UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

SÍNTESIS DE UN SENSOR COLORIMÉTRICO A PARTIR DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA LA DETECCIÓN DE ELECTROLITOS FUERTES Y PROTEÍNAS

Tesis para cubrir los requisitos necesarios para obtener el título de
Licenciado en Ingeniería en Nanotecnología

Presenta
Paulina Mar Díaz

Director de tesis
Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez FIAD-UABC

Co-director
Dr. Jorge Octavio Mata Ramírez FIAD-UABC

Ensenada, Baja California, México, Junio de 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

"SÍNTESIS DE UN SENSOR COLORIMÉTRICO A PARTIR DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA LA DETECCIÓN DE ELECTROLITOS FUERTES Y PROTEÍNAS"

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

PAULINA MAR DÍAZ

Aprobada por:

Dr. Ulises Jesús Tamayo Perez
Director

Jorge Octavio Mata Ramirez

Dr. Jorge Octavio Mata Ramírez
Codirector

Dra. Haydee López Rodríguez
Sinodal

Dr. José de Jesús Zamarripa Topete
Sinodal

M.I. Guillermo Amaya Parra
Sinodal

Agradecimientos

Quiero agradecer a Dios por haberme guiado durante todo este proceso y darme la sabiduría y constancia necesarias para culminar este trabajo.

A mis padres, por todo el apoyo que me han brindado durante todos estos años, por su paciencia y por creer en mí.

A la Universidad Autónoma de Baja California, por haberme dado las herramientas necesarias para poder desarrollarme como profesional y como persona, y por darme una educación de alta calidad.

A mi director de tesis, el Dr. Ulises Jesús Tamayo Pérez por todo el conocimiento y apoyo brindados durante mis años de formación profesional, así como para la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Jorge Octavio Mata Ramírez, por su amistad y enseñanzas durante todos mis años de formación. Por ser más que un profesor para mí.

Al comité de sinodales, por su apoyo y valiosas aportaciones.

A cada uno de los profesores que fueron parte de mi formación profesional, gracias por el conocimiento transmitido, por ayudarme a lograr ser lo que ahora soy. Por ser un ejemplo a seguir.

A aquellos profesores que ya no están. Gracias por haber dejado un poquito de ustedes en mí. Siempre serán parte de mi formación y los recordaré con cariño.

A mis amigos, que siempre estuvieron ahí para mí, por creer en mí y darme apoyo. Porque ustedes también fueron parte de esto.

A mi familia, por siempre apoyarme y creer en mí, por su entusiasmo que me hace querer seguir adelante.

A José Luis, mi amigo incondicional, gracias por todo el apoyo, las risas y consejos.

A todas las personas que fueron parte de este proyecto, cada valiosa aportación hace parte de él y sin ustedes no habría sido posible.

Tabla de contenido

Índice de figuras iv

Índice de tablas iv

Nomenclatura v

Resumen vi

Capítulo 1. Introducción 1

1.1 Sensores 1

1.1.1 Sensores colorimétricos 1

1.2. Estructura de la tesis 2

Capítulo 2. Conceptos Básicos 3

2.1. ¿Qué es la nanotecnología? 3

2.2 Nanopartículas metálicas 4

2.2.1 Nanopartículas de oro (AuNPs) 4

2.2.2 Disoluciones 5

2.2.3 Coloides 6

2.2.4 Solvatación 7

2.2.5 Tamaño de la partícula 7

2.2.6 Espectro de luz visible 9

2.3 Método de Turkevich 9

2.4 Proteínas 10

2.4.1 Estructura primaria 10

2.4.2 Estructura secundaria 10

2.4.3 Estructura terciaria 11

2.4.4 Estructura cuaternaria 11

2.5 Ácidos, bases y electrolitos 12

Capítulo 3. Hipótesis y Objetivos 13

3.1. Hipótesis 13

3.2. Objetivos 13

3.2.1 Objetivo general 13

3.2.2 Objetivos específicos 13

Capítulo 4. Metodología 14

4.1 Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) 14

4.1.1 Primer ensayo de AuNPs 14

4.1.2 Segundo ensayo de AuNPs 14

4.2 Pruebas colorimétricas 16

4.2.1 Pruebas colorimétricas con distintos electrolitos (identificación de electrolitos fuertes) 16

4.2.2 Pruebas colorimétricas con distintas proteínas (identificación de una proteína) 16

4.3 Caracterización 18

Capítulo 5. Resultados y discusiones 20

5.1 Síntesis de nanopartículas de oro 20

5.2. Pruebas colorimétricas 20

5.2.1 Pruebas colorimétricas con distintos electrolitos (identificación de electrolitos fuertes) 20

5.2.2 Pruebas colorimétricas con distintas proteínas (identificación de una proteína) 22

5.3 Caracterización UV-Vis 24

Capítulo 6. Conclusiones y trabajo futuro 34

Anexos 35

Referencias 36

Referencias de figuras 38

Índice de figuras

Figura 1. Copa de Licurgo. 2
Figura 2. Escala de algunas estructuras de materia expresada en nanómetros. 3
Figura 3. Estructura de una Nanopartícula de oro. 5
Figura 4. Tonalidades que adquieren las AuNPs dependiendo de su tamaño y morfología. 7
Figura 5. Espectro de la luz visible. 8
Figura 6. Estructura primaria de una proteína. 10
Figura 7. Estructura secundaria de una proteína. 11
Figura 8. Estructura terciaria de una proteína. 11
Figura 9. Estructura cuaternaria de una proteína. 12
Figura 10. Procedimiento general para la síntesis de nanopartículas de oro. 15
Figura 11. Procedimiento de pruebas colorimétricas con electrolitos fuertes. 16
Figura 12. Procedimiento de pruebas colorimétricas con proteínas. 18
Figura 13. Espectrofotómetro. 18
Figura 14. Soluciones de AuNPs. 19
Figura 15. Nanopartículas de oro sintetizadas. 20
Figura 16. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs. 24
Figura 17. AuNPs combinados con NaOH, H_2SO_4, HCl y NaCl. a) Espectroscopia UV-Vis de AuNPs con diferentes electrolitos b) Cambios de coloración de las AuNPs con diferentes electrolitos. 25
Figura 18. a) Solvatación de las AuNPs al agregar una solución saturada de NaCl. b) AuNPs recubiertas con una proteína que neutralizando la carga electrostática de las AuNPs 26
Figura 19. Muestra de AuNPs con diferentes concentraciones de NaCl. 27
Figura 20. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con la proteína albúmina de huevo combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl). 28
Figura 21. Comparación entre a) Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con sangre combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl) b) Espectroscopia UV-Vis típica de la sangre humana [15]. 29
Figura 22. Comparación entre a) Espectroscopia UV-Vis de hígado de res [16], b) Espectroscopia UV-Vis de sangre de res [17], c) Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con hígado de res combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl). 30
Figura 23. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con plasma seminal combinado con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl). 32

Índice de tablas

Tabla I. Cambios de coloración de las AuNPs al combinarse con distintos electrolitos (NaOH, H_2SO_4, HCl, NaCl). 21
Tabla II. Cambios de coloración de las AuNPs al combinarse con distintos electrolitos y diferentes proteínas. 23

Nomenclatura

AFM	Microscopio de Fuerza Atómica
AuNPs	Nanopartículas de oro.
Au	Oro
Ag	Plata
mg	Miligramos.
g	Gramos
µL	Microlitro (s).
mL	Mililitro (s).
nm	Nanómetro (s).
ppm	Partes por millón.
mM	Milimolar.
M	Molar.
NaOH	Hidróxido de Sodio.
HCl	Ácido Clorhídrico.
H_2SO_4	Ácido sulfúrico.
$Na_3C_6H_5O_7$	Citrato de Sodio.
TEM	Microscopio Electrónico de Transmisión.
UV	Ultravioleta.
UV-Vis	Ultravioleta Visible.

Resumen

Las proteínas y los electrolitos están presentes en gran cantidad de sustancias y productos de uso diario, como lo son los alimentos. Un sensor colorimétrico puede ser una herramienta útil para detectar las proteínas que contiene una sustancia, o en su defecto, los electrolitos. Esto resulta útil a la hora de realizar proyectos en los que se vean involucrados el uso de estas moléculas y minerales, ya que permiten saber con qué tipo de sustancia se trabaja y así saber de antemano los resultados que se pueden obtener. En este trabajo de tesis se realizó un sensor colorimétrico a base de nanopartículas de oro (AuNPs). Se hicieron pruebas colorimétricas con diferentes electrolitos, como: Cloruro de sodio (NaCl), ácido sulfúrico (H_2SO_4), hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl), y proteínas como: sangre, plasma seminal, hígado de res y albúmina de huevo. Se encontró en este estudio que el HCl resultó ser el electrolito más fuerte y la albúmina de huevo, la proteína que funciona como mejor inhibidor de color.

Palabras clave: *Nanopartículas, Oro, Coloides, Espectro de luz visible, Proteínas, Electrolito, Sensor colorimétrico.*

Capítulo 1. Introducción

1.1 Sensores

Los sensores son dispositivos que permiten detectar y medir magnitudes físicas, químicas o biológicas. Algunos de ellos forman parte de la vida diaria y tienen diferentes funcionalidades como detectar los niveles de glucosa en la sangre, en el caso de los biológicos. Los sensores físicos son aquellos que determinan magnitudes como las térmicas, ópticas, de distancia y movimiento; éstos interactúan con el entorno para así detectar la información de dichas variables y posteriormente generar órdenes, activar procesos o mecanismos. Finalmente, existen sensores químicos que, mediante un cambio de color, previamente estandarizado, determinan, por ejemplo, el nivel de pH de alguna sustancia.

1.1.1 Sensores colorimétricos

Existen diferentes tipos de sensores colorimétricos en distintas formas; algunos de ellos se utilizan en la industria alimentaria a la hora del empaquetamiento de los alimentos. Un ejemplo de este tipo de sensor es una pastilla llamada *Ageless Eye.* Cuando el empaque no tiene presencia de oxígeno ésta es de un color rosa y cuando existe presencia de oxígeno se torna azul. Otra forma de sensor colorimétrico son los cristales líquidos, estos se pueden utilizar en el campo de la medicina como *biosensores*. Debido a su alta sensibilidad a ciertas moléculas biológicas pueden permitir el desarrollo de sensores específicos para ciertos virus y proteínas. [1,2]

El uso de las nanopartículas de oro no es algo moderno, pues se sabe que una de sus primeras aplicaciones, aunque tal vez accidentalmente, fue en la copa de Licurgo. Esta copa refleja la luz verde y transmite la luz roja. Al hacer un análisis químico de la copa se encontró que ésta tiene aproximadamente 40 ppm (partículas por millón) de oro y 300 ppm de plata. Con un análisis mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) se

comprobó la presencia de nanopartículas de entre 50 y 100 nm. Las propiedades ópticas de la copa se pueden atribuir a esto, si se enfoca en la transmisión del color rojo se puede concluir que se debe a la presencia de nanopartículas de oro (Au NPs). [3]

Figura 1. Copa de Licurgo.

1.2 Estructura de la tesis

La presente tesis se compone de 6 capítulos, siendo la *Introducción* el primero de ellos; en este capítulo se mencionan algunos de los tipos de sensores que existen y así como algunas de sus aplicaciones, también se menciona el uso de nanopartículas oro desde tiempos de antaño, en donde éstas y sus propiedades eran desconocidas.

En el capítulo dos, *Conceptos Básicos*, se explica con detalle los principales temas que se mencionan a lo largo de este proyecto, como lo son la nanotecnología, las nanopartículas de oro y conceptos como coloides, disoluciones y solvatación; términos importantes para comprender la realización y funcionamiento de este sensor. También se menciona lo que son los ácidos, bases, electrolitos y proteínas, así como el método de síntesis utilizado para realizar el sensor. En el tercer capítulo se muestra la *Hipótesis* y *Objetivos* del trabajo de tesis. En el capítulo cuarto, *Metodología*, se describe el procedimiento experimental de la síntesis y la caracterización utilizada en el sensor. En el capítulo quinto se muestran los *Resultados* de las pruebas que se realizaron para comprobar la funcionalidad del sensor, y

un análisis de éstas pruebas. Por último, en el capítulo sexto se presentan las *Conclusiones* y el trabajo futuro de este trabajo de tesis.

Capítulo 2. Conceptos Básicos

2.1 ¿Qué es la nanotecnología?

El prefijo *nano* proviene del latín *nanus*, que significa "enano" y actualmente tiene la acepción de una milmillonésima parte. Un nanómetro (abreviado *nm*) es una milmillonésima parte (1/1 000 000 000) de un metro.

La nanociencia es el estudio de los procesos fundamentales que ocurren en las estructuras de un tamaño entre 1 y 100 nanómetros (como se muestra en la figura 2), las cuales se conocen como nanoestructuras. La nanotecnología es el área de investigación que estudia, diseña y fabrica materiales o sistemas a escalas nanoscópicas y les da alguna aplicación práctica.

Las propiedades físicas, químicas y biológicas que tienen los materiales en los sistemas nanométricos difieren en muchas formas de sus propiedades en los sistemas macroscópicos. La investigación en nanotecnología busca entender y aprovechar estas nuevas propiedades para fabricar materiales y dispositivos que puedan superar las limitaciones del presente, ya sea creando estructuras con tipos de arreglos atómicos diferentes o con nuevas composiciones químicas. [4]

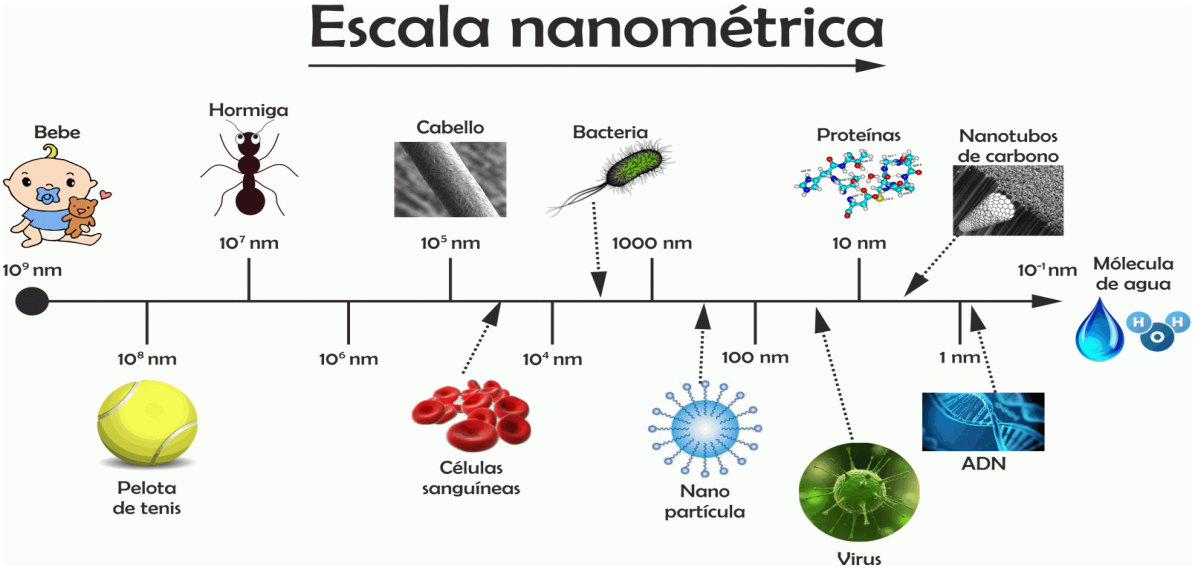


Figura 2. Escala de algunas estructuras de materia expresada en nanómetros.

2.2 Nanopartículas metálicas

Una nanopartícula (NP) es una partícula cuyo tamaño se mide en nanómetros. Por lo general, su tamaño oscila en el orden de 1 a 300 nm. Además de las nanopartículas, existen diversos tipos de materiales nanoestructurados como son: nanovarillas, nanocristales, nanotubos, nanoalambres, etc., con composiciones estructurales variadas, lo que da lugar a nanomateriales orgánicos e inorgánicos que pueden ser aplicados en distintas áreas de la ciencia como la biología, química, medicina y electrónica.

Las nanopartículas metálicas son agrupaciones de átomos o moléculas metálicas, de óxidos metálicos o sales metálicas que dan lugar a una partícula con dimensiones entre 1 y 100 nm y con nuevas propiedades con respecto al material masivo.

Las nanopartículas metálicas se pueden sintetizar en distintos tamaños y morfologías, así como funcionalizarse; se pueden recubrir con capas en su exterior de otros compuestos en monocapas y multicapas, para ofrecer nuevas y diversas características. [5,6]

2.2.1 Nanopartículas de oro (AuNPs)

Las AuNPs son una suspensión de oro coloidal, su tamaño varía entre los 2 y 150 nm, su estructura se compone de tres capas (véase figura 3), y están dotadas de una gran variedad de aplicaciones en diversos campos de la nanotecnología como lo son:

- **Catálisis**: las nanopartículas de oro fungen como catalizadores en reacciones químicas debido a sus propiedades superficiales.
- **Electrónicas**: gracias a sus propiedades conductoras y electrónicas se pueden emplear en circuitos integrados.
- **Biología**: sus propiedades físico-químicas permiten su uso como medidores en técnicas de microscopía y espectroscopia, generalmente se utilizan para la obtención de imágenes.
- **Farmacéutica**: el uso de Au NPs como nanoacarreadores de fármacos y agregados bioactivos fijados en su superficie.
- **Medicina**: Son utilizadas en diagnósticos de enfermedades como el cáncer.[7]

Las propiedades de las AuNPs son atractivas para aplicaciones en materiales tanto en uso biomédico, así como en el bioquímico. Uno de los intereses que se tienen en las AuNPs es su resonancia óptica en el rango de frecuencias visibles y su sensibilidad a los cambios de ambiente, tamaño y morfología de la partícula, así como la optimización del campo de luz, que interactúa con el sistema resonante. [8]

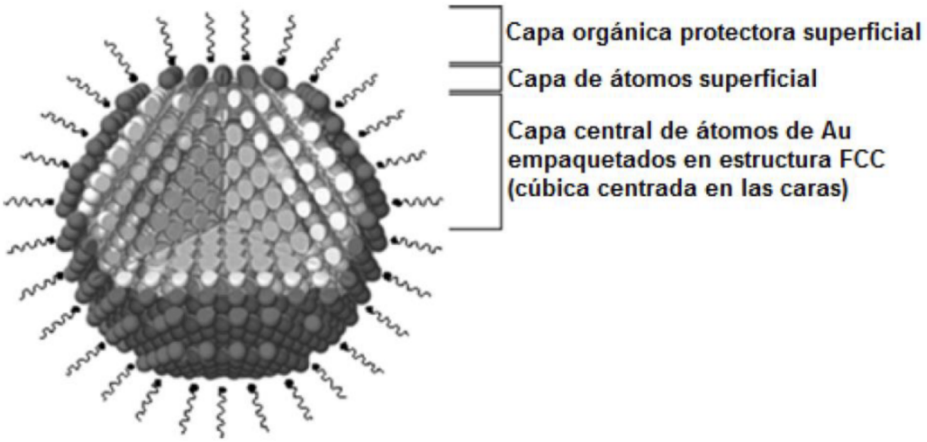


Figura 3. Estructura de una Nanopartícula de oro.

2.2.2 Disoluciones

Las disoluciones son mezclas homogéneas que se dan entre dos o más sustancias. A la sustancia que contiene una mayor cantidad se le denomina disolvente y a la que se encuentra en menor cantidad se le denomina soluto. En la disolución las partículas son átomos individuales, en forma de iones o de moléculas pequeñas. [9]

Las disoluciones se clasifican en tres denominaciones:

- **Disolución saturada**: Es la cantidad máxima de soluto que se puede disolver en el disolvente a una temperatura específica.
- **Disolución no saturada**: Es la que contiene una cantidad menos de soluto del que es capaz de disolver.
- **Disolución sobresaturada**: Es la que contiene más soluto del que es capaz de disolver, generalmente en exceso de soluto, separándose y precipitándose en el fondo, en ocasiones llega a formar cristales.

2.2.3 Coloides

Los coloides son una mezcla entre suspensiones y soluciones verdaderas; son sistemas heterogéneos de dos fases, una fase dispersa y un sistema de dispersión. La fase dispersa está separada en el medio de dispersión y no es posible visualizarla a simple vista, para observarla se requiere de un microscopio electrónico de transmisión (TEM).

Los factores que influyen para formar un coloide son:

- El tamaño de la partícula.
- La morfología de la partícula.
- Sus propiedades superficiales, así como eléctricas.
- La interacción partícula-partícula.
- La interacción partícula-disolvente.

Los coloides también se clasifican en liófobos, es decir, que no son afines a los líquidos, y en liófilos, que tienen afinidad con los líquidos. Para su formación existen dos métodos: el método de dispersión y el método de condensación:

- **Métodos de dispersión**: Son aquellos que utilizan ciertos medios mecánicos como la molienda, hasta que las partículas estén lo suficientemente pequeñas como para permanecer suspendidas en el medio.
- **Métodos de condensación**: En ellos, la fase dispersa se produce por medio de moléculas en soluciones o reacción química de iones, logrando una suspensión en donde las partículas tienen un tamaño dentro del rango coloidal.

El oro coloidal puede ser considerado como un coloide típico liófilo con un tamaño de partícula que va por debajo del límite de resolución del microscopio óptico. [8]

2.2.4 Solvatación

La solvatación es el proceso en el que un ion o molécula es rodeado por moléculas de carga contraria del disolvente distribuidas de manera específica. El agrupamiento de las moléculas de disolvente en torno a las del soluto recubre a las moléculas del soluto y es por esto que se disuelven. [9][10]

2.2.5 Tamaño de la partícula

Las propiedades físicas y químicas son dependientes del tamaño dentro de un cierto intervalo de tamaños específicos para cada material y propiedad. El color de una solución de oro depende del tamaño y forma de las partículas. La morfología y el tamaño que adquiera la nanopartícula determinarán cómo va a interactuar con la luz, por lo tanto determinará también el color de la solución.

Figura 4. Tonalidades que adquieren las AuNPs dependiendo de su tamaño y morfología.

La razón por la que las nanopartículas pueden adoptar diferentes colores (como se puede observar en la figura 4) se debe a que los materiales metálicos no son capaces de absorber la luz visible pero sí pueden regresar casi en su totalidad, gracias a que, algunos de sus electrones se encuentran libres en el espacio para moverse. Estos electrones libres funcionan como un escudo contra la luz visible que pueda llegarles, evitando que ésta se interne en el metal.

En el caso particular del oro, no todos sus electrones están libres, sino que hay algunos que están ligados a átomos y son éstos los encargados de dar esa tonalidad dorada particular del metal. Por su tamaño, la luz es capaz de incidir en el metal que hay en las nanopartículas. Aunque pequeña, esta incidencia de la luz es lo suficientemente capaz de llegar a la nanopartícula en su totalidad y por ende, los electrones comienzan a moverse en conjunto. El tamaño de las nanopartículas determinará su color, entre más pequeñas, el color tiende a ser de un rojo vino. Un tamaño aproximado de nanopartícula de 90 nm absorbe la luz con una longitud de onda grande, es decir, de color rojo, pero deja pasar la luz azul, y es por esta razón que adquieren este color. Por otro lado, las nanopartículas de un tamaño pequeño, contrario a las grandes, absorben longitudes de onda pequeñas, dentro del rango del color azul, dejando pasar la luz roja, obteniendo así esta tonalidad rojiza. [11]

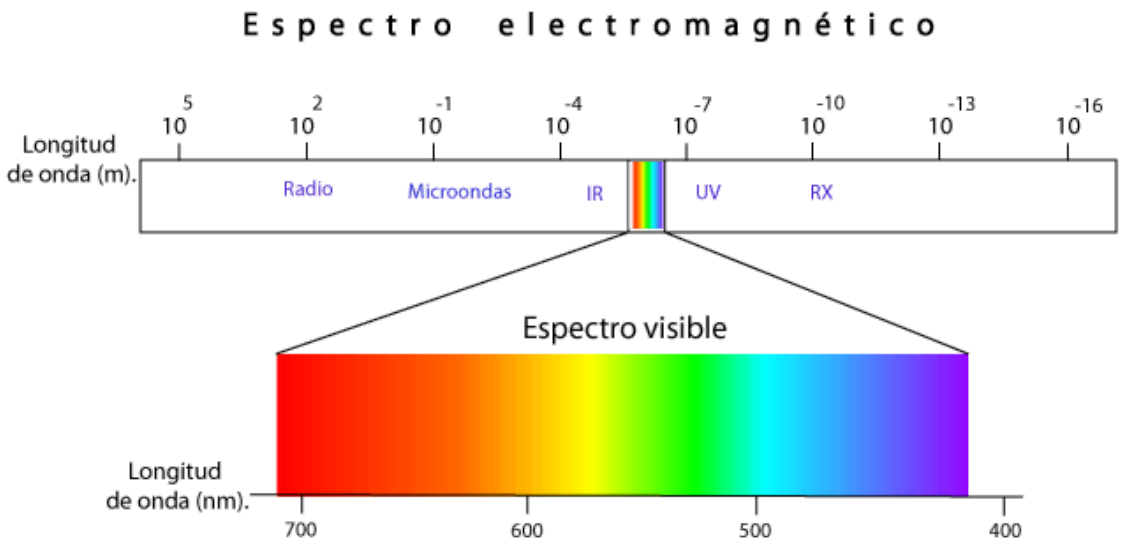


Figura 5. Espectro de la luz visible.

2.2.6 Espectro de luz visible

El rango en el que el ojo humano es capaz de percibir el espectro de luz visible está entre el infrarrojo (700 nm) y el ultravioleta (400 nm), como se aprecia en la figura 5.

Un ejemplo de este espectro de luz visible es el arcoíris, éste se genera cuando incide la radiación solar en las gotitas de lluvia. La descomposición de los colores se da gracias a que el índice de refracción de las gotitas de agua a lo ancho del arcoíris que se visualizan ligeramente en distintos colores según sea la longitud de onda. [12]

2.3 Método de Turkevich

Consiste en una síntesis, donde se lleva a cabo la reducción de una sal precursora como la plata (Ag) o el oro (Au) a su estado metálico, por medio de un agregado como reductor débil. La síntesis se realiza en un termoplato con agitación magnética a una temperatura entre 90-100°C cerca del punto de ebullición.

Después de agregar el reductor a la sal, la solución comienza a cambiar de coloración lo que indica estados de nucleación hasta culminar con la presencia de las nanopartículas. Aunque dentro del método de Turkevich existen distintos procedimientos, este trabajo se enfoca en el procedimiento para las AuNPs y el uso del citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$).

La preparación estándar consiste en 95 ml de una solución de ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) (conteniendo 5 mg de Au), se lleva a ebullición y se agregan 5 ml de una solución de citrato de sodio al 1% con agitación magnética vigorosa, justo después de agregar el citrato de sodio la solución se torna del amarillo a transparente, poco después de 1 minuto la solución comienza a tornarse gris azulada o gris rosácea y se va oscureciendo hasta llegar al típico color de las Au Nps con un tono rojizo similar al vino tinto. [13]

En este método los iones de Au (III) son reducidos a Au (I) por acción de los iones citrato del agente reductor para formar oro metálico. Los iones citrato también funcionan como agente estabilizador y permiten recubrir por medio de la solvatación la superficie de la nanopartícula. [7]

Al utilizar este método se obtiene una morfología de partícula esférica y un tamaño aproximado de entre 5 y 20 nm comprobables a la vista por su tono de coloración característico. [13]

2.4 Proteínas

Las proteínas están formadas por cadenas de aminoácidos, es decir macromoléculas constituidas a partir de la polimerización de aminoácidos. Donde la secuencia de aminoácidos de una proteína da forma a su estructura tridimensional, y así se determinan sus propiedades. Las moléculas con mayor tamaño como las proteínas pueden adquirir muchas configuraciones distintas. Dando origen a cuatro tipos de estructuras. [14]

2.4.1 Estructura primaria

La estructura primaria (figura 6) es de orden lineal en donde los aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos covalentes.

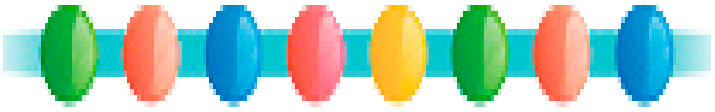


Figura 6. Estructura primaria de una proteína.

2.4.2 Estructura secundaria

La estructura secundaria presenta un arreglo espacial en donde los átomos de la cadena polipeptídica infieren una forma de plegamientos (Ver figura 7) debido a la formación de puentes de hidrógeno entre los aminoácidos. [14]

Figura 7. Estructura secundaria de una proteína.

2.4.3 Estructura terciaria

La estructura terciaria tiene un arreglo tridimensional de todos los átomos en la molécula (ver figura 8). [14]

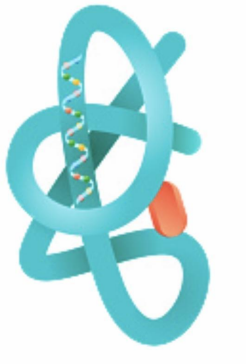


Figura 8. Estructura terciaria de una proteína.

2.4.4 Estructura cuaternaria

Esta estructura cuaternaria es el nivel final de las proteínas en las estructuras proteicas y forma parte de las proteínas que contienen más de una cadena polipeptídica (ver figura 9). Donde dichas interacciones están constituidas por subunidades de varias cadenas polipeptídicas. [14]

Figura 9. Estructura cuaternaria de una proteína.

2.5 Ácidos, bases y electrolitos

Un ácido se describe como una sustancia que cuando se disuelve en agua libera iones hidrógeno (H^+), mientras que una base libera iones hidróxido (OH^-) cuando está disuelta en una solución acuosa.

Los ácidos son electrolitos fuertes que se ionizan completamente en agua. La mayoría de estos ácidos fuertes son ácidos inorgánicos como es el caso del HCl (ácido clorhídrico). Al igual que los ácidos, existen bases fuertes que son también electrolitos que se ionizan por completo en el agua, como lo son algunos alcalinotérreos y los hidróxidos de metales alcalinos. [9]

Capítulo 3. Hipótesis y Objetivos

3.1. Hipótesis

Es posible realizar un sensor colorimétrico para la detección de proteínas y electrolitos a partir del oro coloidal.

3.2. Objetivos

3.2.1 Objetivo general

Realizar un sensor colorimétrico a base de nanopartículas de oro para la detección de electrolitos y proteínas.

3.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar las AuNPs.
- Estandarizar el proceso de síntesis de las AuNPs.
- Realizar pruebas colorimétricas combinando AuNPs con diferentes electrolitos y proteínas para evaluarlo como sensor colorimétrico.
- Caracterizar las AuNPs y las AuNPs con electrolitos y proteínas, con espectroscopia UV-Vis.
- Evaluar la eficacia del sensor colorimétrico.

Capítulo 4. Metodología

4.1 Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs)

La síntesis de las nanopartículas de oro se basó en el procedimiento Turkevich [13] (figura 10) y se realizaron varios ensayos modificando las concentraciones de ácido cloroáurico ($HAuCl_4$) y citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$) para encontrar la estandarización del procedimiento y se utilizó el más conveniente.

4.1.1 Primer ensayo de AuNPs

Para un primer ensayo se realizó una disolución de 51 ml de nanopartículas de oro, para lo cual se utilizaron las siguientes cantidades en sus respectivos reactivos.

- 2.11 mg de $HAuCl_4$ para preparar 50 ml de disolución 0.125 mM.
- 4.387 mg de $Na_3C_6H_5O_7$ para preparar un 1 ml de disolución 0.125 mM.

En un matraz, se añadieron 50 ml de $HAuCl_4$ (0.125 mM) y después se puso sobre una plancha de calefacción hasta llegar a la temperatura de ebullición, posteriormente se agregó 1 ml de $Na_3C_6H_5O_7$ (0.125 mM) con agitación magnética constante, hasta que se logró ver un cambio en la coloración de la disolución, finalmente, se dejó enfriar la disolución a temperatura ambiente.

4.1.2 Segundo ensayo de AuNPs

En un segundo ensayo se realizó una disolución de 11 ml de nanopartículas de oro partiendo de una disolución de $HAuCl_4$ (0.5 mM) y una de $Na_3C_6H_5O_7$ (5 mM). Utilizando las siguientes cantidades de reactivos.

- 0.012 g de $HAuCl_4$ para preparar 70 ml de disolución 0.5 mM.

- 0.032 g de $Na_3C_6H_5O_7$ para preparar 25 ml de disolución 5 mM.

En un matraz, añadir 5 ml de disolución de $HAuCl_4$ (0.5 Mm) y 5 ml de agua destilada hasta alcanzar la temperatura de ebullición; una vez en ebullición se realizó agitación magnética y se añadió 1 ml de la disolución $Na_3C_6H_5O_7$ (5 mM). Como consecuencia la solución se tornó inmediatamente de un rosa oscuro, se dejó aproximadamente cinco minutos con agitación magnética constante, se retiró del termoplato y después se dejó enfriar hasta llegar a temperatura ambiente.

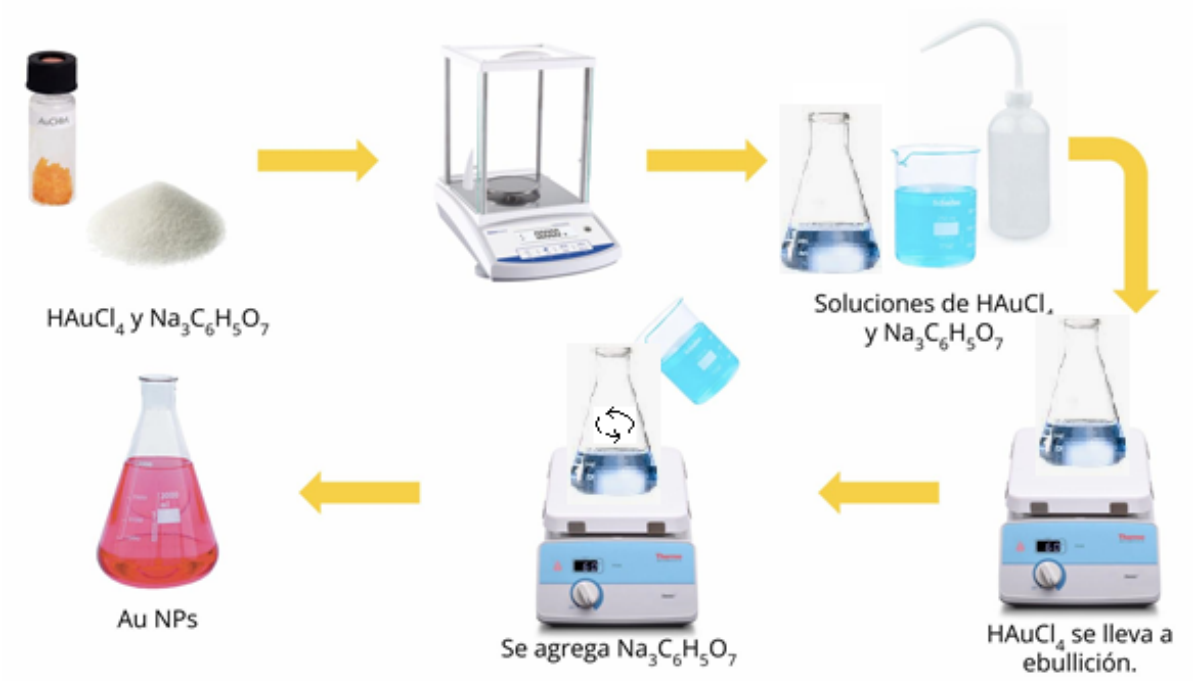


Figura 10. Procedimiento general para la síntesis de nanopartículas de oro.

De los dos métodos anteriores, con el procedimiento descrito en el primer ensayo de AuNPs se obtuvieron nanopartículas de color café rojizo y en el segundo ensayo de AuNPs se obtuvieron nanopartículas de color vino, es por eso, que para realizar las siguientes pruebas, se utilizaron las nanopartículas de oro sintetizadas siguiendo el procedimiento del segundo ensayo de AuNPs.

4.2 Pruebas colorimétricas

Para realizar las pruebas colorimétricas se utilizaron 20 tubos de ensayo, cada uno con 200 µL de AuNPs;

4.2.1 Pruebas colorimétricas con distintos electrolitos (identificación de electrolitos fuertes)

Con el objetivo de identificar un electrolito fuerte se tomó una alícuota de AuNPs y se le añadió un electrolito fuerte como: ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido clorhídrico (HCl), hidróxido de sodio (NaOH) y cloruro de sodio (NaCl). El procedimiento fue el siguiente:

a) AuNPs con H_2SO_4: a 200 µL de AuNPs se le añadieron 5 µL de una solución 0.5M H_2SO_4.
b) AuNPs con HCl: a 200 µL de AuNPs se le añadieron 5 µL de una solución 0.5M HCl.
c) AuNPs con NaOH: a 200 µL de AuNPs se le añadieron 5 µL de una solución 0.5M NaOH.
d) AuNPs con NaCl: a 200 µL de AuNPs se le añadieron 10 µL de una solución 0.5M NaCl.

Si se lograba visualizar un cambio de coloración (como se muestra en la figura 11), significaba que la muestra utilizada era un electrolito fuerte, en caso contrario, no lo era.

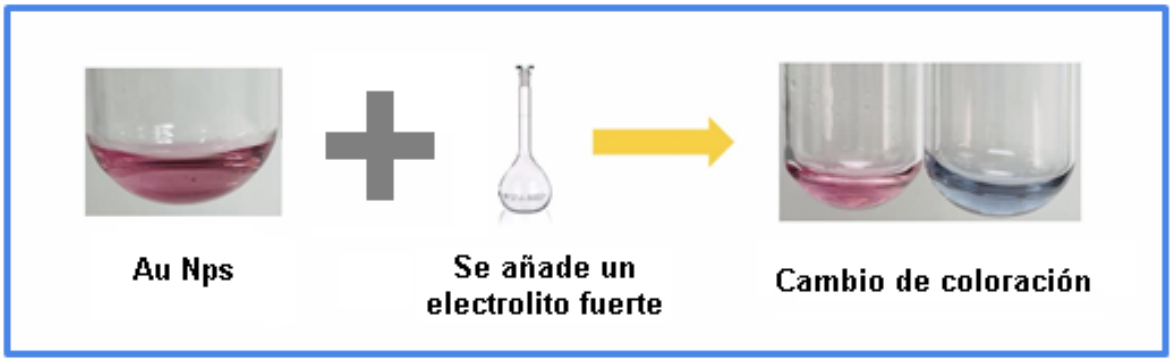


Figura 11. Procedimiento de pruebas colorimétricas con electrolitos fuertes.

4.2.2 Pruebas colorimétricas con distintas proteínas (identificación de una proteína)

Para identificar una proteína es necesario primero identificar un electrolito fuerte que logre un cambio aparente y visible en la solución.

A una muestra de AuNPs se le agregó una alícuota de proteína (albúmina de huevo, sangre hunana, plasma seminal humano e hígado de res) y después se le añadió un electrolito fuerte (H_2SO_4, HCl, NaOH o NaCl), este cambio se da porque la proteína inhibe el cambio de coloración al añadir un electrolito fuerte (como se observa en la figura 12), por tanto, si presenta un cambio de coloración no se trata de una proteína, en cambio si no se presenta el cambio colorimétrico, se confirma la presencia de una proteína. El procedimiento es el siguiente:

a) AuNPs con plasma seminal humano + electrolito: El plasma seminal recolectado y se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 minutos. Se tomó el sobrenadante. Después a 200 µL de AuNPs se le añadieron 10 µL de plasma seminal. Este procedimiento se repitió 4 veces, y a cada muestra se le agregó un electrolito diferente, 5 µL de H_2SO_4, 5 µL de HCl, 5 µL de NaOH y 10 µL de NaCl, respectivamente, todos a una concentración de 0.5M.

b) AuNPs con albúmina de huevo + electrolito: A 200 µL de AuNPs se le añadieron 10 µL de albúmina. Repitiendo esto para obtener 4 muestras, y a cada una se le agregó un electrolito diferente a una concentración de 0.5M, como se muestra a continuación; 5 µL de H_2SO_4, 5 µL de HCl, 5 µL de NaOH y 10 µL de NaCl, respectivamente.

c) AuNPs con sangre humana + electrolito: La sangre humana se obtuvo a partir de una muestra de sangre que se centrifugó a 13,000 rpm por 5 minutos. Después a 200 µL de AuNPs se le añadieron 10 µL de la sangre humana. De igual manera, este procedimiento se repitió 4 veces, y a cada muestra se le agregaron 5 µL de un electrolito diferente con una concentración de 0.5M, los electrolitos fueron: H_2SO_4, HCl, NaOH. En el caso del NaCl se agregaron 10 µL totales, en alícuotas de 5 µL en 5 µL.

d) AuNPs con hígado de res + electrolito: 1 gramo de hígado se cortó en pequeños trozos y se trituró en un mortero. Posteriormente, a 200 µL de AuNPs se le añadieron 10 µL del suero proveniente del hígado. Una vez hecho esto y al igual que en los casos anteriores, el proceso se realizó 4 veces para obtener cuatro muestras a las que se les agregó un electrolito distinto; 5 µL de H_2SO_4, 5 µL de HCl, 5 µL de NaOH y 10 µL de NaCl, respectivamente, todos ellos a una concentración de 0.5M.

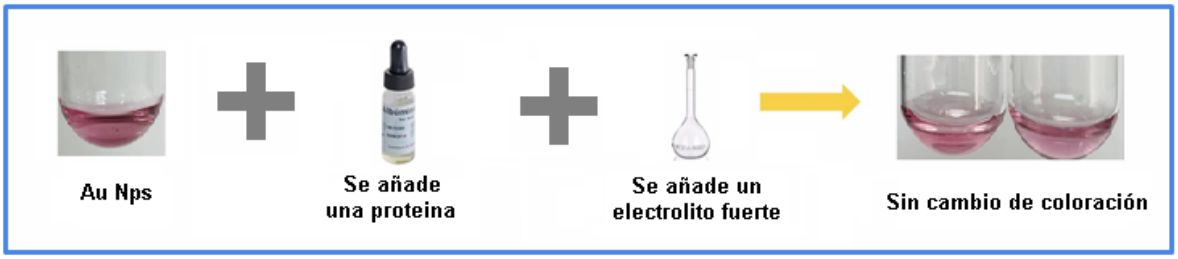


Figura 12. Procedimiento de pruebas colorimétricas con proteínas.

4.3 Caracterización

La caracterización se hizo mediante el método de Espectroscopía UV-Vis con el espectrofotómetro Genesys 10s de la marca *Thermo Scientific* (figura 13). Este equipo cuenta con un haz de luz de doble resolución y una lámpara de xenón que permiten la medición simultánea de la muestra con la corrección del haz de referencia en tiempo real, dando resultados precisos. En esta técnica de caracterización, la muestra recibe un haz de luz (fotones) que interactúan con ella para obtener información que después es transformada en una señal que genera datos numéricos para medir transmitancia y absorbancia.

Figura 13. Espectrofotómetro.

La espectrofotometría UV-Visible es una técnica que se utiliza para determinar la presencia molecular de sustancias ya sea orgánicas o inorgánicas en las soluciones. Según sea la muestra y su estructura química, el patrón en el espectro de absorción será diferente. Las curvas que arroja el espectrofotómetro indican la radiación o energía que la muestra absorbe en un rango determinado de longitud de onda. [15]

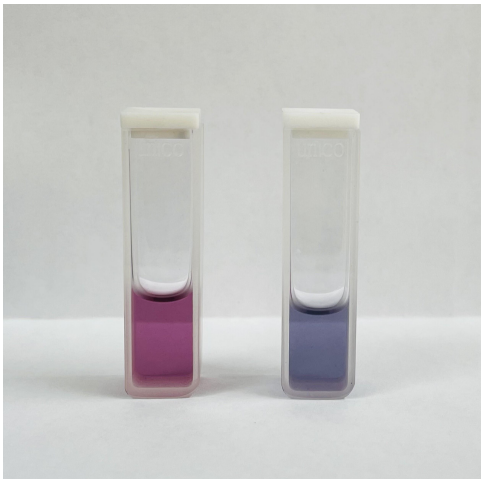


Figura 14. Soluciones de AuNPs.

Para caracterizar las nanopartículas de oro se agregaron 500 µL de la solución en una celda de cuarzo (figura 14), y a ésta se le agregaron 500 µL de los electrolitos y las proteínas, medidos en un rango de longitud de onda de 400 y 750 nm. Esto con el fin de analizar si se producía una diferencia entre las longitudes de onda entre una sustancia y otra, y así determinar la eficiencia del sensor.

Capítulo 5. Resultados y discusiones

5.1 Síntesis de nanopartículas de oro

Como se mencionó en el capítulo anterior, con el procedimiento descrito en el segundo ensayo de AuNPs se obtuvieron nanopartículas de color vino, las cuales se pueden observar en la figura 15.

Figura 15. Nanopartículas de oro sintetizadas.

5.2. Pruebas colorimétricas

5.2.1 Pruebas colorimétricas con distintos electrolitos (identificación de electrolitos fuertes)

Como ya se mencionó, se realizó esta prueba con el fin de probar el sensor colorimétrico, se espera que si hay un cambio de coloración significa que la muestra utilizada es un electrolito fuerte y, en caso contrario, no lo es. En la tabla I se muestran los cambios de coloración de las AuNPs al combinarse con distintos electrolitos (NaOH, H_2SO_4, HCl, NaCl). De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla I, se puede observar que al combinar las AuNPs con H_2SO_4, HCl y NaCl se produce un cambio de coloración, es decir, son electrolitos fuertes. En el caso de las AuNPs con NaOH, no se logró ver un cambio de

color al añadirle 5 µL de éste. Entonces, en este caso, se fueron añadiendo alícuotas 5µL de NaOH cada una hasta llegar a 60 µL totales de la disolución inicial de nanopartículas de oro, con lo cual se logró un pequeño cambio de coloración, apenas aparente, por lo que podemos concluir que el NaOH es un electrolito débil.

	Au NPs	
Electrolitos	HCl	
	H_2SO_4	
	NaOH	
	NaCl	

Tabla I. Cambios de coloración de las AuNPs al combinarse con distintos electrolitos (HCl, H_2SO_4, NaOH y NaCl).

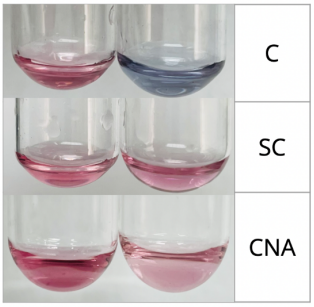
5.2.2 Pruebas colorimétricas con distintas proteínas (identificación de una proteína)

Se realizó esta prueba para detectar la presencia de proteínas en la solución, se esperaba que si uno de los electrolitos producía un cambio de coloración, en presencia de una proteína no debería presentarse cambio alguno de coloración.

En la tabla II se muestran las diferencias colorimétricas encontradas entre las AuNPs al combinarse con diferentes electrolitos (NaOH, H_2SO_4, HCl, NaCl) y distintas proteínas

(albúmina de huevo, sangre humana, hígado de res y plasma seminal). De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla II, se puede observar que las AuNPs al combinarse con albúmina de huevo, sangre humana y el hígado de res no producen un cambio de coloración, es decir que en estos casos son proteínas, ya que inhiben el cambio de color al entrar en contacto con un electrolito. En el caso del plasma seminal se pudo observar un cambio del color en todos los casos, esto puede deberse a que hayan quedado restos de orina previo a la eyaculación en la muestra recolectada, por lo tanto ésta no es una proteína viable, ya que el cambio de coloración se dio antes de tener contacto con alguno de los electrolitos.

Electrolitos	Au NPs		Proteínas			
			Albúmina	Sangre	Semen	Hígado
	H_2SO_4	C	SC	SC	C	SC
	HCl	C	SC	SC	C	SC
	NaOH	SC	SC	SC	c	SC
	NaCl	C	SC	SC	C	SC



**C, cambio de color*
**SC, sin cambio de color*
**CNA, Cambio no aparente*

Tabla II. Cambios de coloración de las AuNPs al combinarse con distintos electrolitos y diferentes proteínas.

5.3 Caracterización UV-Vis

En la figura 16 se muestra la espectroscopía UV-Vis de las AuNPs sintetizadas. Se observa el pico característico del oro coloidal en λ_{MAX} 529 nm (aproximadamente) y un ancho de banda de absorción que va desde los 475 nm a 570 nm.

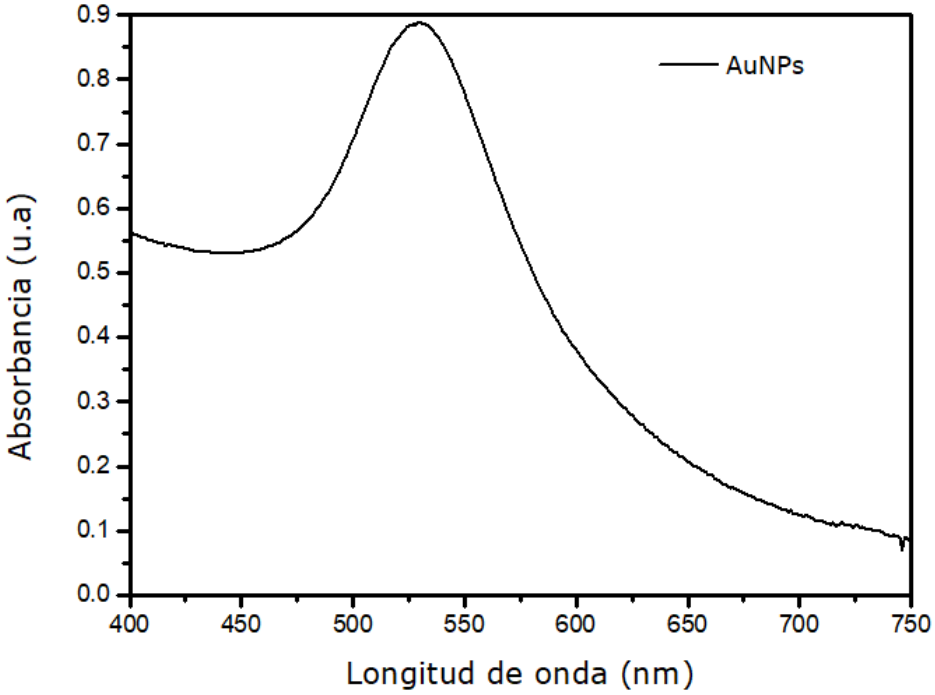


Figura 16. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs.

En la figura 17a se muestran las espectroscopías UV-Vis de las AuNPs combinadas con algunos electrolitos como NaOH, H_2SO_4, HCl, NaCl y en la figura 17b se puede observar como las AuNPs cambian su coloración cuando se combinan con estos electrolitos. Comparando las espectroscopías entre sí, se puede observar que las AuNPs con H_2SO_4 presentan un pico característico λ_{MAX} en 650 nm, es decir, el pico característico del oro se desplaza hacia la derecha cuando se le añade H_2SO_4, de λ_{MAX} 529 nm (coloración vino) a λ_{MAX} 650 nm (coloración azul), y el ancho de banda de absorción se encuentra de 485 nm a 750 nm, es decir, el ancho de banda de absorción aumentó de 475 nm - 570 nm a 485 nm - 750 nm. El espectro de absorción UV-Vis de la solución saturada de NaCl con AuNPs presenta dos picos aparentes λ_{MAX} en 530 nm, y otro λ_{MAX} en 688 nm, y su ancho de banda de absorción se encuentra de 490 nm a 750 nm (ancho de banda de 260 nm formado por dos λ). Además, se puede observar que las AuNPs con HCl tienen un pico característico λ_{MAX} en 583 nm y el ancho de banda de absorción se encuentra de 475 nm a 750 nm. En ambos electrolitos, NaCl y HCl, se puede apreciar un cambio de coloración en tonos azules pálidos. En el caso de AuNPs con NaOH, se puede observar que hay un pico característico λ_{MAX} en 547 nm, es decir, el pico característico de las AuNPs se desplaza de λ_{MAX} 529 nm hacia λ_{MAX} 547 nm, esto representa un cambio de coloración apenas perceptible para el ojo

humano (figura 17b), debido a que NaOH es un electrolito más débil. También se observa que el ancho de banda de absorción se encuentra de 480 nm a 630 nm.

En general, en las gráficas se observa que entre más a la derecha está la λ_{MAX}, más fuerte es el electrolito, como el HCl, la solución saturada de NaCl y H_2SO_4, o si la λ_{MAX} está más cerca de la λ_{MAX} 529 nm de las AuNPs el electrolito es más débil, como lo es el caso del NaOH. Además, cuando hay un incremento en el ancho de banda, se puede decir que es un electrolito más fuerte. De acuerdo a los resultados HCl es el electrolito más fuerte.

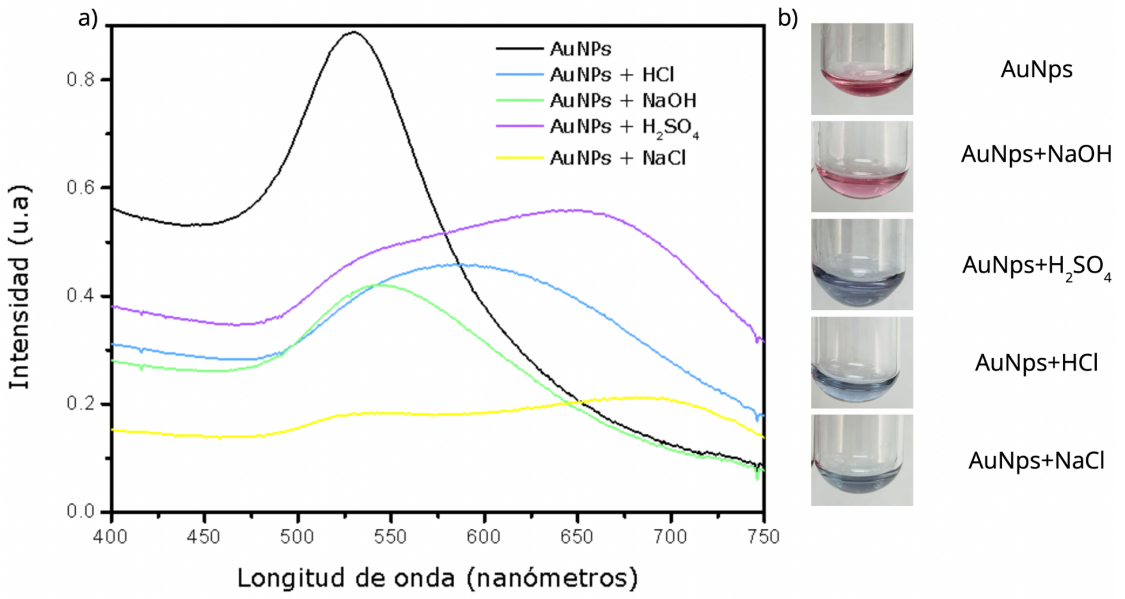


Figura 17. AuNPs combinados con NaOH, H_2SO_4, HCl y NaCl.
a) Espectroscopia UV-Vis de AuNPs con diferentes electrolitos
b) Cambios de coloración de las AuNPs con diferentes electrolitos.

Además podemos observar que hay cambios notorios en el espectro UV-Vis, exceptuando el caso del NaOH; por lo que podemos concluir que esto se debe a que las nanopartículas al hacer contacto con los electrolitos electrostáticamente afines, rodean la capa de cargas negativas (aniones) del citrato de sodio que rodea a la nanopartícula de oro y que a su vez, por efectos de la solvatación catódica de los elementos del electrolito, como lo es el caso de los cationes, dan una nueva polarización positiva a la nanopartícula de oro, lo que hace que interactúen generando atracciones entre sí con las otras nanopartículas con polaridad

negativa colindantes, generando aglomeraciones y agregados de nanopartículas, también conocidas como clústers, originando así el cambio de coloración asociado del color vino a un azul pálido (figura 18a), por otro lado al agregar una proteína a las AuNPs previamente al agregar el electrolito, inhibe el cambio de coloración debido a una neutralización de las cargas electrostáticas de las AuNPs en la solución (figura 18b). Estos efectos resultan útiles para detectar electrolitos fuertes presentes en una disolución.

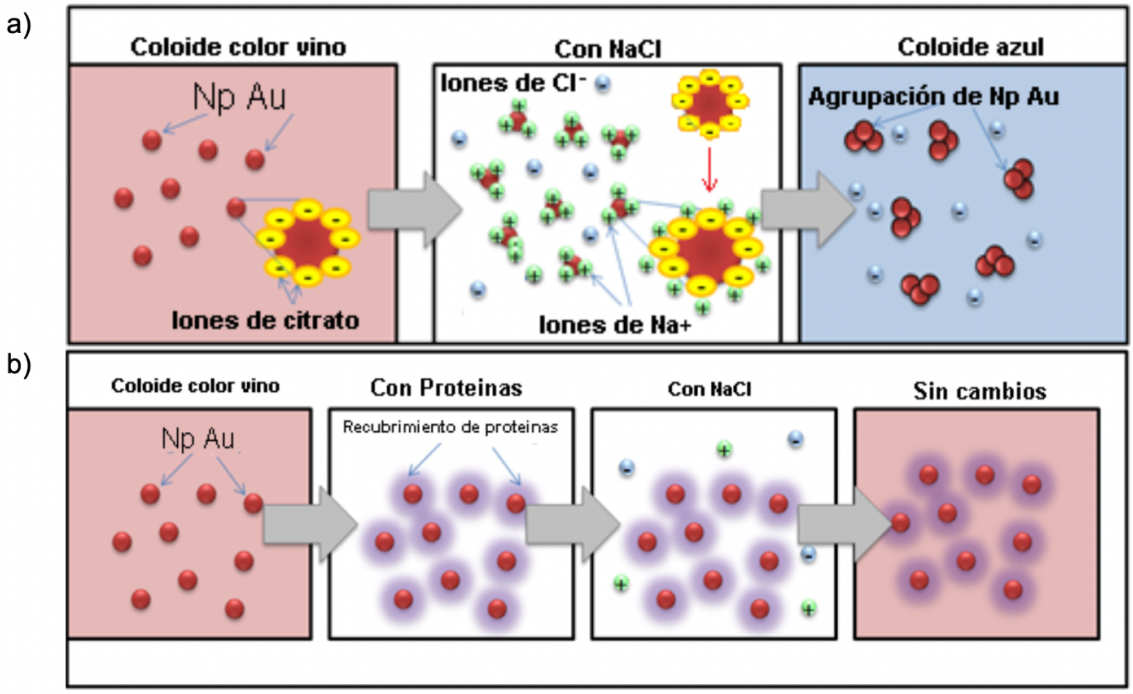


Figura 18. a) Solvatación de las AuNPs al agregar una solución saturada de NaCl.
b) AuNPs recubiertas con una proteína que neutralizando la carga electrostática de las AuNPs

Del cambio de coloración podemos concluir que no importa el electrolito con el que estemos trabajando, éstos siempre tomarán la misma tonalidad debido al efecto de solvatación catódica. Sin embargo, como bien se mencionó anteriormente, al tener una mayor cantidad de electrolito o concentración, éste tendrá una tendencia a aglomerarse más y por consecuencia a precipitarse como se observa en el ejemplo de la figura 19 con una solución saturada de NaCl.

Figura 19. Muestra de AuNPs con diferentes concentraciones de NaCl.

En la figura 20 se muestra la espectroscopia UV-Vis de las AuNPs con albúmina combinada con diferentes electrolitos como HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl. Se puede ver claramente que la adición de la proteína albúmina a las AuNPs no resultó en cambios de λ_{MAX} al someterlas a los electrolitos, sin embargo, solo se pudo percibir una pequeña desviación con los electrolitos fuertes como el HCl que presenta una λ_{MAX} de 536 nm, y la solución de NaCl con una λ_{MAX} 531 nm, pero en ninguno de los casos se percibió un cambio de coloración aparente.

En la figura 21a se muestra la espectroscopia UV-Vis de las AuNPs con sangre humana combinada con diferentes electrolitos como HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl. En la figura 21b se muestra la espectroscopía de absorción UV-Vis de una muestra de sangre humana, se pueden observar los picos característicos de la sangre humana, donde el pico λ_{MAX} de 225 nm es típico de la hemoglobina y la sangre diluida en agua también conocida como Oxihemoglobina (HbO_2) contempla tres bandas cuyos máximos están en λ_{MAX} 541 nm llamado banda β, λ_{MAX} 576 nm llamada banda α, así como la banda Soret o banda **γ** , cuyo λ_{MAX} está en 415 nm.

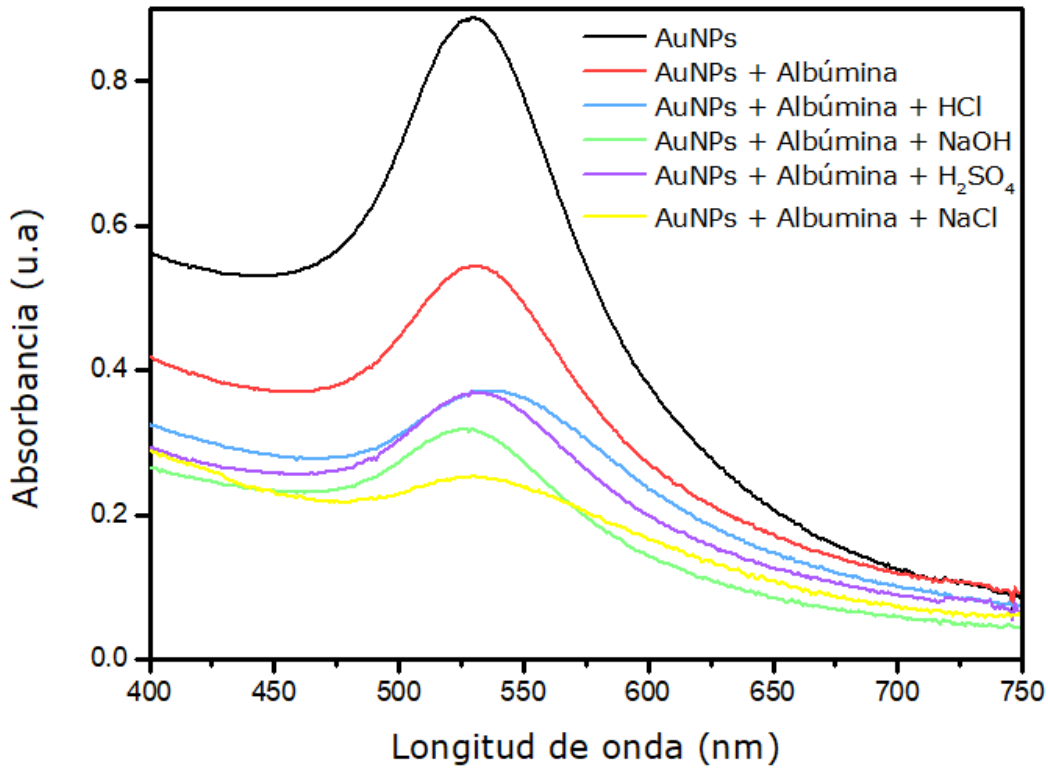


Figura 20. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con la proteína albúmina de huevo combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl).

Si comparamos las figuras 21a y 21b se puede observar que en la muestra de sangre con AuNPs aparecen los picos característicos o coinciden con los picos característicos de la sangre humana, λ_{MAX} 414 nm (banda Soret) y λ_{MAX} 573 nm (banda α). Además, se puede observar un traslape en la banda β y la banda de absorbancia típica de las AuNPs, ocasionando un pequeño desfase a los 532 nm. Este comportamiento se repite con la adición de la solución saturada de NaCl (λ_{MAX} 414 nm, λ_{MAX} 533 nm, λ_{MAX} 576 nm) y en el ensayo de la adición del electrolito NaOH, (λ_{MAX} 410 nm, λ_{MAX} 523 nm) que se desplazó ligeramente el espectro al ultravioleta. Este desplazamiento del espectro de absorbancia hacia el ultravioleta también se vio mayormente afectado en los ensayos de los ácidos al adicionar el HCl (λ_{MAX} 400 nm, λ_{MAX} 523 nm, λ_{MAX} 638 nm) y el H_2SO_4 (λ_{MAX} 400 nm, λ_{MAX} 522 nm, λ_{MAX} 636 nm).

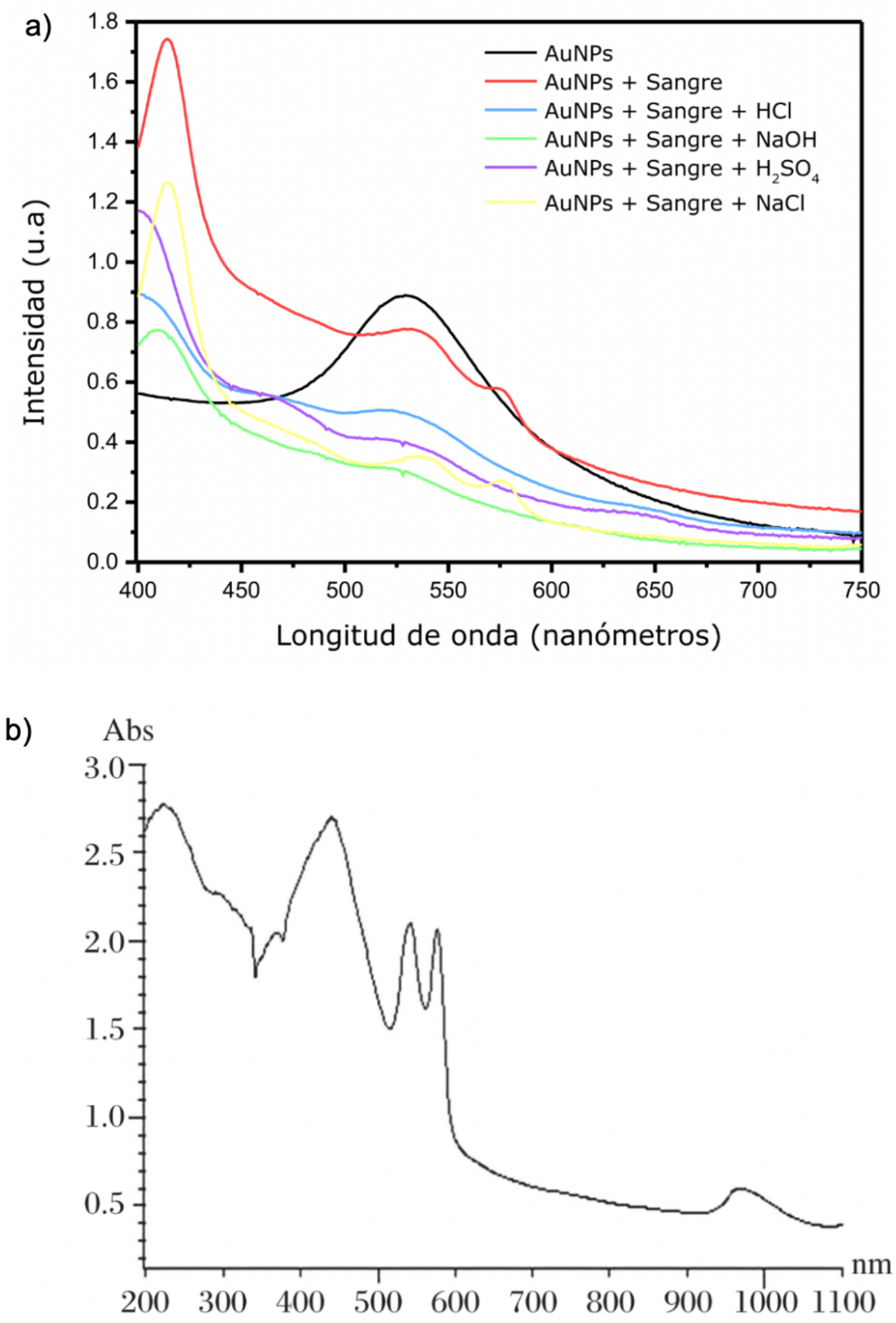


Figura 21. Comparación entre a) Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con sangre combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl) y b) Espectroscopia UV-Vis típica de la sangre humana [15].

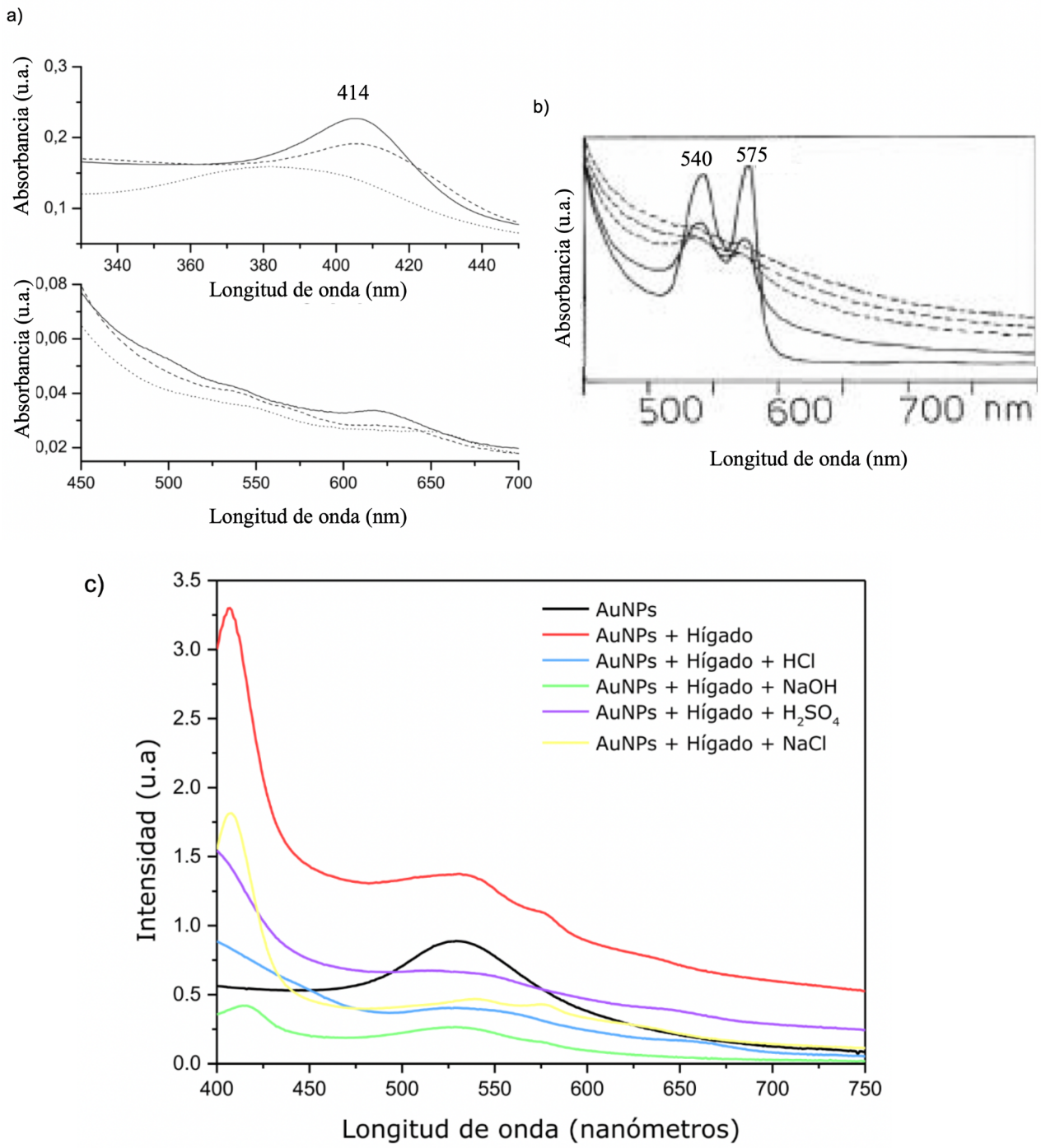


Figura 22. Comparación entre a) Espectroscopia UV-Vis de hígado de res [16], b) Espectroscopia UV-Vis de sangre de res [17], c) Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con hígado de res combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl).

En la figura 22a y 22b se muestran los picos característicos del espectro UV-Vis del hígado de res (λ_{MAX} en 414 nm) y de la sangre de res (Banda Soret λ_{MAX} en 410 nm, Banda β λ_{MAX} en 540 nm, Banda α λ_{MAX} en 575 nm), respectivamente. Podemos darnos cuenta que los

picos característicos de la sangre humana son muy parecidos a los picos característicos de la sangre de res (presentan coincidencias en las bandas del espectro de absorbancia), recordando que toda la sangre que sale de los intestinos y del estómago circulan a través del hígado, procesando esta sangre y separando sus componentes de tal manera que el hígado regula los niveles de las sustancias químicas de la sangre, produce algunas proteínas para la sangre entre otras muchas aplicaciones, por lo que su relación con la sangre es muy estrecha y no es raro pensar que compartan las bandas típicas del espectro sanguíneo.

En la figura 22c se muestra la espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con hígado de res combinada con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl). Se observa que las AuNPs con hígado de res tienen picos característicos λ_{MAX} en 407 nm, λ_{MAX} 531 nm y λ_{MAX} 573 nm, los cuales coinciden con los espectros del hígado (λ_{MAX} 414 nm), la sangre de res (λ_{MAX} 540 nm, λ_{MAX} 575 nm) y las AuNPs (λ_{MAX} 529 nm), con un traslape en la banda β (λ_{MAX} 540 nm) y la banda de absorbancia de las AuNPs, ocasionando un pequeño desfase a los 531 nm. Estos resultados demuestran que la muestra de hígado de res analizada podría contener sangre.

Por otro lado, este comportamiento se repite con la adición de la solución saturada de NaCl (λ_{MAX} 408 nm, λ_{MAX} 540 nm, λ_{MAX} 576 nm) y en el ensayo de la adición del electrolito NaOH (λ_{MAX} 414 nm, λ_{MAX} 529 nm, λ_{MAX} 577 nm) manteniendo los picos típicos del hígado con AuNPs. Este desplazamiento de la banda Soret (λ_{MAX} 414 nm), en el espectro de absorbancia hacia el ultravioleta también se vio mayormente afectado en los ensayos de los ácidos al adicionar el HCl ($\lambda_{MAX} \approx$ 400 nm, λ_{MAX} 542 nm, λ_{MAX} 668 nm) y el H_2SO_4 (λ_{MAX} 404 nm, λ_{MAX} 533 nm, λ_{MAX} 576 nm, λ_{MAX} 648 nm). La banda α (λ_{MAX} 573 nm) se pudo apreciar en los espectros del hígado con AuNPs con los electrolitos NaCl y H_2SO_4. Además, se observa que aparece una nueva banda $\lambda_{MAX} \approx$ 760 nm que se presenta ligeramente desfasada al ultravioleta en los espectros del hígado con AuNPs con los electrolitos NaCl λ_{MAX} 614 nm, H_2SO_4 λ_{MAX} 648 nm, HCl λ_{MAX} 668 nm.

En la figura 23 se muestra la espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con plasma seminal combinado con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl). Se puede observar que el espectro de las AuNPs con plasma seminal (λ_{MAX} en 410 nm y λ_{MAX} en 522 nm) y el

espectro de las AuNPs con plasma seminal combinado con HCl (λ_{MAX} en 407 nm, λ_{MAX} en 526 nm) mantienen el mismo comportamiento. También, se puede observar que los espectros de las AuNPs con plasma seminal combinado con H_2SO_4 (λ_{MAX}520nm), NaOH (λ_{MAX} 524 nm) y NaCl (λ_{MAX} 530 nm), presentaron la misma tendencia en sus espectros a diferentes intensidades y con un incremento del ancho de banda aproximado de 150 nm.

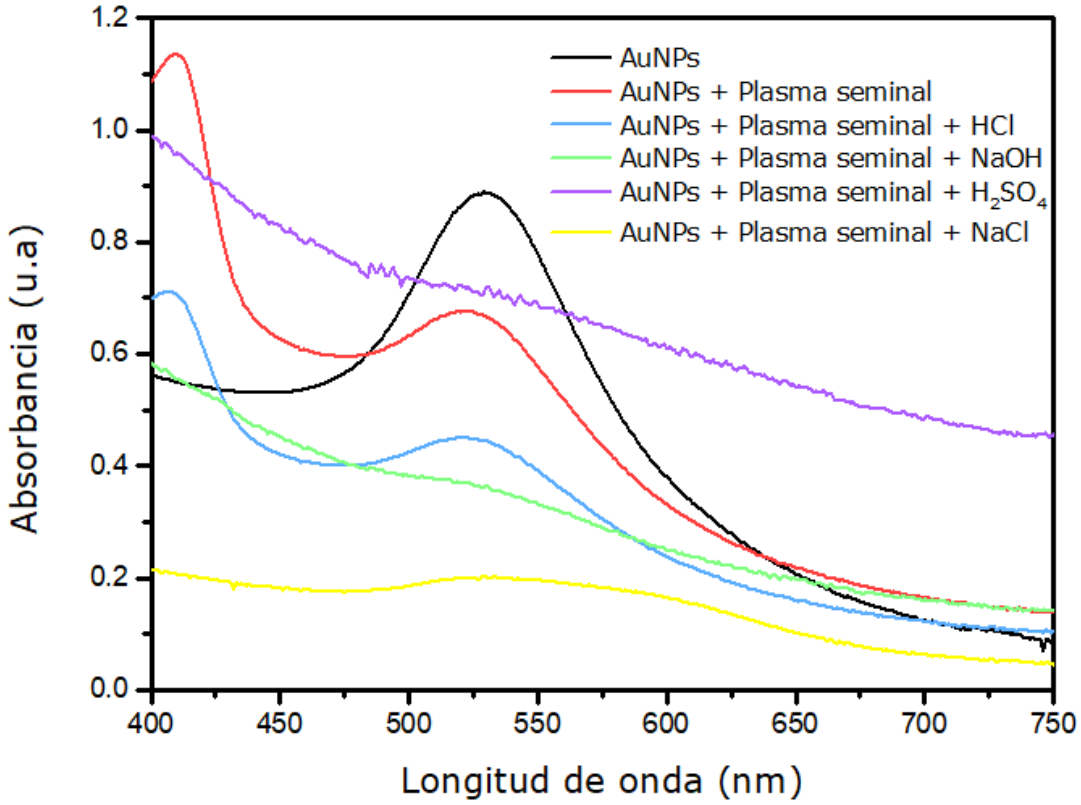


Figura 23. Espectroscopía UV-Vis de las AuNPs con plasma seminal combinado con diferentes electrolitos (HCl, NaOH, H_2SO_4 y NaCl).

En este ensayo encontramos que la muestra de plasma seminal podría contener sales o iones disueltos, probablemente por contaminaciones de orina, ya que al contacto con las AuNPs se produjo un cambio colorimétrico instantáneo como consecuencia de la solvatación y de agregados, por otro lado, el espectro UV-Vis del plasma seminal presenta un pico de $\lambda_{MAX} \approx$ 545 nm que se empalma con el pico característico de las AuNPs (λ_{MAX} 529 nm), por lo que presenta dificultades para discernir la procedencia de este pico particular. Lo que justificaría el cambio de coloración en todos los casos de la tabla II.

De acuerdo a los resultados mostrados en las espectroscopias UV-Vis de las AuNPs combinadas con diferentes electrolitos y proteínas, y la tabla II, donde se muestran los cambios colorimétricos en relación entre las AuNPs, los electrolitos y la capacidad de inhibir el cambio de coloración de las proteínas, se observa que los electrolitos fuertes son los ácidos y la solución saturada de NaCl, ya que todos ocasionaron un cambio de coloración al contacto con las AuNPs, al contrario de lo que se observó con la base NaOH, que no presentó un cambio aparente apenas percibido por su espectro UV-Vis en la figura 18, esto produce un pequeño desfase de su banda hacia la derecha, concluyendo que el NaOH no es un electrolito ideal para identificar la presencia de proteínas en una solución. Además, el electrolito más fuerte encontrado es el HCl ya que al compararlo con los espectros UV-Vis de todos los electrolitos utilizados y las AuNPs, la combinación de AuNPs con HCl tiene la λ_{MAX} más a la derecha y el mayor ancho de banda de absorción.

Por otro lado, las proteínas de albúmina de huevo, sangre y el hígado sí cuentan con poder inhibidor al cambio de coloración producido por algunos electrolitos fuertes, a diferencia del plasma seminal que presentó el cambio de coloración solo con el contacto con las AuNPs. Suponemos que es debido a que el plasma seminal contenía orina y con ésta, sales disueltas que ocasionan la solvatación y su continuo proceso de agregación, por esta razón se concluye que el plasma seminal no funciona para la detección de electrolitos fuertes. Asi mismo, la albúmina de huevo fue la proteína con mayor capacidad inhibidora de color que puede ser empleada para la detección de electrolitos fuertes, porque al combinarla con las AuNPs y los electrolitos casi no hubo cambios de λ_{MAX} o de su espectro de absorción.

Capítulo 6. Conclusiones y trabajo futuro

- Se sintetizaron exitosamente las nanopartículas de oro.
- Es posible la realización de un sensor colorimétrico a base de AuNPs para la detección de proteínas y electrolitos fuertes.
- Se comprobó experimentalmente que los cambios más significativos en coloración se presentan con los ácidos H^+**.**
- Se encontró que de los electrolitos, el HCl es el más fuerte y la albúmina de huevo, la que mejor inhibe el cambio de coloración.
- El NaOH no es un buen electrolito para poner a prueba la existencia de proteínas en una solución, un electrolito estable para este fin podría ser una solución saturada de NaCl debido a su pH y estabilidad.
- El plasma seminal no es una proteína viable para la detección de electrolitos fuertes.
- En cambio, la albúmina de huevo es una proteína que puede ser empleada para la detección de electrolitos fuertes, por su estabilidad y su duración, sin descomponerse ni producir malos olores.
- Se comprobó que las proteínas llegan a proteger a las AuNPs de la atracción iónica de los electrolitos fuertes, logrando con esto también la identificación de proteínas.

Trabajo futuro

- Realizar pruebas con otros electrolitos fuertes y otro tipo de proteínas.
- Caracterizar las AuNPs utilizando AFM.
- Probar otros métodos de síntesis de las AuNPs.
- Combinar el sensor colorimétrico con una interfaz electrónica de detección.
- Desarrollar un sistema microfluídico para sintetizar AuNPs in situ, utilizando el método de Turkevich.
- Diseñar un sensor colorimétrico para la detección de electrolitos fuertes y proteínas con microcanales, con la finalidad de reducir costos.

Anexos

Presupuesto

Dentro de los reactivos consumibles en Abril 2022 encontramos principalmente los siguientes:

Reactivo	Marca	Precio
$HAuCl_4$ (ácido cloroáurico)	Sigma-Aldrich	$11,912.00 (10 g)
$Na_3C_6H_5O_7$ (citrato de sodio)	Sigma-Aldrich	$1,821.00 (1 Kg)
NaOH (hidróxido de sodio)	Sigma-Aldrich	$5,839.00 (500 g)
HCl (ácido clorhídrico)	Sigma-Aldrich	$1,552.00 (500 mL)
H_2SO_4 (ácido sulfúrico)	Sigma-Aldrich	$2,613.00 (100 mL)
NaCl (Cloruro de Sodio)	Sigma-Aldrich	$819.00 (25 g)
Agua desionizada		

Referencias

[1] Raimondo Martínez Juliana. (2016). Desarrollo y caracterización de un sensor cromático que determine la presencia de oxígeno en un envase (Tesis de licenciatura). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

[2] Universidad Politécnica de Madrid. (2005). Multiscale Modelling of Nanostructured Interfaces for Biological Sensors. *Coordinated activities in computational materials research,European Commission*,1-9. https://cordis.europa.eu/docs/results/16/16375/120694241-6_en.pdf

[3] Oliva Montero José María. (2020). Copa de licurgo: Cuando ciencia y arte se dan la mano para hacer historia. Laboratorio de Nanotecnología. Universidad Pablo de Olavide. https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/JM_Oliva.pdf

[4] Takeuchi, Noboru. (2009). Nanociencia y nanotecnología: la construcción de un mundo mejor átomo por átomo. México: FCE, CNYN-UNAM, SEP, Conacyt.

[5] Corzo Lucioni, Alberto. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de $H[AuCl_4]$. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 78(2), 79-90.

[6] González Antón, Rocío. (2016). Síntesis de nanopartículas de oro funcionalizadas con 1-dodecanotiol en un sistema bifásico. Desarrollo de sensores electroquímicos. (Tesis de Licenciatura). Universidad de Valladolid, Valladolid, España.

[7] Canal Noval, Isabel. (2016). Obtención y caracterización de partículas coloidales a partir de proteínas vegetales hidrofóbicas ricas en prolina. (Tesis de Maestría). Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

[8] Kimling J. et al. (2006). Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110 (32), 15700-15707.

[9] Chang Raymond, Goldsby Kenneth A. (2013). Química. México, D.F.: McGrawHill Education.

[10] Yurkanis Bruice Paula. (2008). Química Orgánica. México.: PEARSON EDUCACIÓN.

[11]Ruiz de Larramendi, Idoia. (2016). Influencia del tamaño de partícula en las propiedades físicas de nanopartículas de Au. UPV/EHU OpenCourseWare.

[12] Luque Ordoñez Javier. (2012). Espectro electromagnético y espectro radioeléctrico. *Asociación de Autores Científico-Técnicos y Académicos*, 62, 17-31. https://www.acta.es/medios/articulos/ciencias_y_tecnologia/062017.pdf

[13] Turkevich J. et al. (1951). A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discussion of the Faraday Society*, 11, 55-75.

[14] Campbell Mary K., Farrell Shawn O. (2016). Bioquímica. México, D.F.: CENGAGE Learning.

[15] Sharma, Amit, Tiwari, Udita, Gaur, M., Tiwari, Rajeev. (2015). Assessment of malathion and its effects on leukocytes in human blood samples. *Journal of Biomedical Research*, 29.

[16] Bartoszek, W., Suákowski, M. (2006). The Study of pH Influence on Bovine Liver Catalase by Means of UV-VIS Spectroscopy and Spin Labelling Method. *Polish J. of Environ. Stud*. Vol. 15 No. 4A, 41-43.

[17] Cataldo, Franco. (2006). Ozone Degradation of Biological Macromolecules: Proteins, Hemoglobin, RNA, and DNA. *Ozone-science & Engineering*, 28, 317-328.

Referencias de figuras

Figura 1. INFOBAE. (2017). ¿Nanotecnología en el siglo IV?: la misteriosa copa bicolor de Licurgo.

https://www.infobae.com/tendencias/2017/05/01/nanotecnologia-en-el-siglo-iv-la misteriosa-copa-bicolor-de-licurgo/

Figura 2. Brebbla Sara, Torralba Gonzalo. (2019). Nanomedicina.

https://cienciaesculturaramiro.wordpress.com/2019/01/14/nanomedicina/

Figura 3. Canal Noval, Isabel. (2016). Obtención y caracterización de partículas coloidales a partir de proteínas vegetales hidrofóbicas ricas en prolina. (Tesis de Maestría). Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

Figura 4. García Laureiro, José I. (2015). ¿Hay algo que no se pueda conseguir con oro?

https://isqch.wordpress.com/2015/04/13/hay-algo-que-no-se-pueda-conseguir-con-oro/

Figura 5. aulaClic. (2016). La luz y la fotografía.

https://www.aulaclic.es/fotografia-photoshop/t_4_7.htm

Figura 13. Thermo Scientific™ Espectrofotómetro de UV Vis GENESYS™ 10S

https://www.fishersci.es/shop/products/genesys-10s-uv-vis-spectrophotometer/p-4532044

Figura 21b. Sharma, Amit, Tiwari, Udita, Gaur, M., Tiwari, Rajeev. (2015). Assessment of malathion and its effects on leukocytes in human blood samples. *Journal of Biomedical Research*, 29.

Figura 22a. Bartoszek, W., Suákowski, M. (2006). The Study of pH Influence on Bovine Liver Catalase by Means of UV-VIS Spectroscopy and Spin Labelling Method. *Polish J. of Environ. Stud*. Vol. 15 No. 4A, 41-43.

Figura 22b. Cataldo, Franco. (2006). Ozone Degradation of Biological Macromolecules: Proteins, Hemoglobin, RNA, and DNA. *Ozone-science & Engineering*, 28, 317-328.