



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE INGENIERÍA,
ARQUITECTURA Y DISEÑO

**SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO
SENSOR DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H₂O₂) PARA SU
APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

TESIS

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta:

Verdugo Parra Martín Antonio

Director de tesis

Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez

Codirector de tesis

Dr. Enrique Efrén García Guerrero

Ensenada, Baja California, México. Mayo de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño
Ingeniería en Nanotecnología

SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO SENSOR DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H₂O₂) PARA SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

TESIS

Que para obtener el título de
INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

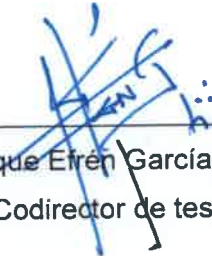
Presenta:

Verdugo Parra Martín Antonio

y aprobada por el siguiente comité:



Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez
Director de tesis



Dr. Enrique Eirén García Guerrero
Codirector de tesis



Dr. Everardo Inzunza González
Miembro del comité



Dr. Oscar Adrián Aguirre Castro
Miembro del comité



Dr. Oscar Roberto López Bonilla
Miembro del comité

RESUMEN de la tesis de **Verdugo Parra Martín Antonio**, presentada como requisito para obtener el grado de INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA, de la Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño (FIAD) de la UABC. Ensenada, Baja California, México, Mayo 2023.

SÍNTESIS Y APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA COMO SENSOR DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H₂O₂) PARA SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Resumen aprobado por:



Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez
Director de Tesis



Dr. Enrique Errén García Guerrero
Codirector de Tesis

Resumen: Uno de los reactivos más utilizados para el tratamiento de agua, blanqueamiento, y tratamiento de alimentos es el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). El H₂O₂ al ser dañino para la salud y estar presente en productos de consumo humano y animal, resulta de vital importancia detectarlo de forma fiable y precisa. En este trabajo de tesis, se propone emplear nanopartículas de plata (Ag NPs) sintetizadas por el método Turkevich para detectar la presencia de H₂O₂ en soluciones preparadas. Las Ag NPs obtenidas en este trabajo, presentan un pico de absorbancia característico en los 440 nm y un tamaño de entre 60 y 80 nm. Las pruebas realizadas por espectrofotometría UV-Vis demuestran que las Ag NPs son adecuadas para detectar y cuantificar niveles de concentración de H₂O₂. Adicionalmente, se lleva a cabo un análisis visual colorimétrico como prueba rápida complementaria, capaz de evaluar cualitativamente la concentración de H₂O₂. Finalmente, se diseña e implementa un dispositivo portátil de medición cuantitativa de concentración de H₂O₂ a partir de las Ag NPs. Los resultados experimentales obtenidos demostraron que el dispositivo es confiable para detectar la presencia de H₂O₂ a través de análisis precisos y rápidos, evitando el uso de equipo complejo y medios de detección inestables.

Palabras clave: nanopartículas de plata, peróxido de hidrógeno, sensor, síntesis Turkevich.

ABSTRACT of the thesis of **Verdugo Parra Martín Antonio**, presented as a requirement to obtain the degree of NANOTECHNOLOGY ENGINEERING, of the Engineering, Architecture and Design Faculty (FIAD) of the UABC, Ensenada, Baja California, México, May 2023.

SYNTHESIS AND APPLICATION OF SILVER NANOPARTICLES AS A SENSOR OF HYDROGEN PEROXIDE (H₂O₂) FOR ITS APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY

Abstract approved by:



Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez

Thesis supervisor



Dr. Enrique Efrén García Guerrero

Thesis supervisor

Abstract: One of the most widely used reagents for water treatment, bleaching, and food treatment is hydrogen peroxide (H₂O₂). H₂O₂ is harmful to health and is present in products for human and animal consumption, so it is of vital importance to detect it reliably and accurately. In this thesis work, it is proposed to use silver nanoparticles (Ag NPs) synthesized by the Turkevich method to detect the presence of H₂O₂ in prepared solutions. The Ag NPs obtained in this work show a characteristic absorbance peak at 440 nm and a size between 60 and 80 nm. The tests performed by UV-Vis spectrophotometry demonstrate that the Ag NPs are suitable for detecting and quantifying H₂O₂ concentration levels. Additionally, a visual colorimetric analysis is carried out as a complementary rapid test, capable of qualitatively assessing H₂O₂ concentrations. Finally, a portable device for quantitative measurement of H₂O₂ concentration from Ag NPs is designed and implemented. The experimental results obtained showed that the device is reliable to detect the presence of H₂O₂ through accurate and fast analysis, avoiding the use of complex equipment and unstable detection media.

Keywords: *silver nanoparticles, hydrogen peroxide, sensor, Turkevich synthesis.*

Dedicatoria

A mis padres, Rosana Parra Villegas y Martín Verdugo Valenzuela, por todo su amor y apoyo incondicional que me tienen.

A mi hermano, Sebastián Verdugo Parra, por siempre estar conmigo, para apoyarme y motivarme a ser un ejemplo a seguir.

A Cecilia.

A mis profesores de todos los niveles, que a lo largo de mi vida y mi carrera han contribuido a mi formación académica y me han inspirado a seguir adelante.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Baja California y la Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño por permitirme realizar este trabajo utilizando sus instalaciones y laboratorios.

A mi director de tesis, el Dr. Ulises de Jesús Tamayo Pérez y a mi codirector de tesis, el Dr. Enrique Efrén García Guerrero por sus enseñanzas y guía.

Al comité evaluador de este trabajo, Dr. Everardo Inzunza Gonzales, Dr. Oscar Roberto López Bonilla y Dr. Oscar Adrián Aguirre Castro, por su disposición y el tiempo dedicado para revisar esta tesis.

A la Dra. Haydee López Rodríguez, por su apoyo en los laboratorios.

A mis amigos y compañeros de la carrera, por siempre estar ahí para apoyarnos mutuamente cuando lo necesitábamos.

Tabla de contenido

Lista de Figuras	II
Lista de Tablas.....	III
Capítulo 1. Introducción	1
1.1. Importancia del H ₂ O ₂	1
Capítulo 2. Hipótesis y objetivos	4
2.1. Hipótesis.....	4
2.2. Objetivos.....	4
2.2.1. Objetivo general.....	4
2.2.2. Objetivos específicos.....	4
Capítulo 3. Marco teórico y antecedentes	5
3.1 Nanomateriales.....	5
3.2 Nanopartículas de plata	6
3.3 Síntesis de nanopartículas de plata por el método de Turkevich.....	7
3.4 Aplicación de Ag-NPs como sensor de H ₂ O ₂	9
Capítulo 4. Técnicas de caracterización.....	10
4.1 Espectroscopía UV-Visible.....	10
4.2 Microscopio de Fuerza Atómica	12
Capítulo 5. Metodología.....	14
5.1. Materiales y reactivos	14
5.2. Equipo	14
5.3. Síntesis de Ag NPs.....	14
5.4. Caracterización.....	16
5.4.1. Espectrofotómetro UV-Vis.....	16
5.4.2. Microscopio de Fuerza Atómica	19
Capítulo 6. Resultados y Discusión.....	20
6.1. Síntesis de Ag NPs por el método de Turkevich	20
6.2. Espectrofotometría UV-Vis.....	21
6.2.1 Espectro de absorbancia de las Ag NPs sintetizadas	21
6.2.2 Pruebas individuales de Ag NPs como sensor de H ₂ O ₂	22
6.2.3 Pruebas sobre muestra única de Ag NPs como sensor de H ₂ O ₂	25
6.2.4 Curva de calibración	27
6.3 Microscopía de Fuerza Atómica.....	30
Capítulo 7. Dispositivo Portátil	32
7.1 Desarrollo de dispositivo portátil	32

Capítulo 8. Conclusiones y trabajo a futuro	42
9 Referencias	43
10 Anexos	48
10.1. Código del programa para obtener valor de PWM del dispositivo portátil.	48
10.2. Código del programa para obtener el valor de concentración de la muestra del dispositivo portátil.	51

Lista de Figuras

Figura 1: La copa de Licurgo (a) reflejando y (b) transmitiendo luz [23].	6
Figura 2: Imágenes de microscopio electrónico de barrido (SEM) de nanopartículas preparadas por el método Turkevich (barra de escala de 200 nm) [30].	7
Figura 3: Diagrama de la función del ion citrato como agente estabilizador en la superficie de NPs metálicas sintetizadas por el método Turkevich [34].	8
Figura 4: Diagrama de la instrumentación de un espectrofotómetro UV-Vis estándar [40].	11
Figura 5: Diagrama de la instrumentación de un microscopio de fuerza atómica estándar [47].	13
Figura 6: Diagrama de síntesis de Ag NPs por el método de Turkevich.	16
Figura 7: Microscopio de fuerza atómica y muestra de nanopartículas de plata sobre sustrato de vidrio.	20
Figura 8: Progreso de reacción de la solución de AgNO ₃ en presencia de citrato trisódico. A) Solución AgNO ₃ . B) Solución AgNO ₃ al añadirse citrato trisódico. C) Solución AgNO ₃ tras 15 minutos de añadirse citrato trisódico.	21
Figura 9: Espectro de absorbancia de la suspensión de Ag NPs sintetizadas por el.....	22
Figura 10: Espectro de absorbancia de las muestras de Ag NPs a distintas concentraciones de H ₂ O ₂ , utilizando el UV-VIS.	23
Figura 11: Muestras de suspensión de Ag NPs a distintas concentraciones de H ₂ O ₂	25
Figura 12: Espectro de absorbancia de las Ag NPs al aumentar la concentración de H ₂ O ₂ sobre una única muestra.	26
Figura 13: Espectros de absorbancia de Ag NPs + H ₂ O ₂ y Ag NPs + H ₂ O.	27
Figura 14: A) Intensidad del pico de absorbancia de Ag NPs a distintas concentraciones de H ₂ O ₂ en pruebas sobre muestras individuales y B) intensidad del pico de absorbancia de Ag NPs a distintas concentraciones de H ₂ O ₂ sobre una misma muestra.	28
Figura 15: (A) Imagen 3D del barrido AFM y (B) sección transversal de las Ag NPs sintetizadas.	31
Figura 16: Diagrama de funcionamiento del dispositivo propuesto.	32
Figura 17: LED azul de 440 nm (A) y modulo sensor de color TCS230 (B).	33
Figura 18: Placa programable Arduino Nano.	33
Figura 19: Diagrama de A) circuito electrónico y B) alambrado del dispositivo propuesto. .	35
Figura 20: Espectro de absorbancia del portamuestras de polipropileno [51].	35
Figura 21: (A) Vista 3D del diseño de carcasa, (B) portamuestras y (C) ensamblaje, y (D) foto del prototipo del dispositivo desarrollado.	36
Figura 22: Diagrama de flujo del programa realizado para obtener una longitud de pulso relacionada a la concentración de H ₂ O ₂ en Ag NPs.	37
Figura 23: Calibración y regresión de Boltzmann de longitud de pulso contra concentración de H ₂ O ₂ de la muestra medida por el dispositivo portátil.	39

Figura 24: Función utilizada en el programa para calibrar, y filtrar resultados.	40
Figura 25: Comparación de mediciones realizadas sobre las Ag NPs a distintas concentraciones con el espectrofotómetro UV-Vis y el sensor portátil.	42

Lista de Tablas

Tabla 1: Diferentes concentraciones de H ₂ O ₂ en soluciones con Ag NPs.....	17
Tabla 2: Diferentes concentraciones de H ₂ O ₂ sobre una muestra única de Ag NPs.	19
Tabla 3: Concentraciones de H ₂ O ₂ preparadas y medidas a partir de la absorbancia de la muestra para las pruebas de muestras individuales.....	29
Tabla 4: Concentraciones de H ₂ O ₂ reales y medidas a partir de la absorbancia de la muestra para las pruebas sobre una única muestra.....	30
Tabla 5: Concentraciones de muestras preparadas para la calibración del dispositivo portátil.	38
Tabla 6: Concentraciones reales y medidas a de las muestras medidas utilizando el dispositivo portátil.	41

Capítulo 1. Introducción

1.1. Importancia del H₂O₂

Debido a sus propiedades antisépticas y blanqueadoras, el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) es una sustancia química de gran importancia para diversas industrias gracias a su gran número de aplicaciones como oxidante, bactericida, esporicida, desinfectante y antiséptico en el área alimenticia y médica, blanqueador en el área de textiles y papel, así como descontaminante para el tratamiento de agua contaminada con metales pesados [1-3]. Fue descubierto en 1818 por el químico y farmacéutico francés Louis Jacques Thénard [4], quien logró identificarlo como resultado de la reacción de peróxido de bario (BaO₂) y ácido nítrico (HNO₃).

Al no cambiar el sabor de los alimentos con los que entra en contacto, el H₂O₂ ha sido utilizado como esterilizante químico para el tratamiento de alimentos desde hace más de 100 años [5], ya sea para su limpieza y desinfección o como conservador, gracias a su capacidad de aletargar el deterioro de alimentos como frutas y lácteos a causa de bacterias [6], además no genera residuos tóxicos ni contaminantes al degradarse, produciendo únicamente oxígeno (O₂) y agua (H₂O). Es así como la amplia gama de aplicaciones del H₂O₂ lo hace presente de manera significativa en la mayoría de las industrias, y se estima que antes del año 2024 su uso representará hasta 6 mil millones de dólares en aplicaciones [7].

A pesar de su amplio uso, no fue sino hasta el año de 1956 en que ciertas investigaciones detectaron los efectos negativos que presenta para la salud, cuando se ingiere de forma directa [8]. La teoría del envejecimiento de Denham Harman basada en la toxicidad de los radicales libres presentes en el H₂O₂, propone que el

envejecimiento del ser humano se debe al efecto dañino de los radicales libres de origen mitocondrial. Así, aun cuando el H_2O_2 presenta grandes ventajas en su uso, su presencia residual en productos de consumo humano (en particular en alimentos), puede causar efectos adversos a la salud tales como enfermedades cardiovasculares, problemas gastrointestinales, desórdenes neurodegenerativos, entre otros [9]. Debido a la gran variedad de aplicaciones del H_2O_2 y la importancia que se tiene en detectarlo de forma fiable en los productos y alimentos dirigidos para el consumo humano [10], ha llevado al desarrollo de numerosos métodos para su detección en sustancias y disoluciones, entre los cuales destacan los métodos enzimáticos, titrimétricos y espectrofotométricos [11,12]. Sin embargo, estos métodos presentan desventajas, por ejemplo: baja estabilidad y precisión, así como el requerimiento de equipo complejo para su medición, por lo que, resulta importante desarrollar e implementar un método sencillo, confiable y de bajo costo para la detección eficiente de H_2O_2 [13].

Actualmente la nanotecnología ha encontrado que las nanopartículas de plata (Ag NPs) presentan una alta sensibilidad y selectividad para la detección de H_2O_2 [14]. Las Ag NPs gracias a su utilidad como agente antibacteriano, así como su amplio abanico de aplicaciones en áreas tales como física, química y biología, así como en catálisis, óptica, electrónica, sensores químicos, biosensores y biotecnología, se han convertido en unas de las nanopartículas más comúnmente utilizadas en todas las áreas industriales y de investigación [15].

En este trabajo de tesis se presenta el desarrollo e implementación de un sensor capaz de detectar H_2O_2 de forma precisa en muestras líquidas y de

alimentos basado en nanopartículas de plata sintetizadas utilizando el método Turkevich. Se aprovecha su alta actividad catalítica al oxidarse al entrar en contacto con el H_2O_2 , cambiando visiblemente de coloración, y la intensidad de su banda de absorbancia. La efectividad de las Ag NPs se verifica cuantitativamente utilizando el espectrofotómetro UV-Vis.

Capítulo 2. Hipótesis y objetivos

2.1. Hipótesis

La utilización de nanopartículas de plata provee un medio de detección y medición de H_2O_2 en soluciones a partir del cambio de coloración e intensidad de absorbancia de las nanopartículas.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general

Desarrollar un método de detección capaz de monitorear de forma sencilla la presencia de H_2O_2 en soluciones, utilizando el cambio de color y absorbancia de las nanopartículas de plata en presencia de H_2O_2 .

2.2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar Ag NPs a través del método de síntesis de NPs metálicas de Turkevich.
- Verificar la correcta síntesis de las Ag NPs utilizando el espectrofotómetro UV-Vis para obtener el espectro de absorbancia de la muestra y el microscopio de fuerza atómica para obtener su tamaño y distribución.
- Utilizar la espectrofotometría UV-Vis para evaluar el funcionamiento de la dispersión de nanopartículas de plata como sensor de H_2O_2 al comparar el espectro de absorbancia de las Ag NPs al mezclarse con distintas concentraciones de H_2O_2 .
- Obtener una curva de calibración que relacione la intensidad de absorbancia de una muestra de Ag NPs a su concentración de H_2O_2 .

Capítulo 3. Marco teórico y antecedentes

3.1 Nanomateriales

Se considera a la nanotecnología como el manejo de la materia, ya sea a su nivel atómico o molecular, dentro del orden de magnitud menor a 100 nanómetros (nm) [16,17], un nm se representa como 1×10^{-9} de metro. El uso de materiales de dimensiones nanométricas, conocidos como nanomateriales, ha resultado de gran interés para nuevas y diversas aplicaciones debido a que a esta escala, la materia se comporta de forma muy distinta a su contraparte macrométrica [18], de forma que al acercarse a la escala nanométrica, las propiedades de los nanomateriales cambian de forma drástica, apareciendo propiedades físicas y químicas únicas [19], lo que ha llevado a la búsqueda de diversas formas de aplicar estas nuevas propiedades.

Dentro de la gama de los nanomateriales existentes se ubican las nanopartículas; cuyo tamaño no excede la escala nanométrica en ninguna de sus tres dimensiones [20]. A pesar de desconocer la existencia de éstas hasta el siglo XX, las nanopartículas han estado presentes durante miles de años en industrias como la cristalería y alfarería, como lo revela el caso de la copa de Licurgo [21], en la que se sabe actualmente que la presencia de nanopartículas de oro (Au NPs) y plata (Ag NPs) dan origen al efecto de filtro dicróico [22]. La copa muestra un color rojo cuando la luz atraviesa su interior, y un color verde cuando la luz es reflejada por su superficie exterior (Figura 1), en la actualidad esto se explica por el comportamiento de las propiedades ópticas nanométricas del oro y la plata.

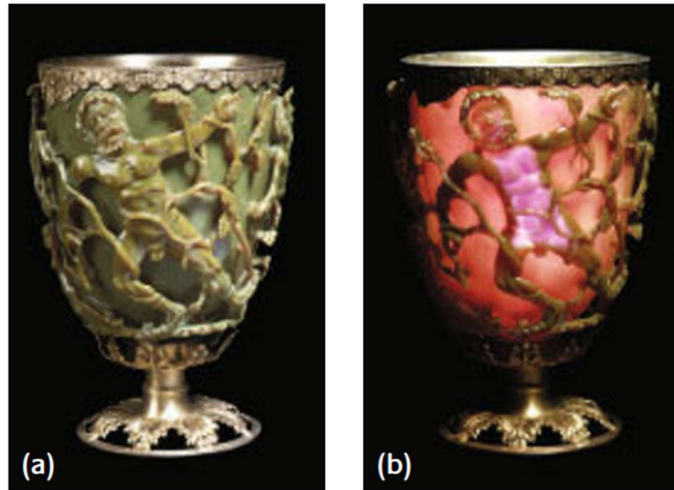


Figura 1: La copa de Licurgo (a) reflejando y (b) transmitiendo luz [23].

3.2 Nanopartículas de plata

Debido a sus excelentes propiedades, las nanopartículas metálicas han encontrado aplicaciones en áreas como la medicina, cosmética, óptica, biotecnología, electrónica, entre otras [24]. Una de las principales características de las nanopartículas metálicas, y en especial de metales nobles como la Ag, es su fuerte absorción de luz con una alta sensibilidad a su tamaño, morfología, constitución y entorno [25], lo que resulta de gran utilidad para diferentes aplicaciones, como por ejemplo, en sensores ópticos diseñados para entre el visible con longitudes de onda $\lambda \approx 400$ a 800 nm y el infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés) con longitudes de onda $\lambda \approx 750$ a 2600 nm [26].

Gracias a sus propiedades antibacterianas, desinfectantes, catalíticas y ópticas [27], las Ag NPs se han convertido en uno de los materiales más utilizados comercialmente [28], lo que a su vez ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías que hagan uso de ellas. Las Ag NPs en solución acuosa se perciben como color

amarillo, causado por una fuerte banda de absorción alrededor de los 400 nm de longitud de onda, propiedad que es fácilmente detectable a través de la espectroscopía UV-Vis [29].

3.3 Síntesis de nanopartículas de plata por el método de Turkevich

Uno de los métodos para la síntesis de nanopartículas metálicas como las Ag NPs mejor conocidos es el de Turkevich. La síntesis por este medio emplea citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) como reductor, que al combinarse con una sal precursora del metal, como por ejemplo, el nitrato de plata (AgNO_3) a una temperatura superior a los 90 °C en solución acuosa [30], da como resultado una suspensión estable de nanopartículas de plata cuasiesféricas (Figura 2).

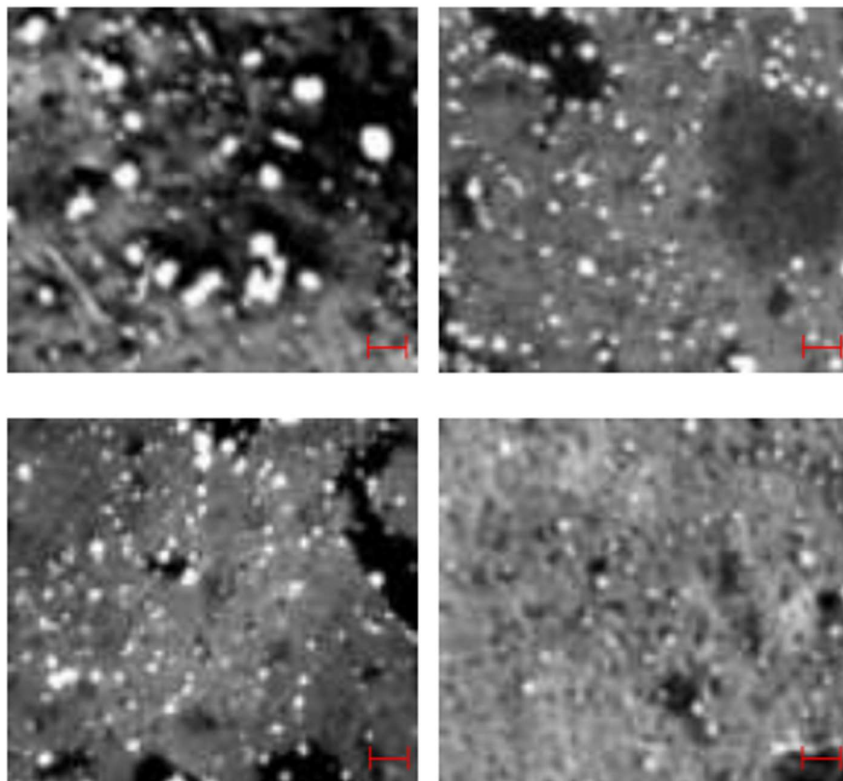


Figura 2: Imágenes de microscopio electrónico de barrido (SEM) de nanopartículas preparadas por el método Turkevich (barra de escala de 200 nm) [30].

El método de Turkevich presenta grandes ventajas para la síntesis de nanopartículas metálicas, ya que además de ser un método seguro, de bajo costo y de gran control de los resultados a través de sus parámetros [31], permite obviar el uso de un agente estabilizador adicional, ya que recientes estudios han demostrado que el ion citrato obtenido en el proceso de síntesis de las nanopartículas funciona como agente estabilizador electrostático [32,33], formando una monocapa por efecto de la solvatación del citrato, alrededor de las Ag NPs y evitando su aglomeración [34] (Figura 3).

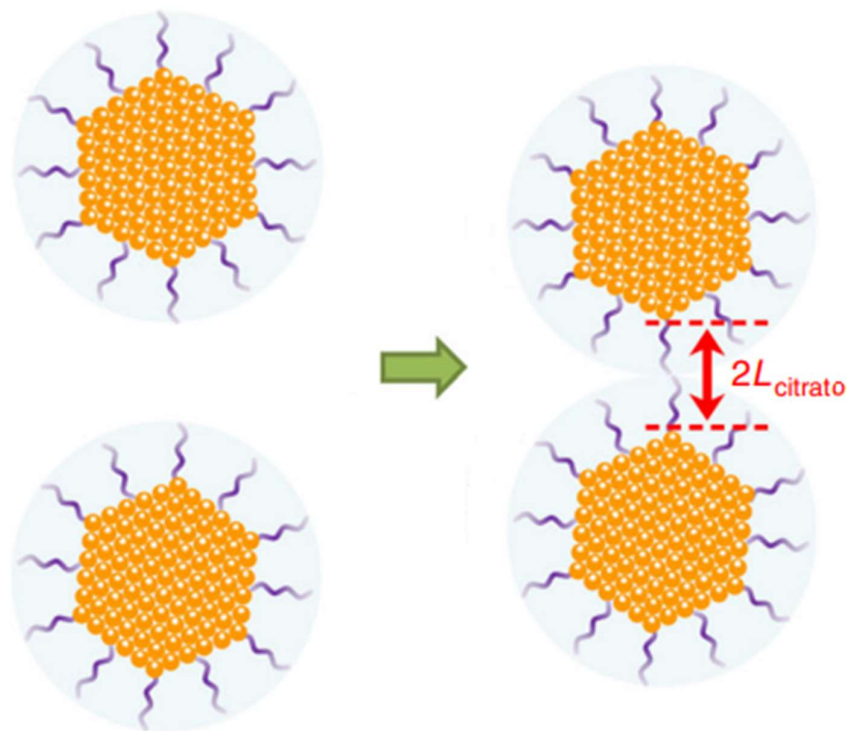
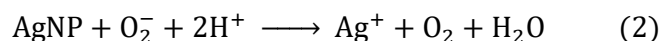


Figura 3: Diagrama de la función del ion citrato como agente estabilizador en la superficie de NPs metálicas sintetizadas por el método Turkevich [34].

3.4 Aplicación de Ag-NPs como sensor de H₂O₂

Cuando el H₂O₂ entra en contacto con una dispersión de Ag NPs, estas proveen un medio catalítico que acelera la descomposición H₂O₂ (Ecuación 1), en la que el ion superóxido (O₂⁻) de la solución de H₂O₂ oxida las Ag NPs, resultando en la reducción de oxígeno (O₂), y la formación de H₂O y plata en su forma Ag⁺ (Ecuación 2), degradando las Ag NPs [35]. Es viable de esta forma, detectar la presencia de H₂O₂ en una dispersión de Ag NPs, ya que a medida que las Ag NPs se degradan, la dispersión pierde la intensidad de su absorbancia característica y presenta un notable cambio en su coloración, lo que permite su medición y calibración cuantitativa a través del espectrofotómetro UV-Vis.



Capítulo 4. Técnicas de caracterización

4.1 Espectroscopía UV-Visible

Se le llama espectroscopía UV-Vis a la medición de la absorción de la luz por muestra en función de la longitud de onda de la luz absorbida [36]. Por este medio, se obtiene información relacionada a la configuración de la capa exterior de electrones en los átomos y su excitación al ser incididos por luz [37], como lo describe la ley de Beer-Lambert [38], que relaciona la atenuación de la luz absorbida por el material analizado y su concentración.

Esta técnica es de gran utilidad para el análisis de muestras tanto orgánicas como inorgánicas, ya que además de ser simple, rápida, no destructiva y de bajo costo, es capaz de proveer información acerca del proceso y mecanismo de reacción en la muestra analizada [39]. La instrumentación de un espectrofotómetro UV-Vis (Figura 4) suele consistir de una o más fuentes de luz policromáticas, comúnmente lámparas de tungsteno y deuterio, un monocromador que separa los componentes de longitud de onda de la radiación, un detector de luz que mida la radiación que interactúa con la muestra [40], y un procesador de datos que entregue los resultados al usuario. La espectroscopía UV-Vis es utilizada, entre otras aplicaciones, para encontrar información acerca de la resonancia del plasmón superficial de las nanopartículas metálicas, de forma que esta técnica permite confirmar la formación de Ag NPs, además de proporcionar información acerca de su concentración y tamaño [41], lo que resulta de gran utilidad para la calibración de sensores ópticos.

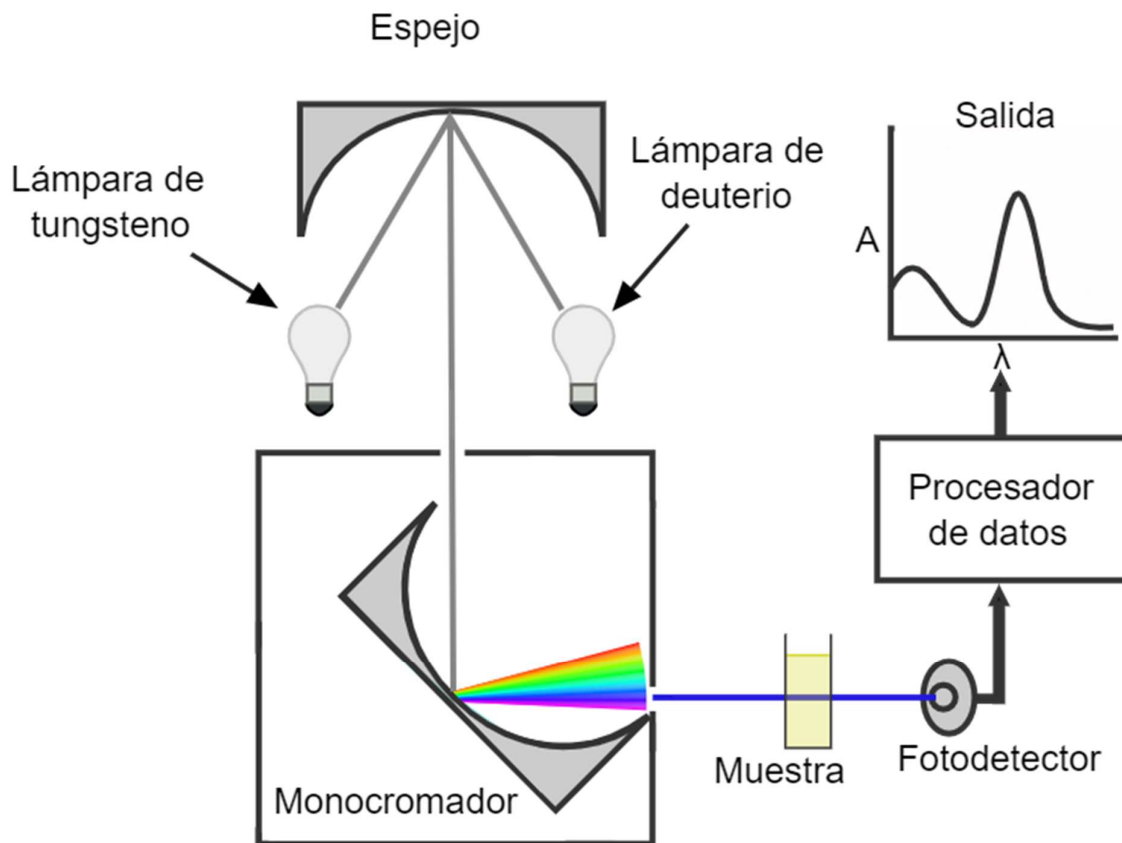


Figura 4: Diagrama de la instrumentación de un espectrofotómetro UV-Vis estándar [40].

En este trabajo de tesis, aplicamos esta técnica para obtener información importante como la formación propia de las Ag NPs, así como el de su concentración y tamaño aproximado. Por su parte, como el mecanismo de detección del sensor depende de la concentración de las Ag NPs, y a su vez del coloramiento y la intensidad del pico absorbancia de la muestra. Al usar las Ag NPs como sensor de H_2O_2 se puede validar también mediante la espectrofotometría UV-Vis, ya que cuando la dispersión de las Ag NPs se combinan con una solución que contiene H_2O_2 , el pico característico en el espectro de absorbancia de la muestra disminuye en menor o mayor magnitud, dependiendo de la concentración de H_2O_2 agregado.

De esta forma obtenemos una curva de calibración para el sensor, la cual compara la intensidad del pico de absorbancia de distintas muestras de Ag NPs, con diferentes grados de concentración en H_2O_2 presente en la muestra. Se observa y valida que a mayor concentración de H_2O_2 , la muestra bajo análisis presenta una menor intensidad en su pico de absorbancia.

4.2 Microscopio de Fuerza Atómica

La Microscopía de Fuerza Atómica (AFM, por sus siglas en inglés), desarrollada por el doctor Gerd Binnig en 1986, surge a partir del microscopio de efecto túnel (STM, por sus siglas en inglés). El STM hace un barrido microscópico sobre la muestra para medir la corriente entre la punta de una sonda microscópica y un sustrato conductor con una diferencia de voltaje [42]. El AFM mide el cambio de movimiento de un cantiléver al realizar un barrido sobre la muestra, el cual, es empujado por fuerzas interatómicas, con sensibilidad de átomos individuales [43]. Esto permite obtener microscopías de materiales aislantes como haluros de plata, materiales orgánicos, macromoléculas biológicas, polímeros, cerámicas, vidrios [44], entre muchos otros. De esta forma, el AFM permite obtener imágenes topográficas de todo tipo de superficies con resolución atómica [45], lo que lo convierte en una de las técnicas de microscopía más versátiles actualmente utilizadas. La instrumentación del AFM consiste comúnmente de una sonda en la punta de un cantiléver, el cual, mientras la sonda barre la muestra, se deforma elásticamente debido a las interacciones interatómicas, permitiendo medir esta deformación a partir de la desviación de un láser reflejado sobre el cantiléver hacia un fotodetector,

adicionalmente, por medio de un escáner piezoeléctrico se puede controlar la posición de la muestra o la sonda (Figura 5) [46, 47].

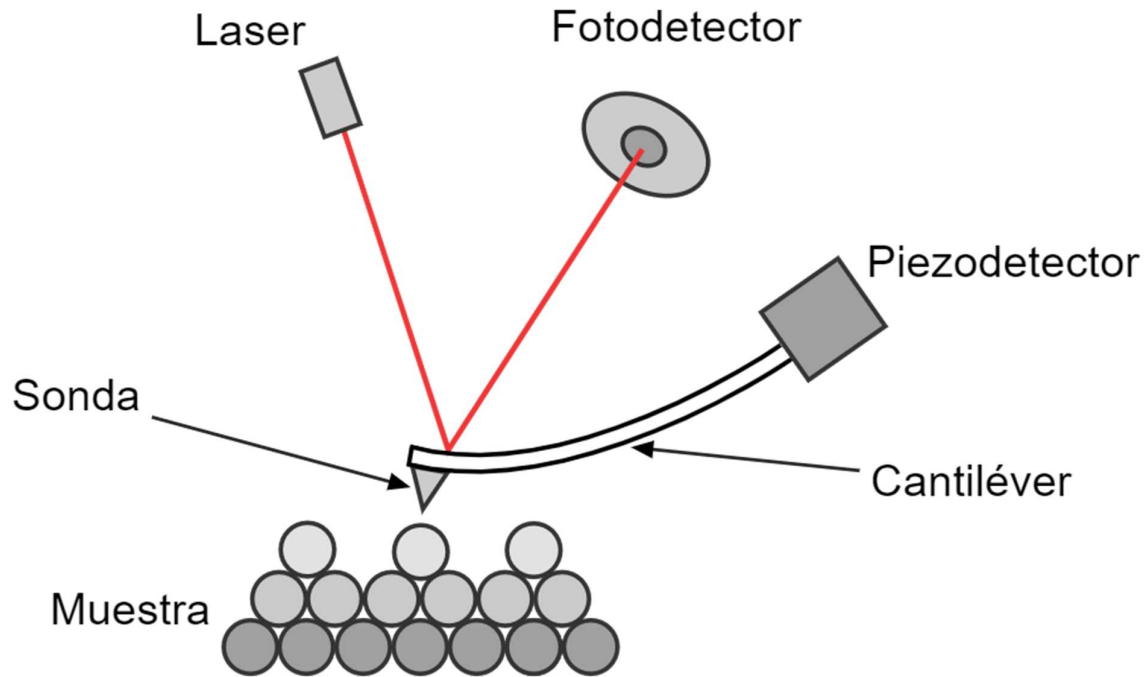


Figura 5: Diagrama de la instrumentación de un microscopio de fuerza atómica estándar [47].

Al ser utilizada sobre una muestra de Ag NPs, el AFM permite obtener información acerca de las propiedades de la superficie de las Ag NPs [48,49] como su tamaño y propiedades mecánicas, las cuales son de gran relevancia para la aplicación de las mismas.

Capítulo 5. Metodología

5.1. Materiales y reactivos

Se utiliza nitrato de plata (AgNO_3) 99.0% como precursor del metal, así como citrato trisódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_9\text{Na}_3\text{O}_9 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 99.0% como agente reductor para la síntesis de Ag NPs. Ambos reactivos fueron adquiridos de Sigma Aldrich. Las pruebas se realizaron a partir de H_2O_2 al 30% p/p (8.2 M) adquirido de Jalmeq Científica.

5.2. Equipo

La síntesis de Ag NPs se lleva a cabo sobre un matraz de fondo redondo de 100 mL sobre un agitador magnético con calentamiento Thermo Scientific Cimarec+. El matraz se conecta a un destilador de vidrio, en modo de reflujo.

5.3. Síntesis de Ag NPs

Se sigue el método de Turkevich para la síntesis de nanopartículas de plata, a partir del proceso de síntesis adaptado y publicado por Mazzonello et al. [30] (Figura 6). Se pesan 8.49 mg de AgNO_3 y se diluye en un matraz de aforado de 50 mL con agua destilada, para obtener una solución AgNO_3 a 1.0 mM. Similarmente, se pesan 100 mg de citrato de sodio dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_9\text{Na}_3\text{O}_9$) y se afora a 10 mL con agua destilada, para obtener una solución a 34 mM. Ambas soluciones se agitan manualmente hasta estar completamente disueltas.

Se vierte la solución de AgNO_3 a un matraz de fondo redondo de 100 mL, y se coloca sobre un agitador magnético con calentamiento. El sistema se integra con un condensador en modo reflujo para evitar pérdidas en el volumen de la muestra de Ag NPs. El matraz con la solución de AgNO_3 se calienta y se mantiene en agitación constante hasta alcanzar 100 °C. A esta temperatura, se adiciona a la solución de AgNO_3 , 1.4 mL de la solución de citrato trisódico dihidratado 34 mM con una pipeta, lo que da pie a la formación de Ag NPs. Se calienta la solución en el matraz durante 15 minutos bajo agitación constante, durante este proceso se observa un cambio de coloración de transparente gris-azulado a un amarillo-marrón, el calentamiento y la agitación se mantiene durante 15 minutos más. La solución se deja enfriar a temperatura ambiente y se vierte a un tubo Falcón de 50 mL para su almacenamiento y uso posterior.

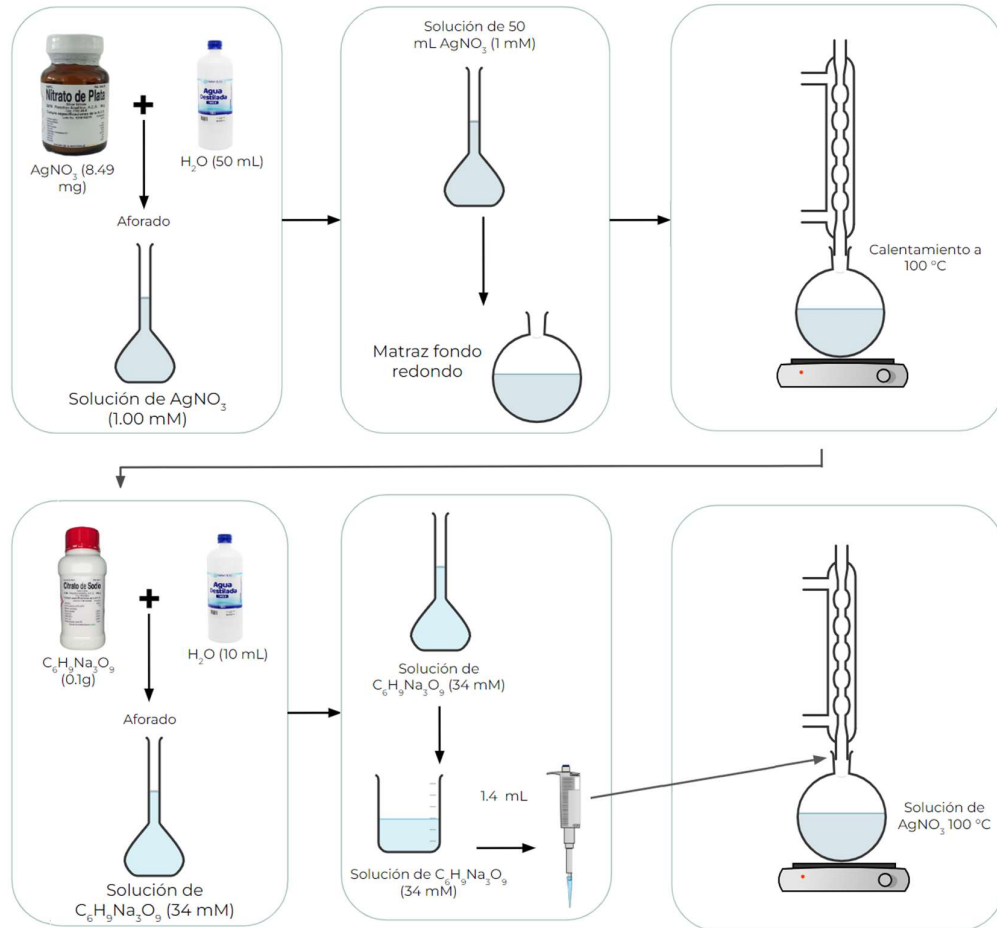


Figura 6: Diagrama de síntesis de Ag NPs por el método de Turkevich.

5.4. Caracterización

5.4.1. Espectrofotómetro UV-Vis

a) Espectro de absorbancia de las Ag NPs sintetizadas

Para obtener el espectro de absorbancia de las nanopartículas de plata se usa la espectrofotometría UV-Vis, utilizando el espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S Vis (Figura 7 A). Esto permite tener una idea aproximada del nivel de concentración y tamaño de las nanopartículas. Para lo cual, se agregan 2 mL de la muestra de Ag NPs a una celda de cuarzo (Figura 7 B) y se realiza un barrido en

longitud de onda de 270 a 600 nm sobre la suspensión para obtener el comportamiento del espectro correspondiente.

Este procedimiento, es el utilizado para verificar de forma cuantitativa la funcionalidad y sensibilidad de las Ag NPs como sensor de H_2O_2 . De esta forma, se obtiene una curva de calibración característica del sensor que relaciona la intensidad de la absorbancia de la muestra de Ag NPs relativa a la concentración de H_2O_2 .

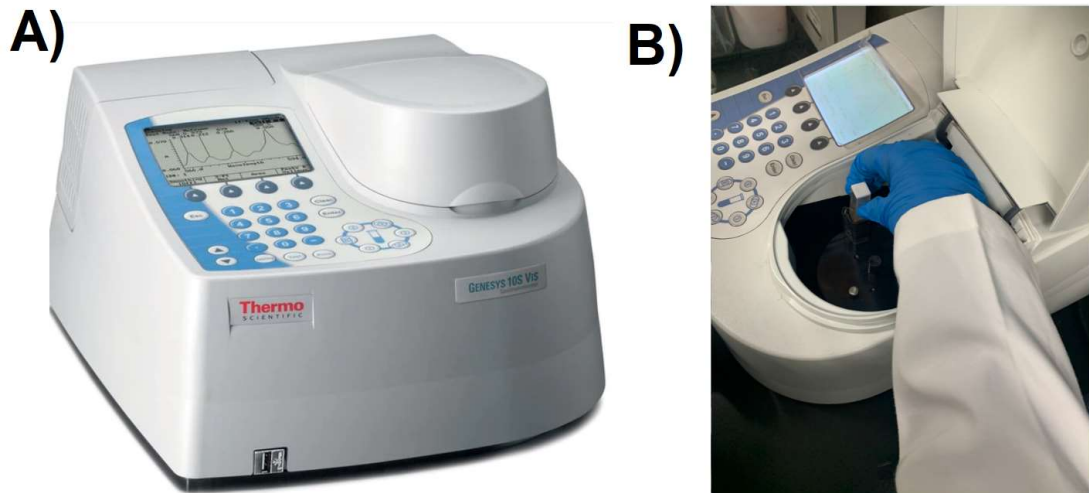


Figura 7: Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific GENESYS 10S Vis y B) muestra de Ag NPs siendo cargada al espectrofotómetro.

b) Pruebas Individuales de Ag NPs como sensor de H_2O_2

En la Tabla 1, se muestran diferentes soluciones de Ag NPs a distintos niveles de concentración de H_2O_2 . Para cada una de las muestras se obtiene su curva de absorbancia, con el fin de analizar y comparar los respectivos espectros en relación a las distintas concentraciones de H_2O_2 .

Tabla 1: Diferentes concentraciones de H_2O_2 en soluciones con Ag NPs.

Prueba	Volumen Ag NPs (μL)	Volumen H ₂ O ₂ 8.2M (μL)	Concentración H ₂ O ₂ (mM)
1	1499.85	0.15	0.82
2	1499.7	0.3	1.64
3	1499.55	0.45	2.46
4	1499.4	0.6	3.28
5	1499.25	0.75	4.1
6	1498.5	1.5	8.2
7	1497.75	2.25	12.3
8	1497	3	16.4
9	1496.25	3.75	20.5
10	1492.5	7.5	41
11	1488.75	11.25	61.5
12	1485	15	82
13	1481.25	18.75	102.5
14	1477.5	22.5	123
15	1473.75	26.25	143.5
16	1470	30	164
17	1466.25	33.75	184.5
18	1462.5	37.5	205
19	1455	45	246
20	1440	60	328
21	1425	75	410
22	1406.25	93.75	512.5
23	1387.5	112.5	615
24	1350	150	820
25	1275	225	1230
26	1200	300	1640

Por otra parte, se lleva a cabo un análisis visual cualitativo sobre el cambio colorimétrico de las muestras de la Tabla 1, al colocar cada muestra en un tubo de centrifuga de 1.5 mL y observar su comportamiento en cambio de coloración.

c) Pruebas sobre muestra única de Ag NPs como sensor de H₂O₂

Se realizan pruebas espectrofotométricas complementarias para comparar el comportamiento en la absorbancia de una muestra de Ag NPs empleada como

sensor tras 72 horas de su síntesis. Así como también, se analiza el comportamiento de las Ag NPs en una solución con y sin H₂O₂. Para esto se ejecutan una serie de barridos espectrofotométricos sobre una única muestra de Ag NPs, a la cual, se le va agregando H₂O₂ entre cada medición. En la Tabla 2, se muestra la secuencia sobre una muestra inicial de 1500 µL de Ag NPs a la que se le van agregando 5 µL de H₂O₂ 8.2 M después de cada barrido espectrofotométrico hasta los 300 µL de H₂O₂ 8.2 M, alcanzando una concentración final de H₂O₂ de 1366.67 mM.

Tabla 2: Diferentes concentraciones de H₂O₂ sobre una muestra única de Ag NPs.

Prueba	Volumen total Ag NPs (µL)	Volumen total H ₂ O ₂ 8.2M (µL)	Concentración H ₂ O ₂ (mM)
0	1500	0	0
1	1500	5	27.24
2	1500	10	54.30
3	1500	15	81.19
4	1500	20	107.90
5	1500	25	134.43
6	1500	50	264.52
7	1500	75	390.47
8	1500	100	512.5
9	1500	125	630.77
10	1500	150	745.45
11	1500	200	964.70
12	1500	300	1366.67

5.4.2. Microscopio de Fuerza Atómica

La morfología y el tamaño de las Ag NPs, se determina con el apoyo del microscopio Nanosurf Easyscan 2 (Figura 8). La muestra se prepara colocando 250 μL de suspensión de Ag NPs sobre un sustrato de vidrio, y se seca a 40 °C durante 1 h. Los resultados que se presentan corresponden a un barrido de 781 \times 781 nm.

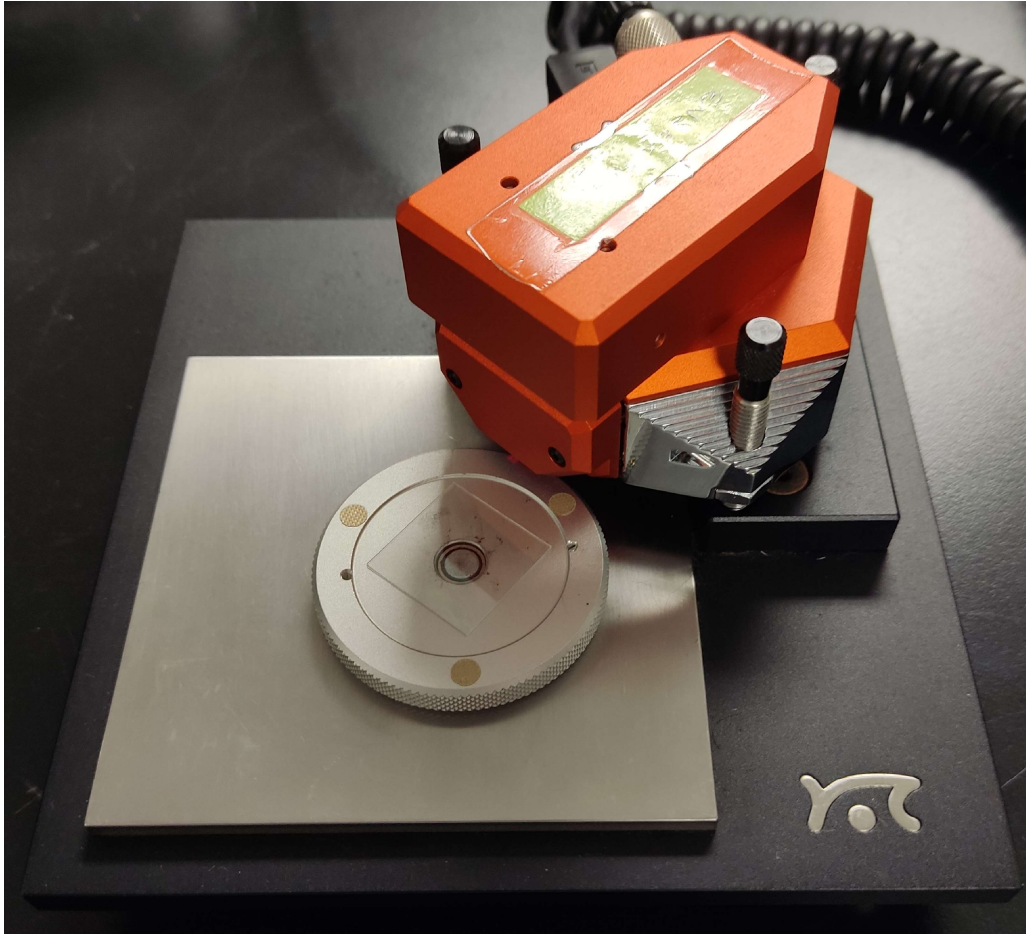


Figura 8: Microscopio de fuerza atómica Nanosurf Easyscan 2 y muestra de nanopartículas de plata sobre sustrato de vidrio.

Capítulo 6. Resultados y Discusión

6.1. Síntesis de Ag NPs por el método de Turkevich

Siguiendo el método descrito en la sección 5.3, se lleva a cabo la síntesis de Ag NPs por el método de Turkevich utilizando el Nitrato de Plata (AgNO_3) como precursor metálico y citrato trisódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_9\text{Na}_3\text{O}_9$) como agente reductor. En la Figura 9 se muestra el cambio de coloración de la muestra a lo largo de la síntesis dentro de un matraz de fondo redondo. Se observa que la solución inicial de AgNO_3 , pasa de un color gris a un amarillo-marrón conforme se agrega el citrato trisódico.

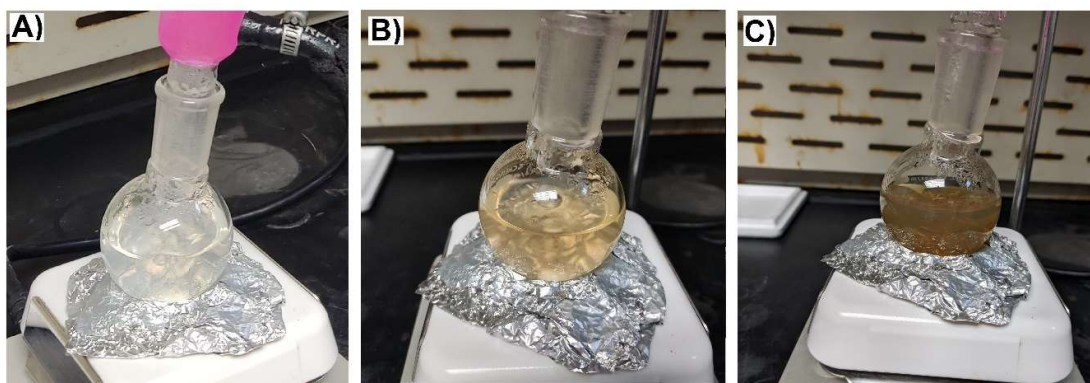


Figura 9: Progreso de reacción de la solución de AgNO_3 en presencia de citrato trisódico. A) Solución AgNO_3 . B) Solución AgNO_3 al añadirse citrato trisódico. C) Solución AgNO_3 tras 15 minutos de añadirse citrato trisódico.

6.2. Espectrofotetría UV-Vis

6.2.1 Espectro de absorbancia de las Ag NPs sintetizadas

Siguiendo el a la técnica descrita en la sección 5.4, se lleva a cabo un análisis espectrofotométrico sobre las muestras obtenidas con el propósito de verificar la correcta síntesis de Ag NPs por el método Turkevich. En la Figura 10 se muestra un espectro de absorbancia sobre un barrido en longitud de onda de 270 a 600 nm. El pico de absorbancia se encuentra a los 440 nm aproximadamente, y

corresponde al comportamiento característico de una suspensión de Ag NPs con tamaño de partícula menor a 100 nm [50].

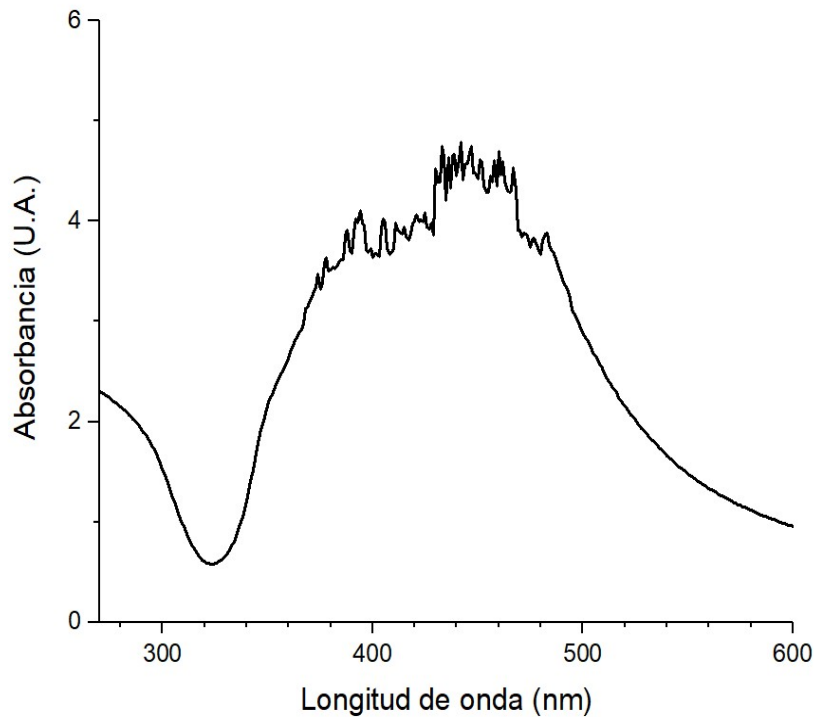


Figura 10: Espectro de absorción de la suspensión de Ag NPs sintetizadas por el método Turkevich.

6.2.2 Pruebas individuales de Ag NPs como sensor de H₂O₂

En la Figura 11 se presentan los espectros de absorción de las muestras preparadas utilizando el espectrofotómetro UV-Vis. De la Figura se puede observar que para las muestras de menor concentración de H₂O₂ se mantiene en gran medida el pico de absorción característico de las Ag NPs. El cual va disminuyendo paulatinamente en intensidad a mayores concentraciones, por lo que, de demuestra una relación inversa en intensidad de absorción y concentración del

H₂O₂. Para las muestras de concentración media (82 mM – 512.5 mM) se observa que los picos característicos en los espectros de absorbancia van perdiendo definición y disminuyen en intensidad. Así mismo, para las muestras de mayor concentración (≥ 615 mM) se observa una pérdida del pico característico mostrando un espectro de absorbancia prácticamente plano. Este comportamiento de aplanamiento en el espectro de absorbancia se debe a la oxidación que gradual de las Ag NPs, hasta llegar a la oxidación completa de las mismas debido a la concentración de H₂O₂.

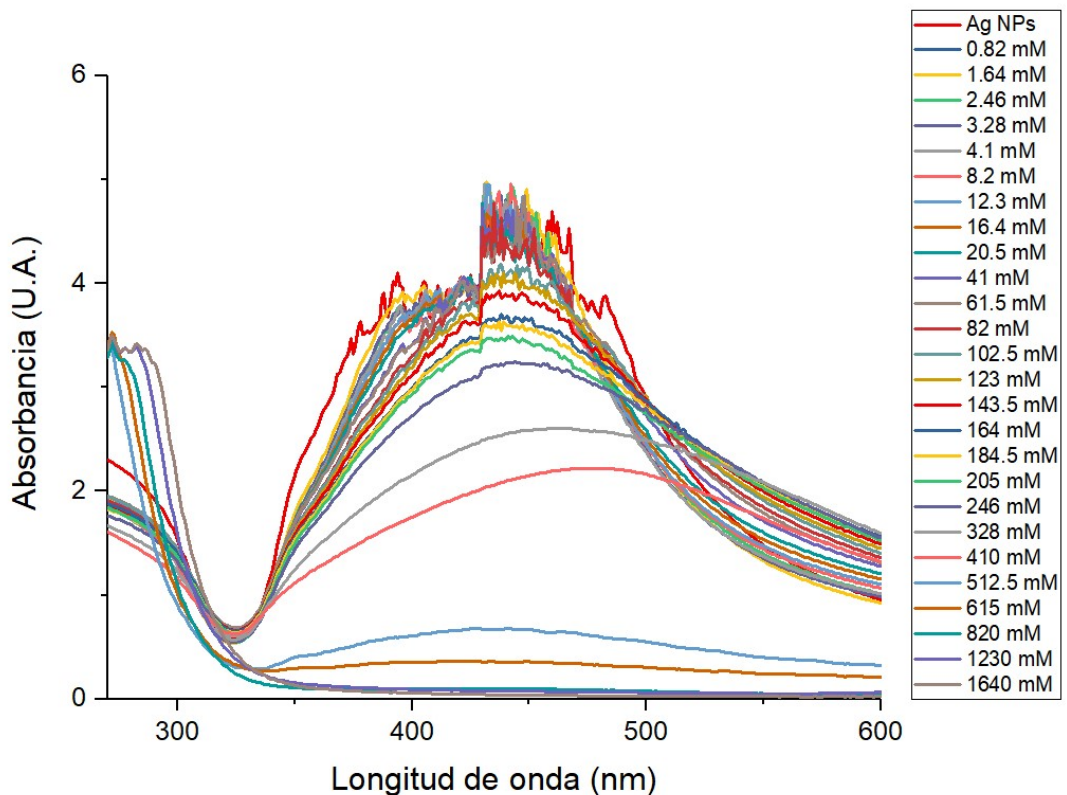


Figura 11: Espectro de absorbancia de las muestras de Ag NPs a distintas concentraciones de H₂O₂, utilizando el UV-VIS.

En la Figura 12, se muestra el banco de muestras sintetizadas en este trabajo de tesis. Se observa claramente un cambio de coloración en relación a los niveles de

concentración en H_2O_2 . Se evidencia que las muestras de menor concentración de H_2O_2 no presentan un cambio significativo en la coloración amarillo-marrón que es el color característico de las Ag NPs. Sin embargo, en la Figura se observa también que a medida que la concentración de H_2O_2 aumenta, el color de la muestra se torna marrón oscuro hasta perder el color completamente en la muestra a 512.50 mM de H_2O_2 . Por su parte, las muestras son completamente transparente a concentraciones mayores. De esta manera se evidencia que para muestras que presentan un ligero cambio de coloración corresponden a menores niveles de concentración de H_2O_2 , mientras que un cambio drástico en coloración corresponden a muestras con niveles de concentración mayores a 500 mM de H_2O_2 .

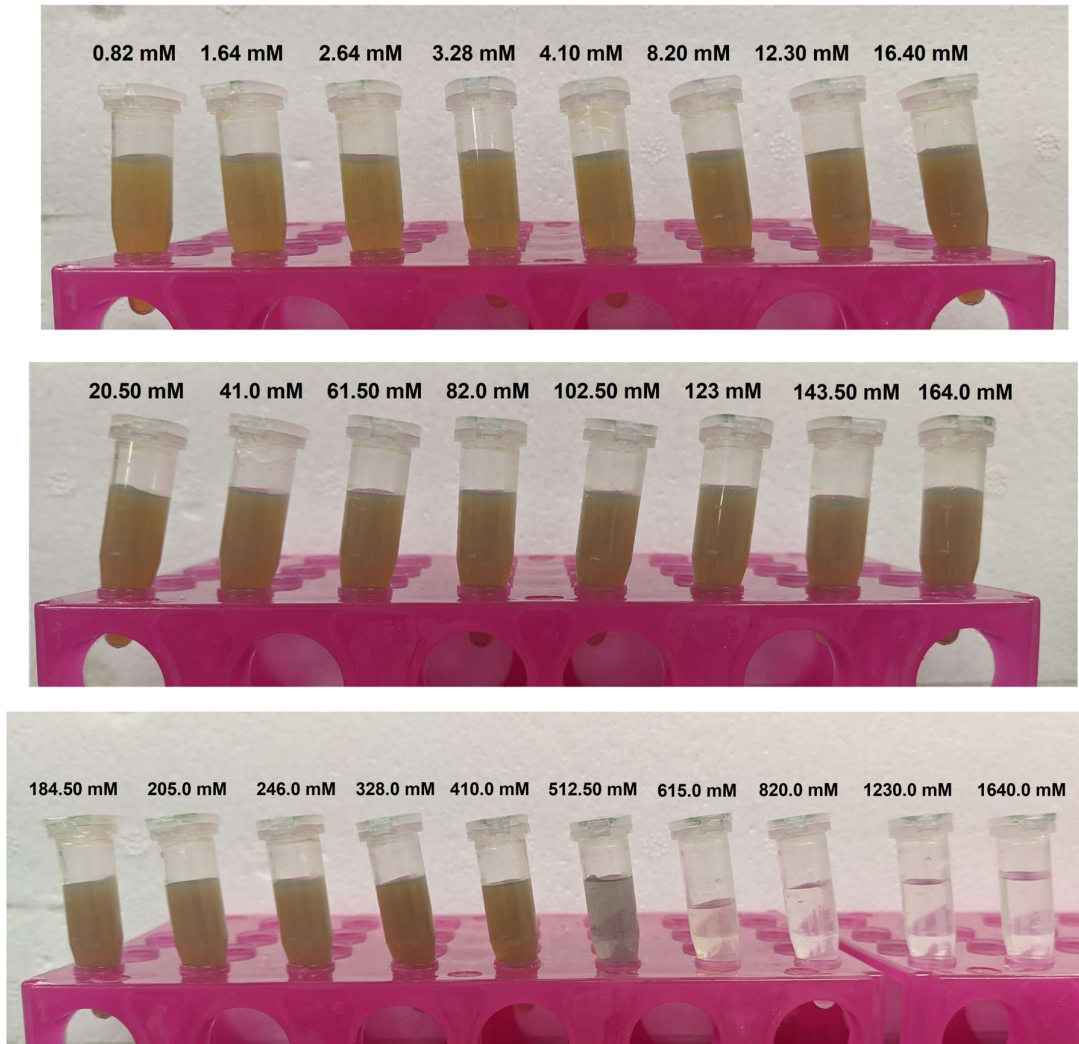


Figura 12: Muestras de suspensión de Ag NPs a distintas concentraciones de H₂O₂.

6.2.3 Pruebas sobre muestra única de Ag NPs como sensor de H₂O₂

En la Figura 13 se muestra el comportamiento de los espectros de absorbancia obtenidos al agregar H₂O₂ a las Ag NPs tras 72 horas de su síntesis. En relación a la Figura se hace evidente un comportamiento similar al mostrado anteriormente (Figura 9). Se manifiesta y se valida la relación inversa entre la intensidad del pico de absorbancia del sensor de Ag NPs y la concentración de H₂O₂

presente en una muestra, es decir, a mayores niveles de concentración de H_2O_2 menor es pico de absorbancia.

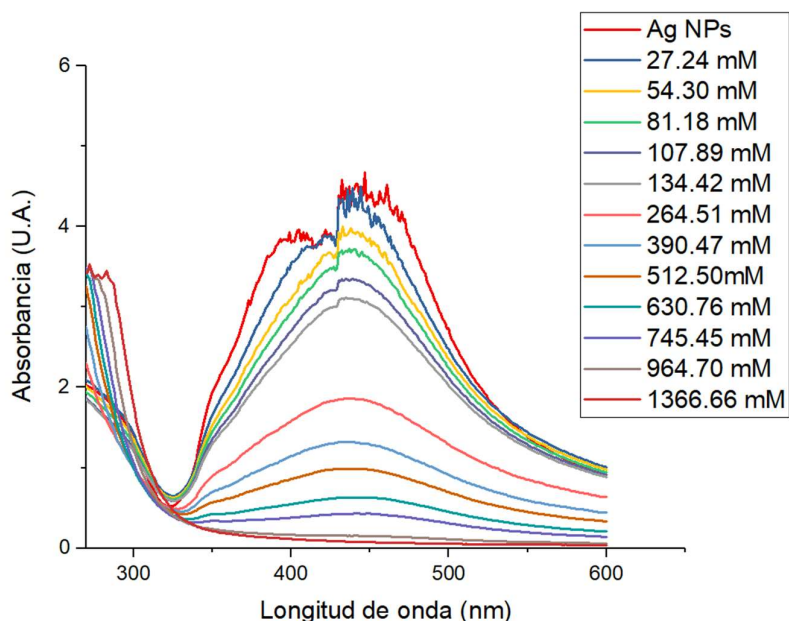


Figura 13: Espectro de absorción de las Ag NPs al aumentar la concentración de H_2O_2 sobre una única muestra.

En la Figura 14 se muestra un comparativo en los espectros de absorción para dos muestras preparadas con 300 μ L, una con H_2O_2 y otra con H_2O . Aquí se observa que la muestra que contiene H_2O , no modifica el espectro de absorción característico de las de las Ag NPs, conservando su pico de absorción en los 440 nm de longitud de onda. Por su parte, la muestra preparada con H_2O_2 no presenta ninguna absorción en 440nm.

En relación a las Figuras 11, 13 y 14 nos permite ver el comportamiento y operatividad que tiene una solución de Ag NPs como sensor de H_2O_2 . Es decir, para una solución con Ag NPs siempre se ve afectado su pico de absorción en los 440 nm bajo la presencia de H_2O_2 en la solución bajo una relación inversa.

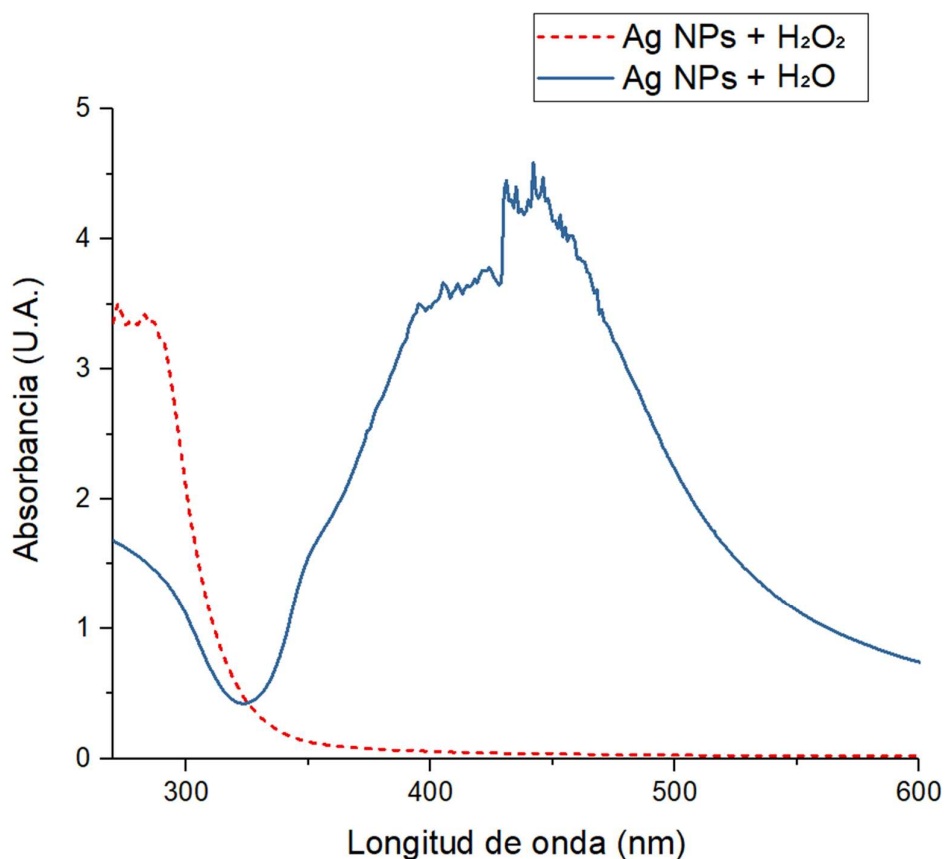


Figura 14: Espectros de absorción de Ag NPs + H₂O₂ y Ag NPs + H₂O.

6.2.4 Curva de calibración

En la Figura 15 se muestra la curva de calibración obtenida para las diferentes pruebas llevadas a cabo en la solución de Ag NPs como sensor de H₂O₂. La Figura 15A es la calibración llevada a cabo sobre las distintas muestras a diferentes concentraciones de H₂O₂ (ver Figura 11) y que corresponden a los espectros mostrados en la Figura 10. La Figura 15B corresponde a la calibración sobre una misma solución de Ag NPs a diferentes concentraciones de H₂O₂ y que corresponden a los espectros mostrados en la Figura 12. Las curvas de calibración

para ambas pruebas (Figura 15 A y B) valida la relación inversa entre el nivel de absorbancia de la solución de Ag NPs con el nivel de concentración de H₂O₂. Las curvas de calibración de la Figura 15 se obtienen de las Tablas 3 y 4, y que corresponden a la aplicación de la regresión de Boltzmann a los resultados experimentales que se muestran en las Tablas 1 y 2 respectivamente. De los resultados experimentales y acorde a las curvas de calibración, se valida que es factible evaluar la concentración de H₂O₂ a partir de 50 mM (0.17 % p/p) de concentración, con un límite de 850 mM (2.9 % p/p) y 1000 mM (3.4 % p/p) para las pruebas sobre distintas muestras y una única muestra respectivamente. Los rangos de detección fueron establecidos buscando un rango con un error de detección mínimo, con un valor de 26.51 mM y 23.65 mM para las pruebas sobre distintas muestras y una única muestra respectivamente.

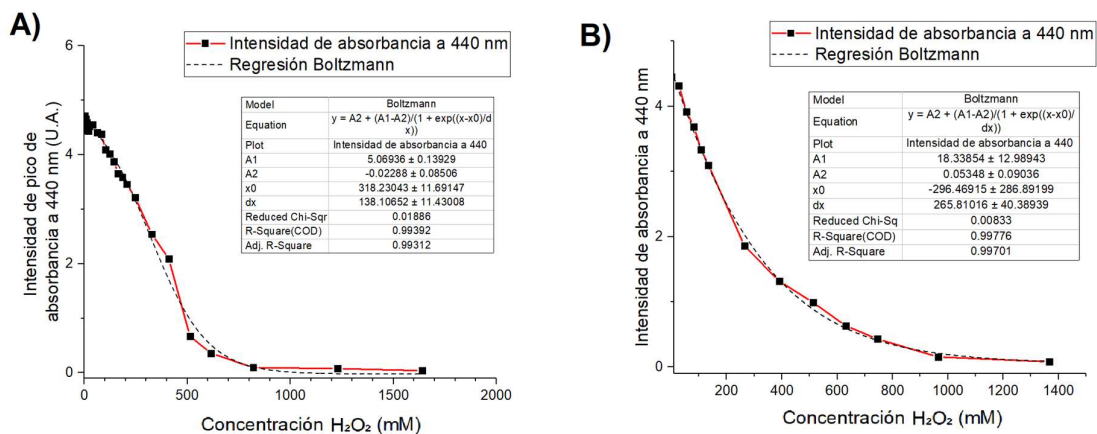


Figura 15: A) Intensidad del pico de absorbancia de Ag NPs a distintas concentraciones de H₂O₂ en pruebas sobre muestras individuales y B) intensidad del pico de absorbancia de Ag NPs a distintas concentraciones de H₂O₂ sobre una misma muestra

Tabla 3: Concentraciones de H₂O₂ preparadas y medidas a partir de la absorbancia de la muestra para las pruebas de muestras individuales. El rango de detección se indica con los valores en negritas.

Muestra	Concentración calculada a través de regresión de Boltzmann (mM)	Concentración Preparada (mM)	Error de medición (mM)
1	44.97	0	-27.9983
2	-27.17	0.82	-29.109
3	-27.46	1.64	-41.5255
4	-39.06	2.46	14.21982
5	17.49	3.28	-17.954
6	-13.85	4.1	-25.0078
7	-16.80	8.2	-8.08541
8	4.21	12.3	10.86291
9	27.26	16.4	27.14227
10	47.64	20.5	-23.515
11	17.48	41	-6.48065
12	55.01	61.5	-20.7673
13	61.23	82	16.37264
14	118.87	102.5	9.77856
15	132.77	123	10.92524
16	154.42	143.5	22.62308
17	186.62	164	10.90608
18	195.40	184.5	6.53761
19	211.53	205	-5.15352
20	240.84	246	-11.9799
21	316.02	328	-44.3045
22	365.69	410	-41.4378
23	573.56	512.5	153.6167
24	666.11	615	13.2941
25	833.29	820	-370.26
26	859.73	1230	-717.826
27	922.17	1640	-27.9983

Tabla 4: Concentraciones de H₂O₂ reales y medidas a partir de la absorbancia de la muestra para las pruebas sobre una única muestra. El rango de detección se indica con los valores en negritas.

Muestra	Concentración calculada a través de regresión de Boltzmann (mM)	Concentración Preparada (mM)	Error de medición (mM)
1	9.21406	0	9.21406
2	19.80039	27.24	-7.44213492
3	53.35	54.30	-0.94886576
4	74.01	81.18	-7.17594881
5	107.62	107.89	-0.2661068
6	131.66	134.42	-2.7583095
7	291.56	264.51	27.045561
8	394.89	390.47	4.4174895
9	479.26	512.5	-33.23494
10	612.10	630.76	-18.6627208
11	730.43	745.45	-15.0205955
12	1082.07	964.70	117.3741076

6.3 Microscopía de Fuerza Atómica

En relación a la sección 3.2, la Figura 16 muestra un barrido microscópico de las nanopartículas de plata sintetizadas utilizando el AFM con el propósito de conocer el tamaño y su estado de aglomeración. La información obtenida del barrido muestra la formación homogénea de Ag NPs con un tamaño de partícula entre 60 y 80 nm, además no presentan una notable aglomeración.

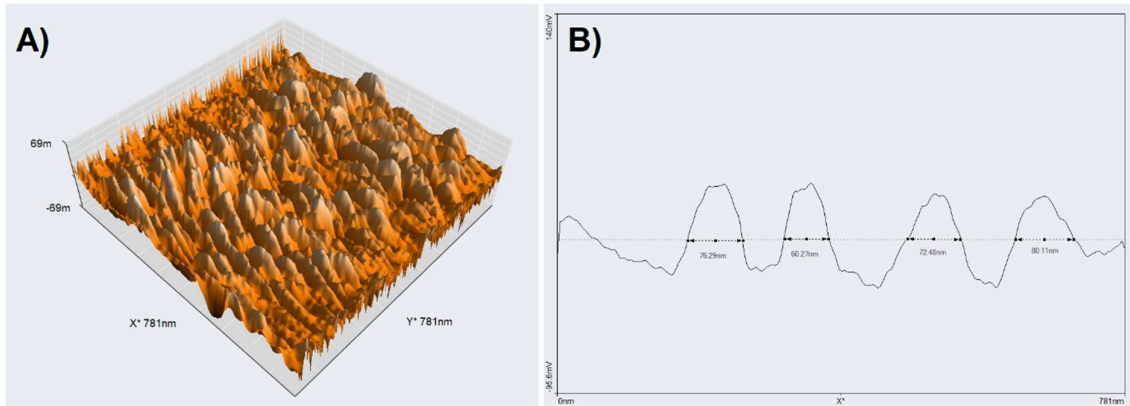


Figura 16: (A) Imagen 3D del barrido AFM y (B) sección transversal de las Ag NPs sintetizadas.

Capítulo 7. Dispositivo Portátil

7.1 Desarrollo de dispositivo portátil

En relación a los resultados experimentales y acorde a las curvas de calibración de la sección 6.2.4, se demuestra y valida que es factible cuantificar los niveles de concentración de H_2O_2 en soluciones de Ag NPs. La Figura 11 hace evidente que a medida que la concentración de H_2O_2 aumenta en la solución, el color de la muestra se torna marrón oscuro hasta perder el color en niveles de concentración de 512.50 mM de H_2O_2 . En este sentido, la solución de Ag NPs puede emplearse como sensor colorimétrico sensible al H_2O_2 . Con la finalidad de contar con una prueba complementaria en base a un método de detección de color, que sea sencillo, fiable, de bajo costo y manejo, se diseña e implementa un dispositivo portátil para la cuantificación in situ de H_2O_2 presente en soluciones de Ag NPs. El dispositivo desarrollado está inspirado en el funcionamiento del espectrofotómetro UV-Vis. En la Figura 17 se muestra un diagrama general del dispositivo propuesto.

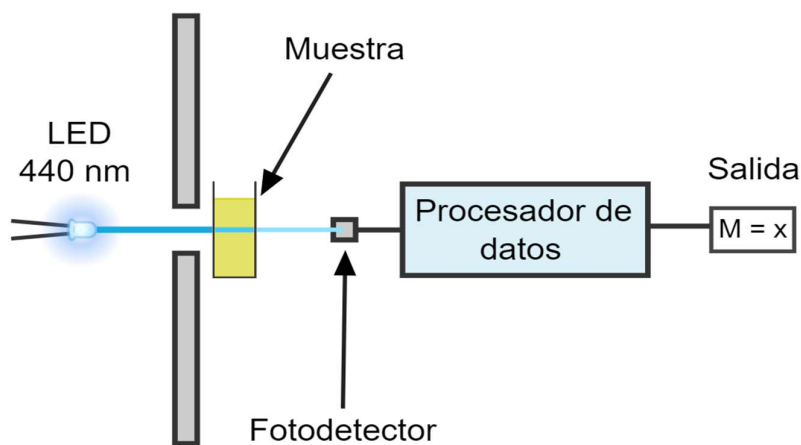


Figura 17: Diagrama de funcionamiento del dispositivo propuesto.

El dispositivo emplea como fuente de luz un diodo emisor de luz (LED) de longitud de onda de 440 nm, y que corresponde a la longitud de onda a la que se encuentra el pico de absorbancia característico de las Ag NPs. El haz de luz incide de forma normal sobre la muestra bajo análisis y la luz transmitida es recibida por un fotodetector. En relación a la intensidad de luz captada por el fotodetector se envía una señal para ser procesada y ajustada a un dato numérico del nivel de concentración de H₂O₂ de la muestra. En la Figura 18 se muestra el LED de emisión a los 440 nm y el módulo sensor de luz TCS230 (fotodetector) empleados en el dispositivo.

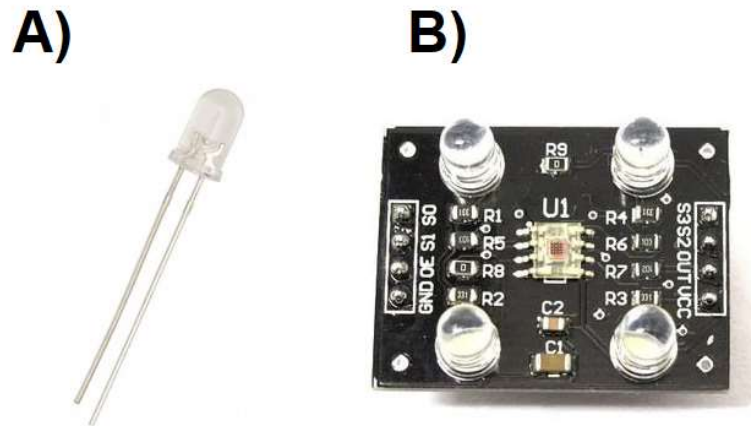


Figura 18: LED azul de 440 nm (A) y modulo sensor de color TCS230 (B).

La Figura 19 muestra la placa programable Arduino Nano empleada como controlador y procesador de datos.

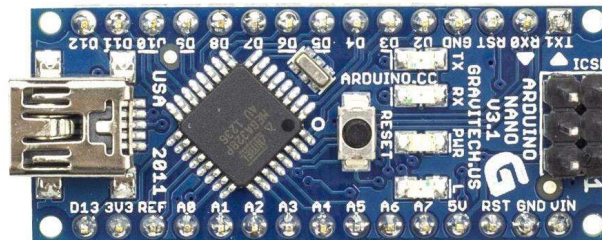


Figura 19: Placa programable Arduino Nano.

El sensor de color TCS230 cuenta con un arreglo de 16 fototransistores con filtros para cada uno de los colores primarios (rojo, verde y azul) y 16 fototransistores de filtro transparente, los cuales producen una señal de salida de onda cuadrada de frecuencia proporcional a la intensidad de la luz recibida por el fototransistor. De esta forma, con la fuente de luz a la misma longitud de onda que la absorbancia de las Ag NPs, el módulo TCS230 genera una señal cuadrada de frecuencia proporcional a la concentración de H₂O₂ en la muestra. El módulo TCS230 cuenta también con 4 LEDs utilizados como fuente de luz para la detección de color, los cuales fueron removidos para evitar interferencias con el LED de 440 nm.

En la Figura 20 se muestra el diseño del circuito electrónico que integra todos los componentes del dispositivo portátil para la cuantificación in situ de H₂O₂ presente en soluciones de Ag NPs. La Figura 20A muestra las conexiones eléctricas entre los componentes, donde la placa programable Arduino Nano es el elemento de control del módulo TCS230 y el LED. Como se muestra en la misma, los pines S0-S3 del módulo TCS230 son utilizados para seleccionar el filtro de color y se conectan cada uno a un pin digital de la placa Arduino. El pin OUT del módulo TCS230 envía un pulso por un pin digital de entrada de la placa Arduino. Los pines VCC y GND del módulo TCS230 se conectan al pin de salida de 5 V y al pin de GND respectivamente de la placa Arduino. El LED se conecta a la salida de 3.3 V de la placa Arduino en serie con una resistencia eléctrica de 220 Ω con el fin de mantener una fuente de voltaje regulada. Finalmente se conecta un botón pulsador normalmente abierto con el que se controla el dispositivo. La Figura 20B muestra el diagrama eléctrico con sus componentes físicos.

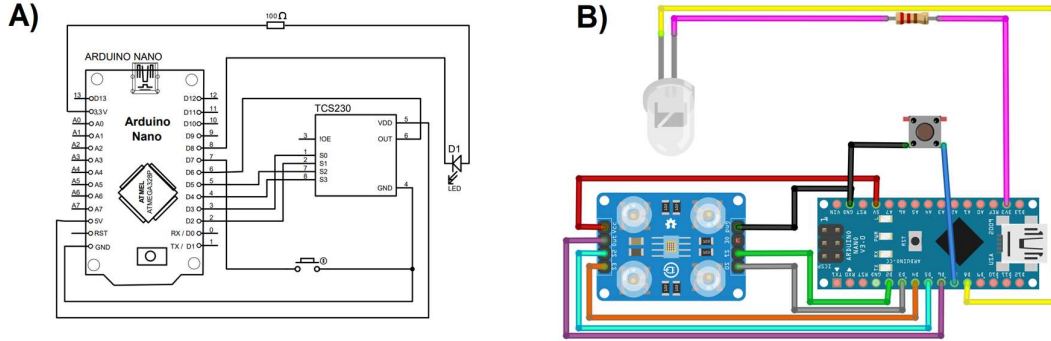


Figura 20: Diagrama de A) circuito electrónico y B) alambrado del dispositivo propuesto.

Por otra parte, para el análisis y manipulación de las muestras en el espectrofotómetro UV-Vis se emplean celdas de cuarzo como contenedores para las soluciones, lo que requiere de un manejo cuidadoso. El dispositivo desarrollado contempla el uso de tubos de microcentrífuga de 200 μ L de polipropileno, material que presenta absorbancia solo en espectro de luz ultravioleta lo que resulta apropiado en el análisis de las soluciones de Ag NPs. En la Figura 21 se muestra el espectro de absorbancia del polipropileno [51].

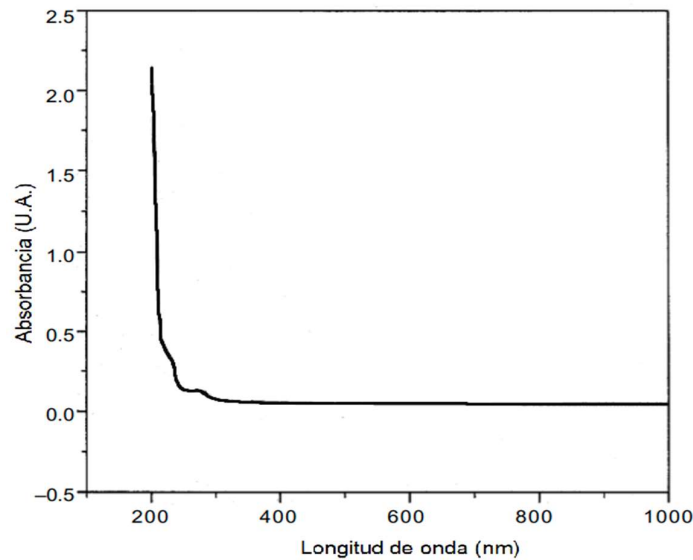


Figura 21: Espectro de absorbancia del portamuestras de polipropileno [51].

Finalmente, se diseña e implementa un contenedor que permita alojar los componentes electrónicos y llevar acabo el análisis de las muestras respectivas. El diseño se hace mediante el software gratuito en línea TinkerCAD®. La Figura 22 muestra la integración global del dispositivo portátil. La Figura 22A muestra la carcasa de dos contenedores, uno para los componentes electrónicos y el otro para el alojamiento de la muestra bajo análisis. La Figura 22B presenta el diseño de la base soporte para los tubos de microcentrifuga de 200 μ L de polipropileno. La Figura 22C muestra el ensamble general del dispositivo y la Figura 22D muestra el dispositivo final. La carcasa y los elementos de soporte para los tubos de polipropileno se obtuvieron por impresión 3D con la impresora Flashforge Creator y utilizando ácido poliláctico (PLA) como material.

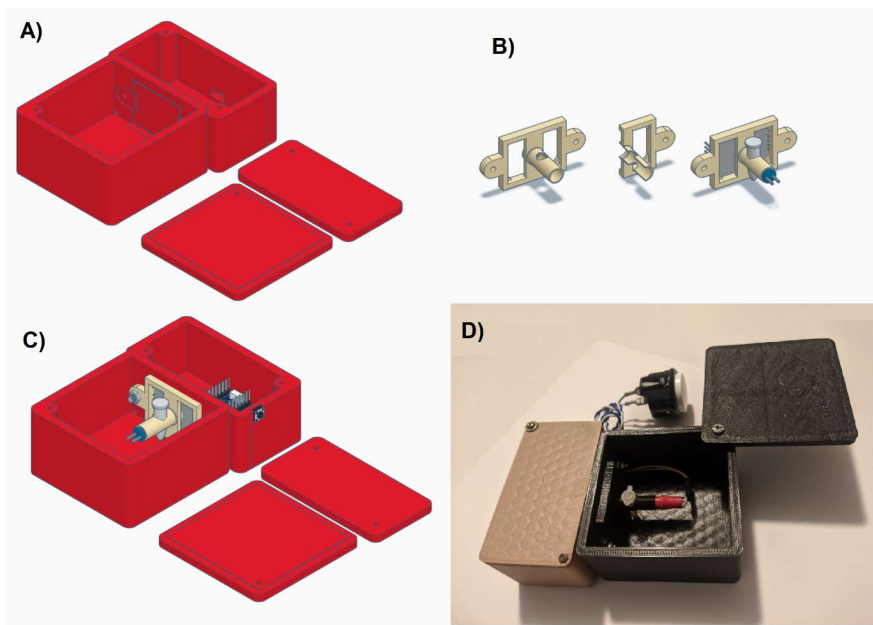


Figura 22: (A) Vista 3D del diseño de carcasa, (B) portamuestras y (C) ensamble, y (D) foto del prototipo del dispositivo desarrollado.

La Figura 23 muestra el diagrama de flujo del programa desarrollado para el funcionamiento el dispositivo portátil de medición in situ de H_2O_2 en soluciones de

Ag NPs, el cual permite obtener, procesar y desplegar la información en un monitor serial. El programa consiste en una pantalla de inicio, seguida de un ciclo en el que se inserta la muestra, y tras presionar el botón, se enciende el LED y se toman mediciones tras 2 segundos, para permitir al fotorreceptor estabilizarse. La salida del programa es la longitud del pulso (PWM, por sus siglas en inglés) promedio de 5 mediciones que emite el módulo TCS230 a lo largo de un segundo, resultando en una señal proporcional a la absorbancia de la muestra, y por ende a la presencia de H₂O₂ en la misma. El código del programa descrito se encuentra anexado al final del trabajo.

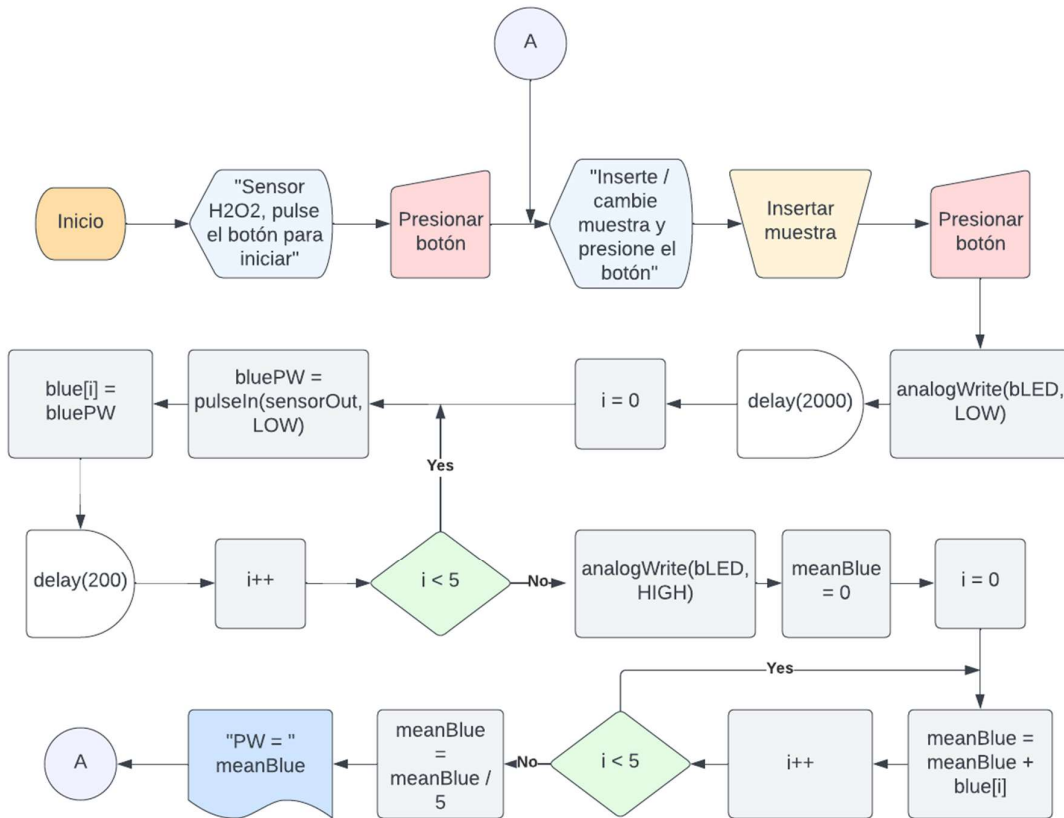


Figura 23: Diagrama de flujo del programa realizado para obtener una longitud de pulso relacionada a la concentración de H₂O₂ en Ag NPs.

La Tabla 5 muestra las soluciones de Ag NPs a distintas concentraciones de H₂O₂ empleadas para la calibración del dispositivo portátil. La Figura 24, muestra el ajuste de Boltzmann sobre las mediciones, con coeficiente de determinación R²=0.9937, lo que permite obtener un valor aproximado de concentración de H₂O₂ en la muestra a partir de la ecuación obtenida del despeje de la variable de concentración del ajuste de Boltzmann (Ecuación 3).

$$M = (A_2 + \frac{(A_1 - A_2)}{1 + e^{\frac{x-x_0}{dx}}}) * 10^3 \quad (3)$$

Donde $A_1 = 2845.45$, $A_2 = 0.2167$, $X_0 = 138.94$, $dx = 131.19$

En la Figura 25 se presenta el diagrama de flujo que se desarrolla para controlar el dispositivo en relación a su calibración basado en la ecuación de ajuste.

Tabla 5: Concentraciones de muestras preparadas para la calibración del dispositivo portátil.

Prueba	Concentración Preparada con H ₂ O ₂ (mM)
1	0.82
2	1.64
3	2.46
4	3.28
5	4.1
6	8.2
7	12.3
8	16.4
9	20.5
10	41
11	61.5
12	82

13	102.5
14	123
15	143.5
16	164
17	184.5
18	205
19	246
20	328
21	410
22	512.5
23	615
24	820
25	1230
26	1640

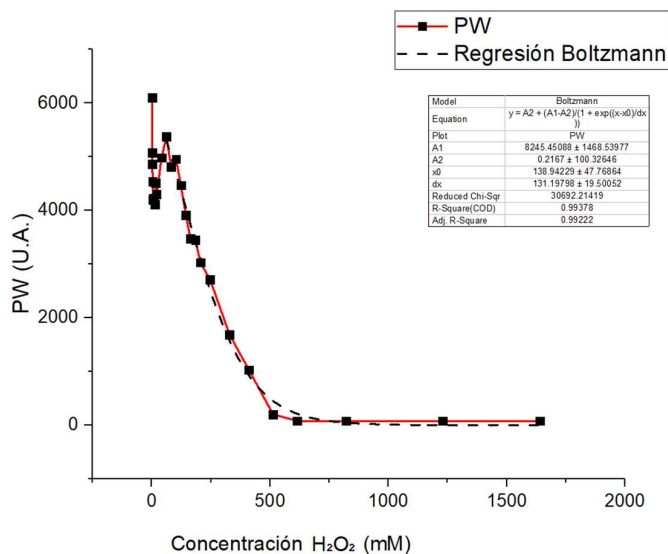


Figura 24: Calibración y regresión de Boltzmann de longitud de pulso contra concentración de H₂O₂ de la muestra medida por el dispositivo portátil.

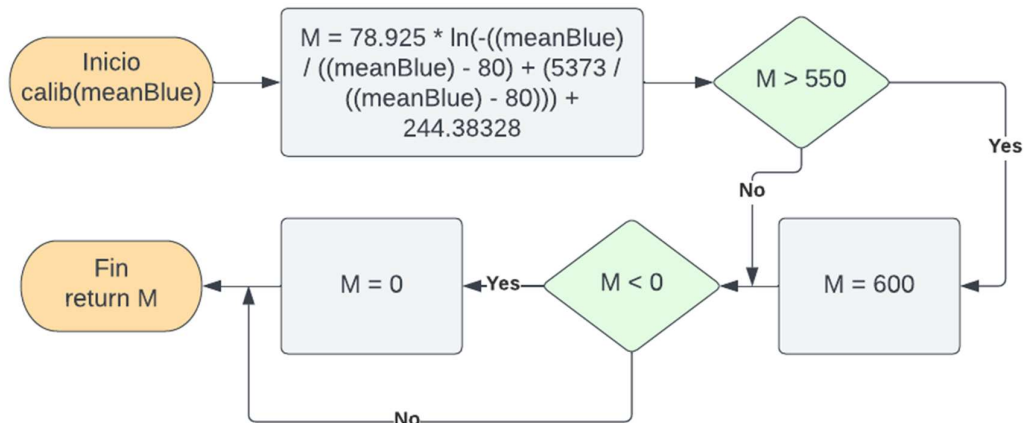


Figura 25: Función utilizada en el programa para calibrar, y filtrar resultados.

La Tabla 6 muestra las mediciones en niveles de concentración de H₂O₂ medidas por el dispositivo portátil en relación a la concentración real de preparación de las muestras. La Figura 26 presenta gráficamente un comparativo entre la concentración real de H₂O₂ presente en las muestras, en relación a las mediciones obtenidas con el espectrofotómetro UV-Vis y el dispositivo portátil desarrollado en este trabajo de tesis, en la que se observa cómo, en conjunto a la suspensión de Ag NPs, el dispositivo portátil fue capaz de medir correctamente muestras de concentración de H₂O₂ a partir de 150 hasta 540 mM, rango en el cual las mediciones presentaron un error de medición promedio menor a 25 mM (23.72 mM). La presencia de H₂O₂ en concentraciones mayores a 550 mM en la dispersión de Ag NPs causa que estas se deterioren por completo, causando que las mediciones obtengan el mismo resultado para muestras a concentraciones de H₂O₂ mayores a este valor. Así mismo, el uso del espectrofotómetro UV-Vis permitió la correcta medición de muestras de Ag NPs con concentraciones de H₂O₂ entre 50 y 800, con un error de medición promedio de 26.51 mM para ese rango.

Tabla 6: Concentraciones reales y medidas a de las muestras medidas utilizando el dispositivo portátil. El rango de detección se indica con los valores en negritas.

Muestra	Concentración obtenida por el dispositivo (mM)	Concentración Preparada (mM)	Error de medición (mM)
1	0	0.82	-0.82
2	20.47	1.64	18.83
3	68.22	2.46	65.76
4	111.61	3.28	108.33
5	145.05	4.1	140.95
6	142.96	8.2	134.76
7	152.23	12.3	139.93
8	114.2	16.4	97.89
9	136.39	20.5	115.89
10	44.80	41	3.80
11	0	61.5	-61.5
12	76.08	82	-5.915
13	49.89	102.5	-52.60
14	119.57	123	-3.42
15	168.50	143.5	25.00
16	198.81	164	34.81
17	200.36	184.5	15.86
18	226.14	205	21.14
19	245.12	246	-0.87
20	309.76	328	-18.23
21	364.23	410	-45.76
22	540.76	512.5	28.26
23	600	615	-15
24	600	820	-220
25	600	1230	-630
26	600	1640	-1040

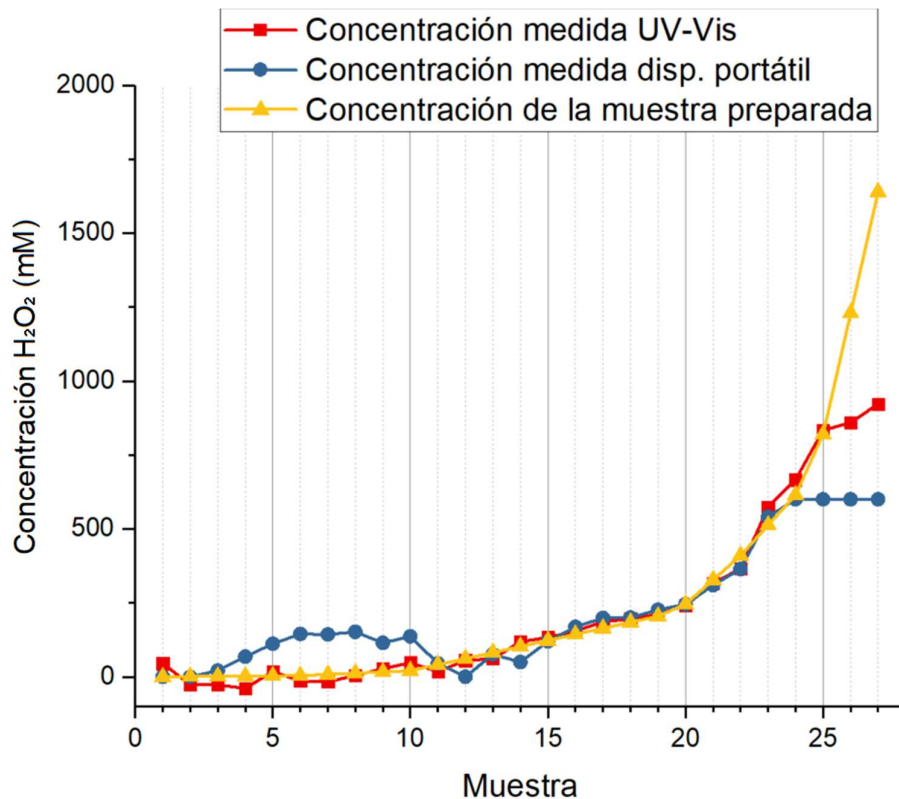


Figura 26: Comparación de mediciones realizadas sobre las Ag NPs a distintas concentraciones con el espectrofotómetro UV-Vis y el sensor portátil.

Capítulo 8. Conclusiones y trabajo a futuro

- Se desarrolló un método sencillo de síntesis y aplicación de Ag NPs como medio para la detección y medición de H₂O₂ utilizando Ag NPs sintetizadas por el método de Turkevich.
- El análisis espectrofotométrico de las muestras de Ag NPs permitió conocer la concentración H₂O₂ de la muestra a partir de su absorbancia, con un rango de detección entre 50 y 800 mM (0.17% - 2.7% p/p) y un error promedio de 26.51 mM.

- Se desarrolló un sensor portátil capaz de evaluar cuantitativamente la concentración de H₂O₂ en una suspensión de Ag NPs de forma rápida, sencilla y precisa, permitiendo realizar un análisis sin la necesidad de emplear métodos de detección de mayor inestabilidad, y sin utilizar equipo o técnicas complejas para su medición, con un rango de detección entre 150 y 500 mM (0.51 % - 1.7% p/p) y un error promedio de 23.72 mM.
- Como trabajo a futuro, el dispositivo portátil podría ser ampliamente mejorado, especialmente a través del uso de componentes electrónicos de mayor sensibilidad, tales como un fotodetector de mayor precisión o una fuente de luz diseñada específicamente para el dispositivo, lo que permitiría la detección de H₂O₂ con un mayor rango de detección y mayor precisión.

9 Referencias

- [1] T. Audu and B. U. Anyata, "Removal of heavy metal from industrial wastewater using hydrogen peroxide," *African J. Biotechnol. (ISSN 1684-5315) Vol 6 Num 3*, vol. 6, Oct. 2007, doi: 10.4314/ajb.v6i3.56145.
- [2] L. Fu, S.-J. You, F. Yang, M. Gao, X. Fang, and G. Zhang, "Synthesis of hydrogen peroxide in microbial fuel cell," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 85, no. 5, pp. 715–719, May 2010, doi: 10.1002/jctb.2367.
- [3] L. Xing, W. Zhang, L. Fu, J. M. Lorenzo, and Y. Hao, "Fabrication and application of electrochemical sensor for analyzing hydrogen peroxide in food system and biological samples," *Food Chem.*, vol. 385, p. 132555, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132555.
- [4] N. H. Martin, A. Friedlander, A. Mok, D. Kent, M. Wiedmann, and K. J. Boor, "Peroxide Test Strips Detect Added Hydrogen Peroxide in Raw Milk at Levels Affecting Bacterial Load," *J. Food Prot.*, vol. 77, no. 10, pp. 1809–1813, Oct. 2014, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-074.
- [5] R. T. Toledo, F. E. Escher, and J. C. Ayres, "Sporicidal Properties of Hydrogen Peroxide Against Food Spoilage Organisms," *Appl. Microbiol.*, vol. 26, no. 4, pp. 592–597, Oct. 1973, doi: 10.1128/am.26.4.592-597.1973.
- [6] J. M. Campos-Martin, G. Blanco-Brieva, and J. L. G. Fierro, "Hydrogen Peroxide Synthesis: An Outlook beyond the Anthraquinone Process," *Angew.*

- Chemie Int. Ed.*, vol. 45, no. 42, pp. 6962–6984, Oct. 2006, doi: 10.1002/anie.200503779.
- [7] M. Melchionna, P. Fornasiero, and M. Prato, “The Rise of Hydrogen Peroxide as the Main Product by Metal-Free Catalysis in Oxygen Reductions,” *Adv. Mater.*, vol. 31, no. 13, p. 1802920, Mar. 2019, doi: 10.1002/adma.201802920.
- [8] R. Gredilla, M. López-Torres, and G. Barja, “Effect of time of restriction on the decrease in mitochondrial H₂O₂ production and oxidative DNA damage in the heart of food-restricted rats,” *Microsc. Res. Tech.*, vol. 59, no. 4, pp. 273–277, Nov. 2002, doi: 10.1002/jemt.10204.
- [9] S. Luo and X. Kan, “Specifically triggered dissociation based ratiometric electrochemical sensor for H₂O₂ measurement in food samples,” *Food Chem.*, vol. 387, p. 132922, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132922.
- [10] “Peróxido de hidrógeno (Hydrogen Peroxide) | ToxFAQ | ATSDR. (2016, 6 mayo). ATSDR. Recuperado 20 de Agosto de 2022, de <https://www.atsdr.cdc.gov>.”
- [11] E. Kurowska, A. Brzózka, M. Jarosz, G. D. Sulka, and M. Jaskuła, “Silver nanowire array sensor for sensitive and rapid detection of H₂O₂,” *Electrochim. Acta*, vol. 104, pp. 439–447, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.electacta.2013.01.077.
- [12] X. Shu, Y. Chen, H. Yuan, S. Gao, and D. Xiao, “H₂O₂ Sensor Based on the Room-Temperature Phosphorescence of Nano TiO₂/SiO₂ Composite,” *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 10, pp. 3695–3702, May 2007, doi: 10.1021/ac0624142.
- [13] L. Xing, W. Zhang, L. Fu, J. M. Lorenzo, and Y. Hao, “Fabrication and application of electrochemical sensor for analyzing hydrogen peroxide in food system and biological samples,” *Food Chem.*, vol. 385, p. 132555, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132555.
- [14] C. K. Tagad, S. R. Dugasani, R. Aiyer, S. Park, A. Kulkarni, and S. Sabharwal, “Green synthesis of silver nanoparticles and their application for the development of optical fiber based hydrogen peroxide sensor,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 183, pp. 144–149, Jul. 2013, doi: 10.1016/j.snb.2013.03.106.
- [15] C. A. Sequeira, “Silver Nanoparticles for Hydrogen Peroxide Sensors,” *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*, vol. 40, no. 4, Dec. 2021, doi: 10.26717/BJSTR.2021.40.006481.
- [16] D. F. Emerich and C. G. Thanos, “Nanotechnology and medicine,” *Expert Opin. Biol. Ther.*, vol. 3, no. 4, pp. 655–663, Jul. 2003, doi: 10.1517/14712598.3.4.655.
- [17] J. Hulla, S. Sahu, and A. Hayes, “Nanotechnology,” *Hum. Exp. Toxicol.*, vol. 34, no. 12, pp. 1318–1321, Dec. 2015, doi: 10.1177/0960327115603588.

- [18] P. Biswas and C.-Y. Wu, "Nanoparticles and the Environment," *J. Air Waste Manage. Assoc.*, vol. 55, no. 6, pp. 708–746, Jun. 2005, doi: 10.1080/10473289.2005.10464656.
- [19] B. Bhushan, "Springer Handbook of Nanotechnology," 2017, pp. 1–83.
- [20] V. J. Mohanraj and Y. Chen, "Nanoparticles - A review," *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 5, no. 1, Jul. 2007, doi: 10.4314/tjpr.v5i1.14634.
- [21] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, and F. Rizzolio, "The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine," *Molecules*, vol. 25, no. 1, p. 112, Dec. 2019, doi: 10.3390/molecules25010112.
- [22] I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, and C. Higgitt, "The Lycurgus Cup — A Roman nanotechnology," *Gold Bull.*, vol. 40, no. 4, pp. 270–277, Dec. 2007, doi: 10.1007/BF03215599.
- [23] I. Freestone, N. Meeks, M. Sax, and C. Higgitt, "The Lycurgus Cup — A Roman nanotechnology," *Gold Bull.*, vol. 40, no. 4, pp. 270–277, Dec. 2007, doi: 10.1007/BF03215599.
- [24] K. N. Thakkar, S. S. Mhatre, and R. Y. Parikh, "Biological synthesis of metallic nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 6, no. 2, pp. 257–262, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.
- [25] L. Xing, W. Zhang, L. Fu, J. M. Lorenzo, and Y. Hao, "Fabrication and application of electrochemical sensor for analyzing hydrogen peroxide in food system and biological samples," *Food Chem.*, vol. 385, p. 132555, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132555.
- [26] A. D. McFarland and R. P. Van Duyne, "Single Silver Nanoparticles as Real-Time Optical Sensors with Zeptomole Sensitivity," *Nano Lett.*, vol. 3, no. 8, pp. 1057–1062, Aug. 2003, doi: 10.1021/nl034372s.
- [27] A. Chamorro and A. Merkoçi, "Nanobiosensors in diagnostics," *Nanobiomedicine*, vol. 3, 2016, doi: 10.1177/1849543516663574.
- [28] S. Yu, Y. Yin, and J. Liu, "Silver nanoparticles in the environment," *Environ. Sci. Process. Impacts*, vol. 15, no. 1, pp. 78–92, 2013, doi: 10.1039/C2EM30595J.
- [29] K. B. R. Teodoro, F. L. Migliorini, W. A. Christinelli, and D. S. Correa, "Detection of hydrogen peroxide (H₂O₂) using a colorimetric sensor based on cellulose nanowhiskers and silver nanoparticles," *Carbohydr. Polym.* vol. 212, pp. 235–241, May 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.053.
- [30] Mazzonello, Antonino & Valdramidis, Vasilis & Farrugia, Claude & Grima, Joseph & Gatt, Ruben. (2017). Synthesis and characterization of silver nanoparticles. *International Journal of Engineering Research*. 7. 41.
- [31] P. Dobrowolska, A. Krajewska, M. Gajda-Rączka, B. Bartosewicz, P. Nyga, and B. Jankiewicz, "Application of Turkevich Method for Gold Nanoparticles Synthesis to Fabrication of SiO₂@Au and TiO₂@Au Core-Shell Nanostructures," *Materials (Basel)*, vol. 8, no. 6, pp. 2849–2862, May 2015, doi: 10.3390/ma8062849.

- [32] J. Dong, P. L. Carpinone, G. Pyrgiotakis, P. Demokritou, and B. M. Moudgil, "Synthesis of Precision Gold Nanoparticles Using Turkevich Method," *KONA Powder Part. J.*, vol. 37, p. 2020011, Jan. 2020, doi: 10.14356/kona.2020011.
- [33] J. Polte, "Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles – a new perspective," *CrystEngComm*, vol. 17, no. 36, pp. 6809–6830, 2015, doi: 10.1039/C5CE01014D.
- [34] C. Zhu *et al.*, "In-situ liquid cell transmission electron microscopy investigation on oriented attachment of gold nanoparticles," *Nat. Commun.*, vol. 9, no. 1, p. 421, Jan. 2018, doi: 10.1038/s41467-018-02925-6.
- [35] X. Cai, E. E. L. Tanner, C. Lin, K. Ngamchuea, J. S. Foord, and R. G. Compton, "The mechanism of electrochemical reduction of hydrogen peroxide on silver nanoparticles," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 20, no. 3, pp. 1608–1614, 2018, doi: 10.1039/C7CP07492A.
- [36] Z. Chen *et al.*, 'UV-Vis Spectroscopy,' 2013, pp. 49–62.
- [37] M. Picollo, M. Aceto, and T. Vitorino, "UV-Vis spectroscopy," *Phys. Sci. Rev.*, vol. 4, no. 4, Mar. 2019, doi: 10.1515/psr-2018-0008.
- [38] J. H. Hardesty and B. Attili, 'Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law: An important analytical technique in chemistry,' Collin College, Department of Chemistry, 2010.
- [39] F. S. Rocha, A. J. Gomes, C. N. Lunardi, S. Kaliaguine, and G. S. Patience, "Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy-UV-Vis," *Can. J. Chem. Eng.*, vol. 96, no. 12, pp. 2512–2517, Dec. 2018, doi: 10.1002/cjce.23344.
- [40] H. Lam, 'Performance Verification of UV - VIS Spectrophotometers,' in *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2004, pp. 153–172.
- [41] M. Alim-Al-Razy, G. M. Asik Bayazid, R. U. Rahman, R. Bosu, and S. S. Shamma, "Silver nanoparticle synthesis, UV-Vis spectroscopy to find particle size and measure resistance of colloidal solution," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1706, no. 1, p. 012020, Dec. 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1706/1/012020.
- [42] D. Rugar and P. Hansma, 'Atomic force microscopy', *Physics today*, vol. 43, no. 10, pp. 23–30, 1990.
- [43] G. Binnig, C. F. Quate, and C. Gerber, "Atomic Force Microscope," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 56, no. 9, pp. 930–933, Mar. 1986, doi: 10.1103/PhysRevLett.56.930.
- [44] E. Meyer, "Atomic force microscopy," *Prog. Surf. Sci.*, vol. 41, no. 1, pp. 3–49, Sep. 1992, doi: 10.1016/0079-6816(92)90009-7.
- [45] F. J. Giessibl, 'Advances in atomic force microscopy', *Rev. Mod. Phys.*, vol. 75, pp. 949–983, Jul. 2003.
- [46] J. HITOMI, S. OGURA, T. UMEMOTO, M. SHIGENO, and T. USHIKI, "Atomic Force Microscopy in Histology and Cytology." *Arch. Histol. Cytol.* vol. 59, no. 5, pp. 421–431, 1996, doi: 10.1679/aohc.59.421.
- [47] D. Ebeling and S. D. Solares, "Bimodal atomic force microscopy driving the higher eigenmode in frequency-modulation mode: Implementation,

- advantages, disadvantages and comparison to the open-loop case," *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 4, pp. 198–207, Mar. 2013, doi: 10.3762/bjnano.4.20.
- [48] J. Zhong and J. Yan, "Seeing is believing: atomic force microscopy imaging for nanomaterial research," *RSC Adv.*, vol. 6, no. 2, pp. 1103–1121, 2016, doi: 10.1039/C5RA22186B.
- [49] R. D. Kent and P. J. Vikesland, "Controlled Evaluation of Silver Nanoparticle Dissolution Using Atomic Force Microscopy," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, no. 13, pp. 6977–6984, Jul. 2012, doi: 10.1021/es203475a.
- [50] P. Prakash, P. Gnanaprakasam, R. Emmanuel, S. Arokiyaraj, and M. Saravanan, "Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi*, Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 108, pp. 255–259, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.03.017.
- [51] R. Kumar *et al.*, "Study of optical band gap and carbon cluster sizes formed in 100 MeV Si⁸⁺ and 145 MeV Ne⁶⁺ ions irradiated polypropylene polymer," *Indian J. Phys.*, vol. 83, no. 7, pp. 969–976, Jul. 2009, doi: 10.1007/s12648-009-0056-5.

10 Anexos

10.1. Código del programa para obtener valor de PWM del dispositivo portátil.

```
/*
  Sensor de H2O2 de Ag NPs, salida PWM
*/

// Pines TCS230 + LEDs + potenciómetros

#define S0 3
#define S1 2
#define S2 5
#define S3 6
#define sensorOut 4
#define bLED 8

// Variables para medición de concentración

int bluePW = 0;
int blue1[5];
float meanBlue1;
int M;

void setup() {

  Serial.begin(9600);

  // Pines S0 - S3 como outputs
  pinMode(S0, OUTPUT);
  pinMode(S1, OUTPUT);
  pinMode(S2, OUTPUT);
  pinMode(S3, OUTPUT);

  // Pin Sensor output como input
  pinMode(sensorOut, INPUT);

  // Pin LED azul como output
  pinMode(bLED, OUTPUT);

  // Pin botón como input
  pinMode(7, INPUT);
```

```

digitalWrite(7, HIGH);

// Escalado de frecuencia a 2%
digitalWrite(S0, LOW);
digitalWrite(S1, HIGH);

// Apagar LED azul
digitalWrite(bLED, HIGH);

// Setup Serial Monitor
Serial.begin(9600);

// Despliegue inicio del programa

Serial.println("--Sensor de H2O2 de Ag NPs--");
Serial.println(" Presione el botón para continuar");

int boton = digitalRead(7);

//Espera de input de botón

while(boton == 1){
  delay(10);
  boton=digitalRead(7);
}
while(boton == 0){
  delay(10);
  boton=digitalRead(7);
}
}

void loop() {

  int boton = digitalRead(7);

  Serial.println(" ");
  Serial.println("Inserte la muestra y presione el botón");

  while(boton == 1){
    delay(10);
    boton=digitalRead(7);
  }
  while(boton == 0){
    delay(10);
    boton=digitalRead(7);
  }

  Serial.println("Obteniendo valores...");

```

```

// Encender LED azul

analogWrite(bLED, LOW);
delay(2000);

//Tomar 5 mediciones

for (int i=0; i < 5; i++){
bluePW = getBluePW();
blue1[i] = bluePW;
delay(200);
}

// Calcular promedio de mediciones
meanBlue1 = 0;
for (int i=0; i < 5; i++){
meanBlue1 = meanBlue1 + blue1[i];
}
meanBlue1 = meanBlue1 / 5;

// Desplegar valor PWM obtenido

Serial.print("PW = ");
Serial.println(meanBlue1);

Serial.println(" ");

digitalWrite(bLED, HIGH);

}

// Función para leer PWM azul de TCS230
int getBluePW() {

// Polarizar a filtro azul
digitalWrite(S2, LOW);
digitalWrite(S3, HIGH);
// Variable para almacenar PW
int PW;
// Obtener la señal
PW = pulseIn(sensorOut, LOW);
// Regresar el valor
return PW;

}

```

10.2. Código del programa para obtener el valor de concentración de la muestra del dispositivo portátil.

```
/*  
  Sensor de H2O2 de Ag NPs , salida concentración  
*/  
  
// Pines TCS230 + LEDs + potenciómetros  
  
#define S0 3  
#define S1 2  
#define S2 5  
#define S3 6  
#define sensorOut 4  
#define bLED 8  
  
// Variables para medición de concentración  
  
int bluePW = 0;  
int blue1[5];  
float meanBlue1;  
int M;  
  
void setup() {  
  
  Serial.begin(9600);  
  
  // Pines S0 - S3 como outputs  
  pinMode(S0, OUTPUT);  
  pinMode(S1, OUTPUT);  
  pinMode(S2, OUTPUT);  
  pinMode(S3, OUTPUT);  
  
  // Pin Sensor output como input  
  pinMode(sensorOut, INPUT);  
  
  // Pin LED azul como output  
  pinMode(bLED, OUTPUT);  
  
  // Pin botón como input  
  pinMode(7, INPUT);  
  digitalWrite(7, HIGH);  
  
  // Escalado de frecuencia a 2%  
  digitalWrite(S0, LOW);  
  digitalWrite(S1, HIGH);
```

```

// Apagar LED azul
digitalWrite(bLED, HIGH);

// Setup Serial Monitor
Serial.begin(9600);

// Despliegue inicio del programa

Serial.println("--Sensor de H2O2 de Ag NPs--");
Serial.println(" Presione el botón para continuar");

int boton = digitalRead(7);

//Espera de input de botón

while(boton == 1){
  delay(10);
  boton=digitalRead(7);
}
while(boton == 0){
  delay(10);
  boton=digitalRead(7);
}
}

void loop() {

  int boton = digitalRead(7);

  Serial.println(" ");
  Serial.println("Inserte la muestra y presione el botón");

  while(boton == 1){
    delay(10);
    boton=digitalRead(7);
  }
  while(boton == 0){
    delay(10);
    boton=digitalRead(7);
  }
}

Serial.println("Obteniendo valores...");

// Encender LED azul

analogWrite(bLED, LOW);
delay(2000);

```

```

//Tomar 5 mediciones

for (int i=0; i < 5; i++){
bluePW = getBluePW();
blue1[i] = bluePW;
delay(200);
}

// Calcular promedio de mediciones

meanBlue1 = 0;
for (int i=0; i < 5; i++){
meanBlue1 = meanBlue1 + blue1[i];
}
meanBlue1 = meanBlue1 / 5;

// Obtener concentración de la medición y desplegar

M = calib(meanBlue1);

Serial.print("M = ");
Serial.print(M);
Serial.println(" mM");
Serial.println(" ");

// Apagar LED azul

digitalWrite(bLED, HIGH);

}

// Función para leer PWM azul de TCS230
int getBluePW() {

// Polarizar a filtro azul
digitalWrite(S2, LOW);
digitalWrite(S3, HIGH);
// Variable para almacenar PW
int PW;
// Obtener la señal
PW = pulseIn(sensorOut, LOW);
// Regresar el valor
return PW;

}

// Función para calcular molaridad
int calib(float meanblue) {

```

```
// Variable para almacenar M
int mol;
// Calculo de M de regresión lineal
mol = 78.925*log(-((meanblue)/((meanblue)-80)))+(5373/((meanblue)-80))+244.38328;
// Filtro de resultados fuera del alcance del sensor
if(mol > 550){mol=600;}
if(mol < 0){mol=0;}
// Regresar el valor
return mol;
}
```