III.2 Electrodeposición de nanopartículas de plata	20
III.3 Caracterización de nanopartículas.....	22
III.3.1 Caracterización electroquímica.....	22

III.3.1.1 Resultados	22
III.3.2 Fluorescencia de rayos X (XRF).....	25
III.3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	26
III.3.4 Microscopía electrónica de barrido de transmisión (STEM).....	27
III.3.5 Difracción de electrones	28
III.3.6 Difracción de rayos X (XRD).....	29
III.3.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	30
III.4 Preparación de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros	31
III.4.1 Tinta comercial de nanopartículas de plata	31
III.4.2 Nanopartículas de plata sintetizadas	32
III.4.3 Electrodeposición de nanopartículas de plata	32
III.5 Preparación de los arreglos con los electrodos modificados	32
III.6 Pruebas de potencial a circuito abierto	34
III.6.1 Nanopartículas de plata comerciales	34
III.6.2 Nanopartículas de plata sintetizadas	42
III.6.3 Electrodeposiciones de plata.....	46
III.7 Implementación del sistema electrónico.....	47
IV. Conclusiones y perspectivas	64
V. Referencias	66
Anexo	72

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama esquemático de la reacción ocurrida en la superficie de un ISE de Ag/AgCl, tomado de (Zhang et al. 2020).....	8
Figura 2. Esquema de funcionamiento de sensores químicos y biológicos FET, tomado de (Kaisti 2017).	9
Figura 3. (a) Configuración típica de un sistema potenciométrico basado en EGFET. (b) Gráfica de corriente entre drenador y surtidor (<i>IDS</i>) contra el voltaje suministrado a la referencia (<i>VRef</i>), en un medio a diferente concentración (<i>c</i>) de un analito. Tomado de (Pullano et al. 2018).	10
Figura 4. Representación esquemática del proceso de electrodeposición, tomada de (Gurrappa y Binder 2008).....	13
Figura 5. Etapas de coloración de la reacción en la síntesis de nanopartículas de plata. En la parte superior (de izquierda a derecha) antes, durante y después de la adición del nitrato de plata. En la parte inferior, aspecto a los (izquierda) 50 segundos, (centro) 3 minutos 40 segundos y (derecha) 5 minutos 30 segundos.	18
Figura 6. Vaso de precipitados con el producto final de la reacción y acetona.	19
Figura 7. Tubo Falcon después de cada ciclo de lavado (centrifugado).	19
Figura 8. Nanopartículas de plata obtenidas por síntesis química, extraídas en acetona y depositadas en el cristizador.	20
Figura 9. Nanopartículas de plata obtenidas de la síntesis química, secas en el cristizador (izquierda) y recolectadas en un tubo Eppendorf (derecha).	20
Figura 10. Electrodo de toray, aislados con parafina a excepción del extremo descubierto, a la izquierda electrodos para el electrodeposición y a la derecha el utilizado como contraelectrodo.	21
Figura 11. Disposición de los electrodos, sumergidos en la solución preparada para el electrodeposición.....	21
Figura 12. Acomodo de los electrodos para la técnica de voltamperometría cíclica. Con electrodos: referencia de Ag/AgCl, contraelectrodo de grafito y electrodo de trabajo de toray modificado con nanopartículas de plata.	22

Figura 13. Gráfica de las voltamperometrías realizadas a los electrodos modificados con nanopartículas de plata comerciales. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl.....	23
Figura 14. Gráfica de las voltamperometrías cíclicas realizadas a los electrodos modificados con nanopartículas de plata sintetizadas. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl.....	24
Figura 15. Gráfica de las voltamperometrías cíclicas realizadas a los electrodos modificados por electrodeposición de plata. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl.	25
Figura 16. Resultado de análisis XRF para la tinta comercial de NPs de plata.	26
Figura 17. Análisis XRF de la tinta de NPs de plata sintetizadas.	26
Figura 18. Imágenes de las NPs de plata sintetizadas, obtenidas por TEM.....	27
Figura 19. Imágenes obtenidas de STEM de la muestra de NPs de plata sintetizadas. (a) Imagen de morfología. (b) Imagen con distribución de composición.	27
Figura 20. Análisis de composición obtenido del STEM para la muestra de NPs de plata sintetizadas.	28
Figura 21. Patrón de difracción obtenido de la técnica de difracción de electrones, realizado a las NPs de plata sintetizadas.	29
Figura 22. Patrón de difracción XRD obtenido para las nanopartículas de plata sintetizadas.	29
Figura 23. Imágenes de microscopía SEM de un electrodo modificado por electrodeposición de plata.	30
Figura 24. Análisis EDS de la composición del electrodo modificado por electrodeposición.	31
Figura 25. Electrodo de TCP con la tinta comercial de nanopartículas de plata: fresca y seca. .	31
Figura 26. Electrodo modificado con la tinta de nanopartículas de plata obtenidas por síntesis química.....	32
Figura 27. Electrodo modificado, fijo en la mica plástica, antes (izquierda) y después (centro) de depositar el gel de agar, y con la cubierta epóxica (derecha).	33
Figura 28. Arreglo terminado de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros.	33

Figura 29. Acomodo de los electrodos, con un electrodo modificado con nanopartículas y cloruros como electrodo de trabajo y electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl..... 35

Figura 30. A) Resultados de prueba de potencial a circuito abierto, con un electrodo modificado con NPs de plata comerciales y cloruros, contra electrodo de referencia comercial Ag/AgCl. En buffer de fosfatos (PBS) pH 7.4, sumergido y en agitación. b) Gráfica de potencial medido contra concentración de cloruros, ajustado a una línea de tendencia logarítmica (punteada)..... 36

Figura 31. Gráfica de potencial de celda contra actividad de iones cloruro, para la prueba OCP del electrodo modificado con NPs de Ag y cloruros contra una referencia comercial de Ag/AgCl. .. 37

Figura 32. Conexión del arreglo de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros, para la prueba de adiciones de iones Cl⁻ en agitación con electrodos sumergidos. 37

Figura 33. a) Prueba OCP para un arreglo de electrodos modificados con NPs de plata (electrodo de trabajo desnudo y referencia en gel de agar, 1M de KCl), con adiciones de cloruros de 10 en 10Mm, en PBS pH 7.4. b) Gráfica de potencial medido concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (punteada). 38

Figura 34. a) Prueba OCP para un arreglo de electrodos modificados con NPs de plata (electrodo de trabajo desnudo y referencia en gel de agar), con adiciones de cloruros de 10 en 10Mm, en PBS pH 5.6. b) Gráfica de potencial medido concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (punteada). 39

Figura 35. Conexión del arreglo de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros para las pruebas de OCP con gotas..... 40

Figura 36. Resultados de pruebas de OCP con los arreglos fabricados con electrodos modificados con NPs de plata y cloruros. Cada línea de color corresponde a una concentración diferente. Potencial contra referencia fabricada. 41

Figura 37. Gráfica de potencial (contra el electrodo de referencia fabricado) contra la concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (línea punteada)..... 41

Figura 38. Gráfica de potencial contra concentración, obtenida del triplicado de pruebas OCP realizadas con celdas de electrodos modificados con la tinta comercial de NPs de Ag y cloruros. 42

Figura 39. Resultados de las pruebas OCP en agitación agregando concentraciones de cloruros en el medio a pH 5.6, usando un electrodo de trabajo con NPs de Ag y cloruros contra una referencia comercial de Ag/AgCl. a) Gráfica de potencial vs tiempo al hacer las adiciones y b) gráfica de potencial vs concentración de iones Cl^- en el medio, con línea de tendencia (roja punteada). .. 43

Figura 40. Resultados de las pruebas OCP en agitación agregando concentraciones de cloruros en el medio a pH 5.6, usando un arreglo de dos electrodos con NPs de Ag y cloruros (uno en gel de agar 1M de KCl). A) Gráfica de potencial vs tiempo al hacer las adiciones y b) gráfica de potencial vs concentración de iones Cl^- en el medio, con línea de tendencia (roja punteada). 44

Figura 41. Resultados de pruebas OCP para una celda de electrodos con NPs de Ag y cloruros (uno en gel de agar 1M KCl), realizada con gotas de concentración conocida de Cl^- y pH 5.6, por 15 minutos. 45

Figura 42. Gráfica de potencial contra concentración de cloruros, obtenida de los datos de la prueba OCP en la figura anterior. 45

Figura 43. Gráfica de la curva de calibración para las celdas de NP de plata sintetizadas y cloruros. Datos obtenidos del triplicado de pruebas OCP con dichas celdas, con ajuste a una línea de tendencia logarítmica. 46

Figura 44. Resultado de la prueba OCP realizada con un electrodo modificado con electrodeposición de plata y cloruros contra un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl. a) gráfica de potencial contra tiempo y b) gráfica de potencial contra concentración de Cl^- en el medio. 47

Figura 45. Gráfica de la respuesta del ADC de la placa Arduino UNO ante la aplicación de diferentes voltajes de entrada..... 48

Figura 46. Conexión del potenciómetro, el MOSFET y la placa Arduino para las pruebas de respuesta del MOSFET. 49

Figura 47. Resultado de la voltamperometría lineal realizada al MOSFET para obtener la curva característica de su respuesta. 50

Figura 48. Configuración para las pruebas del MOSFET añadiendo la celda de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros..... 50

Figura 49. Resultado de las voltamperometrías lineales obtenidas al agregar la celda, con diferentes concentraciones de cloruros. 51

Figura 50. Configuración para la conexión de la celda al circuito de manera inversa.	52
Figura 51. Voltamperometrías realizadas al MOSFET con diferentes alimentaciones del drenador y cambiando el valor de la resistencia del drenador.	54
Figura 52. Segundo acercamiento a las gráficas de las voltamperometrías, para las configuraciones con resistencia de 100 kΩ a 300 kΩ.	55
Figura 53. Esquemático de la arquitectura electrónica con dos MOSFET, uno para activar la celda y otro para la amplificación de la señal.	56
Figura 54. Interfaz de la aplicación para el sensor, creada en Blynk.	57
Figura 55. Diagrama de flujo del algoritmo para el programa del sensor.	59
Figura 56. Fotografías del sensor terminado. A la izquierda una vista del dispositivo completo, con la ESP32 montada sobre la placa, y a la derecha, una vista de los componentes entre la placa y la tarjeta.	60
Figura 57. Gráfica de potencial entre el drenador y el surtidor contra la concentración, con resultados obtenidos del sensor.	61
Figura 58. Gráfica del cambio de potencial respecto al blanco contra la concentración aplicada al sensor.	61
Figura 59. Misma gráfica de cambio de voltaje contra concentración obtenida del triplicado con el sensor, dividida en regiones de baja (en azul) y de alta concentración (en verde).	62
Figura 60. Gráfica de concentración contra porcentaje de cambio de voltaje respecto al blanco, con la curva del ajuste polinomial de grado 6 (línea roja punteada) y los coeficientes de dicha ecuación (intersección y de B1 a B6 en la tabla).	63
Figura 61. Interfaz de la aplicación, con un resultado obtenido al colocar una gota aplicación 60mM.	64

I. Introducción

Existen diferentes condiciones que se relacionan con la concentración mayor o menor de cloruros en el sudor, una de ellas es la fibrosis quística, la cual es una enfermedad hereditaria caracterizada por una deficiente regulación iónica. Con el propósito de detectarla, existen diferentes procedimientos, entre los que destaca la cuantificación de iones cloruro en el sudor por ser un fluido que se puede obtener de forma no invasiva. No obstante, existen inconvenientes en la realización de estas pruebas como la manipulación y traslado de las muestras, la falta de acceso de laboratorios y el uso de equipos altamente especializados. Por ello, en este trabajo se presenta el desarrollo de un sensor que pueda ser utilizado en un futuro como una prueba desde el punto de cuidado para la cuantificación de cloruros de manera sencilla, para lo cual se utilizaron arreglos de electrodos modificados con nanopartículas de plata (NPs de Ag) y cloruros como transductores potenciométricos, adicionando un sistema electrónico que implementa un transistor de efecto de campo (MOSFET) para la amplificación de la señal, y una tarjeta que permite el procesamiento de los datos de manera independiente para presentar los resultados de manera sencilla.

Este trabajo comienza en su segundo capítulo con una revisión bibliográfica de los diferentes aspectos que sientan las bases para esta investigación. Primero, es necesario entender qué es la fibrosis quística, sus repercusiones, la importancia de su detección temprana en la calidad y expectativa de vida de los pacientes, y se introducen los principales métodos de detección, haciendo especial énfasis en la prueba de cloruros en el sudor. Igualmente, se da una breve explicación de los sensores electroquímicos, poniendo mayor atención en los potenciométricos y en los basados en transistores de efecto de campo (FETs). Dadas las ventajas que pueden proveer las nanopartículas metálicas en este tipo de sensores, se dedica una sección a ellas, donde se mencionan algunas de sus principales propiedades y aplicaciones, y sus métodos de obtención. Habiendo sentado estas bases, se presenta la justificación y el planteamiento del problema de interés de esta investigación, así como la hipótesis y objetivos de esta.

El tercer capítulo se encuentra dedicado a la metodología y resultados obtenidos. Para comenzar, se describe el procedimiento de obtención de las nanopartículas por síntesis química y por

electrodepósito. Entonces, se muestran los resultados de las diferentes técnicas de caracterización realizadas: caracterización electroquímica por voltamperometría cíclica, microscopía electrónica de transmisión, fluorescencia de rayos X, microscopía electrónica de barrido, microscopía electrónica de barrido de transmisión, difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido.

Una vez cubierto esto, se muestra la modificación de los electrodos de papel toray con los tres tipos de NPs de Ag, así como la subsecuente preparación de celdas a partir de ellos. A continuación, se explica la evaluación de los electrodos de diferentes maneras: primero con pruebas de circuito abierto contra un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl, sumergiendo ambos electrodos y realizando adiciones de cloruros al medio para observar la respuesta en el potencial; después, siguiendo el mismo procedimiento pero con las celdas de electrodos modificados; y por último, la evaluación de éstas, pero modificando la configuración del experimento para hacerlo únicamente con gotas de concentración conocida de cloruros. Según los resultados de estos procedimientos, se tomaron las celdas modificadas con NPs de Ag comerciales para su implementación en el sistema electrónico, cuyo diseño se explica en diferentes etapas, englobando la caracterización de la respuesta de los componentes, el diseño de la arquitectura electrónica, la programación del sistema, y su implementación para la obtención de la curva de calibración para, por último, obtener un sensor funcional independiente de potenciostatos.

Tomando en cuenta los resultados descritos, en el cuarto y último capítulo se elaboran las conclusiones del presente trabajo y se incluyen algunas perspectivas de trabajo a futuro.

II. Antecedentes

II.1 Fibrosis quística

La fibrosis quística es una condición médica hereditaria, causada por una mutación en el gen regulador de conductancia transmembranal de fibrosis quística (CFTR, por sus siglas en inglés). En condiciones normales, este gen codifica una proteína que se localiza en la membrana de células del epitelio exocrino, la cual tiene la función de regular el transporte activo de iones,

principalmente cloruros (Fanen y Sermet-Gaudelus 2016). Por tanto, al haber mutaciones en el CFTR se afecta directamente el transporte de iones, teniendo efectos multisistémicos en el organismo.

Además, se trata de la enfermedad autosómica recesiva más común en la población blanca, y la esperanza de vida para quienes la padecen es de alrededor de 40 años en países desarrollados (Castaños et al. 2020). No obstante, la población de diferentes grupos étnicos también se ve afectada, aunque en menor proporción (Feuchtbaum et al. 2012).

II.1.1 Efectos principales y sus consecuencias.

El defecto en la estructura del CFTR impide el correcto transporte de iones, lo cual afecta a diferentes partes del organismo: el tracto gastrointestinal, el sistema reproductivo, el ducto sudoríparo y el sistema respiratorio. Las afecciones a este último son a partir de las cuales se presentan la mayor parte de complicaciones graves de la enfermedad, con un estimado de más del 95% de muertes en pacientes con fibrosis quística atribuidas a infecciones y complicaciones pulmonares (Boucher 2016). Como efecto de un transporte iónico deficiente, en las vías aéreas de quienes padecen la enfermedad se producen secreciones excesivas y muy viscosas de mucosa de composición anormal que las pueden obstruir. Además, la respuesta inmune en esta mucosa es deficiente, por lo que es difícil erradicar agentes patógenos (Fanen y Sermet-Gaudelus 2016), lo cual provoca una mayor susceptibilidad a infecciones. Otra manifestación común de la enfermedad se da en la inflamación pulmonar por la producción desmedida de agentes inflamatorios, adicionada a los bajos niveles de antiinflamatorios, que agrava la enfermedad de pulmón (Rowe, Miller, y Sorscher 2005). Finalmente, a consecuencia del daño por infecciones recurrentes y por inflamación pulmonar, se produce el fallo respiratorio (Chotirmall et al. 2016).

En cuanto al sistema digestivo, el tracto gastrointestinal también se ve afectado por secreciones que lo obstruyen. Esto produce malabsorción de grasas e insuficiencia pancreática, lo cual, aunado al mayor esfuerzo en la respiración, aumenta el riesgo de malnutrición y de problemas de crecimiento (McDonald et al. 2021). En el páncreas también se producen obstrucciones, lo cual provoca fibrosis (de ahí el nombre de fibrosis quística) y reemplazo graso. Para el sistema

reproductivo, en los varones, se presenta obstrucción glandular de los conductos deferentes, por lo que hay infertilidad (Rowe et al. 2005).

Por su parte, el funcionamiento del ducto sudoríparo se ve afectado debido a la ausencia del CFTR en la membrana apical ductal. Esto provoca que la absorción de iones cloruro (Cl^-) sea deficiente, y la mayor presencia de este ion repercute también en la absorción de Na^+ . Al no poder reabsorber de manera correcta los iones, se alteran algunas funciones fisiológicas, como el mantenimiento de la presión arterial ante situaciones de estrés térmico (a partir de las sales retenidas) y regulación térmica (Boucher 2016).

II.1.2 Detección y su influencia en la expectativa de vida

Dados los efectos crónicos que tiene la fibrosis quística en la salud de los pacientes, es de gran importancia una detección temprana. Actualmente en algunos países se cuenta con programas de pruebas para recién nacidos, puesto que un diagnóstico temprano puede ser significativo para otorgar un tratamiento más completo con el fin de retardar las etapas de desarrollo de la enfermedad el mayor tiempo posible, reducir las hospitalizaciones y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Como un ejemplo de la efectividad de este tipo de programas, en Estados Unidos, la esperanza de vida de las personas con fibrosis quística se ha elevado de 27 años en 1985 a 38 en 2010, a raíz de la implementación de pruebas en recién nacidos (Castaños et al. 2020). En Europa, los programas de cribado y posterior diagnóstico para recién nacidos también han incrementado, y se han detectado beneficios como son menores deficiencias nutricionales, mejor desarrollo fisiológico, menor agobio por el cuidado y una menor mortalidad en edades tempranas (Castellani et al. 2009).

Por lo anterior, los programas de detección de la fibrosis quística en etapas tempranas de la vida juegan un papel importante, y para ello se han desarrollado metodologías basadas en diferentes pruebas. A pesar de que no existe un consenso en cuanto a las mismas, se han planteado algunas estrategias principales que involucran la cuantificación de diferentes marcadores de la enfermedad (Castaños et al. 2020; Castellani et al. 2009; Farrell et al. 2008). En gran parte de las metodologías creadas, en un principio se realiza una prueba de detección de tripsina inmunorreactiva (IRT, por sus siglas en inglés), la cual se encuentra en cantidades elevadas en la

sangre de quienes padecen fibrosis quística. En caso de encontrar altas cantidades de IRT, se puede seguir una de dos rutas: la primera consiste en realizar una segunda cuantificación de IRT (conocido entonces como análisis IRT/IRT); la segunda se basa en un análisis de ADN para detectar la mutación del gen del CFTR (o bien análisis IRT/DNA). En caso de que esta segunda prueba sugiera la presencia de la enfermedad, el último paso en su mayoría es realizar una prueba de sudor, en la cual se cuantifica la concentración de cloruros (y en ocasiones también de sodio) en este fluido. Alternativamente, si existe algún historial de fibrosis quística en la familia o síntomas que sugieran la enfermedad (ya sea en las primeras etapas de vida o en individuos con mayor desarrollo), pueden omitirse algunas pruebas, pero se requiere una confirmación, siendo la prueba de cloruros en sudor la más común (Farrell et al. 2017).

II.1.2.1 Prueba de sudor

Para la realización de la prueba de sudor se recomienda el seguimiento de guías aprobadas y publicadas en protocolos internacionales establecidos, donde se especifican detalles del procedimiento de estimulación y recolección de sudor, y de la cuantificación de cloruros en el sudor. A partir de la iontoforesis de nitrato de pilocarpina se realiza la estimulación de las glándulas sudoríparas de un área de la piel, y posteriormente se recolecta utilizando bien una gaza o papel filtro (para lo que se requiere determinar la masa obtenida para su posterior separación y elución), o bien un tubo de microboro. Por último, la cuantificación de cloruros en el sudor se puede realizar por diferentes técnicas, como la titulación coulométrica o el método de Schales y Schales (LeGrys et al. 2007, 2009).

Como fue mencionado con anterioridad, la concentración de iones cloruro en el sudor de las personas que padecen fibrosis quística difiere de la normal. Los resultados de pruebas de sudor indican que la concentración normal de cloruros en el sudor se encuentra en un rango < 30 mM, mientras que los casos de pacientes de fibrosis quística presentan concentraciones más altas. De la prueba de sudor, un resultado mayor a 60 mM se considera una confirmación a la enfermedad, con casos intermedios (cercaos al límite) de entre 30 y 60 mM (Farrell et al. 2017). En caso de presentarse un caso positivo o cercano al límite se realizan repeticiones de estas pruebas para corroborar el resultado (De Boeck 2006).

11.2 Sensores electroquímicos

En primer lugar, un sensor se puede definir como un instrumento que se encarga de detectar magnitudes físicas o cambios en las condiciones de su entorno y transmitirlos de manera adecuada. Estos instrumentos consisten en dos partes principales: un receptor y un transductor. En un sensor químico, el receptor suele ser un elemento con la propiedad de detectar una molécula o un ion en su entorno, el cual es el analito: la sustancia de estudio. El segundo de los elementos, el transductor, cumple la tarea de traducir la señal de detección a un tipo de señal procesable. Por definición, un transductor electroquímico es un dispositivo que convierte la información química, proveniente del receptor, en una señal eléctrica medible, por ejemplo, por medio de su corriente, voltaje, carga o impedancia (Bandodkar & Wang, 2014).

Específicamente para los sensores electroquímicos, existen tres divisiones de grupos principales según su funcionamiento. El primero de estos tipos es el de los potenciométricos, que generalmente se basan en electrodos selectivos de iones; el segundo es el de los transistores de efecto de campo sensibles a iones; el tercero y último grupo es el de los sensores amperométricos, que suelen tener sus electrodos modificados químicamente (Alegret et al., 2004).

Los sensores electroquímicos representan una oportunidad para sustituir los complejos análisis en laboratorios, ya que no requieren equipos de medida difíciles de utilizar, únicamente requieren de equipo relativamente sencillo, tal como potencióstatos. Además, la naturaleza eléctrica de la señal obtenida hace más sencillo su procesamiento electrónico, y los dispositivos son a su vez miniaturizables. De esta manera se puede trabajar con volúmenes de muestras más pequeños, con la ventaja de que suelen tener límites de detección adecuados y el menor costo asociado a su fabricación.

Este tipo de sensores son utilizados en diversas áreas, tales como la industria, monitoreo ambiental o el monitoreo médico. Su aplicación cuenta con un enfoque en la miniaturización de sensores (por ejemplo, para la medición en sistemas biológicos), la creación de configuraciones de varios sensores, el desarrollo de materiales con propiedades mejoradas para aumentar su sensibilidad, estabilidad y selectividad, entre otros (Guth et al., 2009).

II.2.1 Sensores potenciométricos

Los sensores electroquímicos que basan su funcionamiento en el cambio de potencial entre dos electrodos dependiendo de la cantidad del analito en la muestra de interés se conocen como sensores potenciométricos. Este tipo de mediciones se realizan a circuito abierto, es decir, cuando no existe flujo de corriente (Cosio, Scampicchio, y Benedetti 2012). Los electrodos que se requieren para este tipo de sensor son el electrodo de referencia y un electrodo selectivo de iones (ISE).

El electrodo de referencia es aquél que mantiene un potencial estable respecto al medio de prueba, por lo cual se toma como punto de comparación respecto al electrodo de trabajo. Esto se puede lograr cuidando que el electrodo de referencia se encuentre en un medio de composición constante. Por otro lado, el electrodo de trabajo utilizado para las pruebas de sensores potenciométricos es el que se encuentra expuesto al medio de prueba. Con la finalidad de que este electrodo sea especialmente sensible a alguna especie se utilizan electrodos selectivos de iones, los cuales hacen uso de membranas o películas delgadas como elementos de reconocimiento (Buck y Lindner 1994).

Para relacionar el voltaje medido por este tipo de sistema con la concentración de las especies involucradas en una reacción de óxido-reducción en una celda, se utiliza la ecuación de Nernst, la cual tiene la forma:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_O}{a_R}$$

Donde E es el potencial medido, E° es el potencial estándar de la celda, R es la constante de los gases ($8.317 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T es la temperatura en grados Kelvin, n es el número de electrones, mientras que a_O y a_R son las actividades de las especies oxidada y reducida respectivamente (Westbroek 2005). Cabe destacar que las actividades de las especies se relacionan a su vez con la concentración (C) a partir de un coeficiente de actividad (γ), sin embargo, no son constantes y varían para cada ion en diferentes medios. La expresión que marca esta relación es la siguiente:

$$a = \gamma C$$

Para el caso de la cuantificación de iones cloruro, uno de los electrodos selectivos más utilizados es el de Ag/AgCl, siguiendo la reacción $Ag + Cl^- \leftrightarrow AgCl + e^-$. En la Figura 1 se muestra tanto la estructura general de este tipo de sensor como el mecanismo de la reacción electroquímica ocurrida en su superficie. Este tipo de electrodo se ha utilizado para la determinación de la concentración de cloruros en diferentes medios, como lo son el sudor y en concretos (Dam, Zevenbergen, y van Schaijk 2015; Zhang et al. 2020)

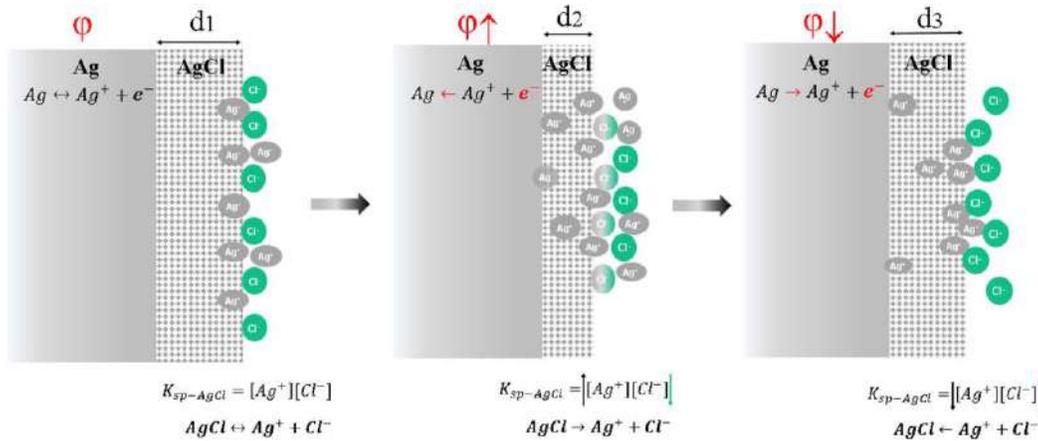


Figura 1. Diagrama esquemático de la reacción ocurrida en la superficie de un ISE de Ag/AgCl, tomado de (Zhang et al. 2020).

Adaptando la ecuación de Nernst a la reacción mencionada en el párrafo anterior para la cuantificación de iones cloruro en un medio con el electrodo selectivo de Ag/AgCl, se tiene la ecuación:

$$E_{Ag/AgCl} = E^{\circ}_{Ag/AgCl} - \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}$$

II.2.2 Sensores basados en transistores de efecto de campo

Los transistores de efecto de campo (FET, por sus siglas en inglés) son un tipo de transistores controlados por medio de voltaje. Al suministrar un potencial suficiente en su compuerta, el campo eléctrico provoca la formación de un canal apto para la conducción entre las terminales conocidas como drenador y surtidor (Srikant y Chaturvedi 2020). Los sensores electroquímicos que utilizan en este tipo de componentes basan su funcionamiento en la formación de dicho

canal de conducción a partir del cambio en el potencial experimentado entre dos electrodos ante la presencia de un analito (Lowe et al. 2017).

En la Figura 2 se ilustra la manera en que se construyen esta clase de sensores para diferentes tipos de analitos. Como se observa, la interacción del electrodo con el analito de interés produce un cambio en el potencial entre él y un electrodo de referencia. Esto es a su vez, generalmente, conectado a la compuerta del FET, lo cual tiene un efecto de transductor de la señal, misma que posteriormente es leída, digitalizada y procesada por medio de un sistema electrónico.

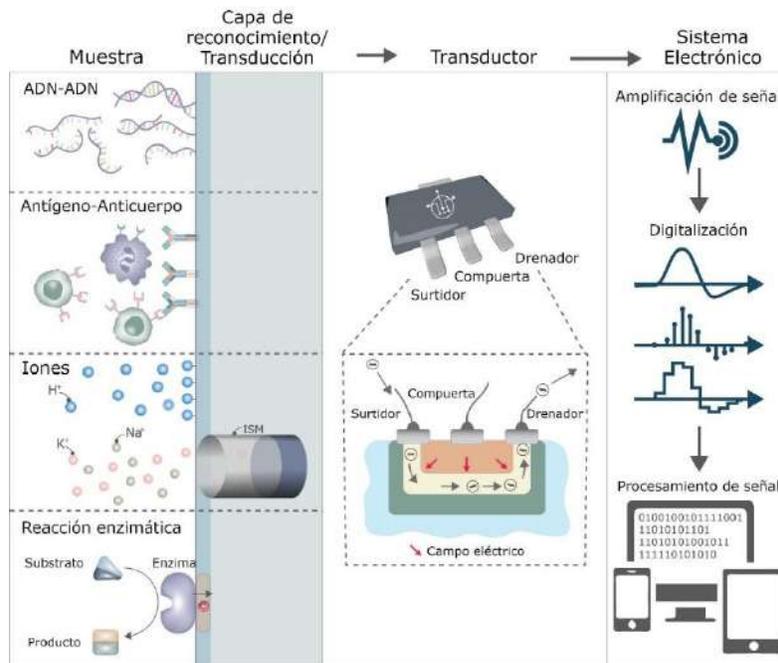


Figura 2. Esquema de funcionamiento de sensores químicos y biológicos FET, tomado de (Kaisti 2017).

Siguiendo estos principios, se han reportado diferentes tipos de estructuras, como las de compuerta flotante, de doble compuerta y de compuerta extendida (EGFET) (Kaisti 2017). Esta última configuración consiste en la conexión a distancia de una celda de electrodos a la compuerta del FET, esto con la finalidad principal de separar el transistor de la muestra de interés (Chi et al. 2000). En general, para este tipo de dispositivos se emplea un MOSFET, con su compuerta conectada a un electrodo de superficie sensible a un analito, misma que es inmersa o expuesta al medio de prueba. Con este tipo de construcción se permite la exposición a

ambientes variantes, facilita el aislamiento y encapsulamiento del elemento de reconocimiento y ofrece una mayor libertad en cuanto al diseño de la superficie sensible (Pullano et al. 2018).

Como fue mencionado anteriormente, el principio de funcionamiento es generalmente potenciométrico, y la configuración que se suele utilizarse consta del EGFET, cuyo electrodo modificado es expuesto al medio. Este se considera como el electrodo de trabajo, mientras que para tener una comparación estable del potencial se utiliza un electrodo de referencia. Esta configuración se muestra en la Figura 3(a).

De igual manera, la Figura 3(b) ilustra el efecto de la exposición del sistema a medios con diferente concentración de cierto analito. En primer lugar, considerando que el voltaje suministrado al electrodo de referencia es variable, se puede configurar para que realice un barrido lineal, lo cual provocará la formación del canal de conducción en el MOSFET al alcanzar el voltaje necesario. Sin embargo, hay que recordar que el potencial entre los electrodos está relacionado a la actividad del analito, y se suma al voltaje suministrado al electrodo de referencia. Esto provoca que, al cambiar la concentración del analito, haya un desplazamiento del potencial de formación del canal de conducción entre el drenador (D) y el surtidor (S). Es por esto por lo que, para cada concentración, la gráfica de la Figura 3(b) muestra un desplazamiento en cada una de las curvas.

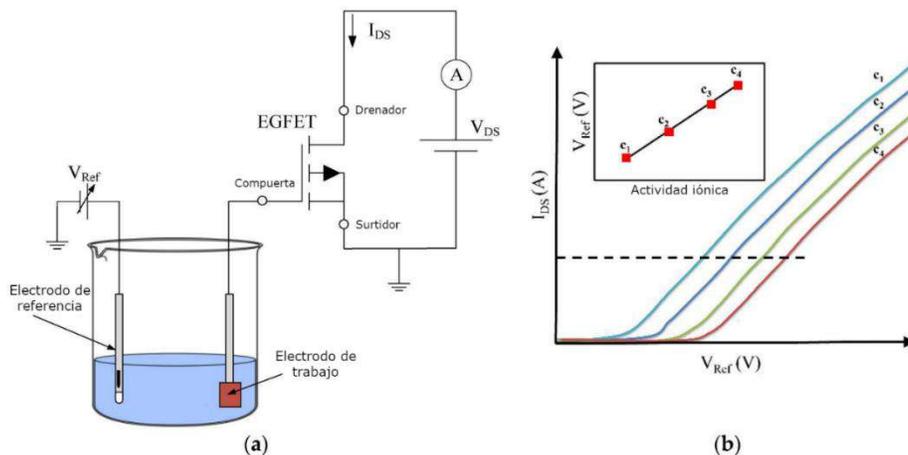


Figura 3. (a) Configuración típica de un sistema potenciométrico basado en EGFET. (b) Gráfica de corriente entre drenador y surtidor (I_{DS}) contra el voltaje suministrado a la referencia (V_{Ref}), en un medio a diferente concentración (c) de un analito. Tomado de (Pullano et al. 2018).

II.3 Nanopartículas metálicas

El campo de la nanociencia y la nanotecnología ha tomado gran importancia en el mundo a lo largo de las últimas décadas dadas las aplicaciones tan vastas y revolucionarias que proporciona. La nanociencia se puede definir como el estudio de los fenómenos ocurridos en la nanoescala (1-100 nm), y la nanotecnología implica su aplicación para la creación de materiales con propiedades específicas (Blackman y Binns 2008). Esto abarca un amplio espectro de disciplinas, como son la física, la química, la biología, la ingeniería, la medicina y la ciencia de materiales, entre otras.

De esta forma, los nanomateriales han ido ganando terreno gracias a las nuevas propiedades descubiertas al tener alguna o todas sus dimensiones dentro de la nanoescala. Aquéllos que cuentan con las tres dentro de esta escala se consideran nanopartículas. El cambio de tamaño respecto a los materiales “en bulto” les confiere a las nanopartículas diferentes propiedades que pueden ser morfológicas o estructurales, térmicas, electromagnéticas, ópticas y mecánicas. Ejemplo de ello puede ser el cambio en la temperatura de fusión, en su solubilidad, en su reactividad, o en sus propiedades magnéticas (Yokoyama et al. 2018).

Existen diferentes tipos de nanopartículas según su composición, y pueden ser metálicas (NPM), semiconductoras, iónicas, de gases raros o moleculares. Las primeras, como su nombre lo indica, se conforman a partir de elementos metálicos, y pueden estar compuestas por uno o más metales (en cuyo caso se conocen como nanoaleaciones) (Johnston 2012). En cuanto a las aplicaciones de las NPM, pueden variar dependiendo de las propiedades de cada material. Existe tal cantidad de NPs con diferentes propiedades que las aplicaciones son innumerables, siendo algunas de ellas la catálisis, el desarrollo de sistemas de bioseparación con NPs magnéticas, sistemas de detección y tratamiento de enfermedades, la modificación de electrodos para sensores electroquímicos (Mody et al. 2010; Rassaei et al. 2011; Yu et al. 2008), entre muchas otras. Esto ha propiciado un gran interés en su desarrollo, producción y aplicaciones.

Dentro de la categoría de las nanopartículas metálicas, las de plata (NPs de Ag) han sido ampliamente estudiadas gracias a sus propiedades. Entre sus aplicaciones se puede encontrar su uso como agente antimicrobiano, en la industria energética, y en sensores electroquímicos y ópticos (Bujes-Garrido et al. 2018; Pulit-Prociak y Banach 2016).

II.3.1 Métodos de obtención

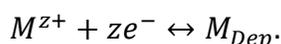
Con el fin de tener un control sobre sus propiedades y subsecuentemente en sus aplicaciones, se han desarrollado diferentes técnicas destinadas a la producción de estas NPM, ya sea de arriba hacia abajo (“top-down”, cuando se obtienen a partir de masa macroscópica) o de abajo hacia arriba (“bottom-up”, cuando se obtienen ensamblando los átomos en estas estructuras). Entre las técnicas “top-down” se encuentran la obtención por medio de nanopartículas preformadas en fase gaseosa, la deposición y autoensamblaje en superficies, y los métodos de química húmeda (Blackman y Binns 2008).

II.3.1.1 Electrodeposición de nanopartículas

En la electrodeposición se aplica una diferencia de potencial entre el electrodo donde será el electrodepósito del material en presencia de un electrolito que contiene el material que será depositado. Aplicar este voltaje produce el intercambio electrónico entre el electrolito y el electrodo, lo cual también provoca la deposición de átomos provenientes del electrolito sobre el electrodo (Sheridan 2009).

En general, lo que ocurre es que, al aplicar el potencial en la superficie de un electrodo conductor se reduce un catión, el cual posteriormente migra a una zona favorable energéticamente y se une a la superficie. Continuando con el proceso, la aglomeración de los primeros átomos de esta especie forma un núcleo, el cual va creciendo a medida que se mantiene el potencial y mientras exista una concentración adecuada de los iones en solución.

La electrodeposición de un metal requiere de la neutralización de un catión de dicho metal presente en el electrolito, por lo que es necesario a su vez aplicar un potencial a partir una fuente externa. A partir de esto, la electrodeposición se puede describir con la ecuación general (Paunovic 2007):



Para la deposición de nanopartículas sobre una superficie, las condiciones en que se realiza este procedimiento pueden ser cruciales para la obtención de las características deseadas. Por ejemplo, Tao y colaboradores encontraron una relación entre el tamaño de las nanopartículas de

níquel depositadas sobre un sustrato de titanio y la velocidad de barrido con la cual estas nanopartículas eran depositadas (Tao et al. 2018). En otro ejemplo de cómo los parámetros de la electrodeposición pueden alterar las características de las nanopartículas, se ha reportado que en la electrodeposición de nanopartículas de oro, el tiempo de deposición afecta a la estructura cristalina y el tamaño de las partículas obtenidas, siendo que a menores tiempos (5-60s) se encontró una mayor presencia de Au(111) con tamaño relativamente pequeño y densidad de partículas alta (El-Deab 2009).

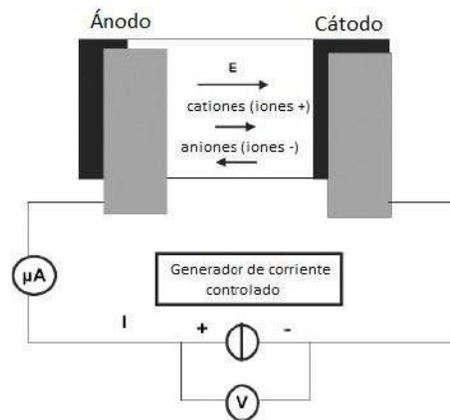


Figura 4. Representación esquemática del proceso de electrodeposición, tomada de (Gurrappa y Binder 2008).

Considerando los antecedentes descritos, también se han realizado estudios para la electrodeposición de nanopartículas de plata sobre diferentes tipos de sustratos. Un ejemplo de ello es el trabajo reportado por Safavi y colaboradores (Safavi, Maleki, y Farjami 2009), en el cual, por medio de la técnica potencioestática de doble pulso fue posible la electrodeposición de nanopartículas de plata de aproximadamente 150 nm con una buena distribución de tamaño sobre una superficie de un electrodo de líquido iónico de carbono.

Esta técnica potencioestática de doble pulso consiste, tal como su nombre sugiere, en la aplicación de dos pulsos eléctricos diferentes para realizar la electrodeposición. De estos dos pulsos, el primero, conocido como pulso de nucleación, es un pulso corto en el cual se aplica una alta amplitud catódica, y tiene como objetivo iniciar la nucleación de las partículas en la superficie sobre la cual se desea depositar. Posterior a la aplicación del primer pulso, se procede a aplicar el segundo, conocido como pulso de crecimiento, durante el cual ocurre el crecimiento de las

partículas que han comenzado la nucleación en el paso anterior. Este pulso debe realizarse a un sobrepotencial relativamente bajo pero adecuado, de tal manera que se pueda controlar de mejor manera el crecimiento de las partículas y evitar la formación de nuevos núcleos (Ueda et al. 2002). Siguiendo estas consideraciones es que se puede conseguir una estrecha distribución de tamaños de las nanopartículas obtenidas por electrodeposición.

II.3.1.2 Síntesis química de nanopartículas

En cuanto a la síntesis de nanopartículas por la vía química, se encuentra una amplia variedad de métodos: reducción química, técnicas de microemulsión, fotorreducción iniciada por radiación UV, reducción fotoinducida, síntesis asistida por microondas, entre otros. El más común de estos métodos es el de la reducción química. Específicamente para las nanopartículas de plata, algunos de los agentes reductores frecuentemente utilizados son el citrato de sodio, el borohidruro de sodio y el reactivo de Tollens. Estos reactivos se encargan de reducir la plata iónica de una solución para producir plata metálica que se va aglomerando. Se puede trabajar con diferentes concentraciones de las soluciones iniciales, y además se agregan agentes estabilizantes que impiden la aglomeración, precipitación o pérdida de propiedades de superficie de las nanopartículas (Iravani et al. 2014).

Particularmente, para este trabajo es de mayor interés una estructura cúbica de las nanopartículas de plata. Esto es porque, como se ha reportado en la literatura (Sun y Xia 2002), esta morfología permite un fácil acomodamiento y distribución sobre una superficie, debido a la homogeneidad y distribución simétrica de sus caras. La distribución uniforme, además de ser más sencilla de esta manera, nos permitiría obtener el depósito de estas partículas con una orientación cristalina más específica.

II.4 Justificación

La cuantificación de iones cloruro en el sudor es una prueba importante en diferentes ámbitos, uno de ellos siendo el de la salud, pues se sabe que su concentración se relaciona con la dieta, el grado de hidratación y enfermedades, tales como la fibrosis quística. Esta última es una enfermedad genética, donde se presenta una anomalía en el gen que codifica una proteína reguladora transmembranal y se caracteriza por la deficiente regulación de iones, entre ellos el

ion cloruro. Una de las pruebas más utilizadas para la detección de la fibrosis quística es la cuantificación de iones cloruro en el sudor, puesto que se presenta una concentración anormalmente alta de Cl^- en dicho fluido.

A pesar de que la obtención del sudor requerido para la prueba no es invasiva, su recolección, su traslado, su manejo en un laboratorio, y la inaccesibilidad a ellos son de los factores principales que juegan en contra de la detección temprana de la enfermedad (Castaños, Chertkoff, y Gravina 2020; Choi et al. 2018). Recientemente han cobrado mayor relevancia los dispositivos para el diagnóstico “en el punto de cuidado”, y se han desarrollado para diferentes tipos de técnicas de detección, siendo las electroquímicas de las más prometedoras puesto que permiten una mayor portabilidad, menores costos y cantidades de muestra a analizar, así como mayor sensibilidad y manejo más simple (Fan et al. 2017).

Conociendo las complicaciones médicas y las afecciones que pueden sufrir los enfermos de fibrosis quística, resulta de gran importancia desarrollar un método de detección de la enfermedad que sea fácilmente utilizable, práctico, que ofrezca resultados confiables y un tiempo de detección corto. Es muy importante la accesibilidad, esto con el propósito de que los pacientes con esta enfermedad reciban un tratamiento en un tiempo adecuado para evitar las complicaciones propias de la fibrosis quística y mejorar su calidad y expectativa de vida.

Para propósito de la detección de la enfermedad, se tomará en cuenta la sintomatología de la alta concentración de iones cloruro en el sudor. Con el sensor desarrollado, se determinarán las concentraciones de iones cloruro en las muestras a analizar, a partir de las cuales sea posible en un futuro determinar la presencia de la fibrosis quística. Además, se busca implementar un sistema para obtención y tratamiento de los resultados independiente de equipos altamente especializados e inalámbrico, ya que podría simplificar en gran medida la interpretación de los resultados y así ser aún más accesible para la realización de estas pruebas.

Por otra parte, también se desea aprovechar las características de las nanopartículas de plata, puesto que la escala de éstas les provee de un área superficial mucho mayor a la de la plata convencional, lo cual ofrece una mayor área de disponible para el intercambio iónico (Kakhki 2013).

II.5 Planteamiento del problema

La fibrosis quística es una enfermedad que puede tener implicaciones fuertes contra la salud de las personas que la padecen, tales como la mayor propensión a infecciones en vías respiratorias o la obstrucción de éstas últimas, entre otras afecciones. Si bien, existen métodos estandarizados y protocolos a seguir por diferentes laboratorios para las distintas pruebas destinadas a la detección de esta enfermedad, éstos presentan algunos inconvenientes. Dada su menor invasividad, la medición de concentración de iones cloruro en el sudor es de las pruebas más utilizadas para la detección de la fibrosis quística. Sin embargo, también cuenta con inconvenientes, como el gran volumen de sudor requerido, el manejo y transporte de las muestras a un laboratorio (periodo en el cual éstas pueden verse afectadas y dar resultados erróneos en su análisis), y el requerimiento de equipos especializados y personal suficientemente capacitado para operarlos, todo esto aunado al hecho de que este tipo de instancias no son accesibles a toda la población, sea por condiciones económicas o geográficas.

De igual manera, con el objetivo de poder reemplazar efectivamente los métodos convencionales de detección de la fibrosis quística, se requiere de límites de detección adecuados en el sensor, de manera que sea posible detectar de manera clara el resultado de la prueba.

II.6 Hipótesis

La evaluación de los diferentes tipos de nanopartículas de plata obtenidos por los diferentes métodos propuestos permitirá la obtención de un sensor de cloruros óptimo, el cual podrá ser acoplado a un sistema electrónico inalámbrico.

II.7 Objetivo general

Comparar el desempeño de nanopartículas de plata electrodepositadas, sintetizadas químicamente y comerciales, para la optimización de un sensor de cloruros inalámbrico.

II.8 Objetivos particulares

- Sintetizar nanopartículas de plata por un método químico.
- Realizar un electrodepósito de nanopartículas de plata sobre un electrodo de carbono.

- Caracterizar las nanopartículas de plata por métodos fisicoquímicos, microscópicos y electroquímicos.
- Evaluar las nanopartículas de plata obtenidas como un sensor de cloruros.
- Diseñar y acoplar el dispositivo electrónico al electrodo de cloruros.

III. Experimental

III.1 Síntesis de nanopartículas de plata por vía química

Para realizar la síntesis de nanopartículas de plata por la vía química se basó el procedimiento en lo reportado por Siekkinen y colaboradores (2006). Se comienza por la preparación de soluciones de nitrato de plata (AgNO_3 , Sigma Aldrich), polivinilpirrolidona (PVP, Sigma Aldrich), y sulfuro de sodio (Na_2S , Sigma Aldrich) utilizando etilenglicol (EG, J.T. Baker) como solvente. Para el AgNO_3 , se disolvió un gramo en un volumen de 5 mL, mientras que del PVP se tomaron 1.25 g disueltos en 14.5 mL de EG. Por último, la preparación de la solución de Na_2S fue hecha con 1.1 mg en 1 mL de EG, preparada aproximadamente 45 minutos antes de ser añadida. Las cantidades anteriores fueron calculadas para que en un volumen final de reacción de 40 mL se tuviera una relación en masa de AgNO_3 y PVP (1:1.25), mientras que para el Na_2S se consideró una concentración final de 28 μM .

Posteriormente, se calentaron en agitación 20.25 mL de EG en un matraz de tres bocas hasta una temperatura de 155 °C. Una vez alcanzada la temperatura se agregaron en orden las soluciones de Na_2S (250 μL) y de PVP (14.5 mL), pero debido al volumen agregado fue necesario aumentar el calentamiento para regresar a la temperatura mencionada anteriormente. Después de alcanzarla y mantenerla estable, se agregaron los 5 mL de la solución de AgNO_3 , lo cual inicia la reacción de manera inmediata. El color de la reacción cambió de un amarillo ligero a un color naranja ligero tras la adición del AgNO_3 al matraz, con un cambio rápido de color a un color naranja intenso. Con el paso de los minutos el tono se tornó cada vez más oscuro, observándose además algo de opalescencia en las paredes del matraz que fue notorio principalmente a partir de alrededor de los 3 minutos con 40 segundos. A los cinco minutos, el producto ya había tomado una coloración café grisáceo. Lo anterior está representado en las imágenes de la Figura 5.

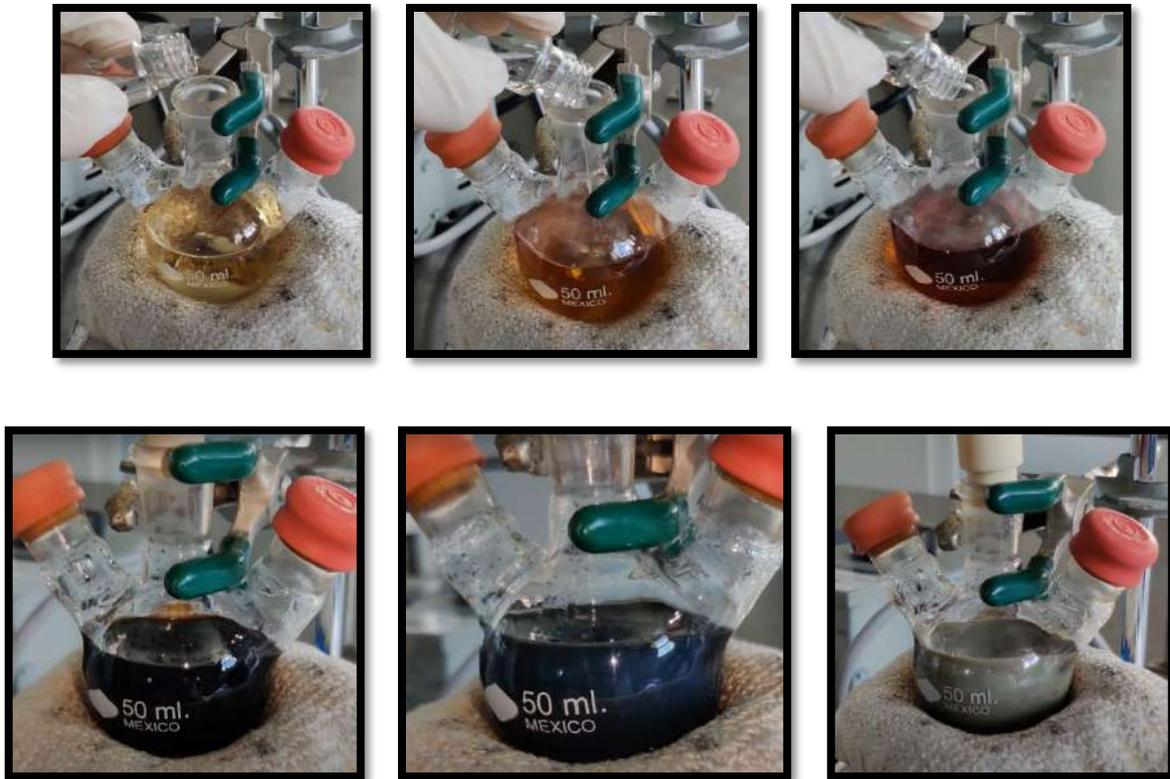


Figura 5. Etapas de coloración de la reacción en la síntesis de nanopartículas de plata. En la parte superior (de izquierda a derecha) antes, durante y después de la adición del nitrato de plata. En la parte inferior, aspecto a los (izquierda) 50 segundos, (centro) 3 minutos 40 segundos y (derecha) 5 minutos 30 segundos.

Por último, se retiró la reacción del calentamiento y se vertió en un vaso de precipitados con acetona (aproximadamente 80 mL) para detenerla, todo esto después de 5 minutos y 30 segundos del inicio. En la Figura 6 se presenta la apariencia final de esta mezcla, la cual tuvo un color marrón grisáceo, un poco más oscuro que el observado antes de agregar la reacción a la acetona.



Figura 6. Vaso de precipitados con el producto final de la reacción y acetona.

Para la extracción de las nanopartículas se realizaron seis lavados por centrifugación. El primer ciclo fue realizado con volumen tomado directo del producto de la reacción, con una duración de centrifugado de una hora. Después de retirar los tubos de la centrífuga se extrajo el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur. Seguido de esto, se realizaron tres lavados con agua desionizada, cada uno con sobrenadantes de color cada vez más claro. Posteriormente, los últimos dos lavados fueron hechos con acetona, y los sobrenadantes también fueron de cada vez más diluidos. En la Figura 7 se puede apreciar la diferencia de tonalidad entre cada lavado, siempre con un sedimento en la punta de los tubos Falcon.

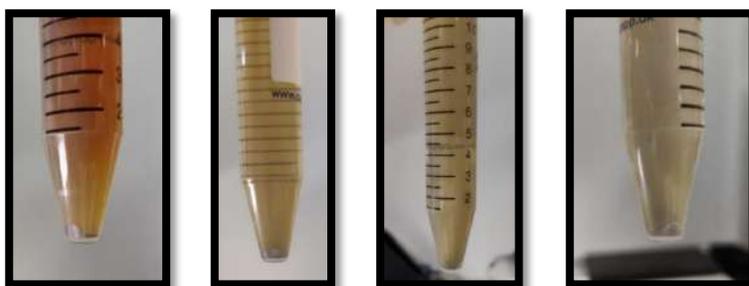


Figura 7. Tubo Falcon después de cada ciclo de lavado (centrifugado).

Después de retirar el último sobrenadante, con ayuda de la pipeta se tallaron las paredes para retirar las nanopartículas adheridas a estas superficies. Éstas, junto con las que se encontraban al fondo de cada tubo, fueron suspendidas nuevamente en un volumen más pequeño de acetona y se vertieron después en un cristizador previamente pesado. La Figura 8 muestra el aspecto final de las nanopartículas extraídas de los tubos.



Figura 8. Nanopartículas de plata obtenidas por síntesis química, extraídas en acetona y depositadas en el cristizador.

Las nanopartículas recolectadas en el cristizador se dejaron secar a temperatura ambiente por cinco días, tiempo en el cual se evaporó la acetona, quedando únicamente las nanopartículas en el fondo. La apariencia final de éstas se puede observar en la Figura 9, con brillo metálico y un tono café plateado. Finalmente, con ayuda de una espátula se recolectaron, se pesaron y se guardaron en un tubo Eppendorf.



Figura 9. Nanopartículas de plata obtenidas de la síntesis química, secas en el cristizador (izquierda) y recolectadas en un tubo Eppendorf (derecha).

III.2 Electrodeposición de nanopartículas de plata

Se prepararon los sustratos para realizar el electrodeposito, para lo cual se utilizó nuevamente papel de carbón toray. Se cortaron tiras de alrededor de 3 cm de largo y 0.3 cm de ancho. Posteriormente, para delimitar la superficie para la modificación, se aislaron los electrodos con parafina, dejando al descubierto una superficie de aproximadamente 0.5 cm × 0.3 cm en uno de sus extremos. Éstos fueron utilizados como electrodos de trabajo, mientras que para el

contraelectrodo y la referencia del potenciostato se cortaron electrodos de mayor tamaño (3 cm × 1 cm), los cuales fueron cubiertos también con parafina a excepción de un área de 1 cm × 1 cm en un extremo. En la Figura 10 se presenta el aspecto de estos electrodos previo al procedimiento de electrodeposición.



Figura 10. Electrodos de toray, aislados con parafina a excepción del extremo descubierto, a la izquierda electrodos para el electrodeposito y a la derecha el utilizado como contraelectrodo.

Para obtener los electrodepositos de plata deseados se preparó una solución 0.1 M de nitrato de plata, 0.015 M de citrato de sodio (Golden Bell) y 0.075 M de ácido nítrico (HNO_3 , J.T. Baker). La técnica empleada con el potenciostato fue una cronopotenciometría, realizando 500 ciclos que consistieron en dos pulsos: el primero con una duración de 1 s a una corriente de 0.82 mA/cm^2 , y el segundo con una duración de 5 segundos sin corriente aplicada (0 A). Los electrodos elaborados bajo este procedimiento se conectaron al potenciostato y se sumergieron sus superficies descubiertas dentro de la solución, lo cual se encuentra ilustrado en la Figura 11. Posterior a la técnica de cronopotenciometría, el aspecto de los electrodos no cambia a simple vista.



Figura 11. Disposición de los electrodos, sumergidos en la solución preparada para el electrodeposito.

III.3 Caracterización de nanopartículas

III.3.1 Caracterización electroquímica

Con el fin de identificar la presencia de plata se realizó una caracterización que consistió en una voltamperometría cíclica. Para ello se utilizaron electrodos de Toray modificados con los diferentes tipos de nanopartículas utilizadas, sin la modificación con cloruros, puesto que era de interés comprobar la presencia de este metal por medio de sus picos de oxidación y reducción característicos. Los electrodos utilizados para todas las pruebas fueron: como electrodo de trabajo, los modificados con nanopartículas; como contraelectrodo, un electrodo de grafito; y como referencia, un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl. Los tres electrodos fueron conectados a sus respectivas terminales y se sumergieron en agua desionizada, con un volumen de 5 mL. En la Figura 12 se muestra la disposición de los electrodos dentro del vaso para esta prueba.



Figura 12. Acomodo de los electrodos para la técnica de voltamperometría cíclica. Con electrodos: referencia de Ag/AgCl, contraelectrodo de grafito y electrodo de trabajo de toray modificado con nanopartículas de plata.

La ventana de potencial escogida para la voltamperometría cíclica fue de -0.7 V a 0.8 V, con una velocidad de barrido de 10 mV/s, realizando el procedimiento por tres ciclos. Además, se realizaron dos variaciones de las voltamperometrías, una utilizando únicamente agua desionizada y otra utilizando una adición de 10 mM de cloruros.

III.3.1.1 Resultados

La primera voltamperometría cíclica realizada fue a los electrodos modificados con la tinta comercial de nanopartículas de plata. Como puede apreciarse en la Figura 13, los picos de

oxidación y reducción son bastante marcados. En el caso de la prueba en agua desionizada sin cloruros, línea en color rojo, se observa un pico de oxidación en aproximadamente 0.22 V, mientras que en el sentido de opuesto se encontró el pico de reducción alrededor de -0.18 V. En la segunda prueba, en un medio con 10mM de iones Cl^- , se aumentó significativamente la corriente de los picos. En el caso del de oxidación, se desplazó un poco a la izquierda quedando en 0.15 V y tuvo un aumento en altura de 0.18 mA respecto a la prueba sin Cl^- , mientras que el de reducción se recorrió a un valor de -0.2 V con un cambio de altura de -0.35 mA. Empleando la ecuación de Faraday con la carga medida en el pico de oxidación (0.8072 mC, en la curva obtenida sin Cl^-), se obtuvo que la masa de plata presente en el electrodo es de 902.4281 ng.

En el caso de la curva obtenida sin la presencia de iones cloruro, su comportamiento es muy similar al presentado en un análisis realizado por Choi y Luo (2011), donde se pueden apreciar dos picos principales correspondientes a la oxidación y reducción de la plata, ubicados en 0.36 V y -0.16 V respectivamente. El pico de reducción se encuentra a un potencial similar al mostrado en la Figura 13, aunque el de oxidación se encuentra a un valor más bajo en el resultado obtenido posiblemente debido al tamaño de las partículas depositadas, puesto que se sabe que la separación de estos picos se relaciona con el tamaño de las partículas (Jiang, Liu, y Li 2004).

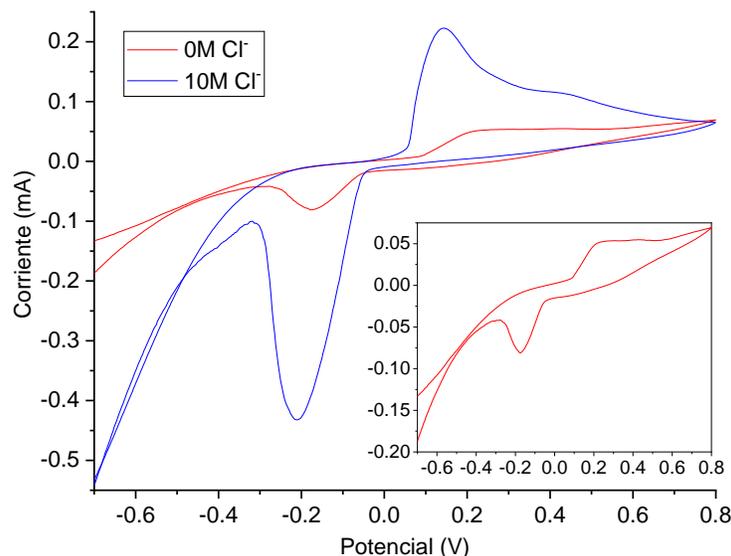


Figura 13. Gráfica de las voltamperometrías realizadas a los electrodos modificados con nanopartículas de plata comerciales. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl .

Posteriormente, de las pruebas realizadas con los electrodos modificados con las nanopartículas de plata sintetizadas se obtuvieron los resultados mostrados en la Figura 14, donde en color rojo se muestra el resultado obtenido al realizar la prueba en agua desionizada, mientras que la línea de color azul corresponde a la prueba realizada en presencia de una concentración de cloruros de 10mM. En la primera, se puede notar que existe un ligero pico de oxidación alrededor de los 0.56 V, mientras que el pico de reducción es mucho más notorio en -0.32 V. Por otro lado, la prueba con cloruros en el medio arrojó corrientes más altas y picos más marcados, encontrando la oxidación en 0.29 V con un aumento de 0.123 mA, y la reducción en -0.14 V con un cambio de corriente de -0.147 mA. Por último, usando nuevamente la ley de Faraday con una carga de 0.0483 mC en el pico de oxidación (de la curva sin cloruros) se obtuvo que la masa depositada de plata en el electrodo es de 54.0651 ng.

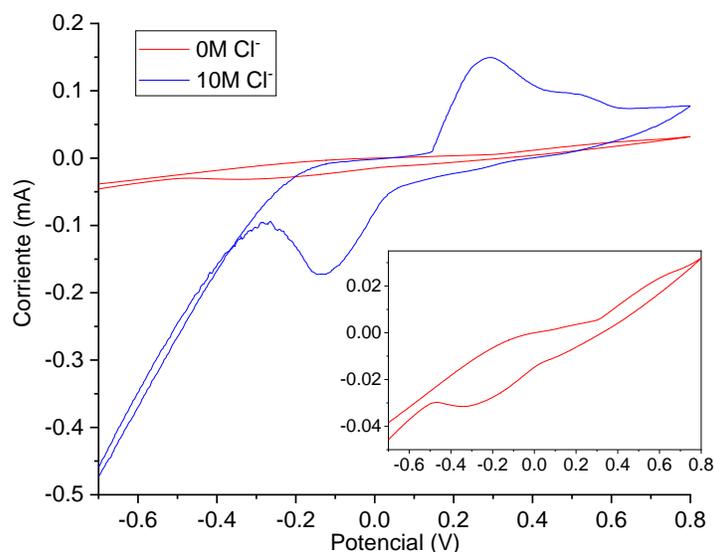


Figura 14. Gráfica de las voltamperometrías cíclicas realizadas a los electrodos modificados con nanopartículas de plata sintetizadas. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

Por último, las voltamperometrías cíclicas de los electrodos modificados por electrodeposición culminaron en los resultados mostrados en la Figura 15, donde es claro que la corriente medida es considerablemente menor que en los anteriores electrodos. Los picos de oxidación y reducción obtenidos son claros. En el caso sin cloruros en el medio (línea roja), el sentido de oxidación presentó el pico principal en 0.07 V, mientras que el de reducción se encontró aproximadamente en -0.3 V. Después de añadir los cloruros, los picos se volvieron a intensificar y se recorrieron

ligeramente a la izquierda. La oxidación se encontró aproximadamente en 0.05 V y aumentó 0.0184 mA en altura, mientras que la reducción se ubicó en -0.33 V y cambiando en corriente -0.0009 mA. Para este último electrodo, la carga de 0.0197 mC corresponde a 22.0911 ng de plata depositados.

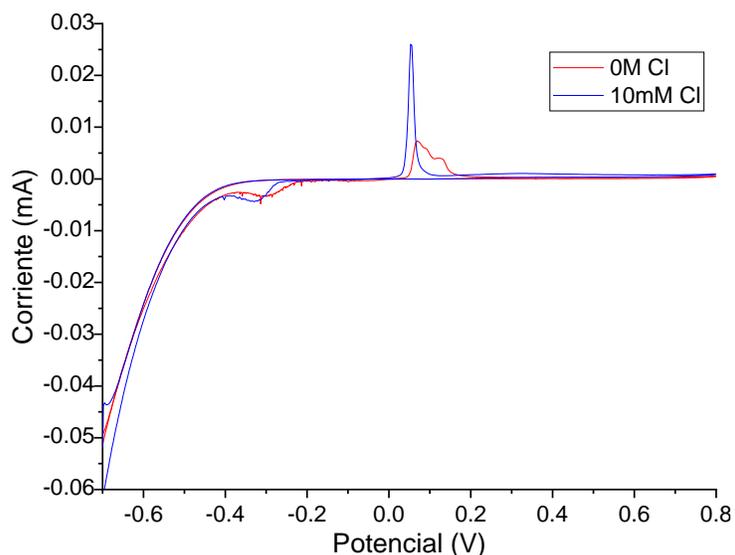


Figura 15. Gráfica de las voltamperometrías cíclicas realizadas a los electrodos modificados por electrodeposición de plata. Potenciales medidos contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

III.3.2 Fluorescencia de rayos X (XRF)

Para validar la composición de las nanopartículas sintetizadas se llevó a cabo un análisis de fluorescencia de rayos X (S2 PICOFOX, Bruker). Se realizaron dos diferentes análisis, uno a una muestra de la tinta comercial de NPs de plata (como referencia), y otro a la tinta de NPs sintetizadas. Posteriormente, se obtuvieron los resultados mostrados en Figura 16 y Figura 17. En el análisis se encontraron algunos picos de elementos traza no mostrados en gráfica. Ambos espectros tienen una forma muy similar, puesto que las dos muestras consisten principalmente de plata; sin embargo, se puede apreciar que el espectro de las NPs comerciales cuenta con una intensidad considerablemente mayor en los picos correspondientes a la plata que puede deberse al hecho de que es una tinta más concentrada que la preparada con las NPs sintetizadas.

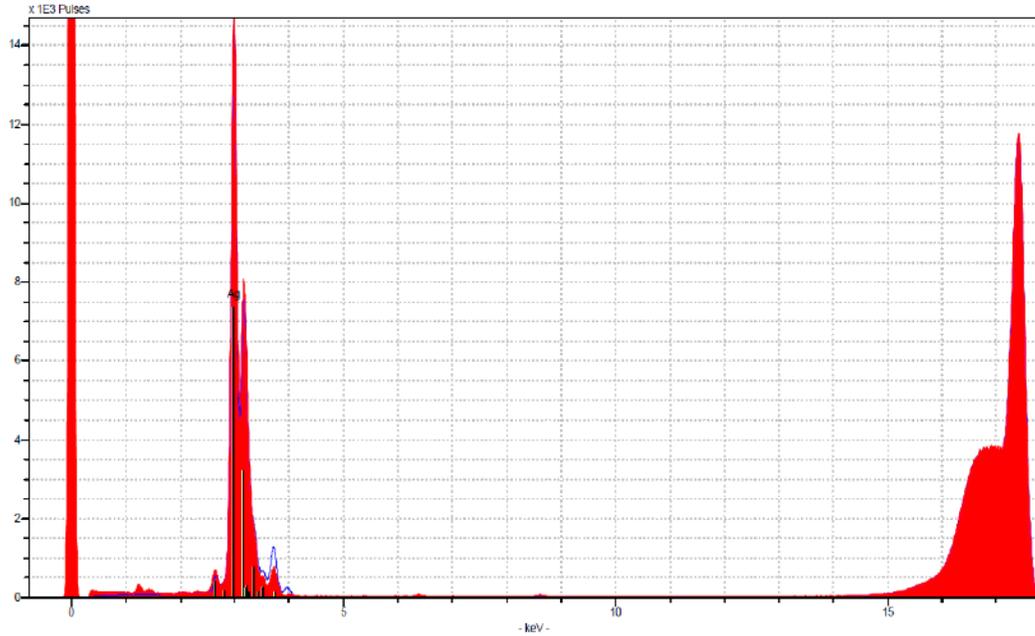


Figura 16. Resultado de análisis XRF para la tinta comercial de NPs de plata.

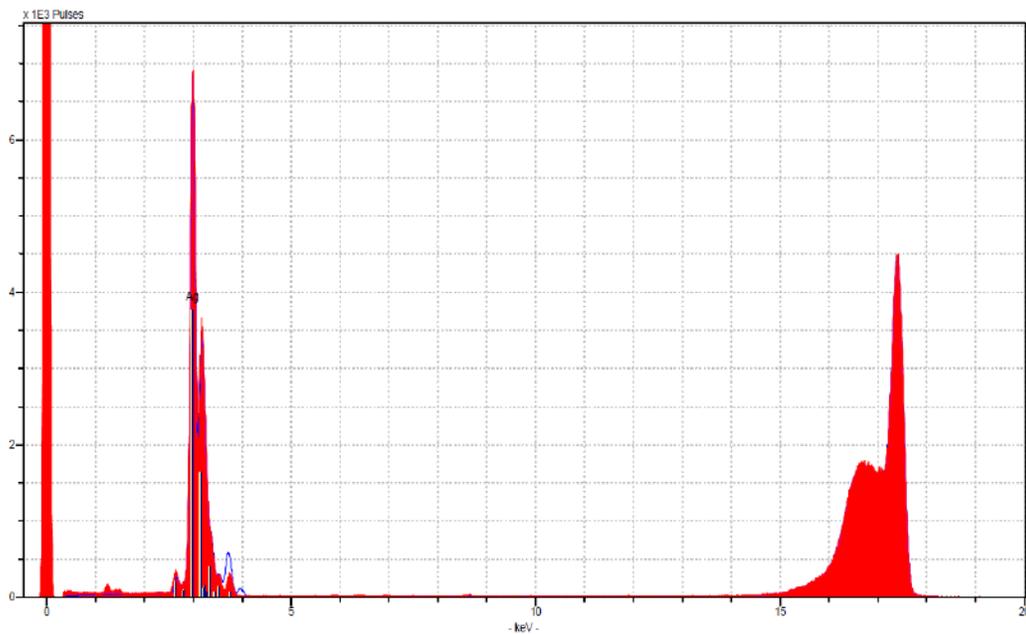


Figura 17. Análisis XRF de la tinta de NPs de plata sintetizadas.

III.3.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Con el objetivo de observar la morfología de las nanopartículas de plata sintetizadas, con apoyo del CIMAV se realizó un análisis por medio de TEM, del cual se obtuvieron las imágenes mostradas en la Figura 18 donde se observa que la forma de estas NPs no fue la deseada (cúbica), sino que

se tienen aglomeraciones de diferentes tamaños. Esto puede deberse a diferentes factores, como lo puede ser el cambio en las cantidades de los reactivos, puesto que se aumentaron para lograr obtener mayores cantidades de NPs.

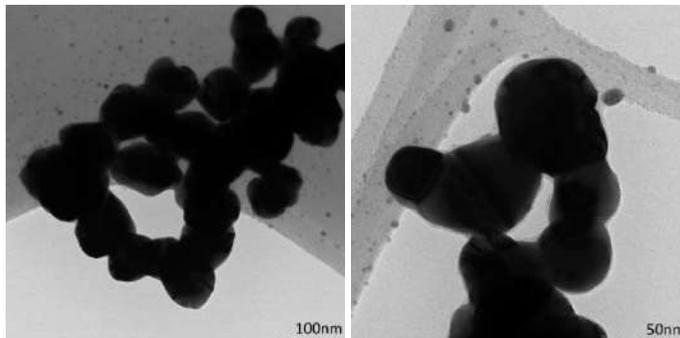


Figura 18. Imágenes de las NPs de plata sintetizadas, obtenidas por TEM.

III.3.4 Microscopía electrónica de barrido de transmisión (STEM)

Otra técnica de microscopía electrónica utilizada fue la de barrido de transmisión, misma que permitió observar, además de la morfología, la distribución de la composición de las partículas sintetizadas. En la Figura 19 se muestran imágenes obtenidas de la microscopía: la primera ilustra únicamente el aspecto de las partículas y la segunda incluye además la distribución de la composición elemental. Esta segunda imagen (Figura 19(b)) permite apreciar que, dentro del conjunto de partículas, el elemento mayoritario es la plata. A pesar de que el carbono también cuenta con una importante presencia, la mayor parte es debida a la composición de la rejilla sobre la cual se depositó la muestra.

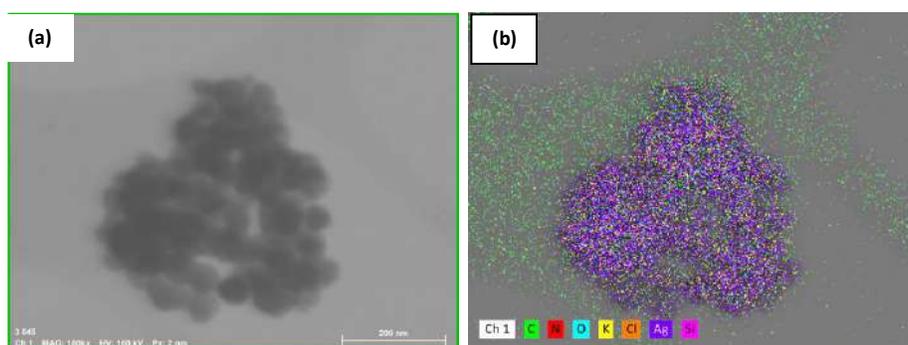


Figura 19. Imágenes obtenidas de STEM de la muestra de NPs de plata sintetizadas. (a) Imagen de morfología. (b) Imagen con distribución de composición.

Adicionalmente, se obtuvo la composición por el análisis EDS, de donde se extrajeron los resultados mostrados en la Figura 20 y en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** Como ya se había señalado a partir de la observación de la Figura 19(b), se cuenta con la presencia mayoritaria de C y Ag; sin embargo, se puede atribuir el C a la rejilla, mientras que la plata es predominante en la región de la muestra. El resto de los elementos detectados cuentan con un porcentaje muy bajo tanto en masa como en proporción atómica.

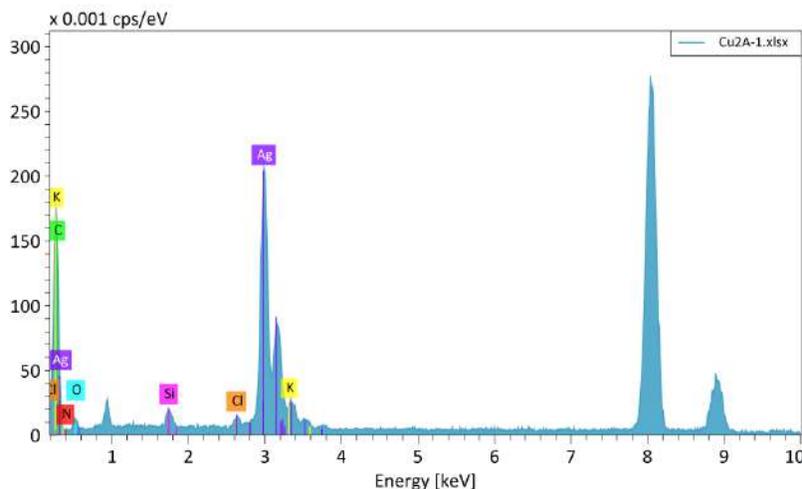


Figura 20. Análisis de composición obtenido del STEM para la muestra de NPs de plata sintetizadas.

Tabla 1. Resultados de la composición obtenida por STEM para la muestra de NPs de plata sintetizadas.

Elemento	Masa (%)	% atómico
C	18.82	64.67
N	0.00	0.00
O	1.04	2.67
Si	1.40	2.06
Cl	0.00	0.00
K	0.72	0.76
Ag	78.03	29.25

III.3.5 Difracción de electrones

Con ayuda de la técnica de difracción de electrones obtenida por medio del análisis TEM se consiguió un patrón de difracción que se muestra en la Figura 21. A partir de él, se puede concluir que se cuenta con una estructura policristalina, esto debido a que se observan diferentes puntos definidos que se alinean para formar anillos concéntricos, los cuales no llegan a ser difusos.

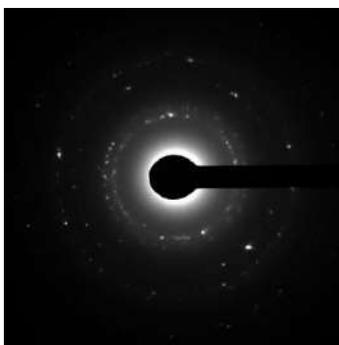


Figura 21. Patrón de difracción obtenido de la técnica de difracción de electrones, realizado a las NPs de plata sintetizadas.

III.3.6 Difracción de rayos X (XRD)

La imagen mostrada en la Figura 22 corresponde al patrón de difracción de rayos X obtenido de un análisis realizado a las nanopartículas de plata sintetizadas. En ella se pueden apreciar cuatro reflexiones mayoritarias en los valores de 2θ de 38° , 44° , 64° y 77° , correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311). Lo anterior se encuentra en concordancia con lo reportado en la literatura para la estructura cúbica centrada en las caras (fcc) de las NPs de plata (Jyoti, Baunthiyal, y Singh 2016; Siekkinen et al. 2006). No obstante, no se consiguió la predominancia del plano (200) esperado de las NPs de plata cúbicas que se querían obtenerlas.

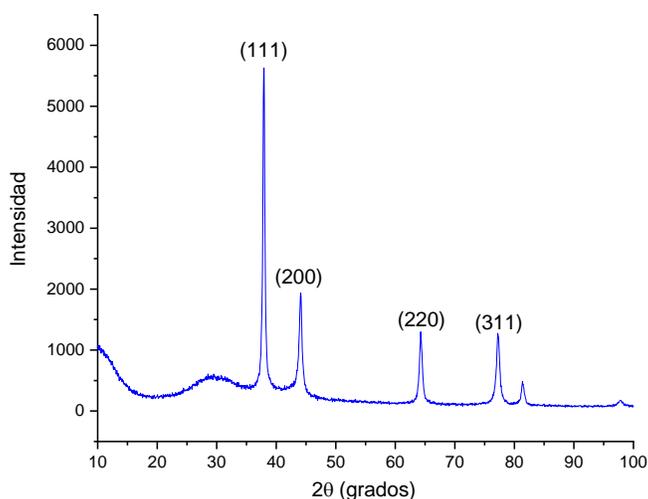


Figura 22. Patrón de difracción XRD obtenido para las nanopartículas de plata sintetizadas.

III.3.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía SEM se llevó a cabo en el microscopio del CIMAV. La muestra analizada fue un electrodo de papel toray modificado por electrodeposición de plata. En la imagen de la Figura 23 se muestra la superficie de este electrodo, donde resulta difícil apreciar el depósito de plata. Únicamente se perciben acumulaciones notorias por su tono más claro en algunas regiones, aunque son escasas. Además, el análisis elemental proveído por medio de EDS (Figura 24) no revela la presencia de plata en las regiones analizadas, sino que el único elemento detectado es el carbono, por lo cual se concluye que el depósito no fue adecuado para este electrodo.

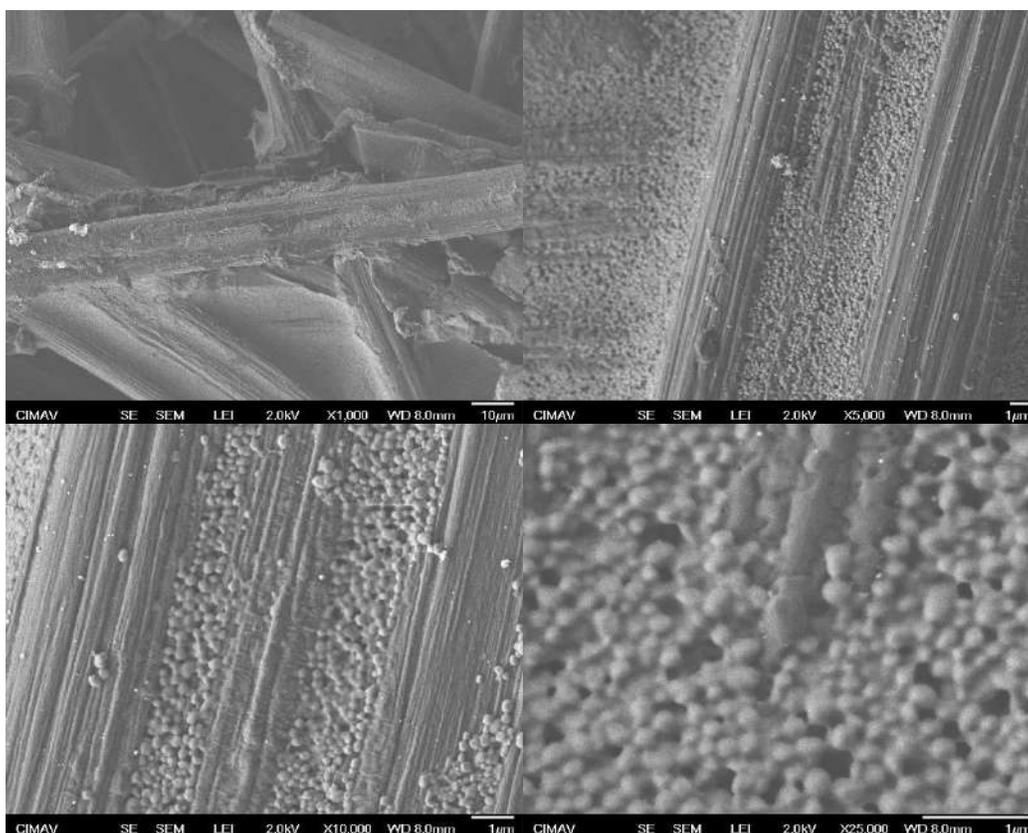


Figura 23. Imágenes de microscopía SEM de un electrodo modificado por electrodeposición de plata.

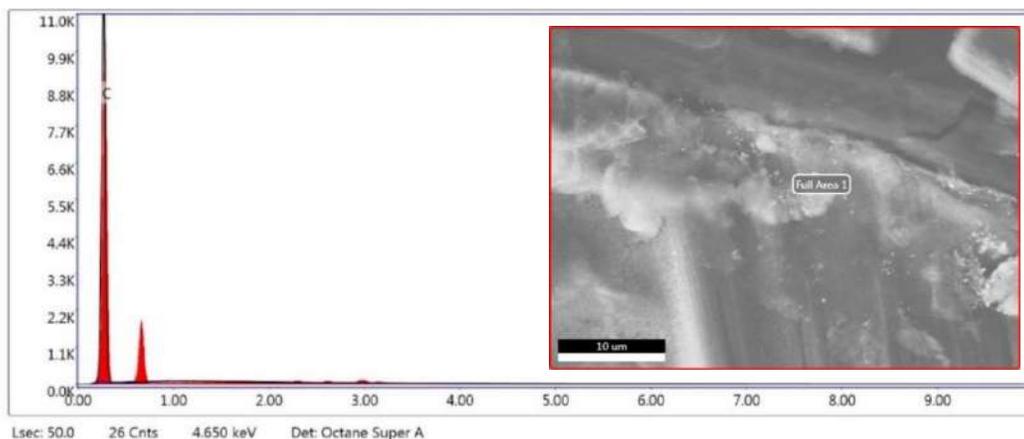


Figura 24. Análisis EDS de la composición del electrodo modificado por electrodeposito.

III.4 Preparación de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros

III.4.1 Tinta comercial de nanopartículas de plata

Los electrodos modificados con nanopartículas fueron preparados de diferente manera según el método de obtención de éstas. El sustrato utilizado para la elaboración de los electrodos fue papel de carbón toray. En primer lugar, para las nanopartículas comerciales, se utilizó una tinta de nanopartículas de plata (Sigma Aldrich), de la cual se tomó 1 µL para la modificación, esto con ayuda de una micropipeta, esparciendo la tinta sobre un área de aproximadamente 5 × 5mm. La tinta se deja secar entre uno y dos días, para posteriormente aplicar 5 µL de una solución saturada de cloruro férrico (FeCl₃), la cual también se deja secar aproximadamente un día. En la Figura 25, a la izquierda se muestra el aspecto de la tinta sobre los electrodos justo después de aplicarla, y a la derecha se observa su aspecto una vez se ha secado.

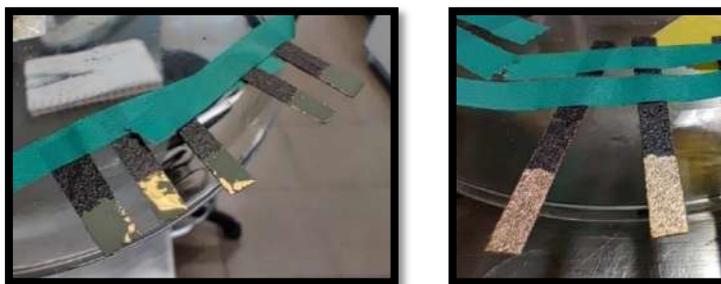


Figura 25. Electrodos de TCP con la tinta comercial de nanopartículas de plata: fresca y seca.

III.4.2 Nanopartículas de plata sintetizadas

A partir de las nanopartículas de plata sintetizadas previamente, se preparó una tinta con aproximadamente 3.5 mg de éstas, agregando además 219 μL de alcohol isopropílico y 21 μL de Nafión. La tinta fue mezclada en un sonicador por alrededor de 40 minutos. Una vez lista, se agregó a electrodos de papel de carbón toray, con tres adiciones de 10 μL de la tinta (un total de 30 μL para cada uno de ellos). En la Figura 26 se observa el resultado de esta adición, la cual se seca casi inmediatamente.



Figura 26. Electroodos modificados con la tinta de nanopartículas de plata obtenidas por síntesis química.

Minutos después de la adición de la tinta, se adicionó sobre la misma superficie 1 μL de la solución saturada de cloruro férrico, además de 5 μL de agua desionizada y 5 μL de etanol que permiten una dispersión más sencilla de la solución sobre el electrodo debido a la naturaleza hidrofóbica del sustrato.

III.4.3 Electrodeposición de nanopartículas de plata

Para este caso no fue necesario el paso de adición de las nanopartículas debido a que fueron obtenidas directamente sobre los electrodos en los electrodepositos. Por consiguiente, se procedió directamente a la adición de cloruros sobre el área modificada, siguiendo el procedimiento de adición de 1 μL de la solución saturada de FeCl_3 , 5 μL de agua desionizada y 5 μL de etanol.

III.5 Preparación de los arreglos con los electrodos modificados

Una vez se han modificado los electrodos, con el fin de obtener un arreglo que consista en un electrodo de referencia, rodeado de una concentración estable de iones cloruro, y uno de

trabajo, expuesto al medio de prueba, se elaboró un diseño que consiste en una lámina pequeña de una mica plástica adhesiva, la cual sirve de sustrato, sobre la cual se pegan los electrodos (uno en cada cara) cubriendo uno de ellos con un gel de agar preparado en base a una solución de cloruro de potasio (KCl, J.T. Baker) 1 M, recubierto con un pegamento epóxico. En la Figura 27 se muestra el primer electrodo, al cual se le coloca el gel, sobre el cual se coloca la cubierta epóxica.



Figura 27. Electrodo modificado, fijo en la mica plástica, antes (izquierda) y después (centro) de depositar el gel de agar, y con la cubierta epóxica (derecha).

El lado opuesto a donde se encuentra la referencia se utilizó para colocar el electrodo de trabajo. Éste último se coloca también centrado y lo más cercano posible al puente salino. Finalmente, se colocan contactos de aluminio en los extremos de conexión de los electrodos, y el arreglo terminado tiene un aspecto como el mostrado en la Figura 28.

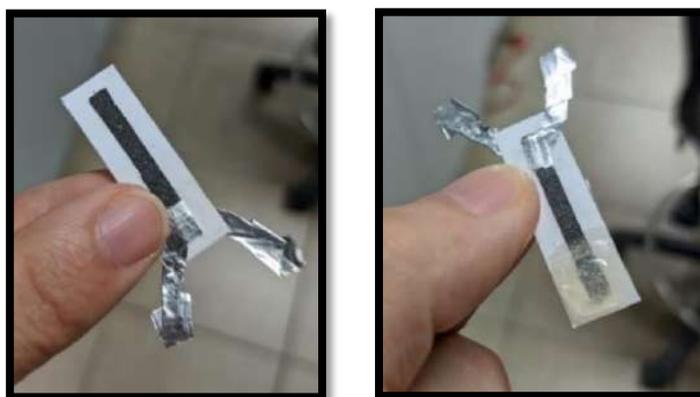


Figura 28. Arreglo terminado de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros.

III.6 Pruebas de potencial a circuito abierto

Con el objetivo de evaluar los diferentes tipos de nanopartículas obtenidos como un sensor de cloruros, se hizo uso de la técnica de potencial a circuito abierto, que consiste en la medición del potencial electroquímico entre dos celdas cuando no circula corriente alguna. Medir el potencial y compararlo con la concentración de cloruros permite establecer una curva de calibración para los sistemas de electrodos, de manera que se pueda interpretar posteriormente la concentración a partir del voltaje medido.

Las pruebas fueron realizadas en un potenciostato BioLogic 3300, midiendo el potencial a circuito abierto de las celdas, de tres maneras distintas; las primeras dos, en agitación añadiendo alícuotas de una solución de NaCl, una con un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl y la segunda con los arreglos mostrados en la sección anterior. Por último, se probaron los arreglos añadiendo una gota de una solución de concentración conocida de cloruros y midiendo el potencial por un tiempo determinado para cada una de ellas. Las concentraciones de cloruros probadas fueron de 0 a 220mM, de manera que fuera posible cubrir el rango de concentraciones recomendado para sensores de cloruros en sudor.

III.6.1 Nanopartículas de plata comerciales

En primera instancia, se realizaron pruebas de OCP con el electrodo modificado con las NPs de Ag comerciales y cloruros (conectado al electrodo de trabajo del potenciostato), contra un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl (conectado a la referencia y el contraelectrodo del equipo). Estos fueron conectados y sumergidos en 5 mL de buffer de fosfatos (pH 7.4), tal y como se encuentra ilustrado en la Figura 29, donde además se observa el agitador magnético utilizado para homogeneizar la concentración del medio al realizar adiciones y aumentar la difusión desde el seno de la solución hasta la superficie del electrodo.



Figura 29. Acomodo de los electrodos, con un electrodo modificado con nanopartículas y cloruros como electrodo de trabajo y electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl.

Después de la conexión, el primer paso es esperar la estabilidad entre ambos electrodos, monitoreando el potencial leído por el equipo hasta que permanezca constante a una concentración de 0 M de cloruros. Posteriormente, a la estabilización del potencial inicial del blanco, se prosiguió a realizar adiciones de cloruros al buffer. Al realizar las adiciones se presentan cambios de potencial a manera de escalones descendientes, por lo que después de cada adición se debe esperar a la estabilidad del potencial. Una vez terminadas las adiciones se retiraron los electrodos de la solución y fueron enjuagados con agua desionizada para limpiarlos.

De estas primeras pruebas, se obtuvieron resultados como los mostrados en la Figura 30a. En ella se observa qué, al realizar adiciones sucesivas de cloruros a la solución de prueba, se obtiene una respuesta en forma de un cambio negativo de potencial, con diferencias de voltaje entre adiciones cada vez menores. Al graficar el valor del potencial correspondiente a cada concentración de iones cloruro en el medio, se encuentra que sigue un comportamiento logarítmico, pues se ajusta muy bien a la función de este tipo mostrada en la Figura 30b, con un valor de R^2 de 0.9973. Esto se encuentra en concordancia con lo estipulado en la ecuación de

Nernst (Angst et al. 2010), que indica una relación logarítmica entre la actividad de los iones en solución con el potencial a circuito abierto medido.

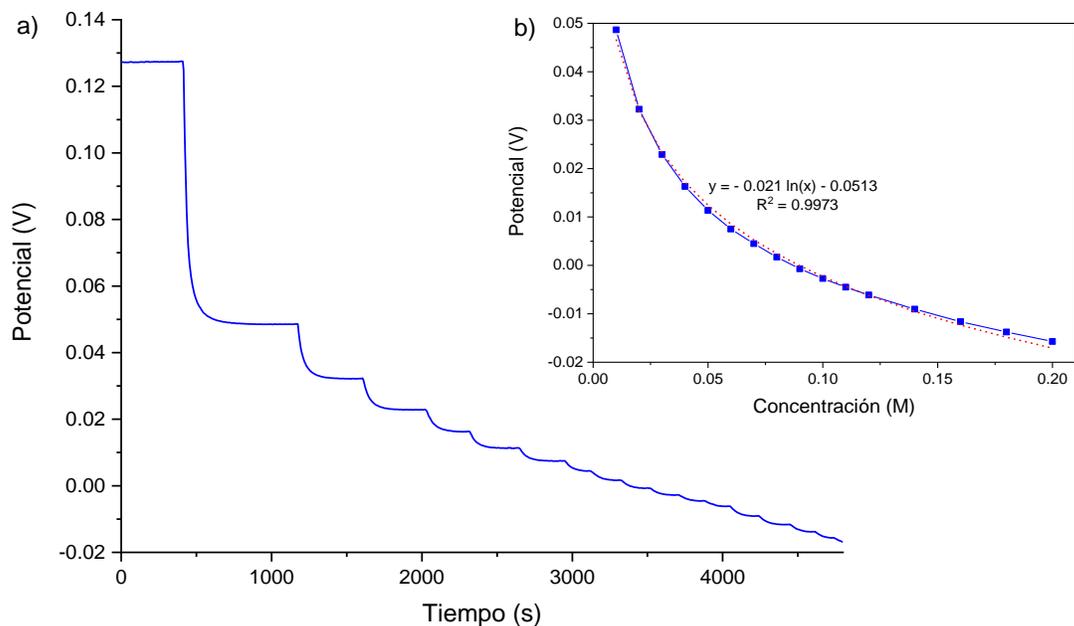


Figura 30. A) Resultados de prueba de potencial a circuito abierto, con un electrodo modificado con NPs de plata comerciales y cloruros, contra electrodo de referencia comercial Ag/AgCl. En buffer de fosfatos (PBS) pH 7.4, sumergido y en agitación. b) Gráfica de potencial medido contra concentración de cloruros, ajustado a una línea de tendencia logarítmica (punteada).

Además, realizando una conversión de concentración a actividad de iones cloruro con base en tablas reportadas en la literatura (Angst et al. 2010), se obtuvo la gráfica mostrada en la Figura 31. En ella se encuentra también la ecuación de la línea de tendencia logarítmica. Recordando lo planteado por la ecuación de Nernst, el coeficiente que acompaña al término logarítmico es RT/F , cuyo valor numérico (utilizando valores de $R = 8.314472 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$, y $F = 96485.3366 \text{ C mol}^{-1}$) es de 0.02568. Al comparar este valor con el presentado en la ecuación de la línea de tendencia se encuentra una gran similitud.

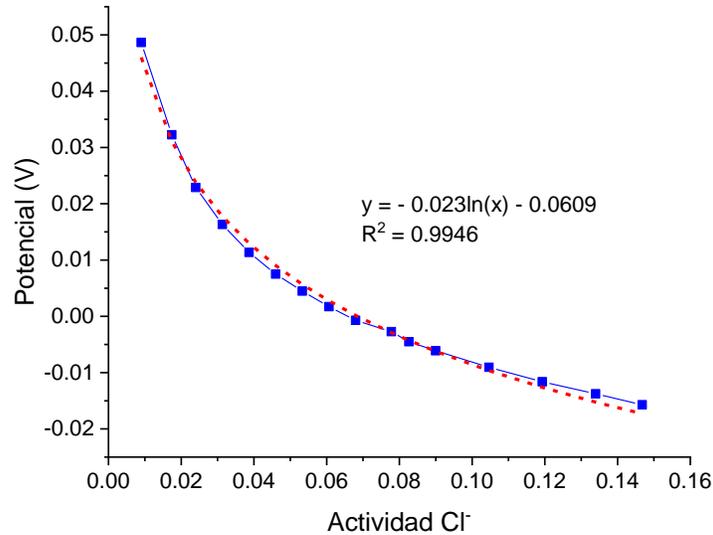


Figura 31. Gráfica de potencial de celda contra actividad de iones cloruro, para la prueba OCP del electrodo modificado con NPs de Ag y cloruros contra una referencia comercial de Ag/AgCl.

Una vez comprobado el funcionamiento individual de los electrodos modificados con nanopartículas como electrodos de trabajo para el sensor, se prosiguió con la prueba de los arreglos elaborados con un par de ellos. Las conexiones se hicieron de manera muy similar al caso de la referencia comercial, aunque en este caso el electrodo de referencia del potenciostato fue conectado a la pseudo referencia presente en la celda (recubierta con el gel y la cápsula), y se ilustra en la Figura 32. A la izquierda, en una vista más alejada se puede ver la conexión con los cables que van directo al potenciostato. Fue necesario envolver los electrodos en papel aluminio por el extremo libre, para facilitar la conexión de los caimanos.

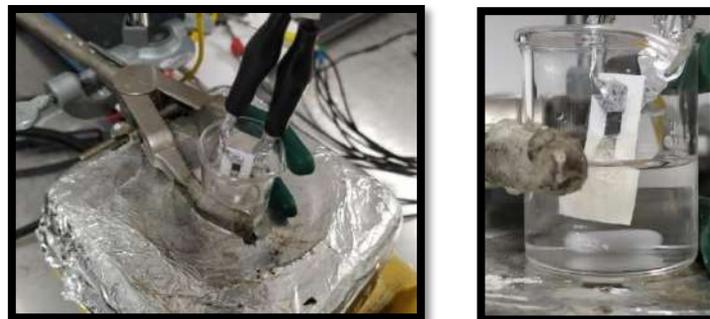


Figura 32. Conexión del arreglo de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros, para la prueba de adiciones de iones Cl⁻ en agitación con electrodos sumergidos.

Entonces se realizó la misma prueba de adiciones de cloruros, con los electrodos sumergidos y la solución en agitación, primero en buffer de fosfatos de pH 7.4. En la Figura 33a se muestran los resultados obtenidos. Las adiciones, en esta ocasión, pudieron realizarse de 10 en 10 mM de iones cloruro, y se observa nuevamente el descenso de potencial a partir de la adición de estos iones al medio, con un comportamiento que sigue obedeciendo la tendencia logarítmica, como puede observarse en la gráfica de la Figura 33b y en su ecuación y valor de R^2 de 0.9998.

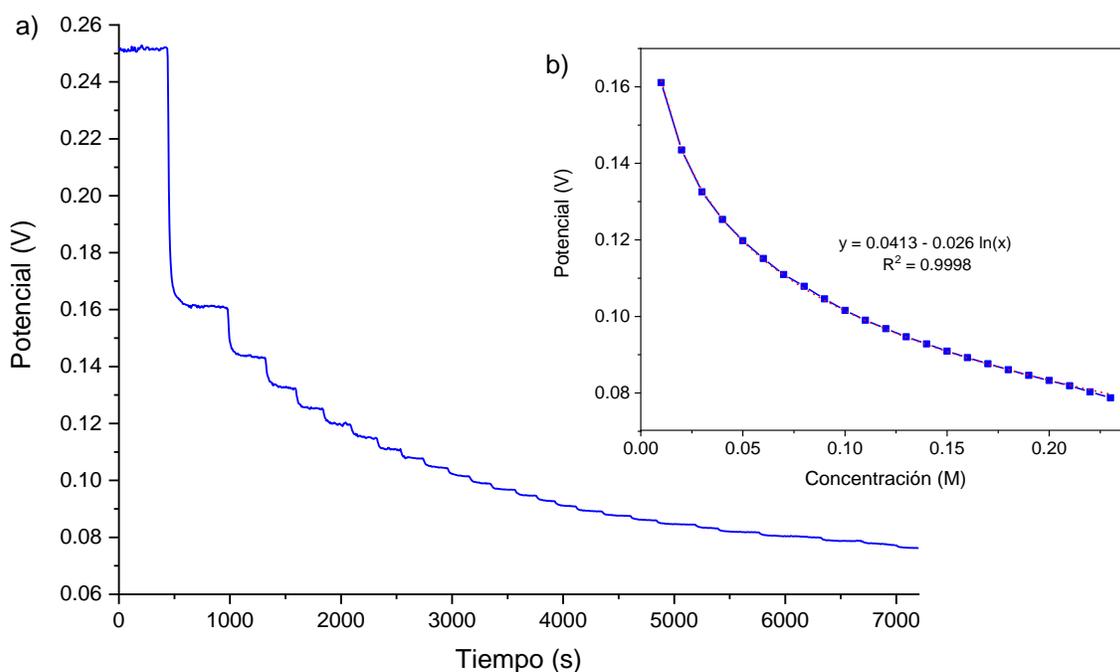


Figura 33. a) Prueba OCP para un arreglo de electrodos modificados con NPs de plata (electrodo de trabajo desnudo y referencia en gel de agar, 1M de KCl), con adiciones de cloruros de 10 en 10Mm, en PBS pH 7.4. b) Gráfica de potencial medido concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (punteada).

Posterior a esto, se modificó el procedimiento cambiando únicamente el buffer a un valor de pH de 5.6, con el objetivo de que fuera más semejante al presente en el sudor. Siguiendo la misma técnica, se obtuvieron los resultados mostrados en la Figura 34a. Estos son similares a los presentados anteriormente, aunque en potenciales más bajos, lo cual puede notarse a partir del potencial inicial (a concentración 0 Mm de cloruros), que está disminuido respecto al voltaje medido para la misma concentración en un medio de pH 7.4. Esto concuerda con lo establecido

en la literatura, pues se sabe que a valores de pH más altos, el valor de voltaje a circuito abierto que se obtiene es mayor (El-Taib Heakal et al. 2018).

Únicamente se presentó una anomalía alrededor de los 4000 segundos, pero el potencial volvió a la estabilidad de manera inmediata y la prueba continuó. Visualizando nuevamente los potenciales obtenidos contra las concentraciones a las que corresponden Figura 34b, se observa que el comportamiento logarítmico se ajusta muy bien a los datos. No obstante, fue necesario realizar las últimas cinco adiciones de 20 en 20mM para distinguir con seguridad los cambios de potencial y su estabilidad entre cada una de ellas. El rango de potencial y el valor de la R^2 fueron similares a los obtenidos con el pH de 7.4; sin embargo, se presentó un ligero decremento en ambos que podría atribuirse al hecho del descenso general de potencial mencionado en el párrafo anterior, siendo que al estar en valores más cercanos a cero los cambios de voltaje para cada adición son levemente menores.

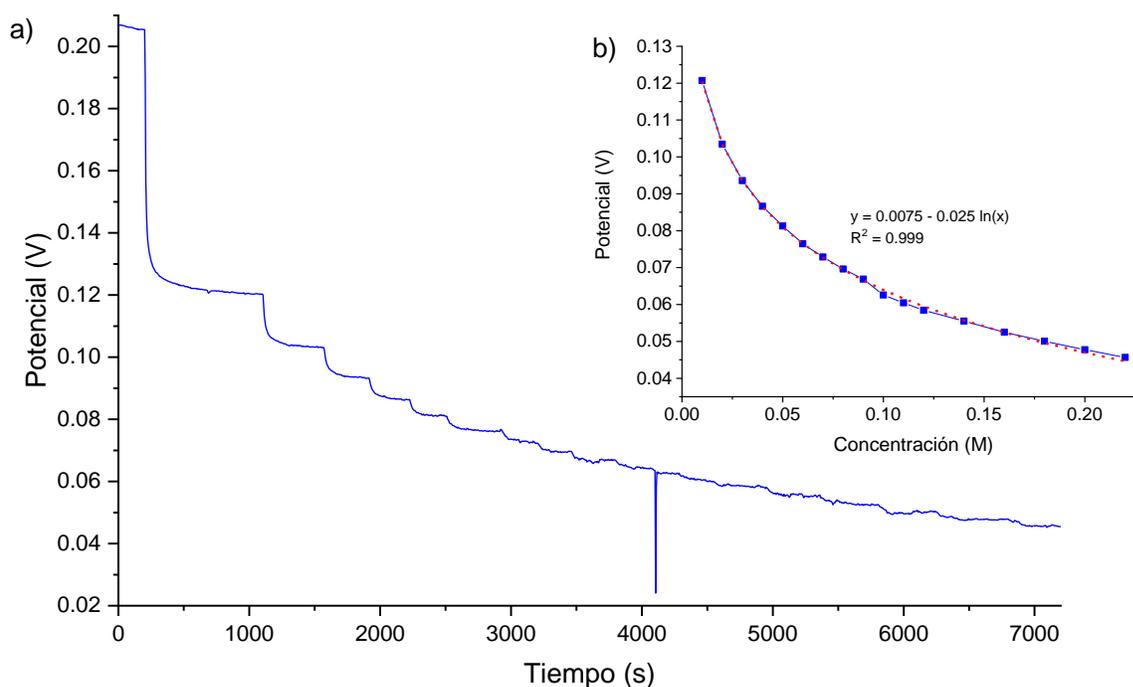


Figura 34. a) Prueba OCP para un arreglo de electrodos modificados con NPs de plata (electrodo de trabajo desnudo y referencia en gel de agar), con adiciones de cloruros de 10 en 10Mm, en PBS pH 5.6. b) Gráfica de potencial medido concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (punteada).

Posteriormente, para asemejar más la interacción de los electrodos con el funcionamiento a manera de parche, se procedió a realizar pruebas de OCP en esta ocasión con gotas que cubrieran el área modificada del electrodo de trabajo y el puente salino. Las gotas utilizadas para las pruebas fueron obtenidas de soluciones de concentraciones diferentes de iones cloruro, las cuales fueron: 0M (blanco), 30mM, 60mM, 90mM, 120mM, 160mM, 190mM y 220mM. La configuración de esta prueba puede apreciarse en la Figura 35, donde nuevamente se conectan los electrodos con ayuda de contactos de papel aluminio. Las gotas colocadas sobre el electrodo para cada experimento fueron de un volumen de 50 μ L, y fueron colocadas con ayuda de una micropipeta. Para la prueba, primero se estabilizaron los electrodos en agitación con el fin de asegurar mejores mediciones. Posteriormente se colocaron gotas de las concentraciones indicadas anteriormente, y se dejó correr la prueba de potencial a circuito abierto por 15 minutos para cada concentración.



Figura 35. Conexión del arreglo de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros para las pruebas de OCP con gotas.

Esta última prueba de potencial a circuito abierto produjo los resultados que se encuentran en la Figura 36, donde cada línea de diferente color corresponde a los potenciales medidos para cada gota de concentración conocida. Comparando el potencial de la primera gota correspondiente a 0 mM de cloruros (línea naranja) con el potencial obtenido por agitación para la misma concentración (línea azul), puede observarse que el primero es menor. Al igual que en experimentos anteriores, el potencial disminuye cada vez en menor medida al ir aumentando la concentración. Extrayendo y graficando los potenciales medidos para cada concentración a los 500 segundos en la prueba mostrada anteriormente, vuelve a presentarse el comportamiento

logarítmico al descender los potenciales, lo cual se comprueba analizando y comparando la gráfica obtenida con la línea de tendencia logarítmica presentada en la Figura 37.

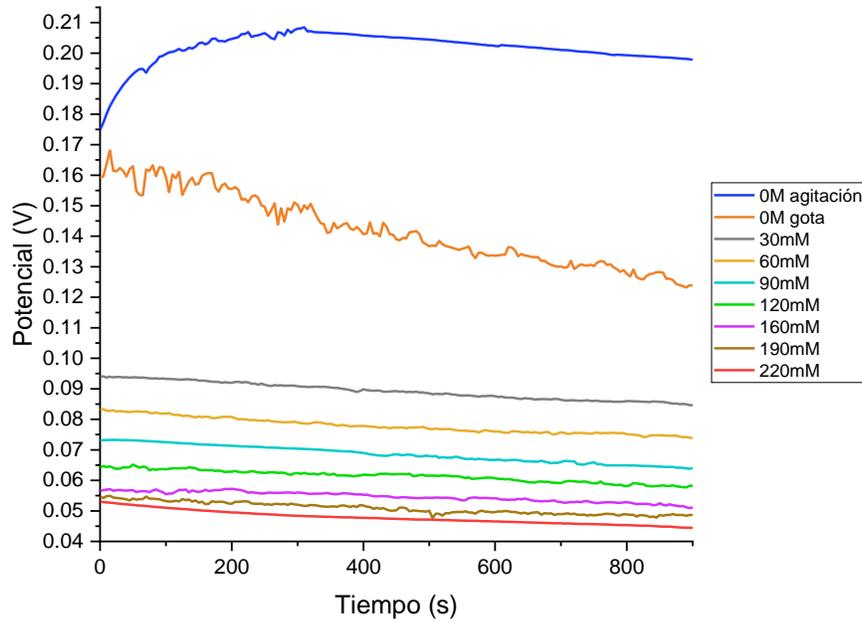


Figura 36. Resultados de pruebas de OCP con los arreglos fabricados con electrodos modificados con NPs de plata y cloruros. Cada línea de color corresponde a una concentración diferente. Potencial contra referencia fabricada.

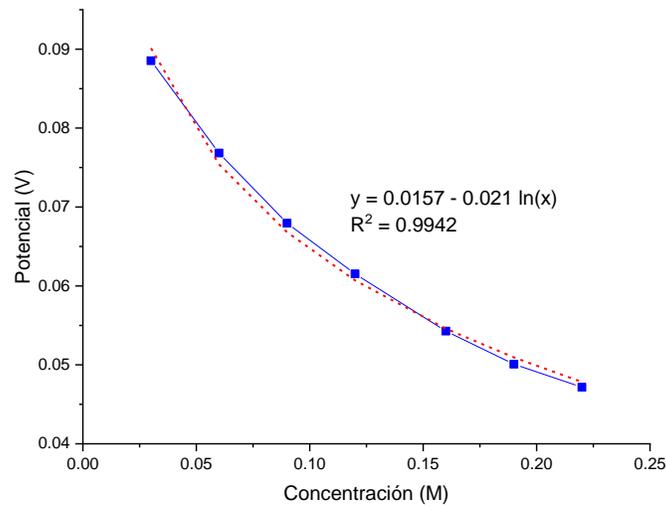


Figura 37. Gráfica de potencial (contra el electrodo de referencia fabricado) contra la concentración de cloruros, con línea de tendencia logarítmica (línea punteada).

De la repetición por triplicado de la misma prueba se obtuvieron resultados de potenciales contra concentración de iones cloruro, con comportamientos similares en los tres experimentos. Calculando los potenciales promedio para cada concentración a partir de los resultados de las pruebas, y considerando las desviaciones estándar de cada uno de ellos, se obtuvo la curva mostrada en la Figura 38. La línea de tendencia logarítmica tiene un muy buen ajuste a la gráfica obtenida. Realizando el análisis de los datos obtenidos, se encontró un límite de detección de 6.08 mM y un límite de cuantificación de 19.2 mM, los cuales se encuentran por debajo del superior límite de concentración normal de cloruros en sudor de 30 mM, y muy por debajo de los rangos de casos cercanos al límite (30-60 mM) y positivos (>60 mM) para la fibrosis quística.

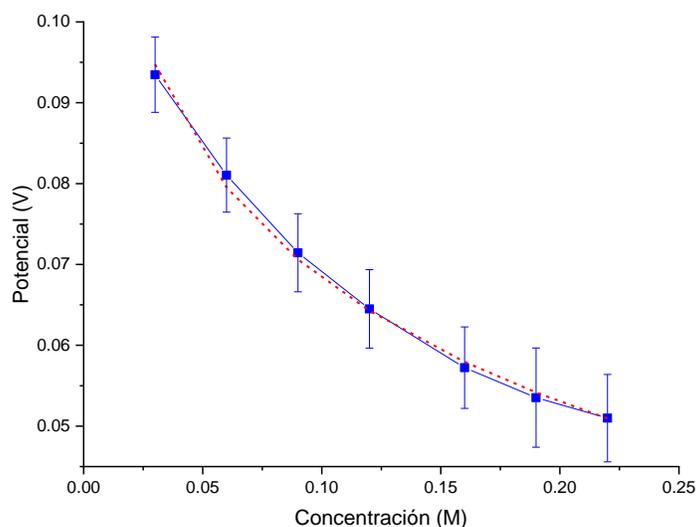


Figura 38. Gráfica de potencial contra concentración, obtenida del triplicado de pruebas OCP realizadas con celdas de electrodos modificados con la tinta comercial de NPs de Ag y cloruros.

III.6.2 Nanopartículas de plata sintetizadas

Las pruebas con nanopartículas de plata obtenidas por síntesis química se realizaron de la misma manera a la utilizada con las NPs comerciales. Para ello, se realizaron experimentos de OCP con un electrodo de trabajo modificado con NPs y cloruros, y un electrodo de referencia de Ag/AgCl comercial. Nuevamente, se sumergieron ambos electrodos en 5 mL de PBS de pH 5.6, realizando adiciones de 10 en 10 mM en agitación constante. Las gráficas mostradas en la Figura 39 muestran que, al igual que con las NPs comerciales, se obtuvo una respuesta a manera de

escalones descendentes, cuyos decrementos siguen una tendencia logarítmica, con un buen ajuste ($R^2 = 0.9966$). No obstante, con este tipo de electrodos la estabilización fue más lenta en comparación con los electrodos con NPs comerciales. Otro punto importante es que las pruebas debieron realizarse por periodos más prolongados para alcanzar la estabilidad en los escalones, tal y como se aprecia en la escala de tiempo en la Figura 39a; sin embargo, esto no afectó el rango de concentraciones de cloruros con el que se pudo trabajar.

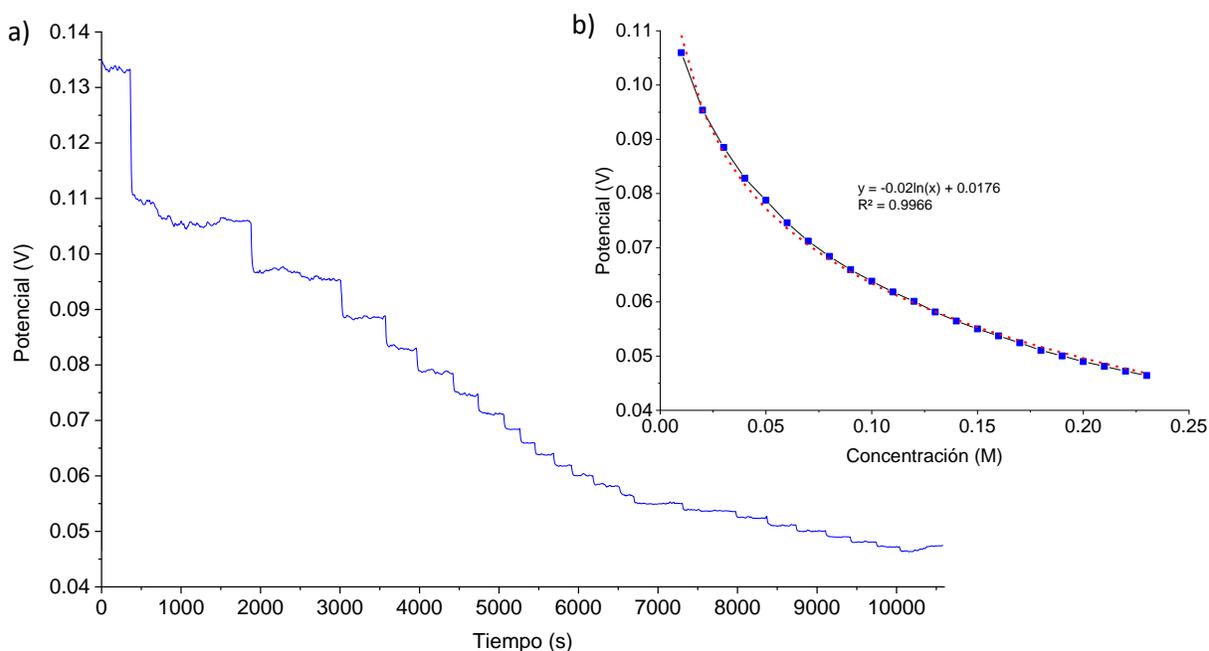


Figura 39. Resultados de las pruebas OCP en agitación agregando concentraciones de cloruros en el medio a pH 5.6, usando un electrodo de trabajo con NPs de Ag y cloruros contra una referencia comercial de Ag/AgCl. a) Gráfica de potencial vs tiempo al hacer las adiciones y b) gráfica de potencial vs concentración de iones Cl^- en el medio, con línea de tendencia (roja punteada).

Posteriormente, se evaluaron en agitación las celdas elaboradas con electrodos modificados con nanopartículas sintetizadas y cloruros (en una configuración como en la Figura 32). La estabilización del potencial en PBS 0 mM de cloruros fue de tiempo prolongado (aproximadamente 3 horas de duración), por lo cual las celdas se mantuvieron por más tiempo sumergidas y esto provocaba que se despegara la cubierta epóxica, afectando así el potencial de referencia y resultando en experimentos inconclusos. A pesar de ello, se logró completar una prueba de esta manera, con los resultados mostrados en la Figura 40. Su duración fue similar a

la realizada con el electrodo de referencia comercial. Comparando los parámetros del ajuste logarítmico puede apreciarse que este último es incluso mejor por su valor de R^2 más cercano a 1.

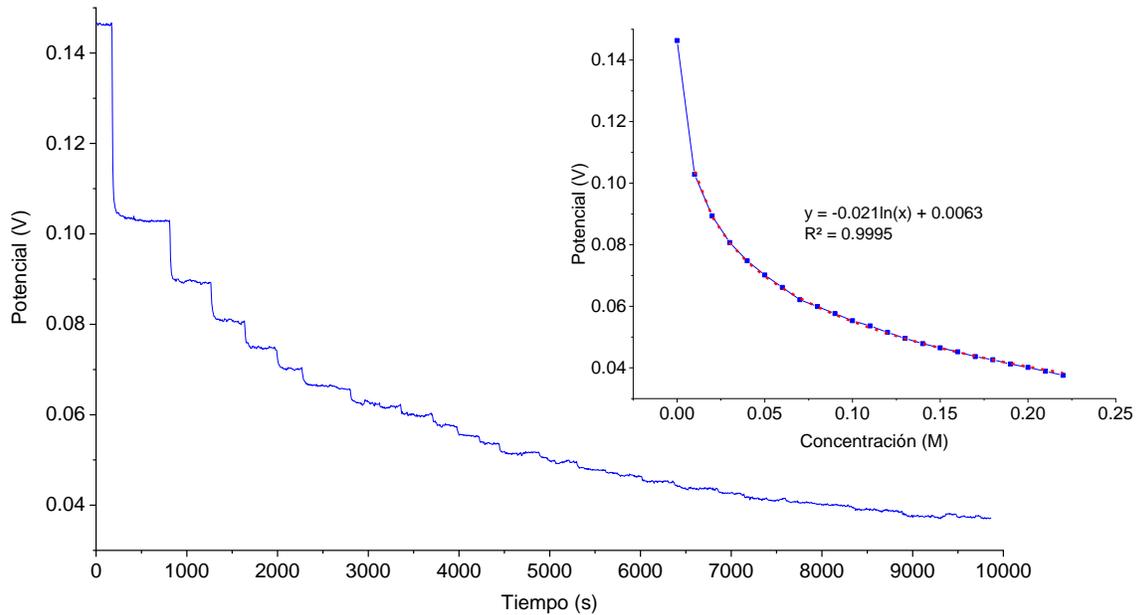


Figura 40. Resultados de las pruebas OCP en agitación agregando concentraciones de cloruros en el medio a pH 5.6, usando un arreglo de dos electrodos con NPs de Ag y cloruros (uno en gel de agar 1M de KCl). A) Gráfica de potencial vs tiempo al hacer las adiciones y b) gráfica de potencial vs concentración de iones Cl^- en el medio, con línea de tendencia (roja punteada).

Finalmente, se realizaron las pruebas OCP con gotas de PBS de pH 5.6 y concentraciones de cloruros de 0, 10, 30, 60, 90, 120, 160, 190, y 220 mM, cada una con duración de 15 minutos. Los resultados obtenidos presentaron altas variaciones de voltaje para las concentraciones de cloruros iguales, posiblemente por la saturación de las NPs de Ag sobre los electrodos. Por ello, se aumentó la cantidad de NPs depositadas. Con este motivo, se modificó el procedimiento de preparación de la tinta de nanopartículas sintetizadas, agregando el triple de ellas a la misma cantidad de Nafion y alcohol isopropílico, mientras que el volumen agregado de la tinta a los electrodos permaneció igual. Este cambio resultó efectivo, obteniendo los resultados mostrados en la Figura 41. Se puede apreciar que existe una disminución cada vez menor en el voltaje al utilizar concentraciones de cloruros cada vez mayores, lo cual vuelve a seguir el comportamiento logarítmico. Esto se comprueba con la gráfica de la Figura 42, en la cual se muestran los voltajes

promedio para cada concentración. Ajustando a una línea de tendencia logarítmica se obtuvo una R^2 de 0.9987.

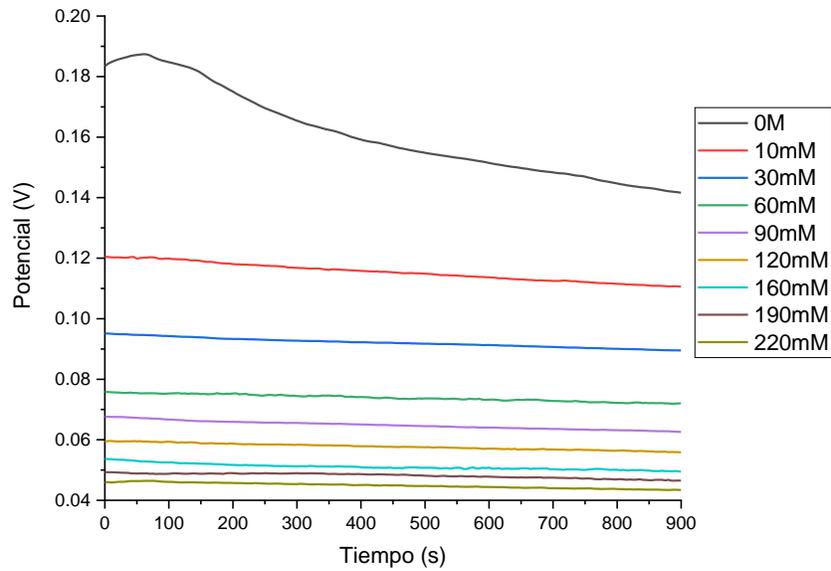


Figura 41. Resultados de pruebas OCP para una celda de electrodos con NPs de Ag y cloruros (uno en gel de agar 1M KCl), realizada con gotas de concentración conocida de Cl⁻ y pH 5.6, por 15 minutos.

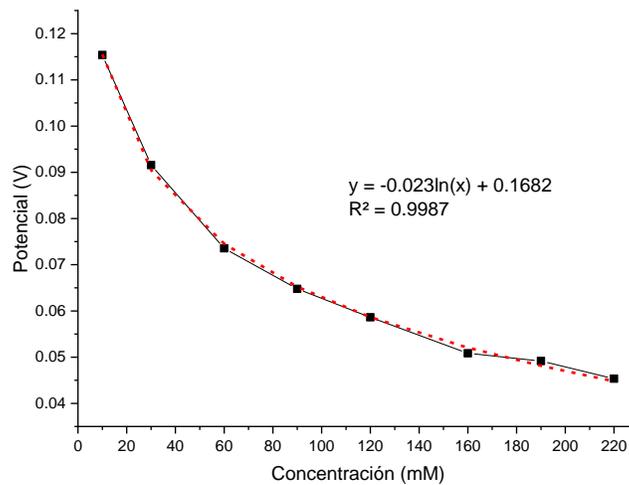


Figura 42. Gráfica de potencial contra concentración de cloruros, obtenida de los datos de la prueba OCP en la figura anterior.

Se realizó un triplicado de estas pruebas, con lo cual se obtuvo un resultado mostrado en la Figura 43. La desviación estándar de cada una de las concentraciones en esta ocasión fue más

reproducible reflejado en los resultados obtenidos en cada prueba tuvieron siendo similares. De igual manera, el comportamiento continuó siendo logarítmico con un valor de R^2 de 0.9997. Se obtuvieron los límites de detección y de cuantificación, resultando de 0.337 y 7.422 mM respectivamente. Estos resultados fueron positivos, ya que se obtuvieron en un rango menor a 30 mM de cloruros, lo cual es el límite de la concentración normal de cloruros en el sudor.

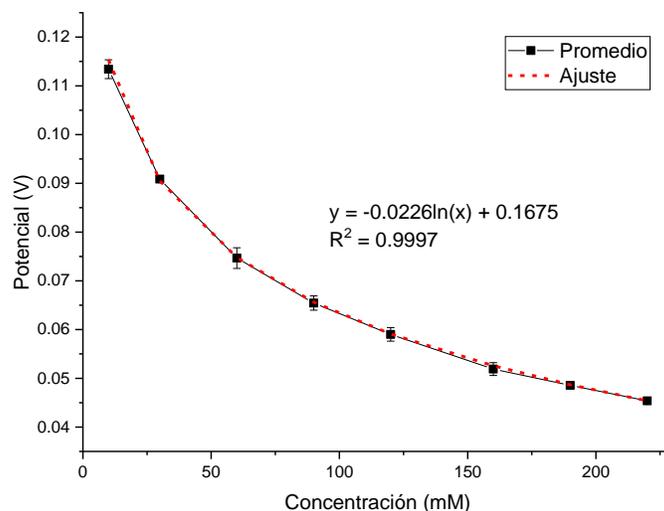


Figura 43. Gráfica de la curva de calibración para las celdas de NP de plata sintetizadas y cloruros. Datos obtenidos del triplicado de pruebas OCP con dichas celdas, con ajuste a una línea de tendencia logarítmica.

III.6.3 Electrodepósitos de plata

La evaluación de los electrodos modificados por electrodepósito de plata y cloruros fue más complicada que con las nanopartículas mencionadas anteriormente. Se realizaron pruebas de OCP en agitación en PBS pH 5.6 con un electrodo modificado como el de trabajo y un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl, esperando la estabilización a una concentración de 0 mM, para después realizar las adiciones de 10 en 10 mM con cinco electrodos. La evaluación de cinco electrodos diferentes fue complicada por el tiempo prolongado en estabilidad (similar al de las NPs de Ag sintetizadas químicamente). Sin embargo, con uno de los electrodos usados como contraelectrodo al realizar el proceso de electrodepósito se logró obtener una prueba cuyos resultados se muestran en la Figura 44.

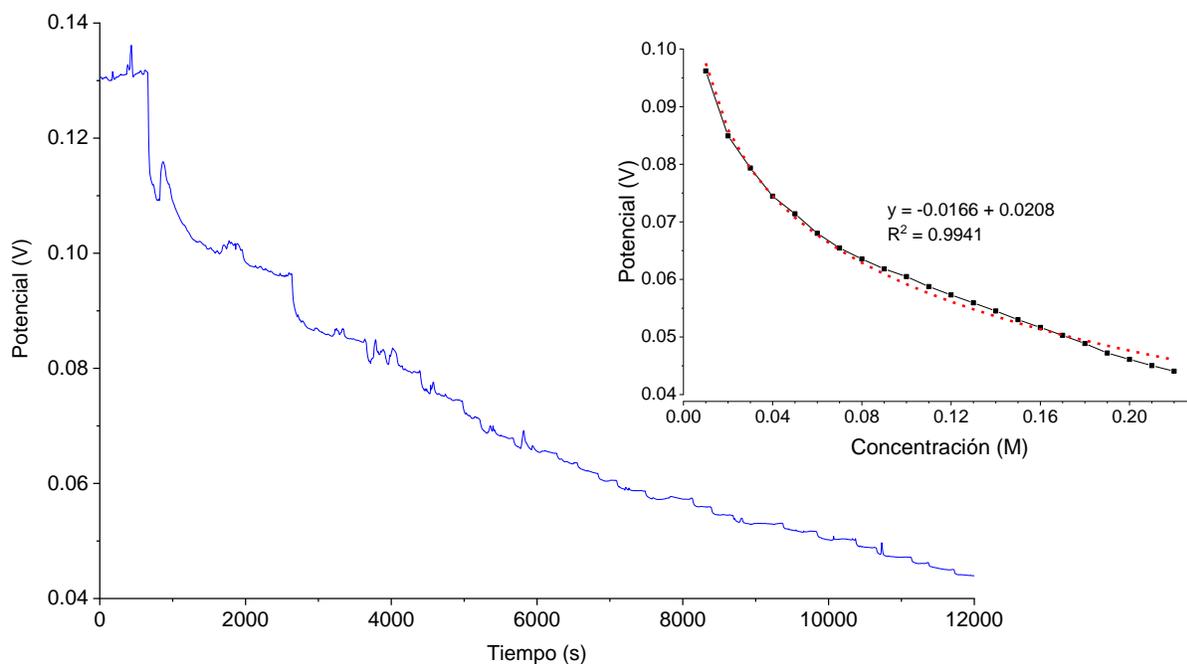


Figura 44. Resultado de la prueba OCP realizada con un electrodo modificado con electrodeposición de plata y cloruros contra un electrodo de referencia comercial de Ag/AgCl. a) gráfica de potencial contra tiempo y b) gráfica de potencial contra concentración de Cl⁻ en el medio.

Como se aprecia en la Figura 44a, se observó el descenso de potencial al realizar las adiciones de cloruros al medio, aunque con complicaciones presentadas por el ruido en algunas secciones de la prueba, así como la estabilización más tardada de los potenciales en cada escalón. Esto ocasionó que la prueba se prolongara hasta las tres horas con 20 minutos. Además, en la Figura 44b se puede apreciar que sigue un comportamiento logarítmico con una R^2 de 0.9941. A partir de esto puede decirse que este tipo de modificación por electrodeposición funciona, aunque debe ser mejorada la técnica para obtener resultados más reproducibles.

III.7 Implementación del sistema electrónico

Con el fin de obtener un sensor independiente de los potenciostatos utilizados para caracterizar la respuesta de los electrodos elaborados, se planteó el desarrollo de un sistema electrónico que permitiera medir el potencial de la celda de electrodos modificados, el procesamiento y conversión de los datos y la transmisión de los resultados para su posterior interpretación.

En primera instancia se llevaron a cabo pruebas con el convertidor analógico a digital (ADC) con el fin de caracterizar su respuesta al aplicar diferentes voltajes de entrada. Para ello, se conectó el dispositivo a un potencióstato (Gamry Reference 600), programando para lograr una sincronía entre el envío de pulsos del potencióstato a la tarjeta y la lectura de datos de esta última.

Para controlar el potencióstato desde el software de Gamry utilizando la herramienta del constructor de secuencias, se programaron las instrucciones para el envío y recepción de pulsos de control del potencióstato a la placa de manera que existiera una coordinación entre ambos. Primero, un conjunto de pulsos entre ambos dispositivos permite establecer la conexión y comenzar la prueba. Posteriormente, desde el contraelectrodo del potencióstato se suministró el voltaje, para después utilizar pulsos de comunicación que sirven para controlar la toma de lecturas desde el ADC de la placa. Una vez tomada la lectura y confirmada desde el Arduino hacia el potencióstato, se procedió a incrementar el voltaje en 0.02 V. Lo anterior se repitió hasta cubrir el rango de 0 a 5 V, después de lo cual se detiene la prueba. Los resultados de la respuesta obtenida del ADC ante la entrada de los diferentes voltajes se muestra en la Figura 45, donde se aprecia una respuesta en forma de línea recta, con un muy ligero ruido.

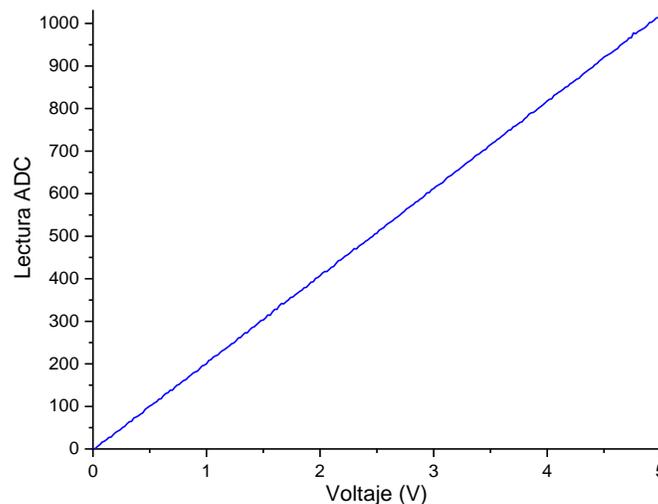


Figura 45. Gráfica de la respuesta del ADC de la placa Arduino UNO ante la aplicación de diferentes voltajes de entrada.

Posteriormente, para amplificar la respuesta obtenida de las adiciones de cloruros a los arreglos fabricados en las pruebas de circuito abierto, se implementó el uso de un MOSFET BSS138. Antes

de aplicarlo, se estudió la manera en que este componente responde ante la entrada de un potencial determinado en la compuerta. En primer lugar, se conectó el MOSFET al potencióstato, conectando el contraelectrodo a la compuerta, el electrodo de trabajo al surtidor y se utilizó una placa Arduino para la alimentación de voltaje a 5 V en el drenador, en conjunto con una resistencia de $10k\Omega$. La representación esquemática de esta configuración se muestra en la Figura 46.

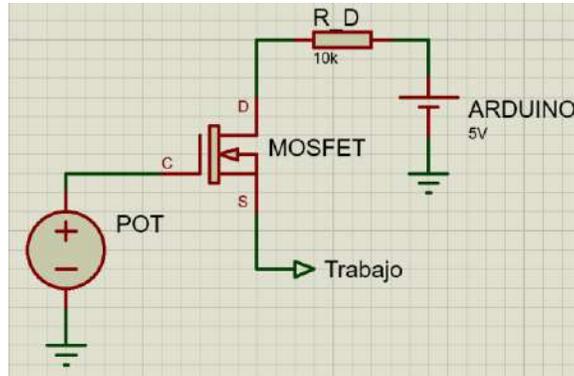


Figura 46. Conexión del potencióstato, el MOSFET y la placa Arduino para las pruebas de respuesta del MOSFET.

La técnica utilizada en el potencióstato fue una voltamperometría lineal, esto con el objetivo de observar las variaciones en la corriente que pasa a través del drenador y el surtidor del MOSFET a diferentes voltajes de compuerta. El barrido de potencial se realizó a una velocidad de 10 mV/s , en una ventana de 0.0 a -2.0 V , puesto que el voltaje suministrado por el contraelectrodo del potencióstato es inverso.

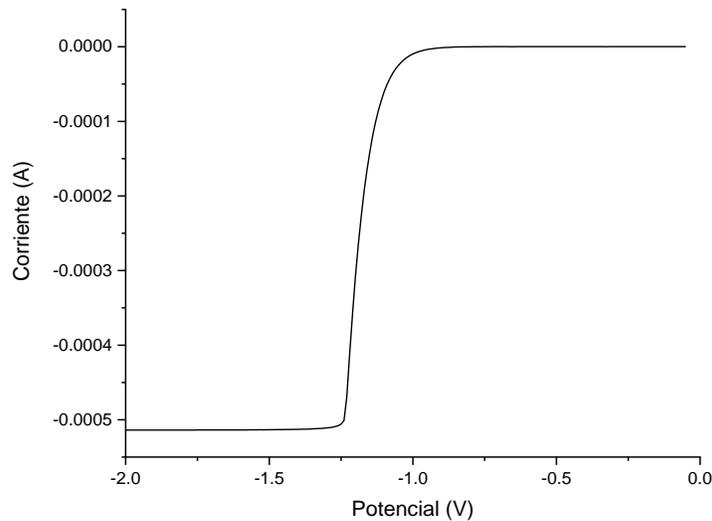


Figura 47. Resultado de la voltamperometría lineal realizada al MOSFET para obtener la curva característica de su respuesta.

Para observar el efecto del potencial en la celda sobre la respuesta del MOSFET, se realizaron pruebas conectando en serie el arreglo de electrodos modificados entre el voltaje suministrado (proveniente del contraelectrodo del potenciostato) y la compuerta del MOSFET. Para ello se colocó la celda con gotas de diferentes concentraciones de cloruros, desde el blanco (0 mM) hasta 220 mM. El esquemático de esta configuración se muestra en la Figura 48.

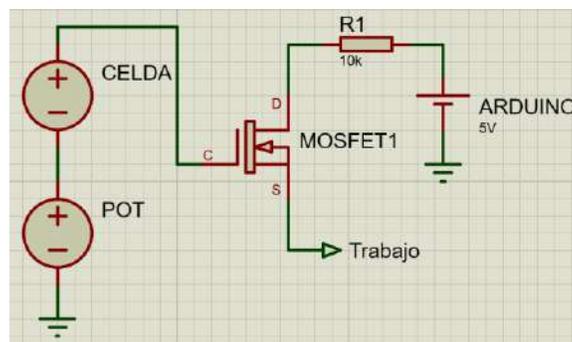


Figura 48. Configuración para las pruebas del MOSFET añadiendo la celda de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cloruros.

La adición de la celda a la conexión tuvo el efecto de recorrer la curva obtenida al compararla con la obtenida únicamente con el voltaje suministrado por el potenciostato. Como puede observarse en la Figura 49, el rango de voltaje en el cual se forma el canal entre el drenador y la compuerta

se recorrió a una mayor magnitud, lo cual se puede atribuir al voltaje que se suma desde la celda. De esta manera, el desplazamiento mayor se dio con la concentración de 0 mM que tiene el mayor voltaje de celda, mientras que para las concentraciones de 30 y 220 mM mostraron un desplazamiento cada vez menor.

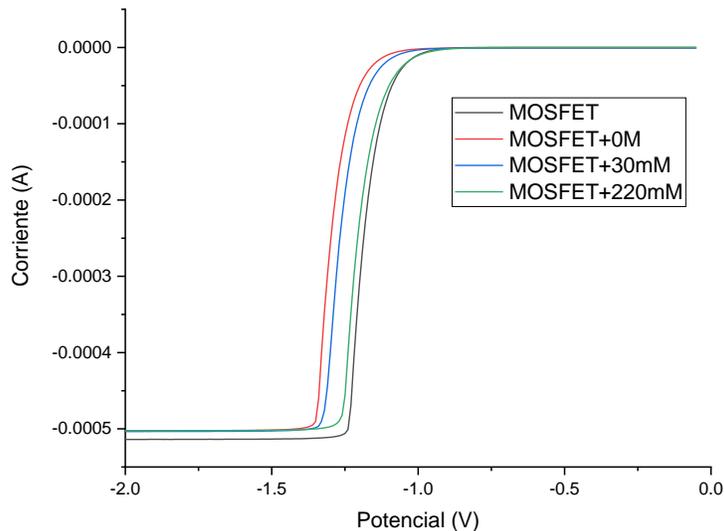


Figura 49. Resultado de las voltamperometrías lineales obtenidas al agregar la celda, con diferentes concentraciones de cloruros.

Con base en la curva obtenida, se realizaron pruebas para la determinación del punto de operación. Para ello se tomó un punto de partida cercano a la curva superior de la gráfica, y se suministró el voltaje presente en el mismo de manera constante a la compuerta del MOSFET. A partir de ahí, con la suma de voltaje procedente de la celda (el cual es a su vez dependiente de la concentración de cloruros) se obtiene un voltaje total que llega a la compuerta y permitiría la formación del canal de conducción entre el drenador y el surtidor en mayor o menor medida. Una concentración menor entonces produciría una mejor formación del canal en comparación a las concentraciones bajas. Esto tiene dos efectos: el primero, es que se obtiene una corriente de mayor magnitud entre el drenador y el surtidor con las concentraciones más bajas; el segundo, por lo contrario, es que se obtiene entonces un voltaje menor entre las mismas dos terminales del MOSFET con las concentraciones más bajas.

Con el fin de probar los puntos de operación propuestos, se procedió a realizar pruebas tanto de corriente (utilizando una cronoamperometría) como de potencial (prueba OCP) entre el drenador y el surtidor del MOSFET. Para poder realizar las dos pruebas al mismo tiempo se conectaron dos potenciómetros. El primero de ellos conectando su contraelectrodo para proporcionar el punto de operación a la celda, su electrodo de referencia al drenador del MOSFET y el electrodo de trabajo al surtidor. Del segundo potenciómetro se conectó el electrodo de referencia al drenador y el de trabajo al surtidor. La prueba de cronoamperometría se configuró con el voltaje del punto de operación determinado. A partir de esto se obtuvo un punto de operación en -1.085 V que permitía incluir el rango de voltajes de la celda dentro de la ventana de voltaje en que se presenta la formación del canal de conducción en el MOSFET. Las corrientes y los voltajes medidos fueron: $454\text{ }\mu\text{A}$ y 4.91 mV para 0 M , $145\text{ }\mu\text{A}$ y 3.885 V para 30 mM , y $74.26\text{ }\mu\text{A}$ y 4.317 V para 220 mM .

Seguido de esto, y analizando la forma de las curvas del MOSFET, se propuso una configuración ligeramente diferente que consistió en la conexión inversa de la celda (Figura 50), conectando el electrodo de trabajo de la celda a la entrada de voltaje y el de referencia a la compuerta del MOSFET, de manera que se restara el voltaje en lugar de sumarse. Al realizar este cambio fue necesario encontrar un punto de operación diferente, en esta ocasión en la rodilla inferior de la curva obtenida (Figura 49). El efecto de esto fue inverso al obtenido con la conexión directa, pues se obtuvo una disminución en la corriente de drenador a surtidor y un aumento en el voltaje entre dichos puntos al colocar las concentraciones menores.

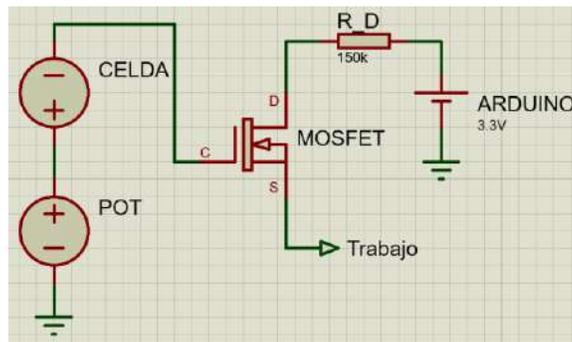


Figura 50. Configuración para la conexión de la celda al circuito de manera inversa.

Después de algunas pruebas, se determinó un punto de operación de -1.24 V , a partir del cual se restarían los voltajes de la celda. Se midieron nuevamente tanto la corriente como el voltaje entre

el drenador y el surtidor, y se compararon entre sí y respecto al voltaje de la celda. Para el blanco, se registró una corriente de 92.78 μA y un voltaje de 4.115 V, mientras que para la concentración de 30mM se midieron 164.7 μA y 3.397 V. Por último, la concentración de 220 mM dio una corriente de 458.4 μA y 0.768 V.

Comparando los resultados con la celda conectada de manera directa e inversa, es fácil distinguir que en esta última hay una mayor variación para las concentraciones más altas, teniendo un rango de corriente de 293.7 μA y uno de voltaje de 2.629 V entre las concentraciones de 30 a 220 mM, mientras que al conectar de manera directa la celda el mismo intervalo de concentración tiene rangos de 70.74 μA y 0.432 V. Fue por esta razón que, a partir de este punto, se decidió trabajar con esta conexión inversa de la celda.

De esta información hay puntos a resaltar. Uno de ellos, es que resulta más conveniente trabajar con el voltaje que con la corriente del drenador al surtidor, puesto que la escala de voltaje es suficientemente grande para ser detectada de buena manera por parte del convertidor analógico a digital (ADC) de la ESP32, además de que en caso de utilizar la corriente sería necesario realizar su amplificación, lo cual aumentaría la complejidad de la arquitectura electrónica. El segundo punto importante es la amplificación en voltaje. El rango de voltaje de la celda es de aproximadamente 150 mV, con cambios de voltaje entre las concentraciones más altas de apenas unos cuantos milivolts. Por otro lado, al incorporar la celda en la arquitectura con el MOSFET se tiene una ventana de trabajo de poco más de 3.3 V, aproximadamente 22 veces mayor que el rango de la celda sola.

Una vez realizada esta prueba, se modificó el valor de la alimentación proveniente del Arduino de 5 V a 3.3 V, puesto que la tarjeta ESP32 con que se trabajó más adelante está limitada a dicha magnitud de potencial. Asimismo, para evaluar el efecto de la magnitud de la resistencia colocada entre la alimentación y el drenador del MOSFET en la respuesta, se varió su valor con resistencias de 5k Ω , 10k Ω , 100k Ω , 150k Ω , 300k Ω , 1M Ω y 3.3M Ω .

El cambio en el voltaje de 5 a 3.3 V tuvo el efecto de producir una corriente menor en magnitud, mismo cambio que se puede notar en las líneas negra y azul oscuro de la Figura 51. En la misma figura se presentan los cambios en la curva al cambiar la resistencia del drenador, y queda claro

que, al aumentar la resistencia, la magnitud de la corriente medida es cada vez menor. En un costado se presenta un acercamiento a las curvas obtenidas para las resistencias de 100 kΩ a 3.3 MΩ. Para las resistencias de 100 a 300 kΩ la magnitud de corriente entra en el orden de los microvolts, y es considerablemente más alta que la obtenida con resistencias de 1 y 3.3 MΩ, la cual es incluso difícil de distinguir del ruido.

Otro efecto observado fue la disminución de la ventana de potencial a medida que se incrementaba la resistencia lo cual se ilustra con mayor claridad en la gráfica de la Figura 52. Conociendo lo anterior, se eligió la resistencia de 150 kΩ dado su consumo relativamente bajo de corriente, aunado a que la ventana de potencial que ofrece es suficiente para cubrir el rango de voltaje de la celda al agregarle las gotas con las concentraciones de interés. Debido a la modificación de la resistencia y el voltaje de alimentación para el MOSFET, fue necesario reajustar el punto de operación siguiendo el mismo procedimiento con que se obtuvo anteriormente.

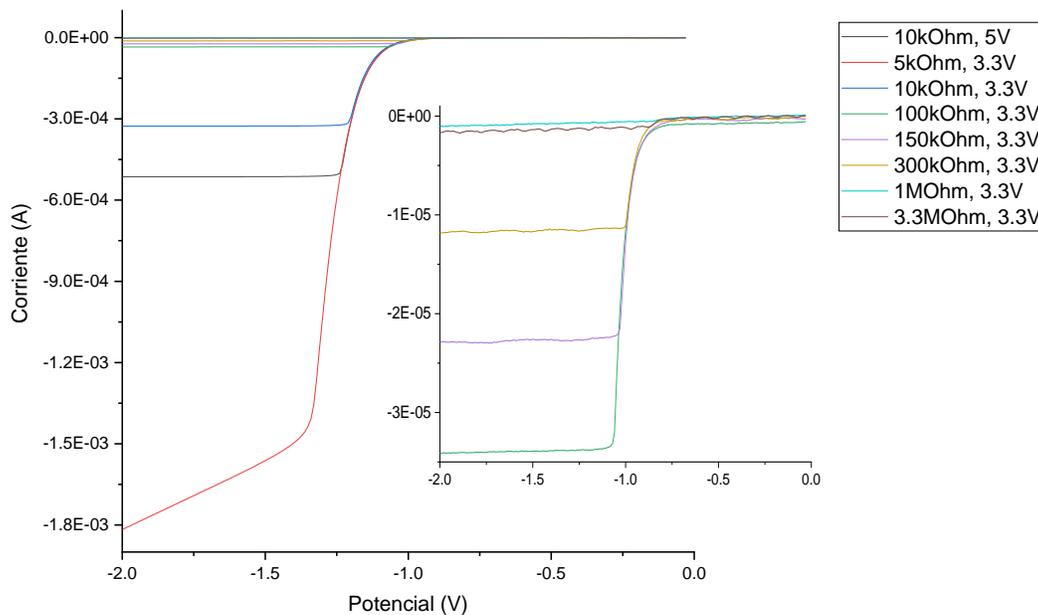


Figura 51. Voltamperometrías realizadas al MOSFET con diferentes alimentaciones del drenador y cambiando el valor de la resistencia del drenador.

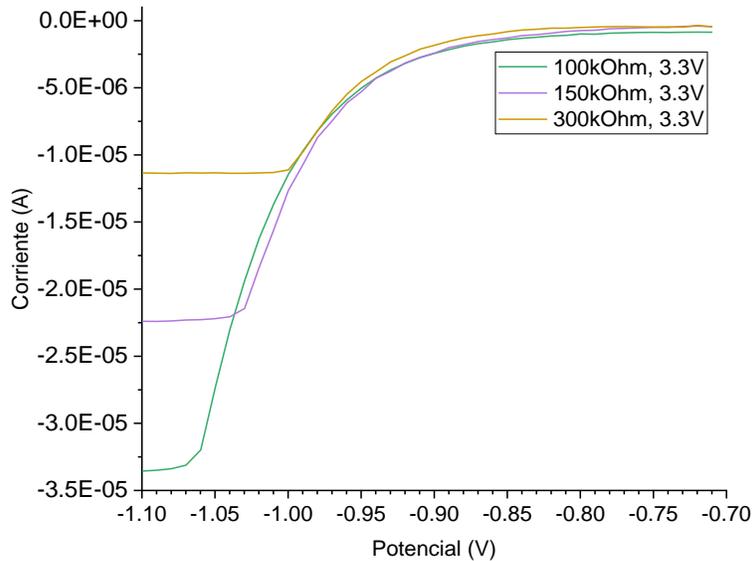


Figura 52. Segundo acercamiento a las gráficas de las voltamperometrías, para las configuraciones con resistencia de 100 kΩ a 300 kΩ.

A continuación, se procedió a diseñar y probar el circuito en una placa de pruebas, comenzando a implementar la tarjeta ESP32. En primer lugar, se sustituyó al potenciómetro para suministrar el voltaje del punto de operación. Para ello fue necesario cargar un código programado en Arduino a la tarjeta para determinar una terminal desde la cual proporcionar el voltaje y controlar su magnitud. El convertidor digital a analógico (DAC) de la ESP32 es de 8 bits, factor que tuvo que ser considerado para indicar a la tarjeta la magnitud de voltaje que debía de otorgar. Esto significa que, para obtener un voltaje determinado, dentro de la programación fue necesario convertir dicho potencial a las unidades del DAC a partir de la relación $x = (V_x * 256)/3.3V$, donde V_x es el valor de voltaje deseado y x es el valor por utilizar por el DAC. El pin de la ESP32 escogido para suministrar el voltaje fue el 25.

Una vez comprobado el funcionamiento de esta configuración, se procedió a incorporar la lectura de voltaje desde una entrada con ADC de la ESP32, pues esto permitiría en etapas posteriores prescindir del potenciómetro. En primera instancia las lecturas obtenidas poseían ruido considerable, por lo que fue necesario introducir un filtrado a partir de promedios. Para ello se programó una función en Arduino que realiza el promedio de una muestra de 400 lecturas, lo cual tuvo un efecto de estabilizar considerablemente los voltajes medidos.

Resultado de observaciones realizadas al hacer diferentes pruebas, se encontró que para tener una conexión más adecuada de todos los componentes fue mejor realizarla de manera secuencial, empezando por conectar la ESP32, seguido del MOSFET de amplificación y por último la celda. Considerando que a futuro estaría todo integrado en la misma placa, se optó por incluir un optoacoplador y un MOSFET entre la celda y la compuerta del MOSFET de amplificación con el fin de poder controlar la conexión. La manera en que se conecta se ilustra en la Figura 53. Primero, el optoacoplador se conecta a una salida de voltaje de la ESP32 (pin 13), la cual está configurada a 3.3 V. Al enviar dicho voltaje por esta salida provoca que se active el optoacoplador, lo cual a su vez ocasiona que llegue el voltaje completo de la alimentación a la compuerta del nuevo MOSFET. La celda de electrodos modificados entonces va conectada al drenador y el surtidor va a la compuerta del MOSFET de amplificación, de manera que cuando se active el optoacoplador y por consiguiente el MOSFET de celda, permita el paso del voltaje proveniente de la resta del punto de operación y del potencial de la celda. Con esto se tiene una conexión controlada de la celda desde la ESP32, la cual es programable. Para realizar el control de esta conexión se programó una función que a partir de la recepción de una señal permitiera la activación del MOSFET de celda. Integrando toda la arquitectura mencionada se realizaron diferentes pruebas para comprobar su funcionamiento, lo cual se hizo en una placa de pruebas.

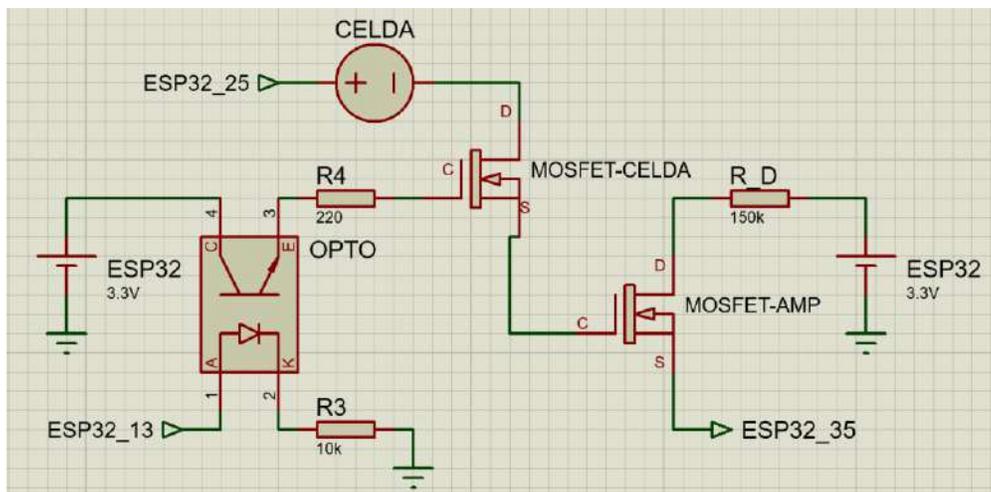


Figura 53. Esquemático de la arquitectura electrónica con dos MOSFET, uno para activar la celda y otro para la amplificación de la señal.

Con el motivo de obtener las lecturas desde la ESP32 sin depender de algún otro dispositivo, se propuso la implementación de una aplicación para teléfonos móviles, desde la cual, y de manera inalámbrica, fuera posible controlar los pasos para la medición, esto aprovechando alguno de los módulos de conexión inalámbrica que se encuentran disponibles en la tarjeta. Para tal fin, se utilizó Blynk, una plataforma que permite crear aplicaciones con una interfaz sencilla basada en widgets con diferentes propósitos, y que además ofrece la posibilidad de una comunicación inalámbrica. La aplicación creada para este sensor cuenta con varios elementos y su interfaz se ejemplifica en la Figura 54. En ella se pueden apreciar los widgets utilizados: diferentes botones, una entrada numérica, una entrada de texto, LEDs virtuales indicadores y una pantalla LCD virtual. A cada uno de estos elementos se les asigna un pin virtual dentro de su configuración para ser usados en la arquitectura de Blynk. Estas ubicaciones son utilizadas después en la programación explicada a continuación.



Figura 54. Interfaz de la aplicación para el sensor, creada en Blynk.

Para el desarrollo del código, realizado nuevamente en Arduino, fue necesario instalar la librería de Blynk correspondiente. La programación debe iniciar con la conexión de la tarjeta ESP32 a Blynk, y debido a que se escogió una comunicación por medio de Wifi, en esta sección se introdujeron los datos de la red. Posteriormente, debido a las características de Blynk, se llevó a cabo una programación basada en eventos. Para ello es necesario que antes de entrar a la

estructura principal del programa, se creen funciones que realicen ciertas acciones o guarden variables a partir de interacciones realizadas por el usuario a través de las diferentes entradas. En este caso, las entradas son los botones y las entradas de texto y numérica. En el caso de los botones, Blynk detecta el cambio de estado provocado por el usuario sobre ellos, y dependiendo si fueron activados o desactivados guarda su estado en una variable (diferente para cada botón). Por su parte, al haber un cambio en la entrada numérica, la programación se encarga de leer el valor introducido en ella y guardarlo en otra variable utilizada para suministrar el punto de operación deseado por el usuario. Por último, al modificarse la entrada de texto, se tiene una función que almacena y convierte la cadena de caracteres recibida a un conjunto de números que son almacenados para ser utilizados como coeficientes. Los botones tienen diferentes funciones: el primero, arriba a la izquierda, es utilizado para enviar una señal para activar el punto de operación del sensor; el segundo botón, en la parte media a la izquierda, se utiliza para activar la conexión de la celda hacia el MOSFET de amplificación; por último, el botón de la derecha se utiliza para realizar mediciones.

Ahora, pasando al ciclo principal, las funciones creadas anteriormente requieren de la ejecución de la función "Blynk.run()", que se encarga de actualizar el estado de cada uno de los pines utilizados, para que, en caso de que detecte algún cambio en uno de ellos, ejecute las instrucciones explicadas en el párrafo anterior. Ya con las diferentes variables que se modifican a partir de dichos cambios es posible construir un algoritmo para el control de las diferentes partes del sistema electrónico y realizar las mediciones, el cual se realizó con base en lo ilustrado en el diagrama de flujo de la Figura 55.

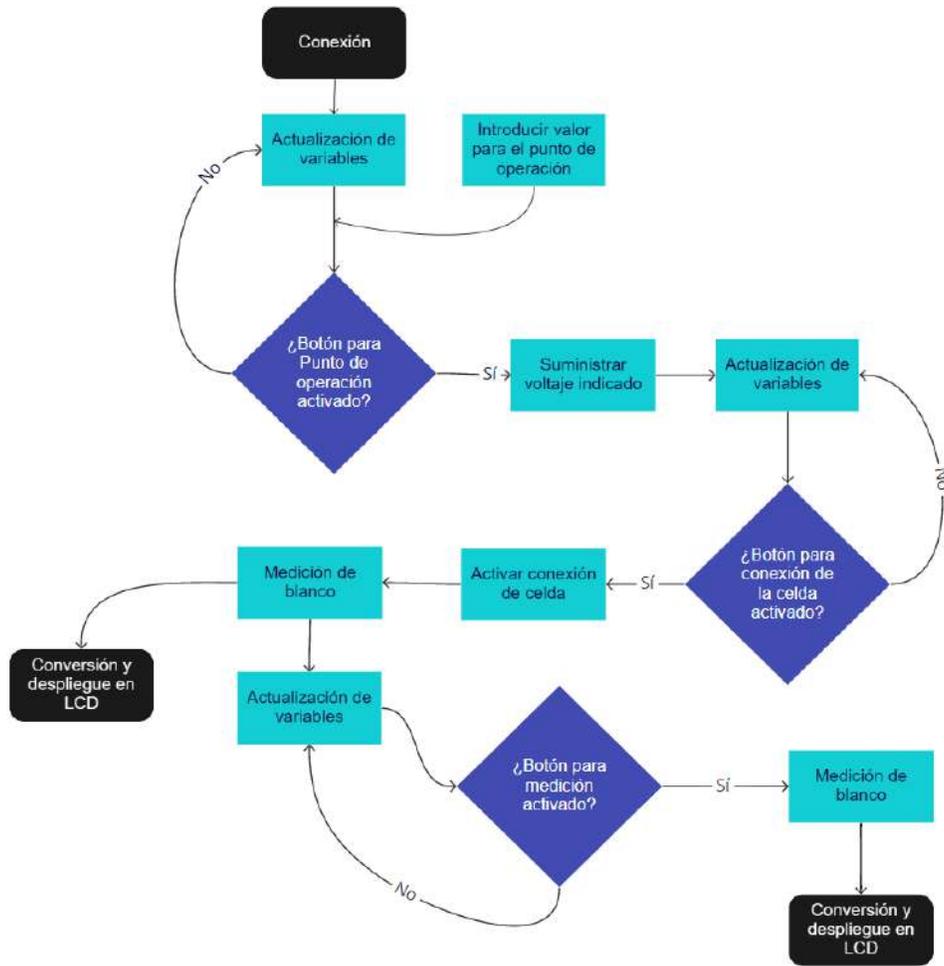


Figura 55. Diagrama de flujo del algoritmo para el programa del sensor.

El primer paso es la conexión de la tarjeta ESP32, lo cual se consigue a partir de los datos de la red Wifi proporcionados. Posteriormente, el usuario debe ingresar el valor del punto de operación deseado en la entrada numérica, desde donde el sensor lee este valor, lo convierte a unidades del DAC y lo almacena. A continuación, se realiza la actualización de los pines de Blynk, y al detectar el cambio a encendido del botón para activar el punto de operación procede a suministrar el voltaje desde el pin 25. Una vez encendido vuelve a verificar cambios en las variables, y al momento de encender el botón de activación de la celda se procede a activar el pin 13 que va conectado al optoacoplador del sistema para la conexión de la celda. El resultado, obtenido en unidades del ADC, debe ser entonces convertido a voltaje, el cual se almacena como la referencia inicial y se despliega en la LCD virtual de la aplicación. Para realizar la medición, el

usuario debe cambiar la gota de la celda por la muestra de interés y posteriormente presionar el botón de medición. Al hacer esto, el sensor comienza a buscar la estabilidad nuevamente, obteniendo una lectura y convirtiéndola a voltaje, el cual es mostrado en la LCD.

Dado el correcto funcionamiento de la arquitectura en la placa de pruebas, se procedió a trasladarlo a una placa de baquelita. Para ello fue necesario trasladar el diseño de la arquitectura a Ultiboard, donde se creó el circuito a imprimir sobre la placa de baquelita. Esto resultó en el dispositivo final, mostrado en la Figura 56. A partir de él se logró obtener resultados más consistentes, ya que los cables en la placa de pruebas en ocasiones hacían falso contacto y la reproducibilidad se veía afectada.

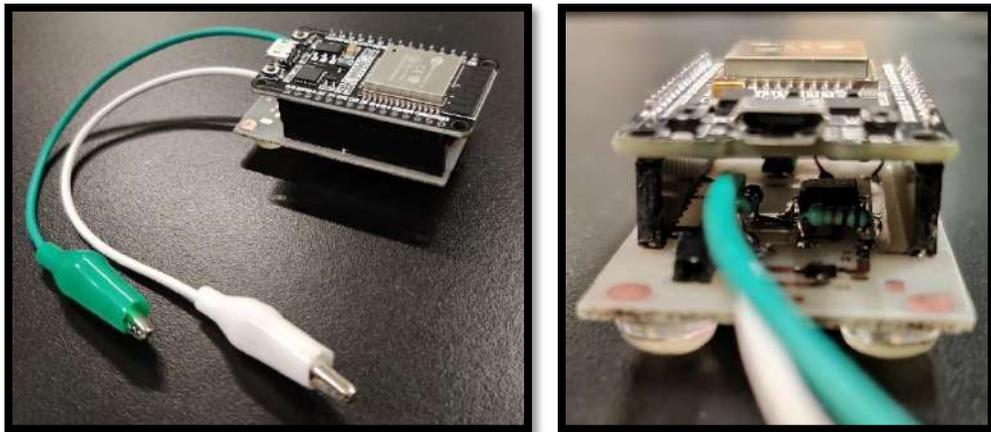


Figura 56. Fotografías del sensor terminado. A la izquierda una vista del dispositivo completo, con la ESP32 montada sobre la placa, y a la derecha, una vista de los componentes entre la placa y la tarjeta.

Con el fin de obtener la curva de calibración del sensor ya con este dispositivo final, se realizó un triplicado de las pruebas con gotas. Se utilizaron simultáneamente el potenciómetro (con un experimento OCP) y el sensor. En ambos se midió el voltaje entre el drenador y el surtidor. El potenciómetro se usó en pruebas cortas de 150 s de duración, mientras que con el sensor se tomaron lecturas cada 50 segundos. Los datos obtenidos del sensor para las pruebas de cada celda se promediaron, con lo que se obtuvo lo mostrado en la gráfica de la Figura 57. Posteriormente, los datos de voltaje obtenidos del sensor fueron tratados, comenzando por obtener las diferencias de potencial respecto al blanco para las diferentes concentraciones medidas, lo cual se representa en la Figura 58.

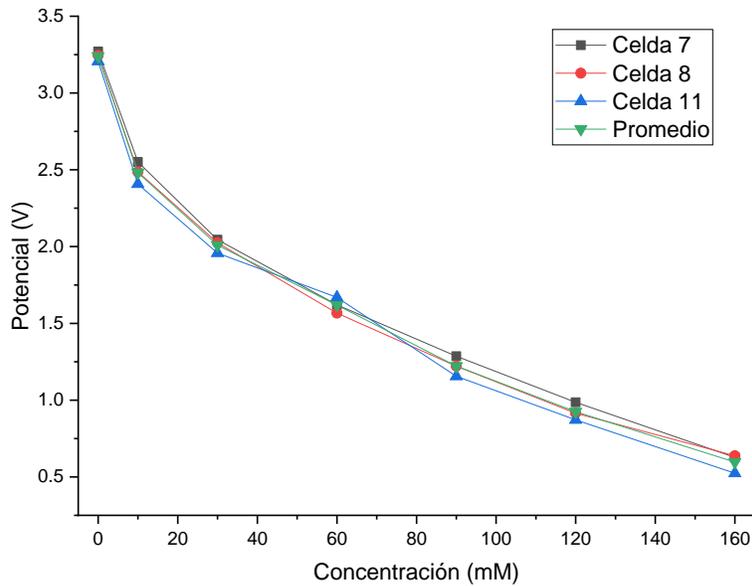


Figura 57. Gráfica de potencial entre el drenador y el surtidor contra la concentración, con resultados obtenidos del sensor.

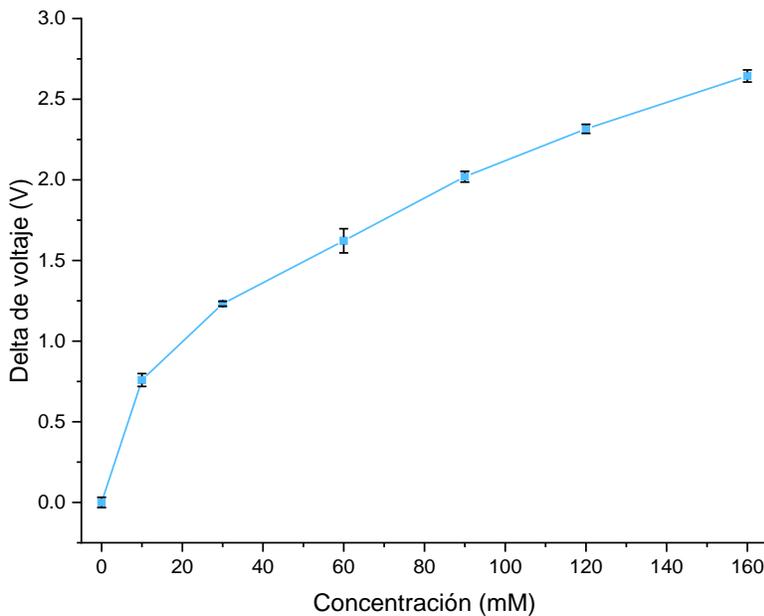


Figura 58. Gráfica del cambio de potencial respecto al blanco contra la concentración aplicada al sensor.

Con el motivo de obtener los límites de detección y de cuantificación del sensor, la misma gráfica de cambio de voltaje contra concentración de cloruros obtenida se dividió en dos regiones (Figura 59), una que abarca de 0 a 30 mM, y otra que abarca de 30 a 160 mM. La región de

concentraciones bajas fue entonces utilizada para calcular los límites mencionados, para lo cual se utilizaron los valores de la pendiente de la línea de tendencia ($b = 0.0376$) y la desviación estándar del blanco ($\sigma = 0.03214$). Con lo anterior, se obtuvieron los límites de detección y de cuantificación con valores de 2.6 mM y de 8.5 mM respectivamente.

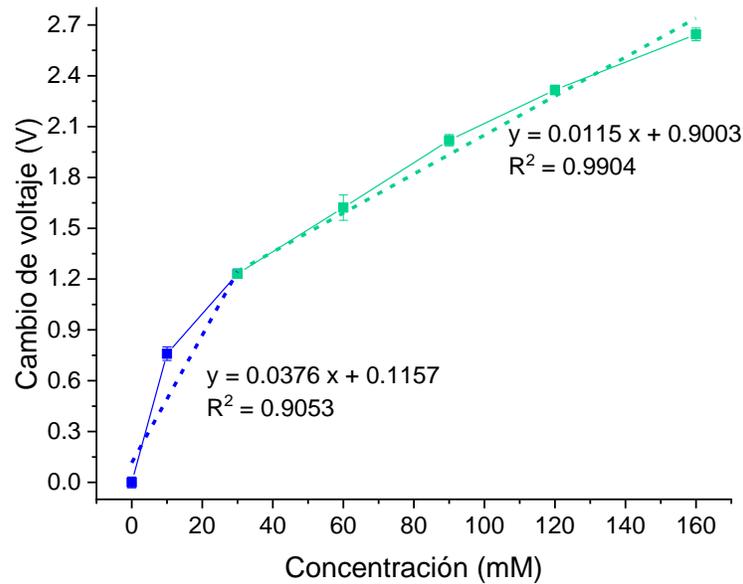


Figura 59. Misma gráfica de cambio de voltaje contra concentración obtenida del triplicado con el sensor, dividida en regiones de baja (en azul) y de alta concentración (en verde).

Estos cambios de potencial, a su vez, fueron convertidos a cambios porcentuales, tomando como unidad el voltaje del blanco. La gráfica de estos cambios se utilizó posteriormente para ajustarla a una función polinomial de grado 6. Para ello, primero se graficó de manera inversa, con el cambio porcentual en el eje x y la concentración en el eje y, como se ilustra en la Figura 60. Entonces se aplicó el ajuste a la función polinomial, obteniendo los coeficientes mostrados en la tabla dentro de esta gráfica.

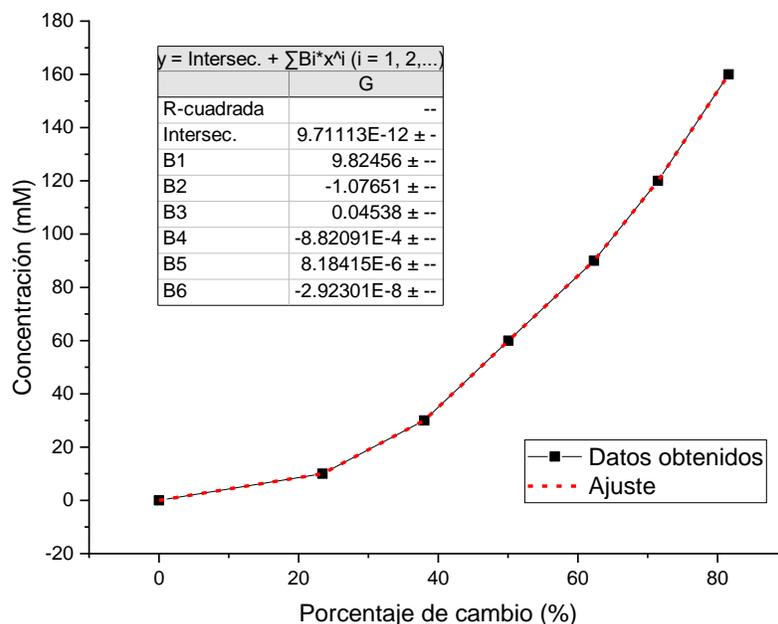


Figura 60. Gráfica de concentración contra porcentaje de cambio de voltaje respecto al blanco, con la curva del ajuste polinomial de grado 6 (línea roja punteada) y los coeficientes de dicha ecuación (intersección y de B1 a B6 en la tabla).

Entonces, de manera similar, la programación del sensor tuvo que ser modificada para convertir los voltajes leídos para cada concentración a cambios porcentuales. Posteriormente, se introdujo una función encargada de convertirlos a concentraciones con base en la ecuación obtenida en el ajuste. Los coeficientes obtenidos se ingresaron a la programación, multiplicándolos por el cambio porcentual elevado a la potencia correspondiente y sumando todos estos productos. De esta manera se obtiene directamente un resultado de concentración, el cual se despliega en la LCD virtual de la aplicación, como se ilustra en la Figura 61.



Figura 61. Interfaz de la aplicación, con un resultado obtenido al colocar una gota aplicación 60mM.

IV. Conclusiones y perspectivas

En primer lugar, respecto a la obtención de NPs de plata, cabe destacar que el método de síntesis química fue parcialmente exitoso considerando que sí se consiguió la composición deseada de las partículas de plata, pero no fue posible controlar de manera correcta la morfología para que ésta fuera cúbica, tal y como quedó evidenciado por las imágenes de microscopía TEM.

Por otro lado, el electrodeposición de plata ha resultado variable; el primer punto es que por medio de SEM no fue posible detectar plata depositada sobre el papel toray. No obstante, la prueba de voltamperometría sí sugiere la presencia de este elemento en el electrodo evaluado debido a la formación de los picos de oxidación y de reducción. De igual manera, se logró evaluar uno de estos electrodos posterior a la adición de cloruro férrico, pero con una reproducibilidad baja, por lo que queda como perspectiva para futuros desarrollos en el tema el optimizar el método de electrodeposición y la evaluación de los electrodos modificados con este método.

Los electrodos modificados tanto con la tinta comercial de NPs de plata y como con las NPs sintetizadas tuvieron un buen funcionamiento como sensor de cloruros, puesto que se observó un comportamiento logarítmico del potencial, el cual disminuye con esta tendencia al agregar concentraciones cada vez mayores de iones cloruro al medio de prueba, ya sea realizando las

pruebas de OCP con los electrodos sumergidos y en agitación o únicamente con una gota de muestra. Aunado a ello, con ambos tipos de celdas se obtuvieron límites de detección y cuantificación menores a 30 mM, manteniendo además el comportamiento logarítmico muy por encima de los 160 mM (el valor límite máximo para una lectura de concentración de cloruros en sudor) por lo cual tienen un rango de detección que podría ser aplicado para la prueba de cuantificación de cloruros en sudor para confirmación de casos de fibrosis quística.

La tinta comercial de NPs de plata tuvo mejor reproducibilidad en la cuantificación de cloruros, por lo que fue utilizado en el sistema electrónico. Además, habiendo mejorado la modificación de electrodos con las NPs de Ag sintetizadas adicionando una cantidad mayor de NPs de plata, se tiene una interesante perspectiva de trabajo a futuro para optimizar las celdas elaboradas con estos electrodos y acoplarlas al sistema electrónico.

En sistema electrónico, se obtuvo un buen funcionamiento de éste, puesto que la ventana de voltaje en la cual se forma el canal de conducción del MOSFET fue suficiente para cubrir el rango de voltaje obtenido de las celdas cuando son expuestas a concentraciones de 0 a 160 mM. Cabe señalar también que los límites de detección y cuantificación obtenidos de las pruebas de calibración del sensor (2.562 mM y 8.540 mM respectivamente) muestran que este último puede ser adecuado para su aplicación como prueba de cuantificación de cloruros en sudor para la confirmación de fibrosis quística. Por ello, se abre camino para desarrollos posteriores con base en este mismo tipo de arquitectura para la optimización del sensor, así como para realizar pruebas en sudor para evaluar su funcionamiento con dicho fluido.

V. Referencias

- Angst, Ueli, Bernhard Elsener, Claus K. Larsen, y Øystein Vennesland. 2010. "Potentiometric determination of the chloride ion activity in cement based materials". *Journal of Applied Electrochemistry* 40(3):561–73.
- Blackman, J. A., y C. Binns. 2008. "Chapter 1 Introduction". Pp. 1–16 en *Metallic Nanoparticles*. Vol. 5, editado por J. A. B. T.-H. of M. P. Blackman. Elsevier.
- De Boeck, K. 2006. "Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms". *Thorax* 61(7):627–35.
- Boucher, Richard C. 2016. "Underlying concepts of the pathophysiology of cystic fibrosis in the sweat gland, GI tract, and lung". Pp. 71–84 en *Hodson and Geddes' Cystic Fibrosis*, editado por A. Bush, D. Bilton, y M. Hodson. CRC Press.
- Buck, R. P., y E. Lindner. 1994. "Recommendations for nomenclature of ionselective electrodes (IUPAC Recommendations 1994)". *Pure and Applied Chemistry* 66(12):2527–36.
- Bujes-Garrido, J., D. Izquierdo-Bote, A. Heras, A. Colina, y M. J. Arcos-Martínez. 2018. "Determination of halides using Ag nanoparticles-modified disposable electrodes. A first approach to a wearable sensor for quantification of chloride ions". *Analytica Chimica Acta* 1012:42–48.
- Castaños, Claudio, Lilien Chertkoff, y Luis Gravina. 2020. "Cystic Fibrosis: Clinical and Diagnosis Approach". Pp. 439–51 en *Pediatric Respiratory Diseases*, editado por P. Bertrand y I. Sánchez. Cham: Springer International Publishing.
- Castellani, Carlo, Kevin W. Southern, Keith Brownlee, Jeannette Dankert Roelse, Alistair Duff, Michael Farrell, Anil Mehta, Anne Munck, Rodney Pollitt, Isabelle Sermet-Gaudelus, Bridget Wilcken, Manfred Ballmann, Carlo Corbetta, Isabelle de Monestrol, Philip Farrell, Maria Feilcke, Claude Férec, Silvia Gartner, Kevin Gaskin, Jutta Hammermann, Nataliya Kashirskaya, Gerard Loeber, Milan Macek, Gita Mehta, Andreas Reiman, Paolo Rizzotti, Alec Sammon, Dorota Sands, Alan Smyth, Olaf Sommerburg, Toni Torresani, Georges Travert, Annette Vernooij, y Stuart Elborn. 2009. "European best practice guidelines for cystic

- fibrosis neonatal screening". *Journal of Cystic Fibrosis* 8(3):153–73.
- Chi, Li-Lun, Jung-Chuan Chou, Wen-Yaw Chung, Tai-Ping Sun, y Shen-Kan Hsiung. 2000. "Study on extended gate field effect transistor with tin oxide sensing membrane". *Materials Chemistry and Physics* 63(1):19–23.
- Choi, Dong-Hoon, Abigail Thaxton, In cheol Jeong, Kain Kim, Patrick R. Sosnay, Garry R. Cutting, y Peter C. Searson. 2018. "Sweat test for cystic fibrosis: Wearable sweat sensor vs. standard laboratory test". *Journal of Cystic Fibrosis* 17(4):e35–38.
- Choi, Yong-Jae, y Tzy-Jiun M. Luo. 2011. "Electrochemical Properties of Silver Nanoparticle Doped Aminosilica Nanocomposite" editado por S.-M. Chen. *International Journal of Electrochemistry* 2011:1–6.
- Chotirmall, Sanjay H., Michelle A. Murray, Kevin Molloy, y Noel G. McElvaney. 2016. "Interactions between infection and inflammation in the cystic fibrosis airway". Pp. 97–117 en *Hodson and Geddes' Cystic Fibrosis*, editado por A. Bush, D. Bilton, y M. Hodson. CRC Press.
- Cosio, M. S., M. Scampicchio, y S. Benedetti. 2012. "Electronic Noses and Tongues". Pp. 219–47 en *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*, editado por Y. B. T.-C. A. of F. T. and A. Picó. Boston: Elsevier.
- Dam, Van Anh T., Marcel A. G. Zevenbergen, y Rob van Schaijk. 2015. "Flexible Chloride Sensor for Sweat Analysis". *Procedia Engineering* 120:237–40.
- El-Deab, Mohamed S. 2009. "On the preferential crystallographic orientation of Au nanoparticles: Effect of electrodeposition time". *Electrochimica Acta* 54(14):3720–25.
- El-Taib Heakal, F., W. R. Abd-Ellatif, N. S. Tantawy, y A. A. Taha. 2018. "Impact of pH and temperature on the electrochemical and semiconducting properties of zinc in alkaline buffer media". *RSC Advances* 8(7):3816–27.
- Fan, Yan, Juntao Liu, Yang Wang, Jinping Luo, Hui ren Xu, Shengwei Xu, y Xinxia Cai. 2017. "A wireless point-of-care testing system for the detection of neuron-specific enolase with microfluidic paper-based analytical devices". *Biosensors and Bioelectronics* 95:60–66.

- Fanen, Pascale, y Isabelle Sermet-Gaudelus. 2016. "Molecular biology of cystic fibrosis: CFTR processing and functions and classes of mutations". Pp. 55–70 en *Hodson and Geddes' Cystic Fibrosis*, editado por A. Bush, D. Bilton, y M. Hodson. CRC Press.
- Farrell, Philip M., Beryl J. Rosenstein, Terry B. White, Frank J. Accurso, Carlo Castellani, Garry R. Cutting, Peter R. Durie, Vicky A. LeGrys, John Massie, Richard B. Parad, Michael J. Rock, y Preston W. Campbell. 2008. "Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report". *The Journal of Pediatrics* 153(2):S4–14.
- Farrell, Philip M., Terry B. White, Clement L. Ren, Sarah E. Hempstead, Frank Accurso, Nico Derichs, Michelle Howenstine, Susanna A. McColley, Michael Rock, Margaret Rosenfeld, Isabelle Sermet-Gaudelus, Kevin W. Southern, Bruce C. Marshall, y Patrick R. Sosnay. 2017. "Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation". *The Journal of Pediatrics* 181:S4-S15.e1.
- Feuchtbaum, Lisa, Jennifer Carter, Sunaina Dowray, Robert J. Currier, y Fred Lorey. 2012. "Birth prevalence of disorders detectable through newborn screening by race/ethnicity". *Genetics in Medicine* 14(11):937–45.
- Gurrappa, Injeti, y Leo Binder. 2008. "Electrodeposition of nanostructured coatings and their characterization—A review". *Science and Technology of Advanced Materials* 9(4):43001.
- Iravani, S., H. Korbekandi, S. V Mirmohammadi, y B. Zolfaghari. 2014. "Synthesis of Silver Nanoparticles: Chemical, Physical and Biological Methods". *Research in Pharmaceutical Sciences* 9(6):385–406.
- Jiang, Zhong-jie, Chun-yan Liu, y Yong-jun Li. 2004. "Electrochemical Studies of Silver Nanoparticles Tethered on Silica Sphere". *Chemistry Letters* 33(5):498–99.
- Johnston, Roy L. 2012. "Metal Nanoparticles and Nanoalloys". Pp. 1–42 en *Metal Nanoparticles and Nanoalloys*. Vol. 3, editado por R. L. Johnston y J. P. B. T.-F. of N. Wilcoxon. Elsevier.
- Jyoti, Kumari, Mamta Baunthiyal, y Ajeet Singh. 2016. "Characterization of silver nanoparticles

- synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics”. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 9(3):217–27.
- Kaisti, Matti. 2017. “Detection principles of biological and chemical FET sensors”. *Biosensors and Bioelectronics* 98:437–48.
- Kakhki, Roya Mohammadzadeh. 2013. “Application of nanoparticles in the potentiometric ion selective electrodes”. *Russian Journal of Electrochemistry* 49(5):458–65.
- LeGrys, Vicky A., Robert Applequist, Dennis R. Briscoe, Philip Farrell, Rosetta Hickstein, Stanley F. Lo, Rosa Passarell, Douglas W. Rheinheimer, Beryl J. Rosenstein, y Jeffrey E. Vaks. 2009. *Sweat Testing: Sample Collection an Quantitative Chloride Analysis; Approved Guideline. CLSI document C34-A3*. 3rd ed. CLSI.
- LeGrys, Vicky A., James R. Yankaskas, Lynne M. Quittell, Bruce C. Marshall, y Peter J. Mogayzel Jr. 2007. “Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines”. *The Journal of Pediatrics* 151(1):85–89.
- Lowe, Benjamin M., Kai Sun, Ioannis Zeimpekis, Chris-Kriton Skylaris, y Nicolas G. Green. 2017. “Field-effect sensors – from pH sensing to biosensing: sensitivity enhancement using streptavidin–biotin as a model system”. *The Analyst* 142(22):4173–4200.
- McDonald, Catherine M., Ellen K. Bowser, Kristen Farnham, Jessica A. Alvarez, Laura Padula, y Mary Rozga. 2021. “Dietary Macronutrient Distribution and Nutrition Outcomes in Persons with Cystic Fibrosis: An Evidence Analysis Center Systematic Review”. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 121(8):1574-1590.e3.
- Mody, VickyV, Rodney Siwale, Ajay Singh, y HardikR Mody. 2010. “Introduction to Metallic Nanoparticles”. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 2(4):282.
- Paunovic, Milan. 2007. “Electrochemical Deposition”. *Encyclopedia of Electrochemistry*.
- Pulit-Prociak, Jolanta, y Marcin Banach. 2016. “Silver nanoparticles – a material of the future...?” *Open Chemistry* 14(1):76–91.
- Pullano, Salvatore, Costantino Critello, Ifana Mahbub, Nishat Tasneem, Samira Shamsir, Syed

- Islam, Marta Greco, y Antonino Fiorillo. 2018. "EGFET-Based Sensors for Bioanalytical Applications: A Review". *Sensors* 18(11):4042.
- Rassaei, Liza, Frank Marken, Mika Sillanpää, Mandana Amiri, Ciprian Mihai Cirtiu, y Markus Sillanpää. 2011. "Nanoparticles in electrochemical sensors for environmental monitoring". *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 30(11):1704–15.
- Rowe, Steven M., Stacey Miller, y Eric J. Sorscher. 2005. "Cystic Fibrosis". *New England Journal of Medicine* 352(19):1992–2001.
- Safavi, Afsaneh, Norouz Maleki, y Elaheh Farjami. 2009. "Electrodeposited Silver Nanoparticles on Carbon Ionic Liquid Electrode for Electrocatalytic Sensing of Hydrogen Peroxide". *Electroanalysis* 21(13):1533–38.
- Sheridan, Eoin E. 2009. "Electrodeposited Nanoparticles: Properties and Photocatalytic Applications". Dublin City University.
- Siekkinen, Andrew R., Joseph M. McLellan, Jingyi Chen, y Younan Xia. 2006. "Rapid synthesis of small silver nanocubes by mediating polyol reduction with a trace amount of sodium sulfide or sodium hydrosulfide". *Chemical Physics Letters* 432(4–6):491–96.
- Srikant, Satya Sai, y Prakash Kumar Chaturvedi. 2020. *Basic Electronics Engineering*. Singapore: Springer Singapore.
- Sun, Yugang, y Younan Xia. 2002. "Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles". *Science* 298(5601):2176 LP – 2179.
- Tao, Shasha, Florent Yang, Jona Schuch, Wolfram Jaegermann, y Bernhard Kaiser. 2018. "Electrodeposition of Nickel Nanoparticles for the Alkaline Hydrogen Evolution Reaction: Correlating Electrocatalytic Behavior and Chemical Composition". *ChemSusChem* 11(5):948–58.
- Ueda, M., H. Dietz, A. Anders, H. Knepe, A. Meixner, y W. Plieth. 2002. "Double-pulse technique as an electrochemical tool for controlling the preparation of metallic nanoparticles". *Electrochimica Acta* 48(4):377–86.

Westbroek, P. 2005. "Electrochemical methods". Pp. 37–69 en *Analytical Electrochemistry in Textiles*, editado por P. Westbroek, G. Priniotakis, y P. B. T.-A. E. in T. Kiekens. Elsevier.

Yokoyama, Toyokazu, Hiroaki Masuda, Michitaka Suzuki, Kensei Ehara, Kiyoshi Nogi, Masayoshi Fuji, Takehisa Fukui, Hisao Suzuki, Masayoshi Fuji, Junichi Tatami, Hisao Suzuki, Kazuyuki Hayashi, y Kenji Toda. 2018. "Basic Properties and Measuring Methods of Nanoparticles". Pp. 3–47 en *Nanoparticle Technology Handbook*, editado por M. Naito, T. Yokoyama, K. Hosokawa, y K. B. T.-N. T. H. (Third E. Nogi. Elsevier.

Yu, C. H., W. Oduro, Kin Tam, y Edman S. C. Tsang. 2008. "Chapter 10 Some Applications of Nanoparticles". Pp. 365–80 en *Metallic Nanoparticles*. Vol. 5, editado por J. A. B. T.-H. of M. P. Blackman. Elsevier.

Zhang, Zhangmin, Jie Hu, Yuwei Ma, Yangyang Wang, Haoliang Huang, Zuhua Zhang, Jiangxiong Wei, Suhong Yin, y Qijun Yu. 2020. "A state-of-the-art review on Ag/AgCl ion-selective electrode used for non-destructive chloride detection in concrete". *Composites Part B: Engineering* 200:108289.

Anexo

A partir de este trabajo se ha participado en diferentes eventos de difusión, desde octubre de 2020 hasta abril de 2022, donde se presentaron los diferentes avances del proyecto. En este anexo se incluyen los productos obtenidos de estos eventos.

Participación en el evento Jóvenes Científicos en octubre de 2020, organizado por la Secretaría de la Juventud del Estado de Querétaro y el CONCYTEQ, terminando entre los 40 mejores proyectos.



Participación en la modalidad de presentación oral en el XII Simposio Internacional: Investigación Química en la Frontera, organizado por el Instituto Tecnológico de Tijuana del 17 al 19 de noviembre de 2021.



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO
TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

**EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA**

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A:

**Arruan David Beristain Valadez, Martín
Josan Badillo Vázquez, Luis Gerardo
Arriaga Hurtado, Sergio Miguel Durón
Torres, Janet Ledesma García, José Roberto
Espinosa Lumbreras, Ricardo Antonio
Escalona Villalpando.**

Por su valiosa participación al impartir la Conferencia
"Síntesis y evaluación de nanopartículas de plata para el desarrollo de un sensor
de cloruros inalámbrico" dentro del XII Simposio Internacional: Investigación
Química en la Frontera, organizado por el Centro de Graduados e Investigación en
Química, llevado a cabo del 17 de noviembre al 19 de noviembre del 2021.

Tijuana, Baja California, a 18 de noviembre de 2021.

ING. JOSÉ GUILLERMO CÁRDENAS LÓPEZ
DIRECTOR



Participación en el 9° Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Querétaro, llegando a la última etapa de presentaciones orales en el área: Ingeniería e Industria; Físico Matemáticas y Ciencias de la Tierra.



UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE QUERÉTARO



El Comité Organizador otorga la presente

CONSTANCIA

a:

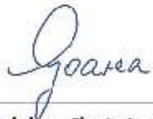
**Beristáin Valadez Arruan David y Janet Ledesma
García**

Con el proyecto "Interconexión electrónica MOSFET a un sensor
de cloruros flexible"

Por su valiosa participación en el Foro Académico en modalidad virtual
que se llevó a cabo los días 18 y 19 de enero de 2022

Universidad Autónoma de Querétaro


Dr. Javier Ávila Morales
Secretario Académico


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

SOMOSUAQ
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Futura participación en modalidad oral en el congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica (SIBAE) a realizarse los días 3 a 6 de abril de 2022.



Zacatecas, Zacatecas, México, 17 de enero de 2022

Beristain-Valadez, Arruan David; Badillo-Vázquez, Martín Josan; Arriaga-Hurtado, Luis Gerardo; Durón-Torres, Sergio Miguel; Espinosa-Lumbreras, José Roberto; Ledesma-García, Janet; Escalona-Villalpando, Ricardo Antonio.

PRESENTE

Estimados Autores,

Por medio de la presente y a nombre de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica (SIBAE) y del Comité Organizador del XXV Congreso de la SIBAE 2022, tenemos el agrado de informarles que el resumen titulado:

"Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata para el desarrollo de un sensor de cloruros"

Ha sido **Aceptado en Modalidad Oral**, para su presentación en el marco del XXV Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica 2022 a celebrarse del 3 al 6 de abril de 2022 de forma Virtual. El trabajo está registrado dentro de la temática: **Electroanálisis con la clave de identificación EA17.**

Sin otro particular, agradecemos su contribución al SIBAE 2022 y nos despedimos, enviándole un cordial saludo.

ATENTAMENTE

COMITÉ ORGANIZADOR
SIBAE 2022

