



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**FACULTAD DE CIENCIAS
FÍSICO-MATEMÁTICAS
“Mat. Luis Manuel Rivera Gutiérrez”**

División de Estudios de Posgrado

“Biosensor de fibra óptica microestructurada por la técnica sol-gel”

TESIS

Para obtener el grado de:
Maestro en Ciencias en Ingeniería Física

PRESENTA:

L.F.M. Antonio Rendón Romero

ASESOR DE TESIS
Dr. Edgar Alvarado Méndez

COASESOR DE TESIS
Dra. Mary Carmen y Montserrat Peña Gomar

MORELIA MICHOACÁN, OCTUBRE 2012.



Agradecimientos

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por la oportunidad de realizar los estudios de maestría y por el apoyo a través de la beca para estudios de posgrado.

A la Universidad de Guanajuato, campus Irapuato-Salamanca por facilitarme el Laboratorio de Optoelectrónica para la realización de los experimentos y por el apoyo DAIP No. 0030/11.

A mis maestros, en especial a mis asesores.

Contenido

1 Resumen	4
2 Introducción	5
2.1 Antecedentes.....	12
2.2 Objetivos.....	16
2.2.1 Objetivo general.....	16
2.2.2 Objetivos específicos.....	16
2.3 Justificación.....	16
3 Biosensores	17
3.1 Bioreceptor.....	17
3.2 Inmovilización.....	19
3.3 Transductor.....	22
4 Técnica sol-gel	25
4.1 Introducción.....	25
4.2 Antecedentes.....	26
4.3 Conceptos y términos generales.....	27
4.4 Etapas de la técnica sol-gel.....	28
4.5 Aplicaciones.....	29
4.6 Ventajas y desventajas de la técnica sol-gel.....	31
5 Fibra óptica	32
5.1 Antecedentes.....	32
5.2 Reflexión y refracción.....	33
5.3 Coeficientes de Fresnel.....	35
5.4 Bandgap o banda prohibida.....	36
6 Desarrollo experimental	45
6.1 Propiedades de los indicadores.....	45
6.2 Preparación de los optrodos.....	46
6.3 Caracterización de los optrodos.....	51
7 Conclusiones	61
A Fibra fotónica de núcleo hueco y banda prohibida HC-633-02	62
Referencias	63

Capítulo 1

Resumen

En esta tesis presentamos los principios básicos del funcionamiento de un biosensor usando la técnica sol-gel. De igual forma se muestra la metodología para construir un biosensor de fibra óptica fotónica o microestructurada, basado en el principio de transmitancia. Hemos elegido fibra óptica por su fácil manejo, inmunidad a interferencia electromagnética, tamaño compacto, y bajo costo. Se explora la posibilidad de usar fibra óptica fotónica, rellena con un material sensible a variaciones de pH mediante la técnica sol-gel. Para ello se determinaron las concentraciones adecuadas de los elementos químicos que conforman el sol-gel, para ser introducida en la fibra fotónica por medio de capilaridad; esta fibra preparada recibe el nombre de optrodo. Se realizó un estudio de espectroscopía de la muestra que contenía los indicadores de pH para conocer el porcentaje de absorción con relación a la longitud de onda. Posteriormente, los optrodos fueron caracterizados mediante un sistema electrónico de detección de señal, para obtener una curva de caracterización de variaciones de voltaje con respecto al pH.

Capítulo 2

Introducción

El pH se define como el grado de acidez o alcalinidad de una sustancia, lo cual es medido por la concentración de iones de hidrógeno de la sustancia, y se puede definir por

$$pH = -\log (H^+).$$

La escala de pH se representa mediante números entre 0 y 14. Si una sustancia tiene un pH del 0 al 6.9 se dirá que es ácida. Una sustancia que tenga un pH de 7 se dirá que es neutra. Un ejemplo de sustancia neutra es el agua destilada (agua sin sales) Si la sustancia tiene un pH del 7.1 al 14, se dirá que es alcalina o básica.

Las soluciones ácidas contienen hidrógeno. Las soluciones básicas contienen, salvo el amoníaco, hidrógeno, oxígeno y al menos un metal. En la figura 2.1 se muestra el pH para algunas sustancias comúnmente conocidas.

La determinación del pH es de suma importancia para el área de la salud, la industria de alimentos, crecimiento de bacterias, para el tratamiento de agua, para la agronomía, la industria farmacéutica y de cosméticos, para la petroquímica, metalurgia, etc. [1], [2], [3].

Productos alimenticios

El control del pH es muy importante en la elaboración de los productos alimentarios, tanto como indicador de las condiciones higiénicas como para el control de los procesos de transformación. El pH, como la temperatura y la humedad, son importantes para la conservación de los alimentos. De ahí que generalmente, disminuyendo el valor de pH de un producto, aumente el período de conservación. Por ejemplo, el tratamiento de alimentos en una atmósfera modificada con pH inferior a 4,6 puede inhibir la multiplicación de agentes patógenos como el "Clostridium botulinum" [43] [46].

Sustancia/Disolución	pH
Disolución de HCl 1 M	0,0
Jugo gástrico	1,5
Jugo de limón	2,4
Refresco de cola	2,5
Vinagre	2,9
Jugo de naranja o manzana	3,0
Cerveza	4,5
Café	5,0
Té	5,5
Lluvia ácida	< 5,6
Saliva (pacientes con cáncer)	4,5 a 5,7
Orina	5,5-6,5
Leche	6,5
Agua pura	7,0
Saliva humana	6,5 a 7,4
Sangre	7,35 a 7,45
Agua de mar	8,0
Jabón de manos	9,0 a 10,0
Amoniaco	11,5
Hipoclorito de sodio	12,5
Hidróxido sódico	13,5 a 14

Figura 2.1. pH para algunas sustancias conocidas. Por ejemplo el café tiene un pH de 5, por lo que es una sustancia ácida. El agua de mar tiene un pH de 8, por lo que es una sustancia básica. El agua pura tiene un pH de 7, y se dice que es una sustancia neutra.

Carnes y embutidos

El pH es un indicador importante de las condiciones de salud y alimentarias del animal en el momento del sacrificio. Los valores típicos deberían rotar entre pH 5.4 y 7.0, y son indicativos de una conservación correcta de la carne.

Con el paso del tiempo, el valor del pH tiende a disminuir. Además, es indicativo del grado de dureza de la carne cortada, debido a que el proceso de acidificación es diverso en los distintos cortes de carne. Valores elevados de pH caracterizan una carne más oscura, menos sabrosa y de menor valor en el mercado.

Ya que estos productos se conservan en ambientes refrigerados, la medida del pH permite controlar que no haya contaminaciones debidas a pérdidas de amoníaco en los circuitos refrigerados.

Bebidas

El pH es un factor importante en la producción de todos los tipos de bebidas. Incluso pequeños cambios del pH en las aguas minerales pueden indicar una contaminación de las fuentes o de los estratos naturales.

Para la calidad de las bebidas es importante controlar el pH tanto del agua como de los jarabes y zumos. El pH juega un papel crucial en la producción de la cerveza y debe ser controlado regularmente en las diferentes fases de su elaboración, con el fin garantizar un producto con buenos estándares cualitativos.

Por ejemplo, el valor pH de algunos ingredientes debe ser controlado para crear condiciones favorables a la fermentación. El pH del vino varía normalmente de 2.8 a 3.8. Su control es muy importante en las diversas fases del proceso productivo, como la fermentación y la conservación. Con un pH superior a 3.5, algunas bacterias pueden atacar el vino. Incluso el sabor depende en gran medida del pH: por ejemplo, los vinos secos se convierten generalmente en ácidos. En el embotellamiento de algunos tipos de bebidas alcohólicas como el brandy, las botellas se enjuagan con el mismo producto. La solución de lavado se recupera y su pH va controlado con el fin que se pueda reutilizar en los ciclos sucesivos.

Leche y derivados

El pH de la leche debe ser controlado desde el momento de la recolección hasta la entrega del producto, ya que es un indicador válido de sus condiciones higiénicas.

El valor normal está en torno a 6.8. Valores inferiores a pH 6.8 pueden indicar una infección en el animal, que puede ser grave si el pH es inferior a 4.4.

El control del pH puede determinar la presencia de una contaminación de amoníaco debida a pérdidas en las instalaciones de refrigeración.

La leche usada para la producción de quesos debe ser de óptima calidad y su pH puede variar de 6.1 y 6.5, según el tipo de queso que se debe obtener. El pH también se controla durante la elaboración y maduración de los quesos. Valores de pH comprendidos entre 4.1 y 5.3 garantizan una ralentización del crecimiento de los agentes patógenos en los quesos frescos. Asimismo, el control del pH es muy importante durante las diferentes fases de elaboración de la mantequilla. Por ejemplo, la nata se enfría tras la pasteurización o a un valor que debe ser muy preciso. El valor del producto terminado debe ser de pH 5 aproximadamente, que en algunas condiciones puede necesitar aditivos. Un valor entre 4.5 y 6.4 del producto terminado garantiza una mayor conservación.

En la preparación del yogur, la refrigeración que sigue a la incubación de los fermentos, puede comenzar sólo cuando el valor del pH ha alcanzado valores de alrededor 4.4-4.6. La fruta agregada al yogur debe tener el mismo valor de pH para evitar reacciones no deseadas. Un producto final óptimo debería tener un pH de alrededor de 4.0-4.4 para que pueda ser conservado por más tiempo.

Pan y pasta

El pan se conserva más tiempo si su valor pH está comprendido entre 4.0 y 5.8.

Las pastas al huevo deben tener un pH ácido para evitar la reproducción de microorganismos patógenos.

Mayonesa y salsas

Para garantizar la seguridad higiénica de salsas a base de mayonesa, éstas se acidifican agregando el vinagre o el jugo de limón, prolongando en este modo el periodo de conservación de los productos.

Mermeladas, jarabes y caramelizados

El pH del producto terminado influye en el tiempo de conservación de este tipo de alimentos. Para las mermeladas y los jarabes debería ser en torno a pH 3.5 y para los caramelizados entre pH 4.5 y 5.0.

Mariscos

Durante la estabulación de moluscos como las conchas y las almejas, el pH es un indicador del correcto desarrollo de este procedimiento de depuración.

Fruta y verdura

Un valor pH entre 2.5 y 5.5 prolonga la conservación de la fruta fresca e inhibe la reproducción de microorganismos. Lo mismo ocurre con la verdura en un intervalo entre 4.6 y 6.4 pH.

Alimentos cocinados

Un valor pH 4.5 es la forma más sencilla de garantizar la estabilidad del producto.

El agua en la elaboración de los alimentos

Controla el pH del agua usada en las elaboraciones alimentarias es un modo simple y rápido para garantizar una mejor calidad del producto final. Esto es debido a que el agua de la red municipal o aguas subterráneas tienen propiedades que varían considerablemente en el tiempo y que deben por lo tanto ser controladas con regularidad [45].

Esterilización de las maquinarias

Algunos entes normativos recomiendan valores particulares de pH para las soluciones detergentes que se han de usar.

Por ejemplo, el pH de los detergentes a base de cloro debería ser de de pH 8 a 10 mientras que aquéllos a base de yodo deberían tener un pH 5 o inferior.

En la siguiente tabla se muestran valores aproximados de pH para algunos alimentos comunes.

Valores aproximados de pH de algunos alimentos

Alimento	pH	Alimento	pH
Lechuga	6.0	Manzana	2.9 - 3.3
Pepino	3.8	Leche	6.3 - 6.5
Zanahoria	4.9 - 5.2	Carne de res	5.1 - 6.2
Uva	3.4 - 4.5	Carne de pollo	6.2 - 6.4
Sandía	5.2 - 5.6	Pescado	6.6 - 6.8
Plátano	4.5 - 4.7	Atún	5.2 - 6.1

En lo que respecta a las bacterias, en la mayor parte de ellas, el pH óptimo de crecimiento está entre 6.5 y 7.5, aunque algunas bacterias pueden desarrollarse a pH extremos [47]. Los microorganismos atendiendo a su respuesta al pH pueden ser:

- Acidófilos toleran intervalos de 2 a 5
- Acidófilas obligadas como ejemplo están *Thiobacillus* y *Archaea* que incluyen *Sulfolobus* y *Thermoplasma*
- Alcalófilos con intervalos de 10-11. Ejemplo el género *Bacillus*
- Neutrófilos intervalos de 6-8

El pH de un alimento es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesado, el almacenaje y la distribución.

Los límites de pH para el crecimiento difieren ampliamente entre los microorganismos, dentro del rango comprendido entre 1 y 11 [48]. Muchos microorganismos crecen a velocidad óptima alrededor de 7, pero pueden crecer bien entre pH 5 Y 8. Hay sin embargo algunas excepciones: las bacterias acéticas, que tienen su óptimo entre pH 5,4 Y 6,3, Y las bacterias lácticas, cuyo óptimo se encuentra entre pH 5,5 (o incluso inferior) y 6 [49]. La siguiente tabla muestra una lista de valores máximos y mínimos para el crecimiento de microorganismos. En general, las levaduras y los hongos son capaces de crecer a pHs mucho más bajos que las bacterias; los valores mínimos de pH a los que es posible el crecimiento, son similares sin embargo, en levaduras, hongos y bacterias [50].

A partir de una flora mixta, la acidez puede actuar como agente selector de un componente de la población inicial que sea particularmente tolerante. Las levaduras y los lactobacilos resultan a menudo seleccionados por efecto de los pH bajos. En la tabla que se muestra a continuación se citan algunos ejemplos de tipos de alteraciones:

Microorganismo	pH mínimo	pH máximo
Bacterias gram negativas		
<i>Pseudomas aeruginosa</i>	5.6	8.0
<i>Salmonella paratyphi</i>	4.5	7.8
Bacterias gram positivas		
<i>Bacillus subtilis</i>	4.5	8.5
<i>Streptococcus lactis</i>	4.3 – 4.8	9.2
<i>Staphylococcus aereus</i>	4.0	9.8
<i>Clostridium botulinum</i>	4.7	8.5
Levaduras		
<i>Saccharomyces cerevisie</i>	2.35	
<i>Candida krusei</i>	1.5	
Hongos		
<i>Aspergillus oryzae</i>	1.6	9.3
<i>Fusarium oxysporum</i>	1.8	11.1
<i>Penicillium italicum</i>	1.9	9.3

Área de la salud

En el área de la salud, la monitorización del pH esofágico es un examen que mide la frecuencia y tiempo con que el ácido estomacal penetra en el esófago. Se introduce un pequeño tubo delgado en el estómago, a través de la nariz o de la boca, como se muestra en la figura 2.2. El tubo se fija a un monitor que registra el nivel de acidez en el esófago. El paciente registra los síntomas y la actividad mientras que el tubo permanece en el lugar en las próximas 24 horas [51]. Se compara la información del monitor con el diario del paciente. Este examen es útil para determinar la cantidad de ácido estomacal que entra al esófago. Un aumento del ácido en el esófago puede ser signo de, u ocurrir con: Esófago de Barret [52], dificultad para deglutir (disfagia) [53], cicatrización esofágica, enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE) [54], acidez gástrica, esofagitis por reflujo [55].



Figura 2.2. El monitoreo del pH esofágico, examen de acidez esofágica o control del pH esofágico es un examen para medir con qué frecuencia y por cuánto tiempo el ácido estomacal ingresa al conducto que lleva de la boca hasta el estómago (esófago).

Estudio y tratamiento de aguas

En cuanto al estudio y tratamiento de aguas, por ejemplo, se ha observado que los valores de pH son menores en temporadas próximas a los meses en los que hay florecimientos fitoplanctónicos en el sistema, e inversamente, son mayores en las alejadas de este tipo de fenómenos. Este tipo de relación ha sido oportunamente descrito para sistemas estuariales [56].

Las extracciones de agua superficial y subterránea para los usos consuntivos a nivel nacional indican que para los servicios públicos se extrae un volumen aproximado de 13.5 km³/año, mientras que para el uso industrial se extraen aproximadamente 4.1 km³/año, lo que representa el 17% y el 5.1% respectivamente del total nacional. Estos usos generan cerca de 12.9 km³/año de

aguas residuales, de las cuales un volumen aproximado de 1.67 km³/año (13%) sólo recibe tratamiento, por lo que el 87% de las aguas residuales son vertidas en la mayoría de los casos a los cuerpos receptores [57]. Con este panorama no es difícil suponer los impactos negativos que soportan los cuerpos receptores y por consiguiente la fauna y flora acuática que en varios sistemas se ha disminuido y en otros se ha perdido. Se altera además la cadena alimenticia, aumentan las poblaciones de bacterias, hongos y parásitos y se modifica el pH y la temperatura [58]. De aquí la necesidad de monitorear continuamente el pH del agua, ya que es un indicativo del grado de contaminación del agua.

Industria minera

Los procesos mineros son muy contaminantes debido a la continua adición de metales pesados, que hacen del agua, un producto inutilizable para el riego o evacuación sin previo aviso. Para regular la salida se trabaja con la neutralización con ácidos y bases para que puedan ser desechados a los ríos.

Riego tecnificado y fertilizantes

Es muy utilizado el término fertirrigación cuando se trata el tema de uso de fertilizantes con agua de riego, de esta manera se logra que los cultivos dispongan de distintos nutrientes en el momento que sea necesario. El control de los niveles de pH en esta aplicación tiene por objetivo prevenir reacciones químicas de fertilizantes en las líneas de riego, ya que si existe un pH muy básico existe la posibilidad de formar precipitados y por tanto obstrucción de líneas. Los valores de pH ligeramente ácidos permiten asimilar los diferentes nutrientes. Inclusive el proceso fisiológico de absorción de nutrientes de las raíces es afectado por el nivel de pH, ya que fuera de los rangos adecuados la absorción es afectada y si la desviación es muy elevada se pueden elevar los niveles de toxicidad por absorción de elementos fitotóxicos.

Industria de los cosméticos e higiene personal

El pH de la piel es aproximadamente de 5.5 de media, variando ligeramente de una zona a otra del cuerpo. Este valor es posible mantenerlo gracias al sudor y sebo que se mezclan en la superficie corporal dando este pH, Por una parte debemos recordar que para el buen estado de la piel y el cabello es muy importante mantenerlo sin producir grandes variaciones. El uso indiscriminado de productos que lo transforman en alcalino supone favorecer la penetración en la piel de microorganismos y por lo tanto la aparición de enrojecimientos y afecciones diversas. Todo ello puede producirse con el uso de jabones y detergentes exageradamente fuertes, con elevado poder de arrastre, que disuelven todo el manto ácido y dejan la piel y el pelo totalmente desprotegido. Para comprender bien el sentido de pH en lo que afecta al cuerpo, aparte del efecto explicado anteriormente, vamos a intentar comparar la escala de pH con una escala de temperatura. Todos sabemos que cuando tocamos un objeto que se halla a una temperatura muy elevada o muy baja nos quemamos, Pues bien algo parecido ocurre cuando manejamos productos que se encuentran en los extremos de la escala de pH, si tocamos con la mano un producto como el ácido sulfúrico en concentraciones altas durante un rato puede llegar a dejarnos la mano

carbonizada, Si, por el contrario, dejamos la mano durante un tiempo en soda cáustica concentrada, podría a la larga llegar a disolverla. La conclusión clara es que lo interesante es procurar que los productos que entran en contacto con la piel tengan su pH lo más cercano posible a 5,5 o en todo caso cercano a la neutralidad. En general los productos que se utilizan en peluquería: tinturas, permanentes y decolorantes poseen un pH fuertemente alcalino. Ello hace que si se aplican de forma indiscriminada y sin tomarlas precauciones adecuadas puedan producir problemas como irritaciones o que maduras sobre el cuero cabelludo, además de dejar el cabello opaco y áspero.

Para que el pH de la piel permanezca constante y de esta forma la piel y el pelo se mantenga en buen estado, el champú deberá ser preferente ácido para mantener la acidez natural de la piel y al mismo tiempo producirá el cierre de las cutículas, mostrándonos un cabello suave al tacto y con brillo [59], por ello la importancia de monitorear y controlar el pH de los productos de aseo personal y cosméticos, de manera que sean menos agresivos con nuestro organismo y con el ambiente.

La medición del pH se hará, como ya se mencionó, utilizando tres indicadores de pH (bromofenol azul, rojo cresol y rojo fenol) que nos darán un rango más amplio (de 3 a 9) que serán inmovilizados en la matriz de sol-gel, que quedará adherida a la fibra fotónica.

La técnica sol-gel se basa en la mezcla de reactivos líquidos a nivel molecular, lo cual permite crear un material que contiene el reactivo a utilizar, esto se inicia con una suspensión coloidal en un líquido (sol) y la hidrólisis y condensación de este sol para formar un material sólido lleno de solvente (gel), el solvente se extrae con un tiempo de reposo a temperatura ambiente o un tiempo con tratamiento térmico.

2.1 Antecedentes

Un biosensor se puede definir como un dispositivo analítico compacto que incorpora un elemento biológico (o derivado biológicamente) de sensado, integrado o íntimamente asociado con un transductor físicoquímico. El objetivo de un biosensor es producir una señal digital electrónica discreta o continua la cual es proporcional al analito o grupo de analitos [5].

En base a la definición anterior podemos identificar claramente al profesor Leland C. Clark Jr. como el padre del concepto de biosensor. En 1956, Clark publicó su trabajo definitivo sobre el electrodo de oxígeno [60]. En base a su trabajo y en su deseo de ampliar la gama de analitos que podrían medirse en el cuerpo, dió un discurso histórico en 1962, en el simposio de la Academia de Ciencias de Nueva York, en el que describía cómo "fabricar sensores electroquímicos (pH, polarográfico, potenciométrico o conductividad) más inteligente mediante la adición de" transductores de enzimas como sándwiches de membrana cerrados ". El concepto fue ilustrado mediante un experimento en el que se atrapó la glucosa oxidasa en un electrodo de oxígeno Clark utilizando membrana de diálisis. La

disminución de la concentración de oxígeno medida fue proporcional a la concentración de glucosa. En el artículo publicado por Clark y Lyon acuñaron el término electrodo enzimático [61], que muchos críticos han atribuido erróneamente a Updike y Hicks [62], quienes dieron a conocer ampliamente los detalles experimentales necesarios para construir electrodos enzimáticos para glucosa. Guibault y Montalvo [63] fueron los primeros en dar los detalles de un electrodo de enzimas potenciométrico. Ellos describieron un sensor de urea basado en la inmovilización de ureasa en un electrodo selector de amonio de membrana líquida. Las ideas de Clark se hicieron comerciales hasta 1975 con el relanzamiento (primer lanzamiento en 1973) del analizador de glucosa basado en la detección amperométrica de peróxido de hidrogeno, de la Yellow Springs Instruments Company (Ohio, Estados Unidos de América). El biosensor tuvo una evolución en 1975 cuando Divis [64] sugirió que una bacteria podía usarse como elemento de reconocimiento en electrodos microbiales para medir alcohol. Esta publicación marcó el comienzo, principalmente en Japón, de una serie de investigaciones biotecnológicas y de aplicaciones ambientales de los biosensores. Lubbers y Opitz [65] acuñaron el término *optrodo* en 1975 para describir un sensor de fibra óptica con un indicador inmovilizado para medir dióxido de carbono u oxígeno. Ellos extendieron el concepto para hacer un biosensor óptico para alcohol inmovilizando alcohol oxidasa al final de la fibra óptica del sensor de oxígeno [66].

Los optrodos comerciales actualmente muestran un excelente desempeño en las mediciones *in vivo* de pH, pCO₂ y pO₂. En 1976, Clemens *et al* [67] incorporaron un biosensor electroquímico de glucose en un páncreas artificial y éste fue llamado más tarde por Miles (Elkhart) como Biostator. Sin embargo el Biostator no estuvo comercialmente disponible ya que un nuevo catéter analizador semi-continuo de glucosa en la sangre fue introducido por VIA Medical (San Diego). En el mismo año, La Roche (Suiza) introdujo el Analizador Lactate LA640 en el cual el mediador soluble, hexacianoferrato, fue usado para lanzar electrones del lactato deshidrogenasa hacia el electrodo. Sin embargo este tampoco fue un suceso comercial en ese entonces.

Un mejor avance en las aplicaciones *in vivo* de biosensores de glucosa fue reportado por Shichiri *et al* [68] quienes describieron el primer electrodo enzimático tipo aguja para implantación en 1982. La idea de construir inmunosensores directos fijando anticuerpos a un transductor potenciométrico o piezoeléctrico ha sido explorada desde principio de los años 70's, pero fue la publicación de Liedberg *et al* [69] que preparó el camino para el éxito comercial de los biosensores. Ellos describieron el uso de resonancia de plasmones superficiales para monitorear reacciones afines en tiempo real. La BIAcore (Pharmacia, Suecia) lanzado en 1990 usa esta tecnología. En 1984, se publicó un artículo acerca del uso del ferroceno y sus derivados como un medio inmovilizado para el uso con oxidoreductasas [70] en la construcción de electrodos enzimáticos de bajo costo. Esto formó la base de los electrodos enzimáticos de pantalla impresa lanzados por MediSense (Cambridge, Estados Unidos de América) en 1987 con un medidor de glucosa de la sangre del tamaño de un bolígrafo. La

electrónica fue rediseñada y se pusieron en modelos estilizados, por lo que las ventas de MediSense crecieron exponencialmente a \$175 millones de dólares en 1996 cuando fueron comprados por Abboth. Boehringer Mannheim y Bayer compiten actualmente en el mercado de los biosensores y entre las tres compañías dominan el 85% del mercado mundial.

Las publicaciones actuales contienen descripciones de una amplia variedad de enzimas, ácidos nucleicos, receptores celulares, anticuerpos y células intactas en combinación con transductores electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos y termométricos [15]. Con cada combinación tenemos una gran cantidad de transductores para su aplicación en medicina [71], alimentos y bebidas [72], procesos industriales [73], monitoreo ambiental [74], defensa y seguridad.

Los objetivos genéricos pueden identificar elementos esenciales en los programas de desarrollo de biosensores y hacer frente a sus principales obstáculos para poder adoptar la tecnología de estos dispositivos para el análisis. El diseño de sistemas integrados, la selección de elementos sensitivos y los métodos para mejorar la linealidad, sensibilidad, estabilidad y selectividad son áreas claves en las que se sigue trabajando actualmente

En los últimos años se ha dado un desarrollo creciente en la medición de sustancias químicas, tales como el pH [75]. El estudio de estos sensores ha resultado atractivo ya que permiten realizar el análisis *in vivo* y el monitoreo *in situ*. Muchos de los sensores de pH con fibra óptica se basan en la inmovilización de algún colorante sensible al pH depositado sobre la cara de un fibra tipo D, o alrededor de una fibra convencional. El colorante se soporta mediante una matriz normalmente de SiO_2 obtenida a partir de tetraethyl orthosilicate (TEOS) utilizado como precursor. Este tipo de sensores basa su operación en la absorción de la onda evanescente al interactuar los iones presentes en la solución a medir con el colorante depositado en la película.

En algunos trabajos se reporta la utilización de la técnica de inmovilización del colorante por diferentes técnicas, tales como polimerización [76] o Langmuir-Blodgett [77][78]. Sin embargo, estos métodos presentan cierto grado de dificultad para la implementación, además de ser costosos y elaborados. Recientemente, la técnica sol-gel se ha desarrollado para la inmovilización del indicador sensible al pH [79]. Esta técnica tiene ventajas sobre otros métodos de depósito [80] ya que aparte de su simplicidad, la película producida por este proceso es más dura y resistente en medios agresivos que las películas poliméricas [4][84].

Gupta et al [81][82] reporta un sensor de pH de fibra óptica basado en la absorción de la onda evanescente, la película sensible fue preparada por la mezcla de tres colorantes, usando TEOS como precursor y depositados mediante la técnica de sol-gel. El rango dinámico de pH obtenido es de 4 a 12. Sin embargo, los colorantes utilizados son relativamente caros, lo cual eleva el costo del dispositivo. En el trabajo de Beltrán-Pérez G, et al [84] se muestra un sensor que trabaja bajo el principio arriba mencionado pero que utiliza colorantes más baratos y además se emplea el TiO_2 como precursor ya que es más resistente que el SiO_2 [83], con lo que se espera incrementar el tiempo de vida útil del dispositivo, además de

disminuir los costos de fabricación. Para la construcción de los sensores se utilizaron cuatro colorantes orgánicos: verde brillante (VB), rodamina 6G (R6G), rodamina B (RB) y coumarin (CM). Se midió el rango dinámico de cada película además que se realizó un estudio de los efectos de la variación de la longitud de onda sobre la sensibilidad del dispositivo y se concluyó que se tiene un sensor eficaz, reversible, reproducible, a un bajo costo y con un aceptable grado de confiabilidad [84].

Desarrollar sensores de fibras ópticas para medir pH ha sido ampliamente estudiado mediante diferentes técnicas. Otra de ellas se basa en el publicado por *E. Alvarado-Méndez, et. al. [4]*. El sensor se prepara dopando una fibra óptica plástica por medio de la técnica sol-gel. Entre las ventajas que ofrece este método se encuentra su fácil uso, solo se necesita dopar la fibra e introducirla en el sistema para la obtención y procesamiento de los datos. En la figura 2.2 se aprecia el esquema del arreglo experimental. El optrodo de fibra óptica se dopa con la solución y se introduce en el sistema mecánico que alinea perfectamente la fibra con la luz del láser. La luz transmitida se mide en una fotorresistencia que manda los datos que son procesados en una tarjeta de adquisición de datos y finalmente procesados en una computadora.

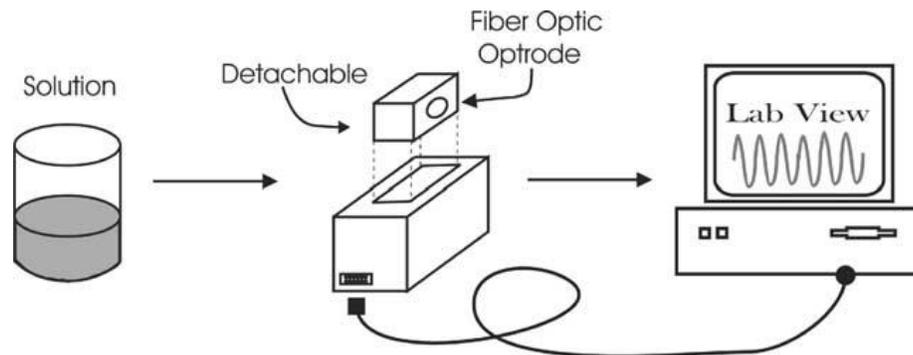


Figura 2.2. Esquema del arreglo experimental

El procesamiento de los datos es en tiempo real, además de ser un sistema portátil. En este trabajo se utilizó un solo indicador de pH (bromofenol azul) por lo que su rango de medición es limitado (de 3 a 4.6 pH). El funcionamiento del sensor se basa en el principio de transmitancia, es decir, se coloca el optrodo en un arreglo óptico donde se alinea el láser que viaja por la fibra; el otro extremo de la fibra se sumerge en un pH previamente conocido (llamados buffer), la luz que viaja por la fibra será absorbida en el extremo previamente sumergido, y esas variaciones en intensidad, serán registradas por una fotorresistencia que convierte luz en señal eléctrica.

Desafortunadamente este sensor, tiene un uso limitado, ya que solo puede usarse 10 veces y su tiempo de respuesta es lento (20 s). De ahí la necesidad de buscar

desarrollar otro biosensor que pueda aumentar el número de veces de uso y que disminuya su tiempo de respuesta.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general

Investigar y desarrollar un biosensor de fibra óptica fotónica mediante la técnica sol-gel para medir pH.

2.2.2 Objetivos específicos

- a) Seleccionar y determinar las concentraciones de los indicadores de pH.
- b) Desarrollar los optrodos mediante la técnica sol-gel.
- c) Calibración del biosensor mediante la relación pH vs voltaje.

2.3 Justificación

La fabricación de sensores mediante técnicas ópticas ha sido de gran interés para la medición de sustancias biológicas. Los sensores ópticos ofrecen ventajas con respecto a sistemas tradicionales como son, altamente sensibles, inmunes a interferencia electromagnética y de bajo costo.

El principio físico del funcionamiento del biosensor se basa en la transmitancia de la luz, lo cual se puede llevar a cabo utilizando una fibra óptica.

Existe una amplia variedad de sensores como por ejemplo para medir pH, glucosa, colesterol, hemoglobina, oxígeno, urea, etc.

En esta tesis proponemos fabricar un biosensor para medir pH, ya que es de vital importancia medir o cuantificar el valor del pH, por ejemplo en el tratamiento de agua, la agronomía, la industria de alimentos, la industria de cosméticos y shampoos, en la industria química, petroquímica, en las farmacéuticas, en la metalurgia, etc.

Para inmovilizar los indicadores de pH en la fibra óptica se utilizará la técnica de sol-gel ya que ofrece múltiples ventajas, como la poca infraestructura necesaria para llevar a cabo el proceso, además que se puede realizar a temperatura ambiente y los materiales que se obtienen son ópticamente limpios.

Una diferencia importante entre esta tesis y trabajos previos es el uso de fibra óptica fotónica. Una de las desventajas de los biosensores de fibra óptica plástica es el número de veces que se puede utilizar (10 veces), por lo que se investigará si con la fibra óptica microestructurada se incrementa las veces que se puede utilizar el optrodo.

Capítulo 3

Biosensores

$$\text{biosensor} = \text{bioreceptor} + \text{transductor}$$

Un biosensor consiste de dos componentes: un bioreceptor y un transductor. El bioreceptor es una biomolécula que reconoce el analito mientras que el transductor convierte ese reconocimiento en una señal medible. La peculiaridad de un biosensor es que los dos componentes están integrados en un solo dispositivo, en un solo sensor. Esta combinación permite medir el analito objetivo sin necesidad de utilizar reactivos. Por ejemplo para conocer el pH de una sustancia se mide directamente con el biosensor (hecho específicamente para medir pH) introduciendo el sensor en la muestra. La simplicidad y la velocidad de la medición es la principal ventaja de un biosensor [5].

El biosensor está en contacto directo con la muestra a través del *bioreceptor*, que le confiere la selectividad a través de un sitio selectivo que identifica al analito y lo transforma de alguna manera.

La figura 3.1 muestra los componentes básicos de un sensor: la muestra a analizar, el biosensor, la señal que es amplificada y medida, y el procesamiento de datos a través de sistemas de cómputo.

3.1 Bioreceptor

El *bioreceptor* puede ser una enzima, un anticuerpo, un ácido nucleico o un receptor, inmovilizado que transforma el analito en un producto que es detectable por el transductor.

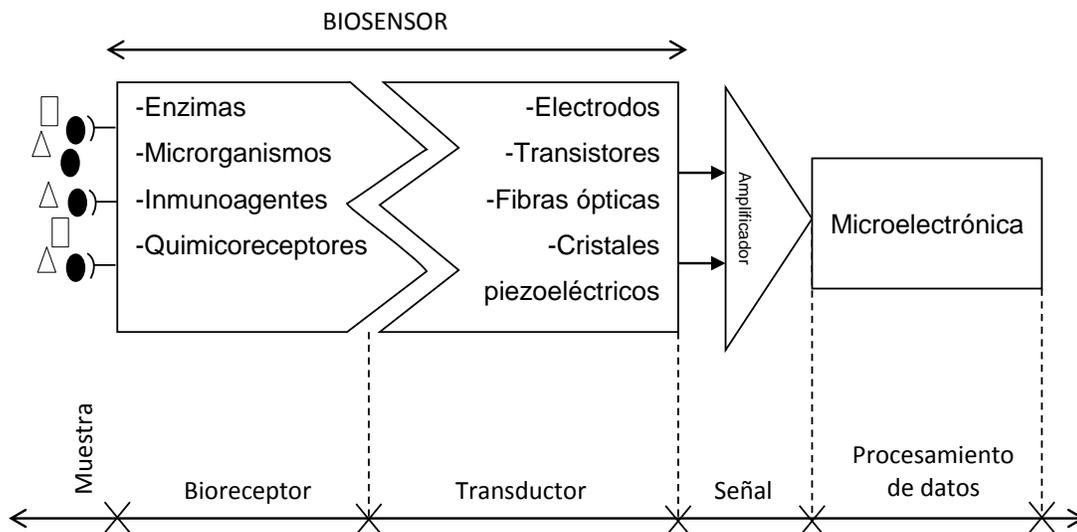


Figura. 3.1. Esquema básico de un sensor.

El bioreceptor es crucial pues produce el efecto físico-químico que será detectado por el transductor. Esto involucra procesos como biocatálisis, acoplamientos inmunológicos o quimiorrecepción [6][32].

Los bioreceptores más empleados son:

- a) *Catalizadores biológicos (enzimas)*. Las enzimas pueden ser extraídas de una o más fuentes biológicas (in situ) para aplicaciones específicas y pueden usarse solas o con sus cofactores. Las enzimas que se consiguen comercialmente presentan las siguientes ventajas: se reproducen por lotes, tiempo de vida y características conocidas, disponibilidad inmediata. Las desventajas de las enzimas purificadas son que no son siempre estables y necesitan la presencia de sus cofactores para operar en forma apropiada. En algunos casos se necesitan cadenas enzimáticas para realizar las transformaciones, lo que debe asegurarse la operación óptima del biosensor en forma global.
- b) *Microorganismos*. Son entidades estructurales que poseen todas las enzimas necesarias y sus cofactores en un ambiente optimizado por la naturaleza. Pueden reproducir y compensar pérdidas en la actividad enzimática con el tiempo.
- c) *Tejidos y organelas*. El tejido tiene la ventaja de la cohesión, y tiene una estructura que es lo suficientemente robusta para adherirse a un transductor sin necesidad de recurrir a técnicas de inmovilización de proteínas. Pueden usarse:

- 1) Tejidos de animales y vegetales: estos tejidos son fuentes naturales de material enzimático por lo cual pueden construirse biosensores muy estables.
- 2) Organelas: se pueden encontrar biocatalizadores en lisosomas, cloroplastos, mitocondrias y microsomas.
- d) *Inmunorreceptores*. Debido a la reacción antígeno-anticuerpo se produce una débil variación del potencial que puede detectarse, pero deben utilizarse distintos procesos para mejorar la respuesta del transductor.
- e) *Quimiorreceptores*. Se emplean los receptores celulares específicos de membranas celulares que se excitan químicamente para producir cambios conformacionales. Ejemplo: neurorreceptores para detectar drogas y toxinas.

Un paso crucial en la construcción de un biosensor es inmovilizar las proteínas de interés, por ejemplo las enzimas. Esto asegura máximo contacto con la muestra, y estabilización de la proteína para poder emplearla en forma repetida [7].

3.2 Inmovilización

La inmovilización puede llevarse a cabo por:

- 1. Inmovilización de enzimas
 - a. Atrapamiento físico
 - b. Inmovilización por puente cruzado
 - c. Inmovilización electromagnética
 - d. Inmovilización multienzimática
 - e. Inmovilización de cofactores
 - f. Inmovilización de mediadores
- 2. Inmovilización de microorganismos
- 3. Inmovilización de inmunoagentes
 - a. Inmovilización de anticuerpos
 - b. Inmovilización de antígenos
 - c. Inmovilización de los compuestos por bioafinidad
- 4. Inmovilización de tejidos y organelas
- 5. Inmovilización de quimiorreceptores

1.- Inmovilización de enzimas

a) *Atrapamiento físico*

Las enzimas tienen alto peso molecular y gran tamaño, lo suficiente como para *atraparlas* en geles de poliacrilamida o membranas de diálisis [34]. El primer electrodo de enzima fue construido por Updike y Hicks *atrapando*

glucosa oxidasa en una capa de gel de poliacrilamida, que a su vez se adhería a un electrodo de oxígeno.

El atrapamiento físico no se usa generalmente porque la presencia de enzimas en una solución no permite una actividad enzimática a largo plazo.

b) Inmovilización por enlace cruzado (cross-linking)

Este proceso usa un agente bi o multifuncional para formar un puente entre distintas especies biocatalíticas o proteínas. Esto resulta en un incremento considerable del peso molecular, y los compuestos que se forman son insolubles.

Es posible enlazar moléculas de una misma enzima, o coreticular dos o más proteínas diferentes (enzima con enzima, enzima con proteína, etc.). Un agente utilizado en cross-linking es el glutaraldehído. Este agente bifuncional tiene dos grupos aldehídos en sus extremidades que reaccionan con el grupo amina de una enzima o proteína. Los métodos de cross-linking son: método de inmersión (para inmovilizar ureasa), método de enlace directo, uso de aerosoles, uso de membranas y, membranas prefuncionalizadas.

c) Inmovilización electromagnética

Si una enzima puede incorporarse en un soporte magnético, entonces puede usarse un campo electromagnético para inmovilizarla. La ventaja de este método es que los componentes biocatalíticos pueden ser cambiados tan frecuentemente como se desee. La enzima puede despegarse deteniendo la corriente en el solenoide. La dificultad es la fijación de la enzima a las partículas magnéticas. La interacción bioespecífica usada es frágil e irreversible, y la enzima puede ser despegada bajo ciertas condiciones de pH.

d) Inmovilización multienzimática

La naturaleza proteínica de las enzimas significa que contienen un gran número de grupos reactivos que pueden ser simultáneamente inmovilizados, lo que permite que el sustrato pueda ser reciclado, aumentando la sensibilidad de la respuesta del electrodo.

El uso de mediadores para reducir el potencial aplicado en los electrodos amperométricos, y la interferencia, algunas veces requiere inmovilización multienzimática.

La inmovilización multienzimática necesita la catálisis de reacciones de descomposición sucesivas que requieren muchas enzimas diferentes, pero eventualmente los productos pueden ser detectados por un electrodo.

e) Inmovilización de cofactores

Un cofactor (o coenzima) puede ser inmovilizado en un soporte insoluble al mismo tiempo que una enzima, gracias a que forman una unidad indisociable con la apoenzima. Además, el cofactor puede permanecer lo suficientemente móvil después de su inmovilización para pasar de un sitio activo de una apoenzima al sitio activo de otra para su regeneración.

La inmovilización física de los cofactores es imposible debido a su tamaño tan reducido y por lo tanto debe ser unido covalentemente ya sea a una enzima o un soporte insoluble. A veces la regeneración de un cofactor no requiere otra enzima sino simplemente otro sustrato. El cofactor es inmovilizado en un sitio activo de una enzima para obtener la reacción enzimática con el primer sustrato, y luego el cofactor es regenerado por un segundo sustrato [8].

f) *Inmovilización de mediadores*

Los mediadores se usan para regenerar los cofactores involucrados en las reacciones redox catalizadas por enzimas. La movilidad de un cofactor se reduce si la enzima no está en solución y se requiere un mediador para transportar electrones entre el electrodo y el cofactor. Pueden usarse ferrocenos y sales orgánicas conductoras. Los mediadores se inmovilizan usando redes poliméricas inertes o electroactivas.

2.-Inmovilización de microorganismos

Como los microorganismos son de mayor tamaño que las enzimas pueden ser inmovilizados por atrapamiento físico. Pueden atraparse en geles agar o de poliacrilamida, o en membranas de diálisis o filtración. También se pueden inmovilizar células enteras en suspensiones de colágeno tratadas con glutaraldeido.

3.- Inmovilización de inmunoagentes

Existen dos tipos de inmunosensores: aquellos que en forma directa explotan una variación de un parámetro como resultado de un acoplamiento inmunológico y aquellos que recurren a una enzima para liberar un producto, o consumir un co-sustrato, que es detectable por un transductor. El primer paso en ambos casos es fijar un antígeno, un anticuerpo, o un compuesto que tenga bioafinidad con el analito, sobre el transductor.

a) *Inmovilización de anticuerpos*

El objetivo de inmovilizar un anticuerpo en un transductor es detectar el antígeno correspondiente. Los anticuerpos tienen estructuras proteínicas y pueden ser inmovilizados de la misma forma que las enzimas, en forma directa (enlaces covalentes) o usando membranas.

b) *Inmovilización de antígenos*

Los antígenos no siempre poseen estructuras proteínicas como para inmovilizarlos en la misma forma que los anticuerpos o las enzimas, y por lo tanto se los une a portadores iónicos.

c) *Inmovilización de los compuestos con bioafinidad*

Los compuestos con bioafinidad pueden usarse para preparar proteínas complejas por procesos similares al acoplamiento inmunológico. Los compuestos se inmovilizan usando membranas obtenidas por copolimerización de 1,8-diamino-4-amino-metiloctano con triacetato de

celulosa. Las membranas se sumergen en una solución que contiene ovalbúmina y luego HABA (ácido benzoico 2[(4-hidroxifenil)azo]), el compuesto con bioafinidad, se une con carbodiimida.

4.- Inmovilización de tejidos y organelas

Se corta un trozo de tejido animal o vegetal que se inserta entre dos membranas semipermeables que luego se adjuntan al transductor. El transductor generalmente es un electrodo de pO₂, pCO₂, o pNH₃ los cuales tienen su propia membrana hidrofóbica permeable a un gas. Los tejidos animales pueden ser de hígado de conejo o bovinos, músculo o mucosa intestinal de conejo. Los componentes celulares también se usan, por ejemplo mitocondrias. Estas organelas hacen más selectivo al biosensor porque contienen enzimas más específicas. Los tejidos vegetales se inmovilizan usando retención mecánica. Estos biosensores tienen un tiempo de respuesta mayor que los sensores de enzima correspondientes. Para obtener respuestas más rápidas se incorpora el tejido en pastas de carbón para facilitar el contacto entre el sitio biocatalítico y el componente sensible [9].

5.- Inmovilización de quimiorreceptores

Los quimiorreceptores se adhieren en su estado natural a un electrodo potenciométrico para crear sensores llamados "receptrodes". De esta forma pueden crearse neurorreceptores para medir toxinas y otros agentes químicos. Por ejemplo, el uso de receptores de acetilcolina permite la determinación de acetilcolina a través de la detección de una impedancia específica comparada con otros neurotransmisores.

En nuestra tesis haremos una inmovilización de inmunorreceptores por la técnica sol-gel.

3.3 Transductor

El transductor debe dar una señal óptima, sensible, fácil de monitorear y con el mínimo de ruido. El transductor puede ser electroquímico, termométrico, fotométrico o piezoeléctrico y de acuerdo al tipo de bioreceptor con el que se combina pueden formarse múltiples tipos de biosensores.

El transductor provee la evidencia de que ha ocurrido una reacción en el bioreceptor. La elección del transductor depende del tipo de reacción, y las sustancias liberadas o consumidas. Generalmente, la elección apropiada del transductor es el modelo comercial que existe para el método de detección requerido. Hay un gran número de electrodos disponibles para detección electroquímica, por ejemplo, electrodos sensibles a pH, a aniones o cationes, y a

gases (pO_2 , pCO_2 , pNH_3). El componente sensible puede comprarse independientemente y luego adherirlo al biosensor [10].

La elección del transductor también depende de la aplicación deseada del biosensor. Si va a ser usado en ambientes biológicos, debe satisfacer criterios de biocompatibilidad, especialmente con respecto a la deposición de proteínas, lípidos o células sobre su superficie. Si va a ser utilizado in vivo, debe ser de tamaño reducido, y con forma adecuada para no dañar excesivamente los tejidos. Además deben tenerse en cuenta las características tóxicas, metálicas, o componentes poliméricos cuando se va a implantar por largo tiempo.

La interferencia química puede afectar la transducción, por lo que también debe tenerse en cuenta en el momento de la elección del transductor.

El transductor debe aprovechar óptimamente las modificaciones fisicoquímicas que resulten de las reacciones biológicas. Por ejemplo, si una reacción provoca una variación de la entalpía, se produce un incremento muy débil de la temperatura y por lo tanto un termistor es un transductor térmico más adecuado que una termocupla.

El mismo transductor puede usarse en modos de operación diferentes, que se eligen de acuerdo al objetivo deseado. Por ejemplo, una fibra óptica puede usarse como un transductor extrínseco, con un componente biorreactivo inmovilizado en su punta, o como un transductor intrínseco explotando la interacción entre las inmunoproteínas de su superficie y las ondas evanescentes de la superficie.

Los transductores pueden ser:

- 1.- Electroquímicos
 - a) Potenciométricos
 - b) Amperométricos
 - c) Semiconductores
- 2.- Termométricos
- 3.- Piezoeléctricos
- 4.-Fotométricos

En esta tesis solo describiremos brevemente los transductores fotométricos, que son los que utilizaremos para la construcción del optrodo.

Transductores fotométricos

Se basan en la medición de la variación de las propiedades ópticas de un medio o un receptor inmovilizado. La luz puede atravesar, reflejarse o emitirse del material analizado.

Las fibras ópticas pueden usarse para construir biosensores. La luz entre una muestra y una fuente o detector se transporta a lo largo del interior de las fibras siguiendo los principios de reflexión total. La luz se propaga a lo largo de la fibra en diferentes modos, de acuerdo a un ángulo de incidencia dado.

La reflexión total en una fibra nunca es perfecta y por lo tanto algo de radiación electromagnética penetra la cubierta de la fibra. Esto se llama ondas evanescentes, y pueden usarse para detectar variaciones de las propiedades ópticas de películas químicas y biológicas que se colocan alrededor de la fibra.

Comúnmente el material (reactivo) que cambia sus propiedades ópticas (absorción, fluorescencia, y luminiscencia) es inmovilizado en la punta o alrededor de una fibra óptica.

Absorción de luz

El detector mide la reducción de la intensidad de la luz de la fuente. Esta reducción es causada por un producto absorbente que proviene de la reacción entre la sustancia inmovilizada y el analito.

Generalmente se utilizan ondas de longitud de onda monocromática, y los rayos, incidente y emitido, tienen la misma longitud de onda.

Se basan en el recubrimiento de la punta de una fibra óptica con un indicador coloreado incorporado a una matriz polimérica. Se emplean en medidores de pH.

Fluorescencia

La longitud de onda de la emisión fluorescente es diferente de la longitud de onda de la onda de excitación, y una sola fibra es suficiente para transportar la radiación de excitación y emisión.

También se usa una sola fibra para medir fluorescencia, que ocurre cuando un compuesto absorbe en la misma región espectral que la emisión presente.

Es muy sensible y detecta muy bajas concentraciones. Se emplean indicadores fluorescentes inmovilizados en la punta de una fibra. Un cambio de pH provoca un cambio en la fluorescencia del indicador. Se emplea luz láser para iluminar la punta.

Bio o Quimioluminiscencia

La Bioluminiscencia está asociada a la emisión de luz de organismos vivos como las luciérnagas.

Básicamente, una reacción es catalizada por la *luciferasa* y libera un compuesto en su estado excitado, que emite luz cuando vuelve al estado de reposo. Se emplea para cuantificar ATP o procesos que usen ATP como cofactor.

La Quimioluminiscencia proviene de reacciones químicas, en las que ocurre una oxidación que involucra oxígeno molecular, o peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Estos sensores sirven para medir H_2O_2 .

Capítulo 4

Técnica sol-gel

4.1 Introducción

La técnica sol-gel ha sido usada en los últimos años para preparar un amplio rango de materiales. Este método es atractivo debido a que involucra procesos a baja temperatura, además de la alta pureza y homogeneidad a su forma de preparación en sistemas multicomponentes. La técnica sol-gel ha sido explotada para elaborar nuevas composiciones de cristales, nuevos sistemas cerámicos y compuestos de útiles propiedades.

Avances recientes en la tecnología de cerámicas han hecho posible moldear el sílice y otros óxidos metálicos a temperatura ambiente, mediante la técnica sol-gel, y además, se ha demostrado la posibilidad de atrapar compuestos orgánicos en matrices inorgánicas al introducir el compuesto deseado con los precursores del sol-gel [11]. Esta técnica se ha extendido también a compuestos biológicos.

La técnica sol-gel permite la síntesis de cerámicas homogéneas tanto de grano fino como de grano grueso y ofrece control de pureza química y cristalina [12].

Dicho proceso también permite, a partir del gel, la preparación de productos en diversas formas físicas tales como: polvos ultrafinos, monodispersos y muy reactivos, piezas monolíticas de formas definidas (ópticamente limpias), recubrimientos y fibras.

El material final es más homogéneo con respecto a especies químicas obtenidas por procesos en los cuales, difusión en estado sólido o fase fundida, es necesario para la formación del compuesto; además de ser más versátil que los demás métodos no convencionales en el procesamiento de cerámicas avanzadas.

En la figura 4.1 se esquematiza la técnica sol-gel [13], en esta se puede apreciar que a partir de la suspensión coloidal (sol) se pueden obtener partículas, películas, fibras, cerámicos densos (monolitos) y aerogeles.

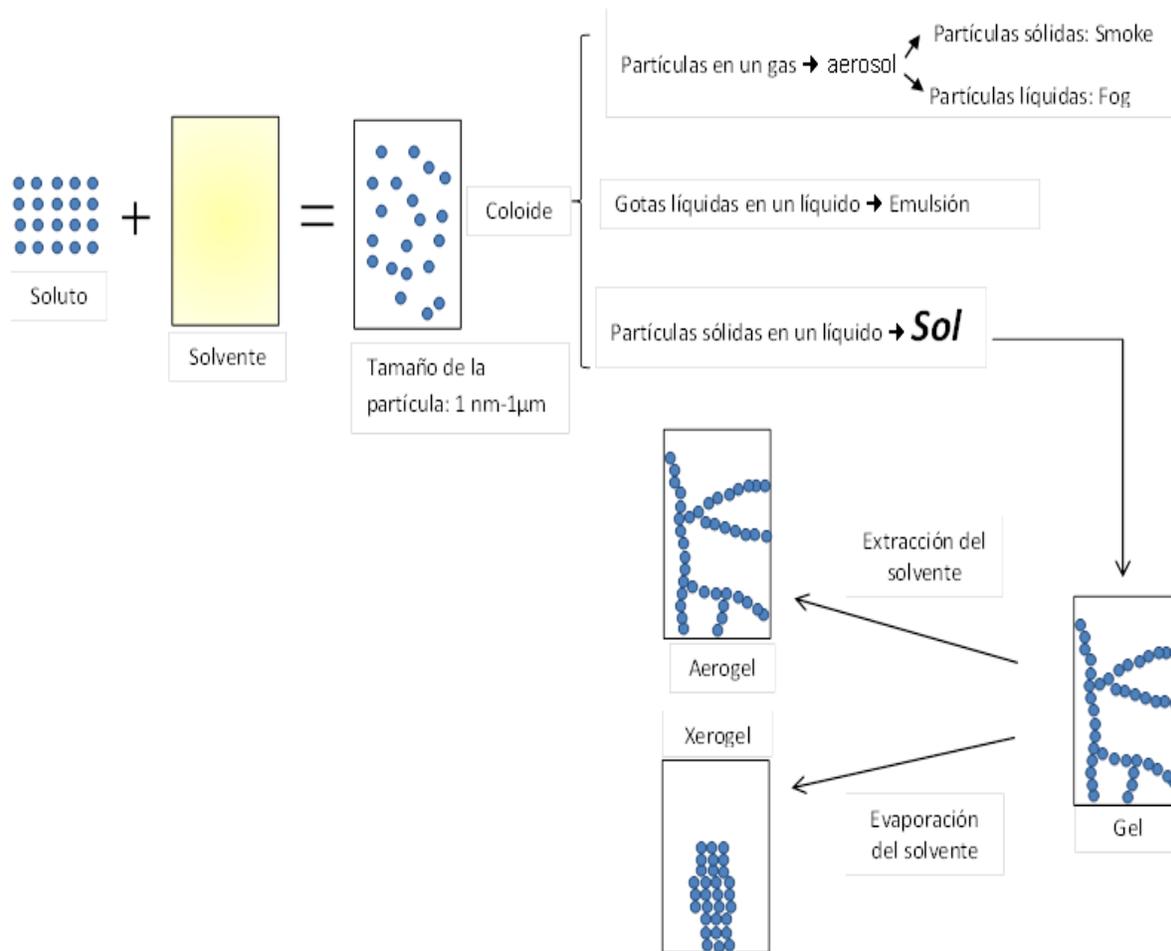


Figura 4.1 Esquema general del proceso sol-gel.

4.2 Antecedentes

El proceso sol-gel se descubrió a finales del siglo XIX, aunque no se estudió de manera intensa hasta los años 30's. Posteriormente se perdió interés de la técnica y no fue hasta principios de los años 70's cuando se sintetizaron geles de sales inorgánicas que fueron transformados en vidrios sin necesidad de altas temperaturas ni fusión. Con ello se conseguía un óxido inorgánico con las propiedades deseadas de dureza, transparencia óptica, estabilidad química, porosidad y una buena resistencia térmica a baja temperatura.

Posteriormente, el método sol-gel permitió desarrollar rápidamente la fabricación de películas, fibras y polvos con un tamaño de partícula nanométrico. También

permitió el desarrollo de muchas aplicaciones específicas, entre las cuales se incluyen las ópticas, protección y películas porosas, capas, aislantes de ventanas, dieléctricos, películas de interés electrónico, superconductores, fibras de refuerzo y catalizadores.

Se considera a Badini como el pionero en proponer la aplicación de la técnica sol-gel en la obtención de sensores químicos (1989), constituyendo el principio de un sensor de pH [36], seguido por Suzman (1990) [37]. Gracias a esto se observó la ruptura producida por los geles, que más tarde permitiría a MacCraith, en 1991, perfeccionar el procedimiento [38].

MacCraith utilizó una fibra óptica a la cual le retiró la protección y le adhirió una capa delgada de sílice con fluoresceína, que es una sustancia colorante de color amarillo que produce un color fluorescente verde intenso, en soluciones alcalinas ($\text{pH} > 5$). Fue cuando Ding, propuso un sensor de fibra óptica donde el núcleo se encontraba dopado con una película delgada del gel de sílice que contenía bromofenol azul [39].

Desde entonces, la técnica sol-gel es ampliamente utilizada en la fabricación de sensores químicos y biosensores.

4.3 Conceptos y términos generales

La técnica sol-gel permite obtener un compuesto sólido a partir de una solución líquida. Recibe este nombre debido a que durante el proceso se lleva el cambio de un sol a un gel mediante la condensación.

El desarrollo de la técnica sol-gel ha sido enfocado hacia la obtención de óxidos. La técnica sol-gel, es un método donde uno o varios elementos son usados en la forma de sol y/o gel, con el fin de obtener un sólido homogéneo, principalmente policristalino amorfo.

En una dispersión coloidal, se llama fase dispersa o dispersoide a la sustancia disuelta que se encuentra en menor proporción, y medio de dispersión al medio en que se hallan dispersas las partículas. Las suspensiones coloidales más importantes tienen un líquido como medio de dispersión aunque también puede servir como tal un gas o un sólido; con fase dispersa sólida, líquida o gaseosa.

La dispersión coloidal recibe el nombre genérico de sol. Cuando el medio líquido es el agua, el sistema se denomina hidrosol y si es un alcohol, entonces se denomina alcosol.

Las soluciones coloidales o soles, contienen ya sea grandes macromoléculas, agregados moleculares o pequeñas partículas y ocupan una posición intermedia entre soluciones de especies de bajo peso molecular, y dispersiones.

Se consideran partículas coloidales aquellas que tienen al menos una dimensión en el rango de 1nm-1µm [14]. La química coloidal forma un vínculo continuo entre la química molecular y el estado sólido.

Algunos soles pierden gradualmente algo de su líquido por evaporación y forman masas gelatinosas que se llaman geles. Los hidrosoles dan lugar a hidrogeles, mientras que los alcsoles dan lugar a alcogeles.

Un gel es una forma de materia entre líquido y sólido. Un gel polimérico es una red macromolecular infinita, la cual está hinchada por solvente.

Un gel puede ser creado cuando la concentración de la especie dispersa aumenta. Una transición sol-gel se observa cuando la viscosidad se incrementa notoriamente sobre lo normal. El solvente es atrapado en la red de partículas, así, la red polimérica impide que el líquido se separe, mientras el líquido previene que el sólido colapse en una masa compacta.

4.4 Etapas de la técnica sol-gel

El proceso sol-gel se puede definir como una ruta química para preparar una gran variedad de materiales inorgánicos a través de una amplia gama de procedimientos. Este proceso está basado en la formación de redes inorgánicas empezando con soluciones de precursores moleculares, el sol, tendiendo por la gelificación a formar una red sólida continua en una fase líquida continua, el gel. A continuación se describen los pasos que conforman el proceso de preparación vía sol-gel.

Etapas del proceso sol-gel:

Preparación del sol. Existen dos vías básicas para obtener los soles: los sistemas acuosos y los sistemas orgánicos. En los sistemas acuosos se utiliza como precursores óxidos coloidales, hidróxidos y sales tanto orgánicas (acetatos), como inorgánicas (nitratos), estos compuestos se dispersan o se disuelven en agua. En los sistemas orgánicos se obtienen a partir de compuestos metal-orgánicos (principalmente alcoóxidos) disueltos en un solvente orgánico, que generalmente es un alcohol.

Hidrólisis [15]. Se lleva a cabo la descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción de agua.

Gelificación. Las reacciones de hidrólisis y condensación del proceso anterior, conducen a la formación de agregados (grupos), que se enlazan hasta formar un único conjunto gigante denominado gel [16]. En el momento de formación de gel hay muchos grupos en el sol que se unen entre sí para formar una red sólida, responsable de la elasticidad, y ocurre un cambio abrupto de la viscosidad [17].

Envejecimiento. Luego de la gelificación el sistema continua reaccionando, produciendo cambios químicos y estructurales, mediante acoplamiento covalentes y evolución estructural con cambios en el tamaño de los poros y las fuerzas de las paredes de dichos poros [18].

Polimerización. Es el proceso químico por el cual, mediante calor, la luz o un catalizador se unen varias moléculas de un compuesto para formar una cadena de múltiples eslabones de estas y obtener una macromolécula. Durante este proceso, aumenta la interconexión del esqueleto sólido, en consecuencia aumenta la densidad y la resistencia mecánica del sólido [5].

Síntesis. Es la contracción del esqueleto sólido del gel, acompañada de la expulsión de la fase líquida contenida en los poros.

Crecimiento. Este proceso se debe a la disolución y precipitación producida por la diferencia de solubilidad entre las partículas.

Secado y tratamiento térmico. El secado en la fase líquida, constituye la mayor parte (70-90%) del volumen del gel húmedo y cuando ésta se evapora se observa una contracción acompañada de endurecimiento del gel. Esto se traduce en la pérdida de agua, alcohol y otros componentes volátiles [5 y 18].

Cabe mencionar que el proceso es mucho más sencillo de lo que se lee, ya que en la práctica la preparación de optrodos por esta vía es muy sencilla.

4.5 Aplicaciones

A través del método sol-gel es posible obtener cerámicas de óxidos mixtos en la forma de polvos muy finos, piezas monolíticas de formas definidas, fibras y recubrimientos (películas) [13]. En cada caso existen condiciones de procesamientos específicas.

Al preparar polvos ultrafinos, monodispersos y reactivos es necesaria una rápida hidrólisis con gran exceso de agua (20-500 ml H₂O por mol de alcóxido) en el caso de una hidrólisis-policondensación y en el caso de usar un sol (dispersión coloidal), este debe ser de alta concentración para poder inducir la precipitación de polvos. Al introducir las partículas en la forma de suspensión coloidal, la gelificación proveniente de estas partículas está fuertemente determinada por el pH. El secado se lleva a cabo a bajas temperaturas (<90 °C). Por este procedimiento se logran polvos puros y finos, pero en la práctica éstos no son utilizados como tal, teniendo que proceder a una compactación posterior lo que puede introducir impurezas.

Para obtener piezas monolíticas de forma definida es necesaria una lenta polimerización, la cual es controlada por la etapa de hidrólisis, por lo tanto, es requerida una lenta hidrólisis. Pero también es posible realizar la polimerización en contacto con la humedad atmosférica, con el inconveniente de ser un proceso mucho más lento que el efectuar la hidrólisis mediante adición controlada de agua. Otros factores son requeridos tales como una baja razón agua/alcóxido, alta temperatura de hidrólisis (temperatura de ebullición del solvente), el uso de contenedores (en los cuales se vierte el gel para obtener una forma deseada) de un material hidrofóbico (no permite que la superficie se moje) y un lento secado y calentamiento posterior.

Películas y fibras son preparadas bajo las mismas condiciones que las piezas monolíticas, es decir, lenta hidrólisis y baja razón agua/alcóxido. A diferencia de polvos y piezas, las películas y fibras pueden ser preparadas directamente del estado viscoso de la solución. En el caso de las fibras es necesaria una alta viscosidad, para poder formar las fibras extrayendo filamentos de gel y en el caso de películas la viscosidad (concentración final) depende del producto deseado, es decir, si se desea una película gruesa o una de bajo espesor.

A continuación se enlistan algunas aplicaciones de la técnica sol-gel:

APLICACIÓN	MATERIALES SOL-GEL
Fibras ópticas	Películas de gel de sílice dopada de alta pureza para los precursores de fibra óptica
Revestimientos	Recubrimientos de gel de sílice resistentes a la abrasión de sustratos plásticos
Revestimientos ópticos anti-reflejo	Ventana láser, ventanas inteligentes
Aislamiento térmico de ventanas	Separadores de aerogel para ventanas, revestimiento de colectores solares
Aislamiento refractarios de alta temperatura	Espumas cerámicas
Sensores químicos	Sensores de película delgada de NO _x , Osciladores cristalinos revestidos por sol-gel
Membranas de cerámica	Filtros moleculares sol-gel. Filtros antibacterianos
Abrasivos	Abrasivos de alúmina
Selladores y rellenos dentales	Hidroxiapatita (como sustituto de tejido óseo)

4.6 Ventajas y desventajas de la técnica sol-gel

A continuación se enlistan ventajas y desventajas de la utilización de este método de inmovilización.

Ventajas:

- Bajo costo
- Baja temperatura de proceso
- Control de heterogeneidad
- Control sobre impurezas
- Control de cristalinidad
- Preparación de cerámicas de grano fino o grueso
- Obtención de especies ópticamente limpias
- Elevado rendimiento
- Simplicidad de proceso
- Mínima infraestructura necesaria
- Gran versatilidad
- Mínima generación de residuos
- Manufactura de piezas de formas especiales sin la utilización de maquinaria

Desventajas: [16]

- Drástico encogimiento en el secado trayendo como consecuencia la aparición de microfisuras
- Largo tiempo de duración de la etapa de hidrólisis (piezas monolíticas, fibras y películas)
- Difícil secado de estructuras de forma compleja
- Gran cantidad de solvente utilizado
- Desprendimiento de agua formada en la policondensación
- Difícil control de la porosidad

Capítulo 5

Fibra Óptica

5.1 Antecedentes

El concepto de conducir luz dentro de un dieléctrico estrecho y largo (mediante reflexión total interna) se conoce desde hace bastante tiempo. John Tyndall (1870) demostró que una fina corriente de agua podía contener y guiar la luz. Poco después se recurrió a “tubos luminosos” de vidrio y, sucesivamente, a hilos de cuarzo fundido para demostrar ulteriormente dicho efecto. Sin embargo, solo a inicios de los años cincuenta se llevaron a cabo estudios serios para transportar imágenes en el interior de mazos de fibra de vidrio cortas.

Después de la invención del láser en 1960, se valoraron en seguida los beneficios potenciales proporcionados por la transmisión de información de un lugar a otro recurriendo a la luz, en comparación con las corrientes eléctricas o incluso las microondas. A frecuencias ópticas tan elevadas (del orden de 10^{15} Hz), se puede transportar cien mil veces más información con respecto a las microondas [19]

Las comunicaciones con fibra óptica moderna datan de principios de los años 60 cuando Charles Kao predijo teóricamente que se podían transmitir mensajes a alta velocidad a grandes distancias a través de una angosta guía de onda de vidrio, la cual es comúnmente llamada fibra óptica. En 1970, un grupo de investigadores de Corning fabricó exitosamente fibras ópticas usando sílice fundida con una atenuación de menos de 20 dB/km a una longitud de onda de 633 nm. El avance de Corning fue el avance más significativo hacia la aplicación de comunicación con fibra óptica. En los años siguientes, las pérdidas en la fibra disminuyó drásticamente, con la ayuda tanto de los métodos de fabricación mejorados y el desplazamiento hacia longitudes de onda más grandes, donde las fibras tienen inherentemente baja atenuación [20].

Además de las comunicaciones ópticas, la fibra óptica y tecnologías fotónicas han encontrado una variedad de aplicaciones que van desde la metrología de precisión, para formación de imágenes, a los sensores fotónicos. Diversas técnicas de medición óptica se han propuesto y demostrado en la investigación, desarrollo, mantenimiento y resolución de problemas de los sistemas ópticos. Diferentes sistemas ópticos de medición diferentes y exigen técnicas de análisis basadas en la aplicación específica y los requisitos clave de cada sistema. Con los años, la medición por fibra óptica se ha convertido en una disciplina de investigación independiente, que es a la vez interesante y desafiante.

La fibra óptica es el componente más importante en los sistemas de comunicación de fibra óptica, así como en muchas configuraciones de medición basadas en fibra óptica. La estructura básica de una fibra óptica se muestra en la figura 5.1, que tiene un núcleo central, un revestimiento y un recubrimiento externo para proteger y reforzar la fibra.

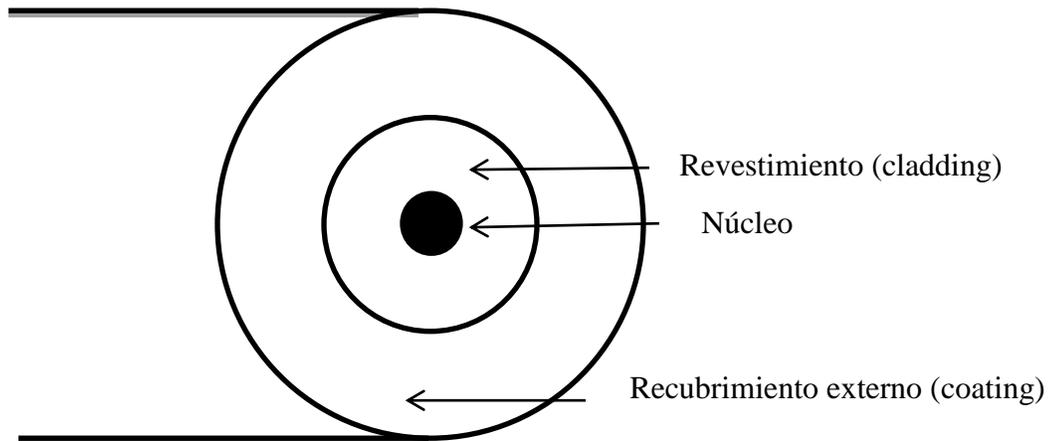


Figura 5.1 Esquema general de una fibra óptica.

5.2 Reflexión y Refracción

La propagación y la guía de la luz en una fibra óptica se basan en el principio de reflexión total interna entre el núcleo y el revestimiento. Debido a la baja atenuación del sílice, las señales ópticas pueden transmitirse largas distancias a lo largo de la fibra óptica sin una pérdida significativa de potencia óptica. Para entender el mecanismo de la propagación óptica en la fibra revisaremos los principios fundamentales de la propagación de la luz en este medio.

Una interfaz óptica es definida como un plano en el que las propiedades ópticas cambian. Por ejemplo, la superficie del agua es una interfaz óptica porque el índice de refracción cambia drásticamente de $n=1$ a $n=1.3$ en el agua. Para simplificar nuestro análisis, haremos las siguientes suposiciones:

- 1.- La propagación es de una onda plana
- 2.- El medio es lineal
- 3.- El medio es isotrópico
- 4.- La interfaz óptica es plana.

En la figura 5.2 ilustramos una interfaz óptica formada entre dos materiales ópticos con índices de refracción n_1 y n_2 respectivamente. Una onda plana es proyectada sobre la interfaz óptica a un ángulo incidente θ_1 (con respecto a la superficie

normal). La onda óptica es linealmente polarizada, y su vector de campo eléctrico puede descomponerse en dos componentes ortogonales E_{\parallel}^i y E_{\perp}^i paralela y perpendicular respectivamente, al plano de incidencia. En la interfaz óptica parte de la energía es reflejada hacia el mismo lado de la interfaz y otra parte es refractada al otro lado de la interfaz.

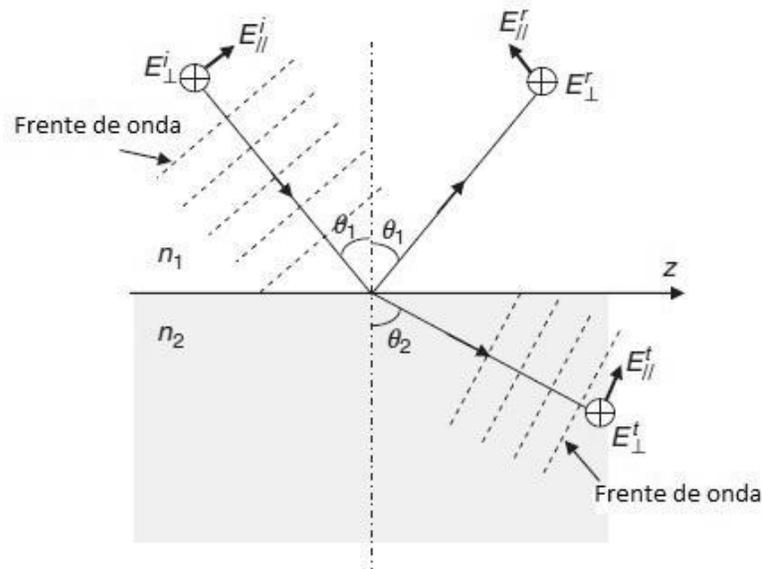


Figura 5.2. Reflexión y refracción de una onda plana en una interfaz óptica.

La ley de Snell

$$n_1 \text{sen} \theta_1 = n_2 \text{sen} \theta_2, \quad (5.1)$$

nos dice la dirección de propagación de la onda de luz refractada con respecto a la onda incidente. El cambio en la dirección de propagación de la onda es proporcional al cambio del índice de refracción en la superficie. La ley de Snell se deriva del hecho de que la velocidad de fase a lo largo de la dirección del eje z debe ser continua en la interfaz. Como las velocidades de fase en la dirección z son $v_{p1} = \frac{c}{n_1 \text{sen} \theta_1}$ y $v_{p2} = \frac{c}{n_2 \text{sen} \theta_2}$ en ambos lados de la superficie, la ley de Snell se obtiene haciendo $v_{p1} = v_{p2}$.

Como la ley de Snell se obtuvo sin suponer nada acerca del estado de polarización de la luz ni de la longitud de onda, es por lo tanto independiente de estos parámetros. Una importante consecuencia de esta ley es que $\theta_2 > \theta_1$ con $n_2 < n_1$.

5.3 Coeficientes de Fresnel

Para encontrar la magnitud y la fase del campo óptico que se refleja al mismo lado de la interfaz, tenemos que tratar las componentes ópticas E_{\parallel}^i y E_{\perp}^i por separado. Un hecho importante es que las componentes paralelas a la interfaz deben ser continuas en ambos lados de la interfaz.

Primero consideramos las componentes E_{\parallel}^i , E_{\parallel}^t y E_{\parallel}^r (son paralelas al plano de incidencia pero no a la interfaz). Estas se pueden descomponer en sus componentes paralelas y perpendiculares a la interfaz, las componentes paralelas son $E_{\parallel}^i \cos\theta_1$, $E_{\parallel}^t \cos\theta_2$ y $-E_{\parallel}^r \cos\theta_1$, respectivamente, los cuales se obtienen de la figura 5.2. Por la continuidad del campo en la interfaz tenemos

$$(E_{\parallel}^i - E_{\parallel}^r) \cos\theta_1 = E_{\parallel}^t \cos\theta_2. \quad (5.2)$$

Al mismo tiempo, las componentes del campo magnético asociadas a E_{\parallel}^i , E_{\parallel}^t y E_{\parallel}^r tienen que ser perpendiculares al plano incidente, y estas son $H_{\perp}^i = \sqrt{\varepsilon_1/\mu_1} E_{\parallel}^i$, $H_{\perp}^t = \sqrt{\varepsilon_2/\mu_2} E_{\parallel}^t$ y $H_{\perp}^r = \sqrt{\varepsilon_1/\mu_1} E_{\parallel}^r$, respectivamente, donde ε_1 y ε_2 son las permitividades eléctricas y μ_1 y μ_2 son las permitividades magnéticas de los materiales ópticos en ambos lados de la interfaz. Como H_{\perp}^i , H_{\perp}^t y H_{\perp}^r son todas paralelas a la interfaz (perpendicular al plano de incidencia), la continuidad del campo magnético requiere $H_{\perp}^i + H_{\perp}^r = H_{\perp}^t$. Suponiendo que $\mu_1 = \mu_2$, y $\sqrt{\varepsilon_1} = n_1$ y $\sqrt{\varepsilon_2} = n_2$ tenemos que

$$n_1 E_{\parallel}^i + n_1 E_{\parallel}^r = n_2 E_{\parallel}^t. \quad (5.3)$$

Combinando (5.2) y (5.3) encontramos el coeficiente de reflexión

$$\rho_{\parallel} = \frac{E_{\parallel}^r}{E_{\parallel}^i} = \frac{n_1 \cos\theta_2 - n_2 \cos\theta_1}{n_1 \cos\theta_2 + n_2 \cos\theta_1}. \quad (5.4)$$

Haciendo un análisis similar se puede obtener el coeficiente de reflexión para la componente perpendicular al plano incidente

$$\rho_{\perp} = \frac{E_{\perp}^r}{E_{\perp}^i} = \frac{n_1 \cos\theta_1 - n_2 \cos\theta_2}{n_1 \cos\theta_1 + n_2 \cos\theta_2}. \quad (5.5)$$

La reflectancia es entonces

$$R_{\parallel} = |\rho_{\parallel}|^2 = \left| \frac{E_{\parallel}^r}{E_{\parallel}^i} \right|^2 \quad (5.6)$$

y

$$R_{\perp} = |\rho_{\perp}|^2 = \left| \frac{E_{\perp}^r}{E_{\perp}^i} \right|^2. \quad (5.7)$$

Luego, de acuerdo a la conservación de la energía, los coeficientes de transmisión que se encuentran son

$$T_{\parallel} = 1 - |\rho_{\parallel}|^2 = \left| \frac{E_{\parallel}^t}{E_{\parallel}^i} \right|^2 \quad (5.8)$$

y

$$T_{\perp} = 1 - |\rho_{\perp}|^2 = \left| \frac{E_{\perp}^t}{E_{\perp}^i} \right|^2. \quad (5.9)$$

Para el caso de incidencia normal, esto es, cuando la luz se lanza perpendicularmente a la interfaz del material. En este caso, $\theta_1 = \theta_2 = 0$ y $\cos\theta_1 = \cos\theta_2 = 1$, la reflectividad puede simplificarse como

$$\rho_{\perp} = \rho_{\parallel} = \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2}. \quad (5.10)$$

Con incidencia normal la reflectancia es

$$R = R_{\perp} = R_{\parallel} = \left| \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right|^2 \quad (5.11)$$

y la transmitancia

$$T = T_{\parallel} = T_{\perp} = \frac{4n_1 n_2}{|n_1 + n_2|^2}. \quad (5.12)$$

5.4 Bandgap o Banda Prohibida

Las fibras de cristal fotónico son una nueva clase de fibras ópticas basadas en las propiedades del cristal fotónico. Debido a a que pueden guiar luz en núcleos huecos, lo cual no es posible en la fibra óptica convencional, la fibra de cristal fotónico puede ser utilizada en aplicaciones de comunicaciones a través de fibra óptica, láseres de fibra óptica [40], transmisiones de alta potencia, sensores [41] y muchas otras áreas [42].

El término "fibra de cristal fotónico" fue asignado por Philip Russel en 1995-1997 aunque también se han usado otros términos como "fibra micro-estructurada" [21].

Las fibras de cristal fotónico son fibras de sílice o polímeros transparentes que tienen un núcleo central (a veces hueco) rodeado de una estructura periódica de agujeros rellenos de aire.

Los cristales fotónicos poseen una modulación periódica del índice de refracción, siendo su periodo del orden de la longitud de onda del campo electromagnético en el rango óptico. Debido a esto, los fotones se comportan en su interior, igual que lo hacen los electrones en un semiconductor.

La propiedad más importante de estos cristales es que pueden presentar rangos de frecuencia en los que la propagación de la radiación electromagnética no está permitida.

Los cristales fotónicos que son estructuras periódicas fabricadas, con periodos del orden de décimas de micra hasta micras, que presentan una banda prohibida en la región visible del espectro. Para guiar luz a través de un cristal fotónico basta crear un “defecto”, que sirve precisamente de camino para confinar la luz que no puede penetrar en el resto del cristal. En el caso de las fibras, el cristal fotónico juega el papel del recubrimiento, mientras que el defecto constituye el núcleo. Si uno hace un corte transversal de la fibra se aprecia la estructura periódica que rodea al defecto.

En la figura 5.3 se muestra un corte transversal de una fibra fotónica de núcleo hueco, cuyas propiedades físicas se muestran en la siguiente tabla (Apéndice):

Propiedades Físicas:

Diámetro del núcleo	$5.8 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$
Diámetro de la región micro-estructurada	$\approx 37 \mu\text{m}$
Diámetro del revestimiento	$102 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$
Diámetro de la cubierta	$248 \mu\text{m} \pm 20 \mu\text{m}$

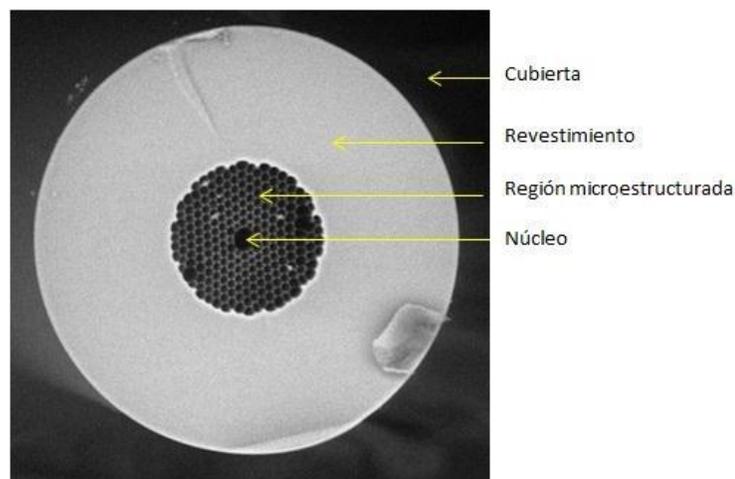


Figura 5.3. Foto del corte transversal de una fibra fotónica.

La periodicidad, así como los materiales empleados en su fabricación, determinan la banda prohibida y las propiedades dispersivas e incluso no-lineales de la fibra, permitiendo diseñar con gran versatilidad y control, de acuerdo a las aplicaciones [22].

Un cristal fotónico es un material estructurado de forma que su función dieléctrica varíe periódicamente en el espacio, es decir son nanoestructuras ópticas periódicas que están diseñadas para afectar el movimiento de los fotones de un modo similar al que la periodicidad de un cristal semiconductor afecta al movimiento de los electrones definiendo bandas de energía permitidas y prohibidas. Básicamente, los cristales fotónicos contienen regiones internas con constantes dieléctricas altas y bajas que se repiten de forma regular. Las ondas de luz que tiene permitido propagarse se conocen como modos, los grupos de modos forman las bandas. Las bandas de longitudes de ondas no permitidas se llaman bandas prohibidas. Esto da lugar a diferentes fenómenos ópticos como la inhibición de emisión espontánea, espejos de alta-reflexión omni-direccionales y guías de onda con pérdidas bajas, entre otros. Debido a que el fenómeno físico está basado en la difracción, la periodicidad de la estructura del cristal fotónico ha de estar en el mismo orden de longitud de la mitad de la longitud de onda de las ondas EM, es decir, las regiones de constantes dieléctricas altas y bajas que se repiten han de tener las siguientes dimensiones; desde aproximadamente 200 nm (azul) hasta 350 nm (rojo) para cristales fotónicos operando en la parte visible del espectro. Esto hace que la elaboración de cristales fotónicos sea tediosa y difícil.

En la figura 5.4 se muestra la foto longitudinal de una fibra fotónica (fibra óptica microestructurada) vacía tomada con un microscopio, con un objetivo de 10X.

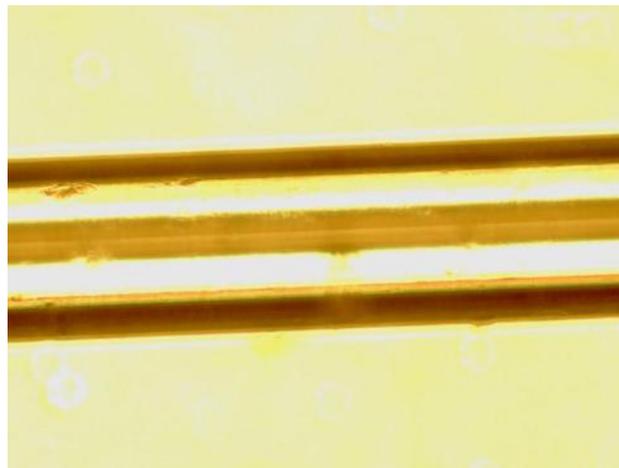


Figura 5.4. Foto longitudinal de una fibra fotónica sin dopar.

La figura 5.5 muestra el corte transversal de una fibra fotónica vacía con un microscopio a 10X, mientras que la figura 5.6 muestra la misma fibra aumentada 40X. Con este aumento son notorios los huecos por donde viaja la luz.

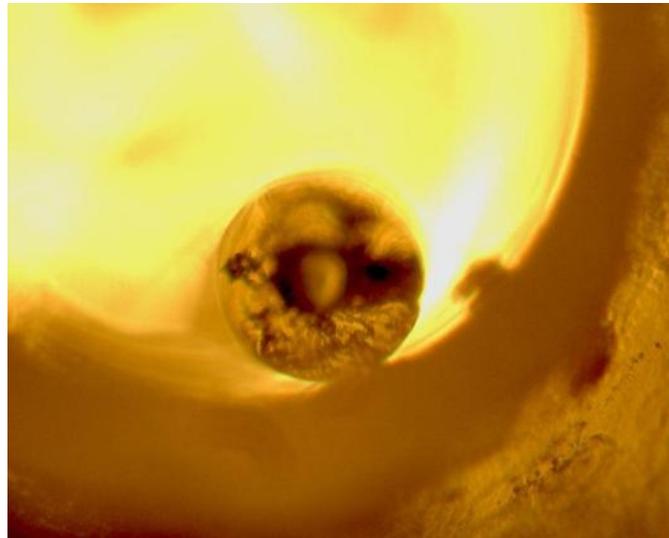


Figura 5.5. Foto transversal de una fibra fotónica sin dopar, con un objetivo de 10X.

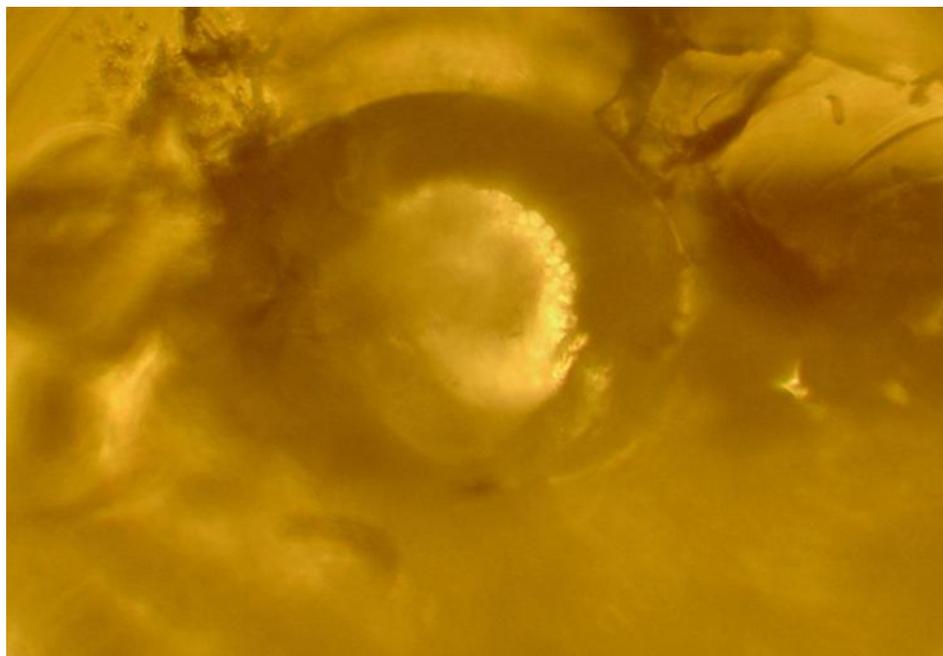


Figura 5.6. Foto transversal de una fibra fotónica sin dopar, con un objetivo de 40X Se puede apreciar parte de la estructura.

Para entender la propagación de la luz en este tipo de fibra y verificar que una gran cantidad de longitudes onda pueden llegar al otro extremo de la fibra en una distancia pequeña (1.5 cm), sin que exista una atenuación importante, en particular la longitud de onda correspondiente a la de 633 nm que es la longitud de onda permitida para la fibra que vamos a utilizar (Apéndice), usamos un espectroanalizador óptico, mostrado en la figura 5.7 y una fuente de luz blanca, figura 5.8.

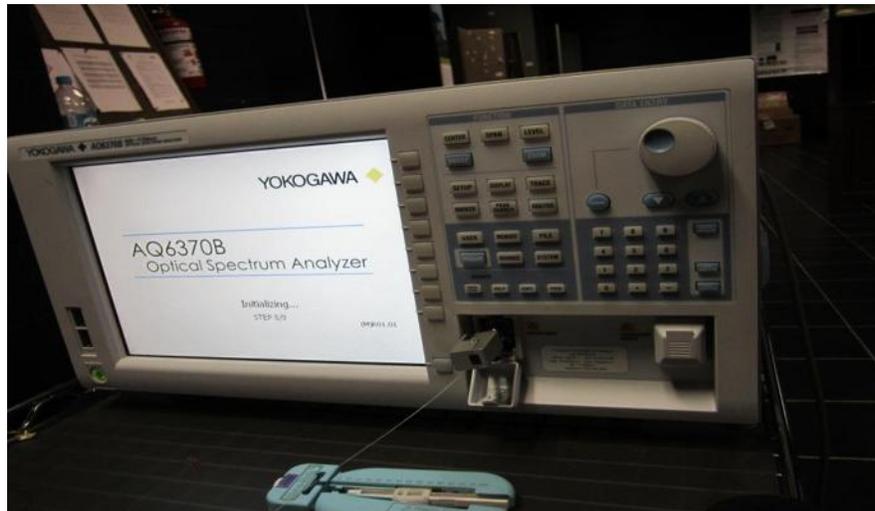


Figura 5.7. Fotografía del espectroanalizador óptico Yokogawa, modelo AQ6370B.



Figura 5.8. Fotografía de la fuente de luz blanca utilizada para propagar luz visible a lo largo de la fibra y analizar cuales longitudes de onda logran salir por el extremo opuesto de la fibra, para diferentes longitudes de la fibra.

Utilizamos tres longitudes diferentes para analizar las longitudes de onda que se transmiten en la fibra óptica fotónica utilizada: 6 cm, 11 cm y 180 cm. No podemos medir una longitud de 1.5 cm de la fibra, que es lo usaremos para construir los optrodos porque no se podría usar el espectroanalizador óptico ya que se tiene que introducir parte de la fibra en el aparato, por lo que la mínima distancia para poder usarlo es de 6cm. Los resultados se muestran en las figuras 5.9, 5.10 y 5.11

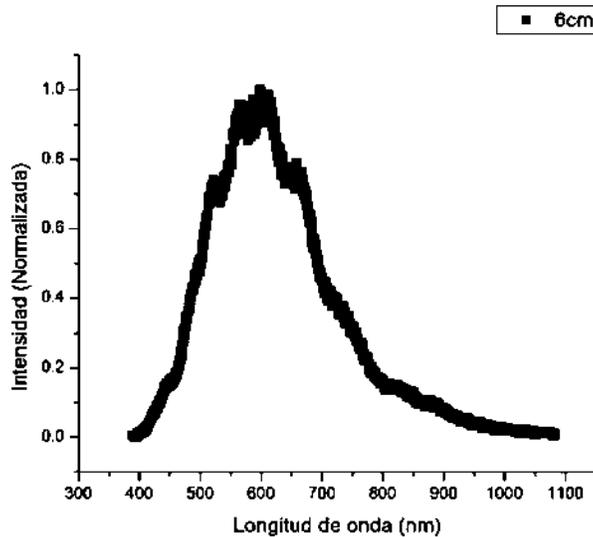


Figura 5.9. Gráfica de longitud de onda vs Intensidad normalizada para una fibra fotónica de 6 cm de longitud. Para esta longitud todas las longitudes de onda de la parte visible del espectro electromagnético (400nm a 700nm) logran salir por el otro extremo de la fibra.

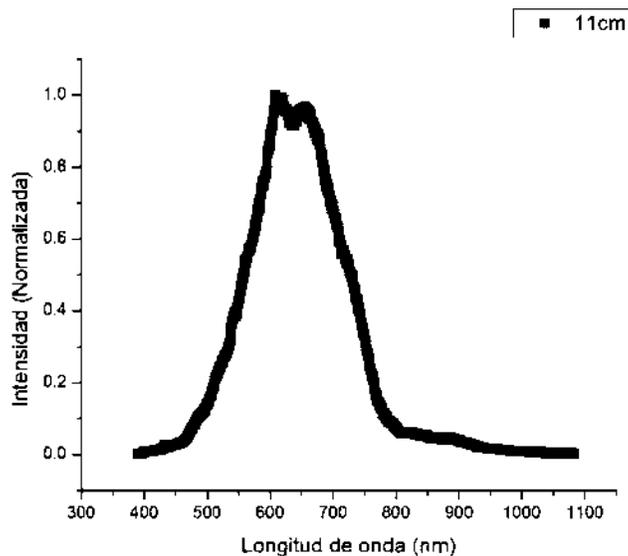


Figura 5.10. Gráfica de longitud de onda vs Intensidad para la fibra fotónica de 11 cm. Se puede apreciar que el ancho de la curva disminuyó respecto a la fibra de 6 cm de longitud. Las longitudes de onda que logran salir están entre los 600 nm y los 700 nm.

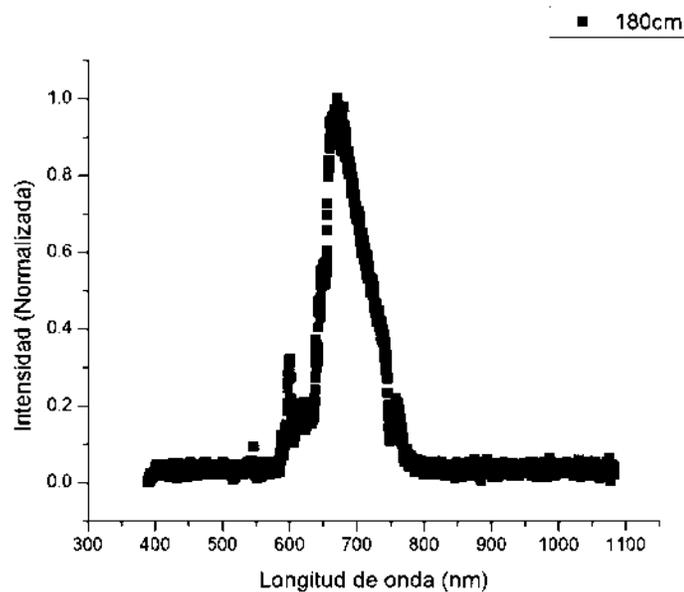


Figura 5.11. Gráfica de longitud de onda vs Intensidad normalizada para una fibra fotónica de 180 cm de longitud. El pico de la distribución se vuelve más pronunciado, teniendo su máximo longitudes de onda que van de los 650 nm a los 700 nm.

En la gráfica 5.12 mostramos las tres gráficas anteriores (5.9, 5.10 y 5.11) empalmadas de manera que podamos apreciar que al utilizar una longitud igual o menor a 6 cm garantizamos que una gran cantidad de longitudes de onda viajen por la fibra sin sufrir una atenuación importante.

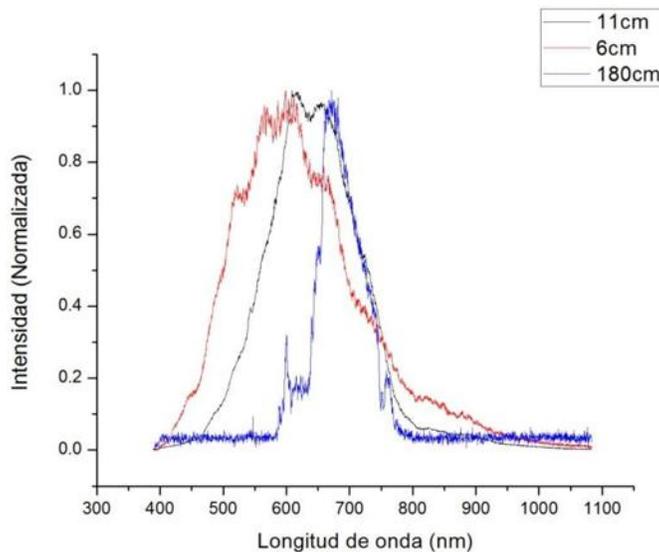


Figura 5.12. Gráfica de longitud de onda vs Intensidad normalizada para una fibra fotónica de 6 cm, 11 cm y 180 cm de longitud. Se puede apreciar que para longitudes pequeñas de la fibra es mayor el número de longitudes de onda que pueden atravesar la fibra sin sufrir una atenuación relevante.

Observamos que para una longitud de 6 cm logran pasar por la fibra todas las longitudes de onda de la parte visible del espectro electromagnético, y podemos concluir que en 1.5 cm pasan al menos las mismas longitudes de onda que en 6cm. Notamos también que los máximos están entre los 600 y los 700 nm, por lo que usaremos un láser rojo (632 nm) que es fácil de conseguir y de bajo costo. Es notorio también el funcionamiento de este tipo de fibra fotónica, pues al incrementarse la distancia también se reduce el número de longitudes de onda que pueden llegar al otro extremo de la fibra. Esto se debe a que los diagramas de bandas de energía comienzan a actuar como filtros.

De manera poco formal, corroboramos estos hechos al colocar la fibra de 6 cm en la fuente de luz blanca y observamos en el otro extremo un punto de luz blanca (lo que nos dice que pasan todas las longitudes de onda del visible) como mostramos en la figura 5.13.

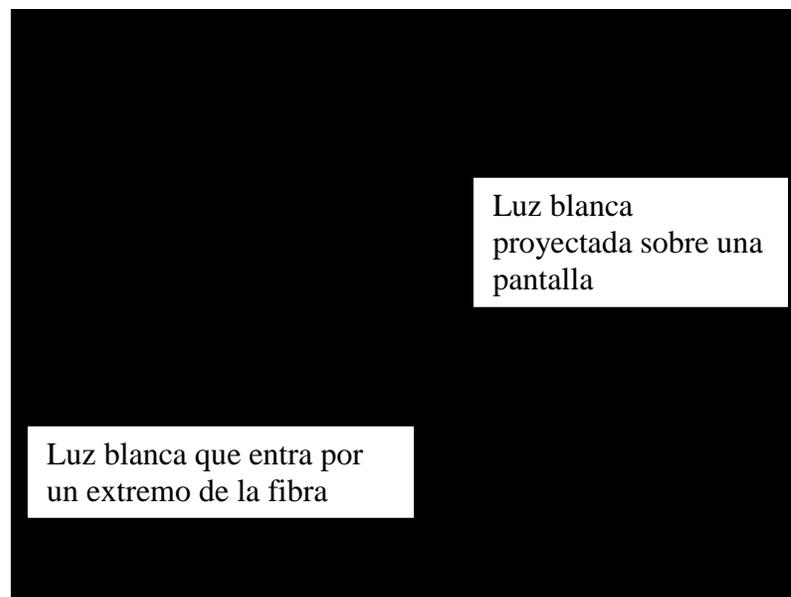


Figura 5.13. En la imagen se puede ver luz blanca que sale por un extremo de la fibra fotónica de 6cm de longitud y se proyecta sobre una pantalla..

Con la fibra de 11 cm de longitud solo apreciamos que sale un haz de luz rojo, mostrado en la figura 5.14. Es decir solo pueden salir las longitudes de onda que corresponden al rojo en el espectro electromagnético [33]. Las demás longitudes de onda son “prohibidas”, es decir, se atenúan rápidamente en esta fibra.



Figura 5.14. En la imagen se observa la luz que sale de la fibra. En el otro extremo se introduce luz blanca y la luz que se aprecia es roja, lo que nos indica que las demás longitudes de onda se atenúan rápidamente y solo logran salir las longitudes de onda correspondientes al rojo. Se dice que las demás ondas son "prohibidas".

Capítulo 6

Desarrollo experimental

6.1 Propiedades de los indicadores

Un indicador de pH es una sustancia que permite medir el pH de un medio. Habitualmente, se utilizan como indicador de las sustancias químicas que cambian su color al cambiar el pH de la disolución. El cambio de color se debe a un cambio estructural inducido por la protonación o desprotonación de la especie. Los indicadores ácido-base tienen un intervalo de viraje de unas dos unidades de pH, en la que cambian la disolución en la que se encuentran de un color a otro, o de una disolución incolora, a una coloreada.

En química, la protonación es la adición de un protón (H^+) a un átomo, molécula, o ion. La protonación es posiblemente la reacción química más fundamental y es un paso en muchos procesos catalíticos y estequiométricos.

La catálisis es el proceso por el cual se aumenta la velocidad de una reacción química, debido a la participación de una sustancia llamada catalizador y las que desactivan la catálisis son denominados venenos catalíticos. Un concepto importante es que el catalizador no se modifica durante la reacción química, lo que lo diferencia de un reactivo.

La estequiometría es la ciencia que mide las proporciones cuantitativas o relaciones de masa de los elementos químicos que están implicados (en una reacción química)

Algunos iones y moléculas pueden sufrir más de una protonación, y son denominados polibásicos. Esto es verdad para muchas macromoléculas biológicas. Las moléculas que pueden ser desprotonadas son ácidas, o poliácidas si puede eliminarse más de un protón.

Con la protonación de un sustrato, tanto la masa y carga de la especie se incrementan en una unidad. La protonación y desprotonación de una molécula o ion altera muchas propiedades químicas más allá del cambio en carga y masa: por ejemplo cambian también sus propiedades ópticas, entre otras.

Las protonaciones suelen ser rápidas, en parte debido a la alta movilidad de los protones en el agua. La velocidad de reacción de la protonación está relacionada con la acidez de especie protonada. Los ácidos débiles protonan más débilmente que los ácidos fuertes. Las velocidades de protonación y

desprotonación pueden ser especialmente lentas cuando la protonación induce cambios estructurales significativos.

Para la preparación de los optrodos usamos tres indicadores, los cuales son bromofenol azul, rojo cresol y rojo fenol. Una de las razones por las cuales utilizamos estos indicadores es que nos ofrecen un amplio rango de medición y además ya contábamos con ellos en el laboratorio.

El bromofenol azul nos brinda un rango de reacción de pH entre 3 y 4.6.

El rojo fenol reacciona para pH de entre 6.6 y 8. Finalmente el rojo cresol mide pH entre 7.2 y 8.8, como se muestra en la figura 6.1

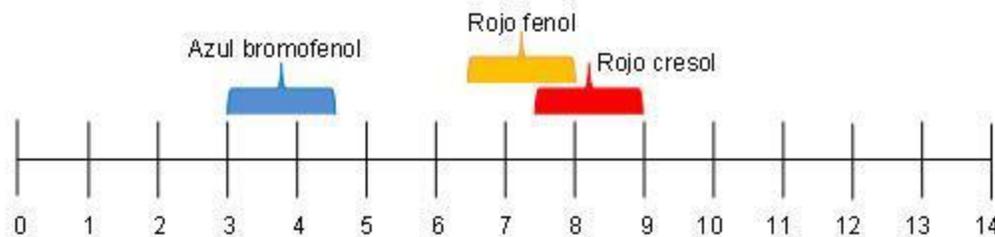


Figura 6.1. Rango de medición de pH de los tres indicadores usados. Se puede notar que el rojo cresol y el rojo fenol comparten un rango de medición que va del 7.2 al 8.

6.2 Preparación de los optrodos

El primer paso es la preparación de los optrodos. Describiremos a continuación los pasos para inmovilizar los indicadores de pH en la fibra óptica fotónica por medio de la técnica sol-gel. El material que se necesita es:

1. Tetraetil de Ortosilicato (TEOS)
2. Bromofenol azul
3. Rojo cresol
4. Rojo fenol
5. Agua destilada
6. Alcohol etílico
7. Fibra óptica microestructurada

La fibra óptica microestructurada se corta en pedazos de 1.5 cm.

Se detalla la preparación del sol: Se utiliza la balanza electrónica para poner en un tubo de ensayo los tres indicadores, que son 0.0015 gr de bromofenol azul, 0.0008 gr de rojo fenol y 0.0008 gr de rojo cresol. Estas sustancias se pueden apreciar en la figura 6.2. Estas sustancias serán el soluto de la suspensión.



Figura 6.2. En la imagen de la izquierda se tienen los tres indicadores: Rojo fenol, rojo cresol y bromofenol azul. En la imagen de la derecha se muestra la medición 0.0008 gr de rojo fenol.

Ya que se tienen las medidas necesarias de los tres indicadores en el tubo de ensayo, se le agrega 1 ml de TEOS, 1 ml de alcohol etílico (mostrados en la figura 6.3) y 0.1 ml de agua destilada, estas sustancias representan el solvente de la solución. Al añadir el solvente al soluto (indicadores) una sustancia de color naranja-rojo, como se muestra en la figura 6.4.



Figura 6.3. Solvente de la solución: a la izquierda el Tetraetil de Ortosilicato (TEOS) y a la derecha el alcohol etílico



Figura 6.4. Sol: Mezcla de TEOS (1ml), alcohol etílico (1ml), agua destilada (0.1ml), bromofenol azul (0.0015 gr), rojo fenol (0.0008 gr) y rojo cresol (0.0008 gr)

El siguiente paso es preparar el gel. Se pone el tubo de ensayo con el sol en baño maría a temperatura controlada de 50° con el objeto de evaporar durante 30 minutos parte del solvente, como se exhibe en la figura 6.5.

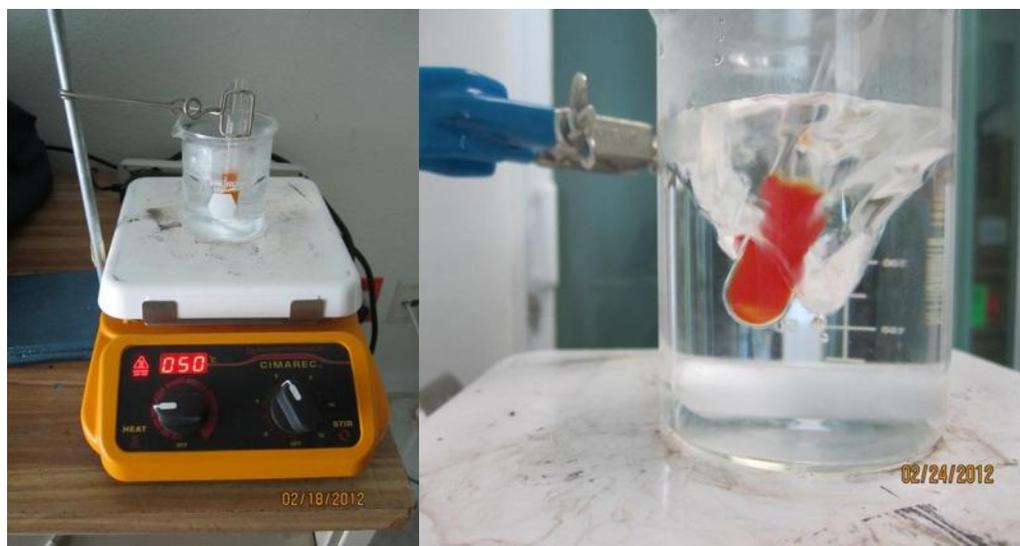


Figura 6.5. Sol con los tres indicadores. El gel se prepara poniendo el sol a baño maría durante 30 minutos.

Ya que hemos obtenido el gel, nos interesa colocar los indicadores en la fibra, lo cual se logrará por capilaridad. En la figura 6.6 podemos apreciar la cubeta con el gel, el cual se introduce en la fibra por capilaridad. Se introducen las fibras al horno a temperatura controlada de 21°C, esto con el objeto de que el secado sea

lento y las fibras no se cuarteen y de esta manera obtenemos el xerogel, como en la figura 6.7.



Figura 6.6. Las fibras se llenan por capilaridad dentro del horno a temperatura controlada.



Figura 6.7. Las fibras se introducen al horno a temperatura controlada de 21°C

Después de una semana se sacan las fibras del horno y se analizan con el microscopio para revisar si no se formaron fisuras. En la figura 6.8 se muestra una serie de fotografías de la misma fibra. Se observan bordes irregulares afuera de la fibra, lo cual es normal ya que la fibra estuvo en contacto con la solución. Estas irregularidades no son relevantes ya que la luz viaja por el centro de la fibra. Se puede apreciar también que no aparecieron fisuras, lo cual es un buen indicador que utilizamos la temperatura adecuada de secado.

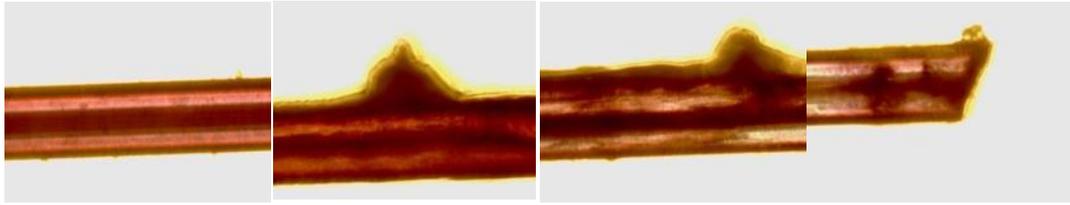


Figura 6.8. Fibra fotónica llenada por capilaridad y secada a temperatura controlada. A pesar de los bordes irregulares por afuera de la fibra, no se observan fisuras ni grietas en el núcleo de la fibra.

Se hizo un análisis de espectroscopía de la solución para conocer la cantidad de luz que se transmite. Esto es importante ya que es necesario saber el porcentaje de luz que llegará a la fotoresistencia. En la gráfica de la figura 6.9 aparece el porcentaje de luz transmitida para cada longitud de onda entre los 300 y los 1100 nm. Se observa que a partir de los 550 nm aproximadamente (color verde en el visible) se tiene un porcentaje de transmitancia mayor al 90%. Ese porcentaje se mantiene hasta los 900 nm (infrarrojo cercano) [9], donde baja al 80% de transmitancia.

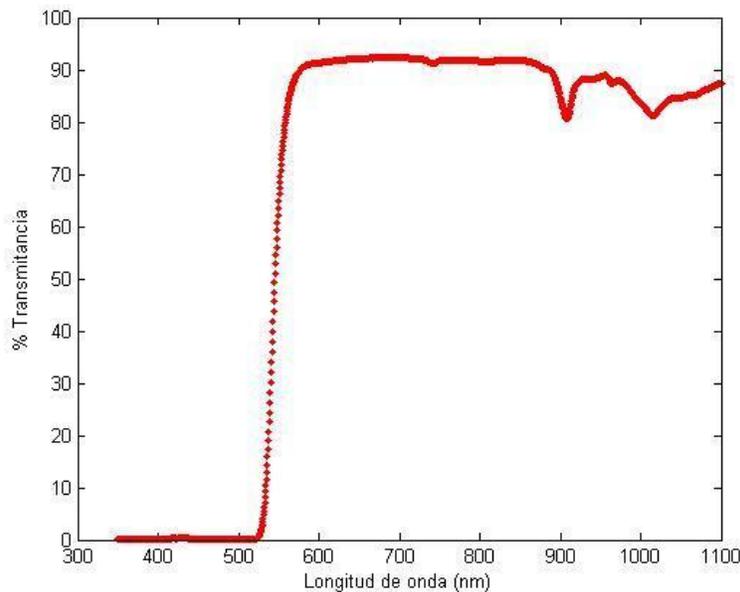


Figura 6.9. Porcentaje de transmitancia de la solución de TEOS y los tres indicadores (bromofenol azul, rojo cresol y rojo fenol) para longitudes de onda entre los 300 nm y los 1100 nm.

La importancia de esta información radica en que nos permite construir un biosensor con un láser comercial, lo cual lo hace atractivo pues, entre otras ventajas, mantiene su bajo costo.

6.3 Caracterización de los optrodos

Para llevar a cabo la caracterización de los optrodos implementamos el siguiente arreglo experimental, presentado en la figura 6.10: Colocamos un láser comercial (rojo de 632 nm), un objetivo de microscopio de 10X para confinar la luz del láser en la fibra, utilizamos una montura especial con una ranura para colocar la fibra dopada, utilizamos una fotoresistencia que es colocada después de la montura para medir la luz que sale del optrodo, y finalmente esta fotoresistencia se conecta a un amplificador que a su vez se conecta a una computadora para ver los datos en pantalla por medio de un programa llamado LabView.

Lo que se pretende es medir la luz que viaja a través de la fibra dopada y que llega a la fotoresistencia. Es importante decir que la fotoresistencia recibe únicamente la luz que pasa por el optrodo. Esta intensidad de luz recibida es transformada en una diferencia de potencial por medio del sistema electrónico que amplifica la señal recibida. Cuando el optrodo se pone en contacto con una solución buffer reacciona y se modifica la transmitancia de la fibra y estos cambios son medidos como voltaje.

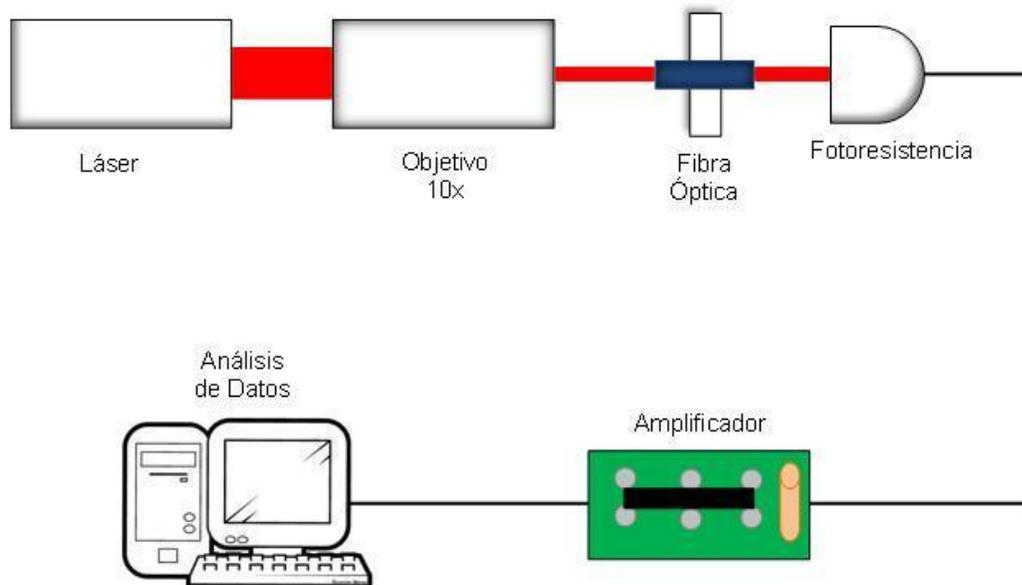


Figura 6.10. Diagrama del esquema experimental

En la figura 6.11 se muestra una fotografía de una parte del arreglo experimental.

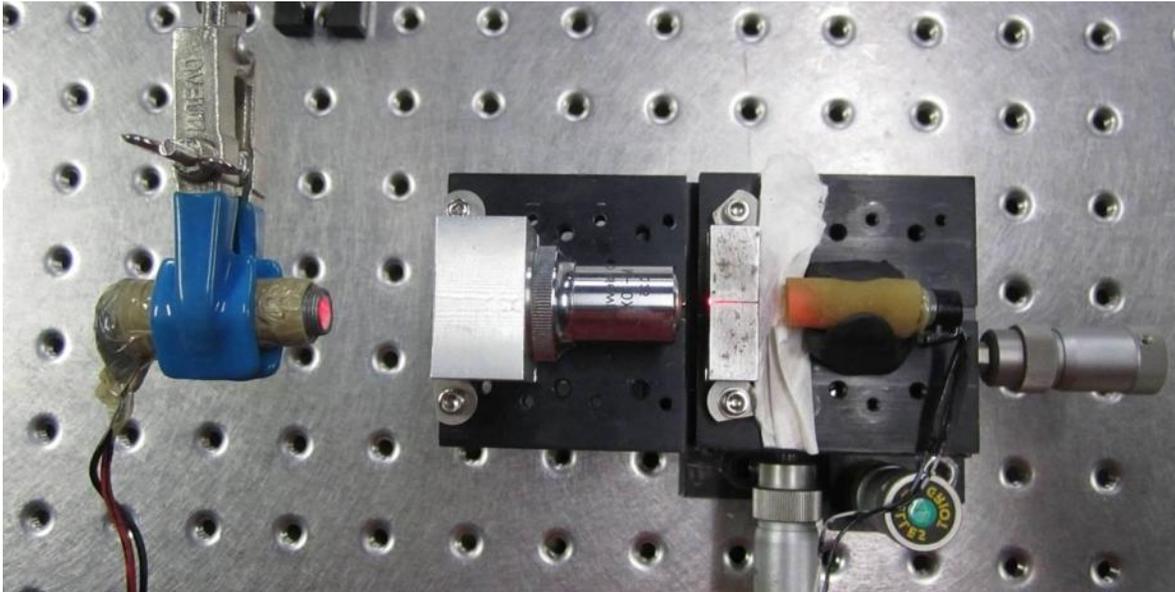


Figura 6.11. Fotografía del arreglo experimental. De izquierda a derecha: Láser comercial de 632 nm, objetivo de microscopio de 10X, ranura especial para colocar la fibra, y la fotoresistencia.

Una vez implementado este arreglo se colocó una fibra fotónica vacía y medimos (como voltaje) la cantidad de luz que llegaba a la fotoresistencia. El valor medido fue de 4.83 V, como se aprecia en la figura 6.12. Enseguida se midió la cantidad de luz que pasaba por una fibra dopada, dicho valor fue de 4.11 V, visto en la figura 6.13. Es decir, se tiene una transmitancia del 85.09%, lo cual concuerda con el estudio de espectroscopía, en el cual obtuvimos una transmitancia superior al 90%, sin embargo, es imperativo decir que en el estudio de espectroscopía, a la muestra se le agregó 1 ml de alcohol etílico para poder llevar a cabo la medición ya que se requiere de un volumen mínimo en las celdas de medición, lo cual diluyó mínimamente la muestra. Lo destacable de estos resultados es que se tiene un gran porcentaje de transmitancia.

Utilizando (5.12), obtenemos un índice de refracción de 1.93. La trascendencia de este resultado radica en que si la fibra está rellena con este material el principio físico en el que se basa la propagación de la luz en la fibra es por reflexión total interna. Si la fibra no está dopada, la luz se propaga en la fibra como si ésta fuera un cristal fotónico, en otras palabras por banda prohibida o bandgap.

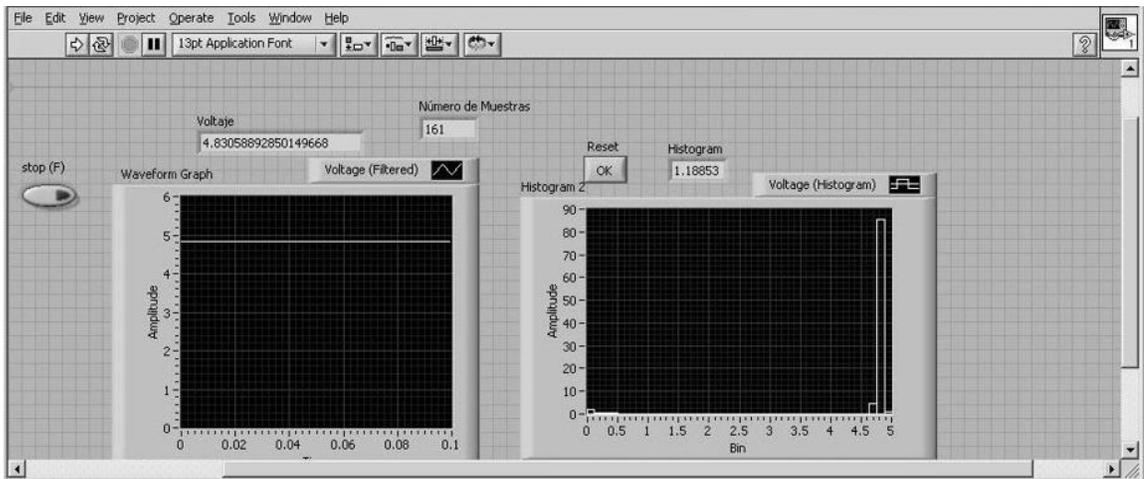


Figura 6.12 .La transmitancia en la fibra vacía es medida como una diferencia de potencial. Se obtuvo un valor de 4.83 V

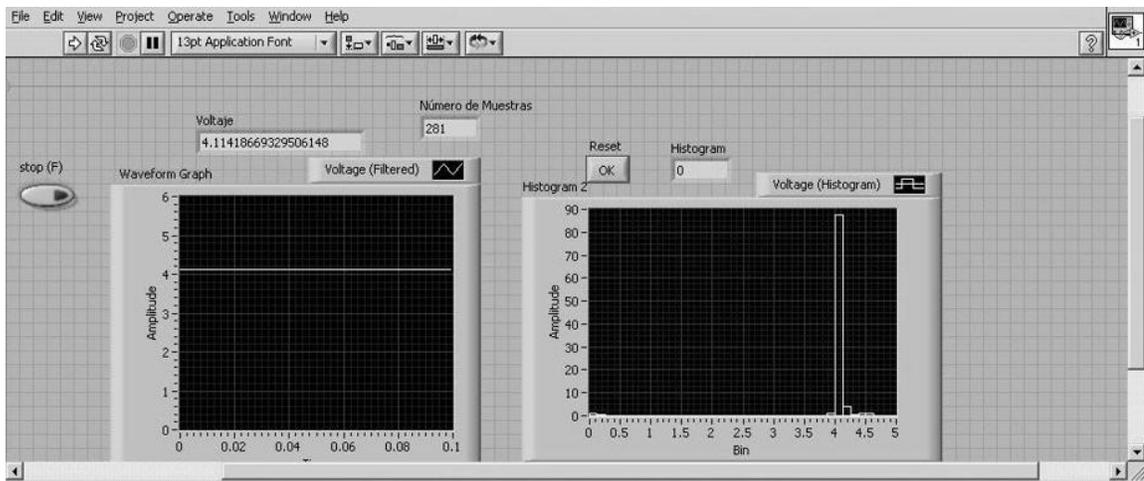


Figura 6.13 .La transmitancia en la fibra dopada es de 4.11 V.

Para caracterizar las fibras se utilizaron buffers o indicadores de pH de 3.00, 3.4, 4.01, 5.00, 6.00, 6.2, 7.00, 7.4, 8.00, 9.00 y 9.18.

Primeramente se coloca una gota de buffer de pH 3.00 en la fibra y se mide el voltaje asociado con la reacción. Cuando se adquiere una señal constante, es decir cuando el voltaje se estabiliza en un valor, detenemos el programa y

guardamos los datos. Acto seguido se enjuaga la fibra con agua destilada y se deja secar por 10 minutos. Se vuelve a medir la cantidad de luz que pasa por la fibra y se coloca enseguida una gota de buffer del siguiente valor ascendente de los pH mencionados anteriormente y se repite el proceso hasta el último buffer que es el de pH 9.18, y los resultados se pueden notar en la figura 6.14. Y se repite el proceso para los buffers de pH en orden descendente, mostrando los datos obtenidos en la figura 6.15.

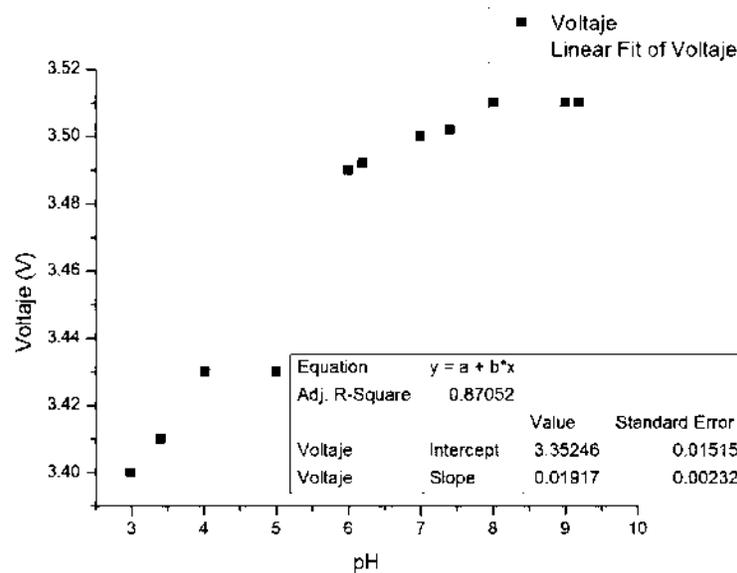


Figura 6.14. Gráfica de pH vs Voltaje. Estos datos coinciden con la recta $V=0.0117pH+3.35246$ en un 87.052%.

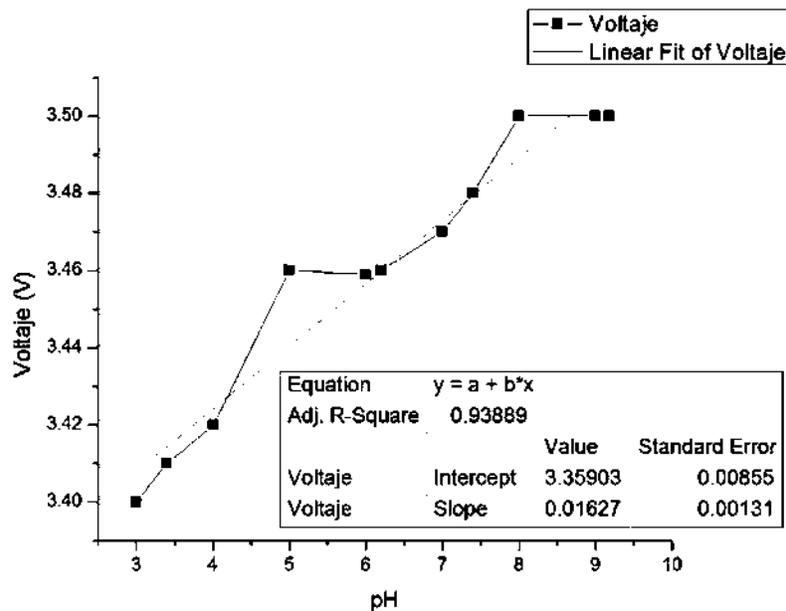


Figura 6.15. Gráfica de pH vs Voltaje. Estos datos coinciden con la recta $V=0.01627pH+3.35903$ en un 93.889%.

Si graficamos juntas ambos procesos obtenemos una curva como la mostrada en la figura 6.16

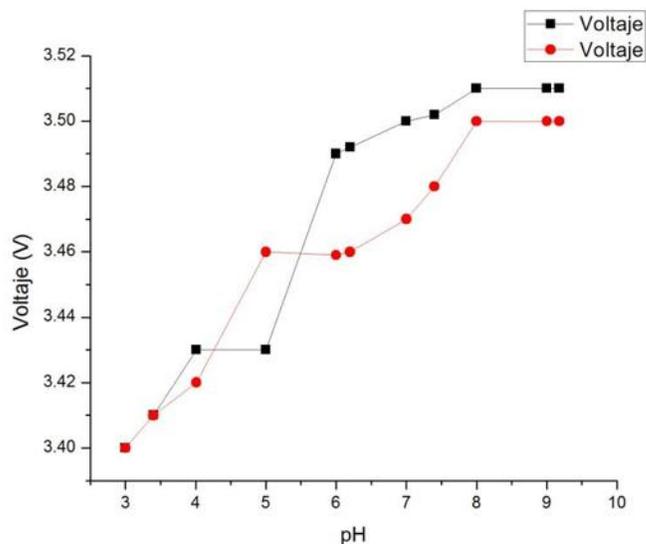


Figura 6.16. Gráfica de pH vs Voltaje para las mediciones en orden ascendente y descendente de pH.

Notamos que hay una ligera mejoría si hacemos la medición en orden descendente, es decir nuestros datos se ajustan mejor a una recta ya que el ajuste R-Square es más cercano a 1 al hacer la medición de esta forma. Una posible explicación a esto es que los tiempos de reacción del sensor cuando se somete a medios ácidos son más grandes que los tiempos de reacción en medios básicos, y como tenemos dos indicadores que cubren un mismo rango de pH estas velocidades de reacción pueden afectar el tiempo de respuesta del optrodo.

Los optrodos se han podido utilizar en promedio 39 veces antes de que se sature, es decir antes de que se degrade el material inmovilizado. Esto sin duda representa una ventaja respecto a los optrodos hechos con la fibra óptica plástica, que se puede utilizar hasta 10 veces. En la figura 6.17 se muestra un comparativo entre una fibra fotónica vacía, una fibra rellena y una fibra después de haberse utilizado 39 veces. Como se puede observar, el optrodo sufre un desgaste debido a la alta acidez a la que fue expuesto durante las mediciones.

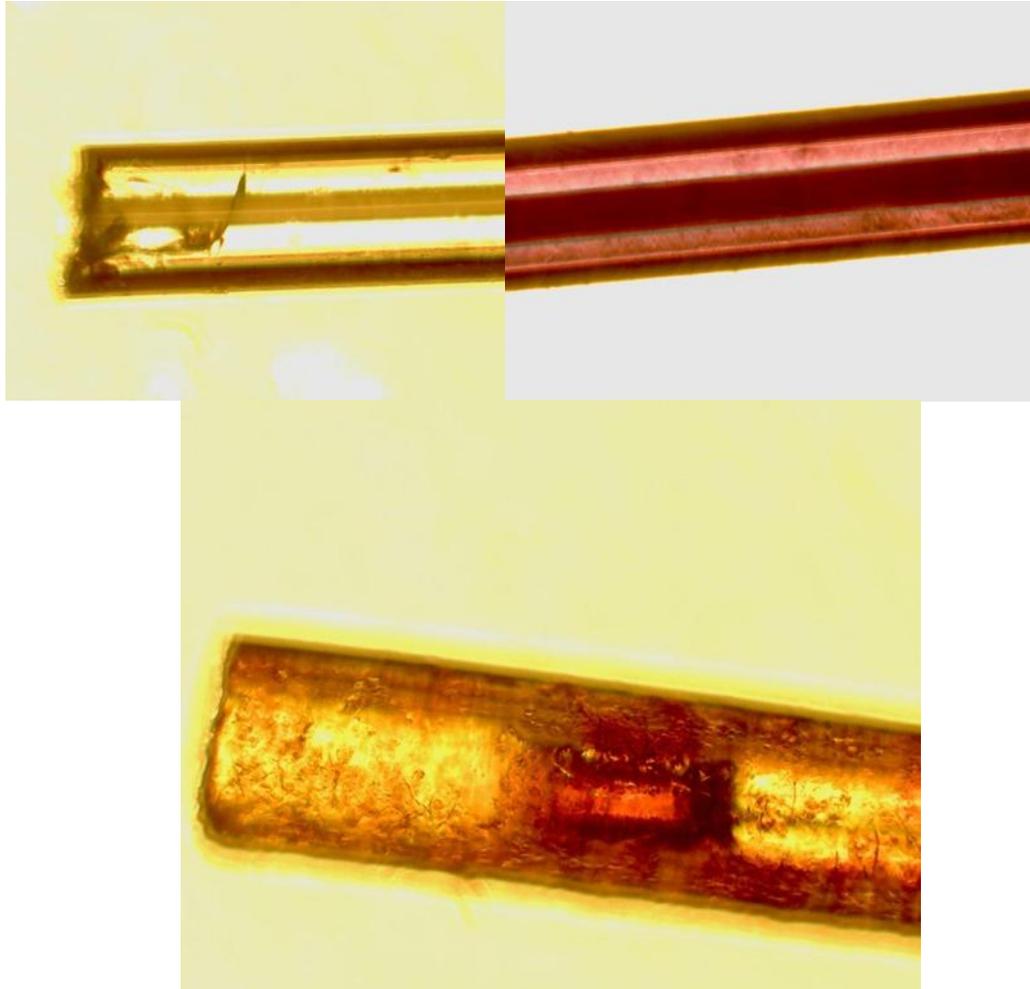


Figura 6.17. Comparativo de una fibra fotónica vacía (superior izquierdo), una fibra fotónica rellena u optrodo (superior derecha) y un optrodo utilizado 39 veces (inferior). Se puede apreciar que la fibra sufrió un desgaste debido a la alta acidez de los buffers utilizados.

El nafión es un tetrafluoretileno sulfonatado basado en un fluorpolímero-copolímero descubierto a finales de 1960 por Walther Grot de DuPont [23]. Es el primero de una clase de polímeros sintéticos con propiedades iónicas que son llamados ionómeros. Las propiedades iónicas únicas del nafión son el resultado de la incorporación de grupos éter de perfluorovinil terminados con grupos sulfonatos en una estructura de tetrafluoretileno (Teflón) [24, 25]. El nafión ha recibido una considerable atención como un conductor de protones para el intercambio de protones de membrana (PEM) en celdas de combustible debido a su excelente estabilidad térmica y mecánica.

La base química de las mejores propiedades conductoras del nafi3n siguen siendo un tema de investigaci3n. Los poros permiten el movimiento de cationes pero las membranas no conducen aniones o electrones. El nafi3n puede ser fabricado con diferentes conductividades cati3nicas.

El nafi3n ha encontrado uso en el desarrollo de sensores ya que permite el paso de iones y es biocompatible [26]. Debido a las caracteristicas 3nicas de este pol3mero con respecto a la estabilidad, solubilidad y conductividad i3nica [27]; las membranas de nafi3n son ampliamente usadas en la fabricaci3n de biosensores. El nafi3n es extremadamente resistente a las interacciones qu3micas y a altas temperaturas [28]. Se cuenta con antecedentes de trabajos utilizando membranas de nafi3n para aumentar la vida de biosensores [29][30], y para fabricar sensores de glucosa en fibra 3ptica pl3stica [31] pero no se tienen conocimientos de utilizar nafi3n junto con la t3cnica Sol-Gel para la fabricaci3n de optrodos con fibra 3ptica fot3nica.

Para fabricar estos optrodos utilizamos las mismas cantidades de reactivos pero a3nadiendo 50 μ l de nafi3n diluido (0.1 ml de nafi3n/100 ml de metanol). El proceso de fabricaci3n fue el descrito anteriormente.

En la figura 6.18 tenemos el contraste entre una fibra vac3a y una fibra con los indicadores de pH y el nafi3n.

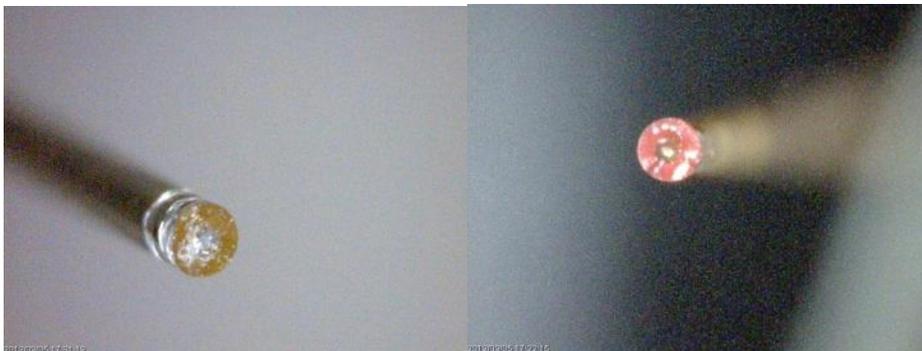


Figura 6.18. Contraste entre una fibra fot3nica vac3a (izquierda) y una fibra fot3nica rellena u optrodo con nafi3n (derecha).

Fabricados los optrodos con el nafi3n, el paso siguiente fue caracterizarlos para obtener una curva de calibraci3n. Los resultados obtenidos los podemos apreciar en las gr3ficas siguientes. En la gr3fica 6.19 tenemos los datos obtenidos empezando las mediciones con los buffers de pH m3s 3cidos, es decir empezando con el buffer de 3.0, siguiendo con el de 3.4 hasta llegar al buffer de 9 podemos observar que tenemos un ajuste de R-Square de 0.89977. Recordemos que el ajuste R-Square del optrodo sin nafi3n fue de 0.87052, es decir tenemos una mejora de 2.925%.

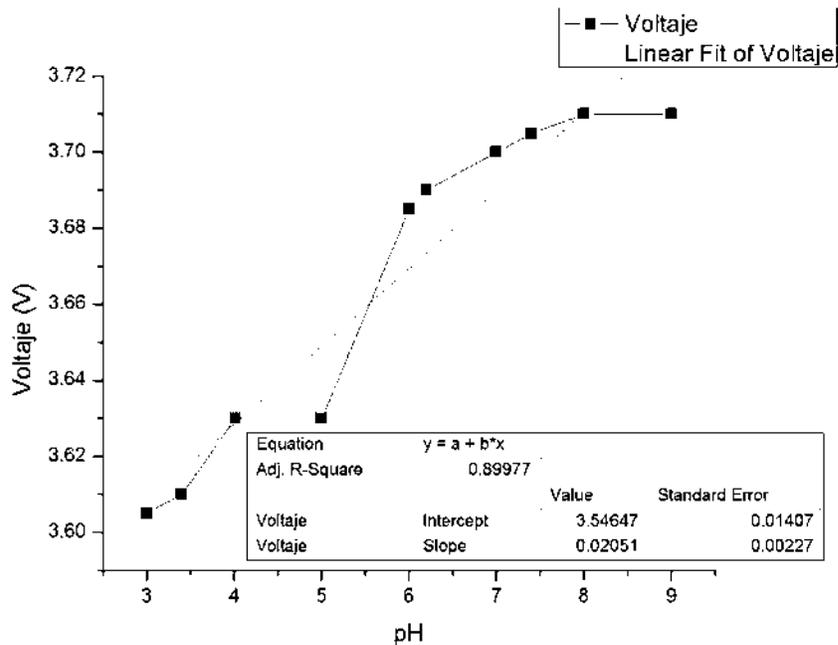


Figura 6.19. Gráfica de pH vs Voltaje. Estos datos coinciden con la recta $V=0.02051pH+3.54647$ en un 89.977%.

En la gráfica 6.20 tenemos los datos obtenidos empezando nuestras mediciones con los buffers menos ácidos, es decir con el buffer de 9.18 hasta llegar al buffer de 3.0. El ajuste R-Square fue de esta manera de 0.94531. Al hacerlo sin nafi3n obtuvimos un ajuste R-Square de 0.93889, con lo cual tuvimos una ligera mejora de 0.642%. El n3mero de pruebas que pudimos hacer con el optrodo fue de 49 (10 pruebas m3s que con el optrodo de fibra fot3nica y 39 pruebas m3s que con el optrodo de fibra pl3stica [1]).

En la gr3fica 6.21 podemos observar que con el uso del nafi3n tuvimos una absorci3n distinta del material que reacciona con los buffers, pues la transmitancia de la luz fue mayor con el nafi3n, lo cual se tradujo en una mayor cantidad de voltaje medido.

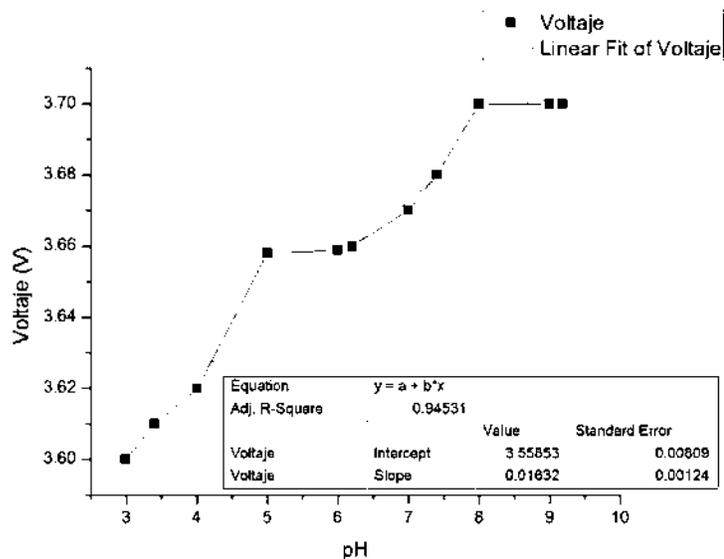


Figura 6.20. Gráfica de pH vs Voltaje. Estos datos coinciden con la recta $V=0.01632pH+3.35853$ en un 94.531%.

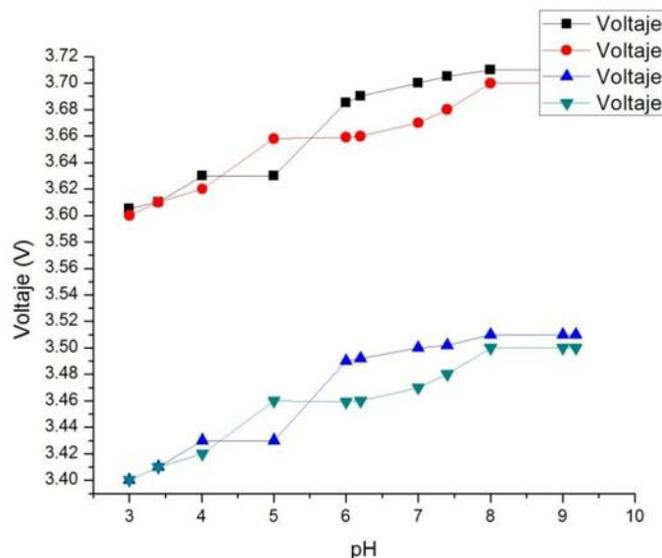


Figura 6.21. Gráfica de pH vs Voltaje para fibras con y sin nafión. Cuando la fibra está dopada con Nafión se modifica la absorción, lo que se traduce, en este caso, en una mayor cantidad de voltaje medido.

Podemos afirmar que el uso del nafión nos brinda mejor transmitancia de la luz ya que se modifica la absorción del material reaccionante y hace que el optrodo se

desgaste menos al estar en medios altamente ácidos. En la fotografía 6.22 mostramos una fibra dopada con Nafión usada 49 veces y observamos que el desgaste sufrido por la fibra es menor comparada con la fibra sin Nafión de la figura 6.17.

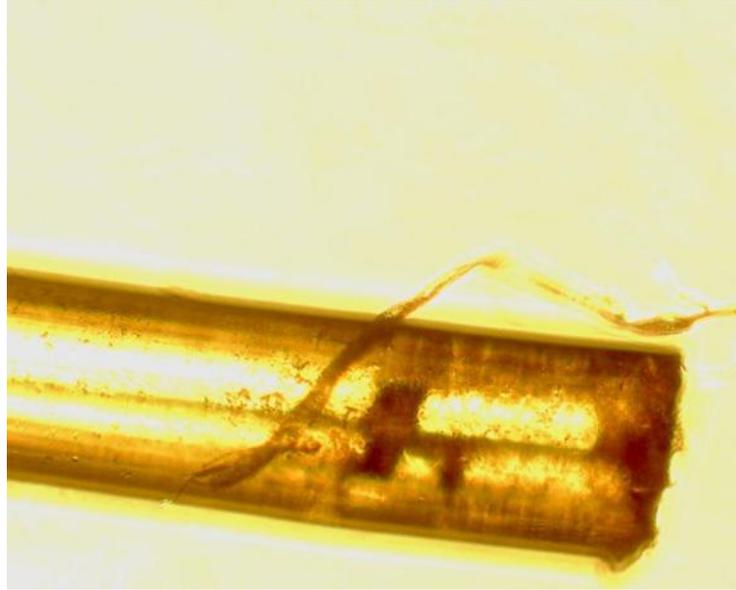


Figura 6.22. Fotografía de un optrodo dopado con Nafión utilizado 49 veces. El desgaste es menor comparado con el de la fibra dopada sin Nafión, ya que esta sustancia actúa como capa protectora.

Capítulo 7

Conclusiones

El diseño y fabricación de biosensores es un área de estudio que está en constante evolución debido al desarrollo de nuevas tecnologías, al mejoramiento de los láseres, al descubrimiento de nuevos materiales y se requiere de un amplio grupo de trabajo para poder desarrollar nuevos y mejores aparatos para monitorear las variables que deseemos.

El pH es una de las variables a monitorear más importantes ya que se encuentra en la mayoría de las sustancias. Es importante controlar esta variable para la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos, para la industria petrolera y de tratamiento de aguas entre muchas otras.

Diseñamos un biosensor de pH basado en fibra óptica fotónica o microestructurada que nos da ventajas respecto a uno de fibra óptica plástica, como el número de veces que podemos utilizar los optrodos, y que además si utilizamos Nafión podemos incrementar dicho número. Otra ventaja es que la fabricación de los optrodos es sencilla y de bajo costo, pues se fabrican por medio de la técnica sol-gel.

El biosensor construido tiene una linealidad del 94%.

Como posibles mejoras a éste biosensor podemos numerar las siguientes:

- a) Obtener una linealidad mayor al 95%
- b) Utilizar otros indicadores de pH para obtener un rango más amplio de medición, por ejemplo si se utilizara leucomalaquita verde, bromofenol azul, azolitmina, fenoltaleina y carmín índigo se tendría un rango de medición de pH desde 1.07 hasta 12.
- c) Los rangos de medición de pH de los indicadores mencionados en el inciso anterior no se intersectan, lo cual podría hacerlo más preciso.

Apéndice A



Crystal Fibre • aeroLASE • Koheras • SuperK

HC-633-02

Hollow Core Photonic Bandgap Fiber

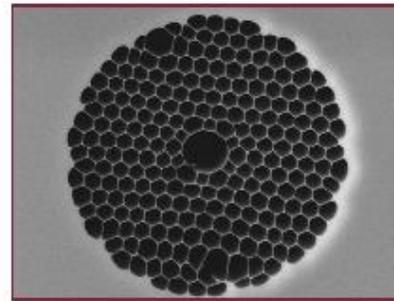


- >95% of optical power located in air
- Gaussian-like fundamental mode
- Can be filled with gas
- Low bend loss down to few mm bend radius
- Fresnel reflection to air at the end faces $<10^{-4}$
- Undoped silica for good temperature stability

Hollow core photonic bandgap fibers guide light in a hollow core surrounded by a microstructured cladding formed by a periodic arrangement of air holes in silica.

Since only a small fraction of light propagates in glass, the effect of material nonlinearities is significantly reduced and the fibers do not suffer from the same loss limitations as fibers made from all solid material.

Applications include power delivery, pulse shaping and compression, sensors and non-linear optics.

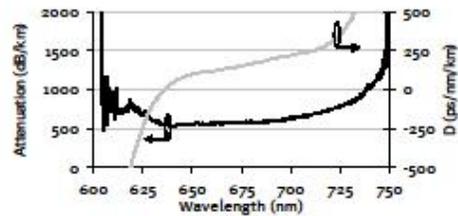


Optical properties	
Center wavelength	~ 675 nm
Attenuation @ 633 nm	< 0.7 dB/m
Mode field diameter ($1/e^2$)	4.4 ± 1 μm
NA @ 633 nm ¹	~ 0.2
Effective mode index	~ 0.99
Zero dispersion wavelength	630 ± 10 nm

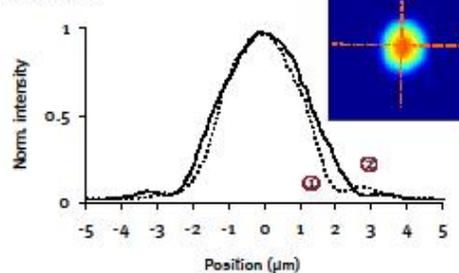
1. Sine of half angle at which a Gaussian fit to the far field intensity distribution drops to 1% of its peak value

Physical properties	
Core diameter	5.8 μm ± 1 μm
Diameter of microstructured region	~ 37 μm
Cladding diameter	102 μm ± 5 μm
Coating diameter	248 μm ± 20 μm
Coating material	Acrylate

Typical attenuation and dispersion



Mode profile



HC-633-02-100915

NKT Photonics A/S (Headquarters)
 Blokken 84 • 3460 Birkerød • Denmark
 Phone: +45 4348 3900
 Fax: +45 4348 3901
www.nktphotonics.com

NKT Photonics GmbH
 Schanzenstrasse 39 • Bldg D9-D13
 51063 Cologne • Germany
 Phone: +49 221 99511-0
 Fax: +49 221 99511-650

NKT Photonics Inc.
 1400 Campus Drive West • Morganville
 NJ 07751 • USA
 Phone: +1 732 972 9937
 Fax: +1 732 414 4094

Referencias

- [1] Patel P.D. *(Bio)sensors for measurement of analytes implicated in food safety: a review*. Trends in Analytical Chemistry, vol. 21, nº 2, 96-115. (2002).
- [2] Velasco-García M. y Mottram T. (2003). *Biosensor technology addressing agricultural problems*. Review paper. Biosystems Engineering, vol. 84, nº 1, 1-12.
- [3] Víctor González-Rumayor Victor, García-Iglesias Esther, Ruiz-Galán Olga, Gago-Cabezas Lara; *Aplicaciones de biosensores a la industria agroalimentaria*. Informe de vigilancia tecnológica. España. (2005).
- [4] E. Alvarado-Méndez, R. Rojas-Laguna, J. A. Andrade-Lucio, D. Hernández-Cruz, R. A. Lessard, J. G. Aviña-Cervantes; *Design and characterization of pH sensor based on Sol-Gel silica layer on plastic optical fiber*. Sensors and Actuators B, 106 (2005) 518-522.
- [5] Turner A.P.F, Karubey I, Wilson G.S. *Biosensors, Fundamentals and applications*. Oxford University Press, Oxford, 1987
- [6] Wise D.L. *Applied biosensors*. Butterworths, Boston Massachusetts, 1989.
- [7] Turner A.P.F. *Advances in biosensors*. Vol. I. JAI Press Ltd, London, 1991.
- [8] Cass A.E.G. *Biosensors, a practical approach*. IRL Press, Oxford, 1991.
- [9] Wise D.L, Wingard Jr. L.B. *Biosensors with fiberoptics*. Humana Press, Clifton, New Jersey, 1991.
- [10] Informe de vigilancia tecnológica. *Aplicaciones de Biosensores en la industria agroalimentaria*. Fundación para el conocimiento, Madrid, España, 2005.
- [11] Malgorzata Przybyt, Beata Bialkowska; *Enzyme electrodes with enzyme immobilised by sol-gel technique*. Technical University of Łódź, Department of Food Chemistry and Biotechnology, Institute of General Food Chemistry, Stefanowskiego 4/10, 90-924, Łódź, Poland.
- [12] Jackie Yi-Ru Ying; *Nanostructured materials*. Primera edición. Editorial Academic Press, (2001). Pag 9.
- [13] Jeffrey Brinker and George Scherer; *Sol-gel Science: The physics and chemistry of sol-gel processing*. Academic Press.
- [14] James A. Swarz, Cristian I. Contescu, Karol Putyera; *Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology*. Primera Edición. CRC Press.

- [15] I. Zhong Ling Wang, Yi Liu, Ze Zhang; *Handbook of nanophase and nanostructured materials: Materias systems and aplicaciones*. Primera edición. Editorial Springel, (2003).
- [16] John Dalton Wright, Nico A.J.M. Sommerdijk; *Sol-gel materials: chemistry and applications*. Primera edición. Editorial CRC Press. (2001).
- [17] John Dalton Wright, Nico A.J.M. Sommerdijk. *Sol-Gel materials: Chemistry and applications*. Primera edición. Editorial: CRC Press, 2001. págs 3-14.
- [18] John Weis Norbert Auner; *Organosilicon Chemistry V: from molecules to materials*. Editorial Wiley-VCH. Primera edición. (2001).
- [19] Hecht; *Óptica*. Ed. Pearson Addison-Wesley. Tercera edición. Pag. 198.
- [20] Hui Rongqing, O'Sullivan Maurice. *Fiber Optic, Measurement Techniques*. Elsevier Academic Press. (2009).
- [21] J. C. Knight, T. A. Birks, P. St. J. Russell, and D. M. Atkin. *All-silica single-mode optical fiber with photonic crystal cladding*. Opt. Lett. 21, 1547-1549 (1996) Erratum, ibid 22, 484-485 (1997).
- [22] J. C. Knight. *Photonic crystal fibres*. Nature 424, 847-851 (2003).
- [23] Church, Steven (January 6, 2006). *Del. firm installs fuel cell*. The News Journal. p. B7.
- [24] Heitner-Wirguin, C. (1996). *Recent advances in perfluorinated ionomer membranes: structure, properties and applications*. Journal of Membrane Science 120: 1–33.
- [25] Mauritz, K. A., Moore, R. B. (2004). *State of Understanding of Nafion*. Chemical Reviews 104 (10): 4535–4585.
- [26] Heitner-Wirguin, C; *Recent advances in perfluorinated ionomer membranes: structure, properties and applications*. Journal of Membrane Science 120: 1–33. (1996).
- [27] Kenneth A. Mauritz and Robert B. Moore. *State of Understanding of Nafion*. Department of Polymer Science, University of Southern Mississippi (2004).
- [28] A. Kawalec, K. Jasek, and M. Pasternak. *Measurements results of SAW humidity sensor with nafion layer*. Institute of Radioelectronics, Military University of Technology, Kaliskiego, Poland. Institute of Chemistry, Military University of Technology, Kaliskiego Warsaw, Poland (2008).

- [29] Chia-Hung Maa, T. Leon Yu, Hsiu-Li Lin, Yu-Ting Huang, Yi-Ling Chen, U-Ser Jeng, Ying-Huang Lai, Ya-Sen Sun. *Morphology and properties of Nafion membranes prepared by solution casting*. Department of Chemical Engineering & Materials Science, Yuan Ze University, Chung-Li, Taoyuan 32003, Taiwan. Fuel Cells Center, Yuan Ze University, Chung-Li, Taoyuan 32003, Taiwan. National Synchrotron Radiation Research Center, Hsinchu 30076, Taiwan.
- [30] R. C. Mercado, F. Moussy. *In vitro and in vivo mineralization of Nafion membrane used for implantable glucose sensors*. University of Connecticut Health Center, Center for Biomaterials and Surgical Research Center, USA (1997).
- [31] Aguilera-Medina Rosa Elizabeth, Alvarado-Méndez Edgar. *Sensor de glucosa mediante nanotubos de carbono y glucosa oxidasa*. Tesis de licenciatura. 2010.
- [32] Tran Minh C. (1993). *Biosensors*, 217p. Ed. Chapman and Hall, London, UK.
- [33] Hecht; *Óptica*. Ed. Pearson Addison-Wesley. Tercera edición. Pags. 74-77.
- [34] Arroyo M. (1998). *Inmovilización de Enzimas*. Fundamentos, Métodos y Aplicaciones. *Ars Pharmaceutica*, 39:2; 23-39.
- [35] Jacob Fraden. *Handbook of modern sensors: physics, designs, and applications*. Tercera edición, editorial Birkhäuser, 2004. Pág. 544.
- [36] G.E. Badini, K.T.V. Irattan, A.W. Palmer, and A.C.C. Tseung. *Optical Fiber Sensors*, Springer Proceedings in Physics, Vol. 44, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg (1989) 436-442.
- [37] R. Zusman, C. Rottman, M. Ottolenghi, and D. Avnir, *J. Non-Cryst. Solids* 122 (1990) 107-109.
- [38] B.D. MacCraith, V. Ruddy, C. Potter, B. O'Kelly, and J.F. McGilp, *Electron. Lett.* 27 (1991) 1247-1248.
- [39] M.R. Shahriari, M.T. Murtagh, and H.C. Kwon. Ormosil. *Thin Films for Chemical Sensing Platforms*. Rutgers University, Department of Ceramics.
- [40] J. Hecht. *City of Light: The Story of Fiber Optics (Revised and Expanded Edition)*, Oxford University Press (2004).
- [41] J. Crisp, B. Elliot. *Introduction to fiber optics (3rd Edition)*, Newnes Elsevier, Amsterdam (2005).
- [42] Bates, Regis J *Optical Switching and Networking Handbook*. New York. McGraw-Hill.

- [43] Andino Rugama Flavia, Castillo Yorling. *Microbiología de los alimentos: Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria*. Universidad Nacional de Ingeniería, UNI-Norte, Estelí, Nicaragua (2010).
- [44] Yabar Villanueva, Emilio Fredy. *Microbiología de alimentos: Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú (2005).
- [45] Pisabarro Antonio G. *Microbiología general*. Universidad de Navarra (2008).
- [46] M.T. Madigan, J. M. Martinko y J. Parker Brock, *Biología de los microorganismos*, 8ª edición. 1998. Ed. Prentice Hall. Madrid.
- [47] L. M. Prescott, J. P. Harley y D. A. Klein. *Microbiología*. 4ª Edición. 1999 Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid.
- [48] R.M. Atlas. *Microbiología, fundamentos y aplicaciones*. 1990. Ed. Compañía Editorial continental S.A de C.V. México.
- [49] M.R. Pacual Anderson. *Microbiología alimentaria*. 1992. Ed. Díaz de Santos. Madrid.
- [50] R.G. Board. *Introducción a la microbiología moderna de los alimentos*. 1988. Ed. ACRIBIA, Zaragoza.
- [51] Valdovinos-Díaz Miguel Angel, Villalobos Pérez José de Jesús, Olivera Martínez Marco Antonio. *Gastroenterología*, 5ta edición, Méndez Editores (2006). Pág 191.
- [52] Sampliner, R.E. *Updated guidelines for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus*. Am. J. Gastroenterol., 2009; 97:1889-95.
- [53] Orlando R.C. *Diseases of the esophagus*. Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil Medicina. 23 ed. Philadelphia, Pa. Saunders Elsevier, 2007, chap 140.
- [54] DeVault, K.R, Castell, D.O. *Current diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease*. Mayo Clin. Proc. 1994;69:867-76.
- [55] Mittal, R.K. *Current concepts of the antireflux barrier*. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 1990;19:501-16.
- [56] Popovich, C.A. *Fitoplacton*. En: Piccolo M.C. & Hoffmeyer M.S. (eds) *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, EDIUNS, pp. 91-100 (2007).
- [57] Comisión Nacional de Agua (2001). *Compendio Básico del Agua en México*, México D.F., pp. 71.

- [58] Saldaña Pilar, Lerdo de Tejada Alicia, et. al. *La importancia de incluir análisis de toxicidad en descargas industriales y municipales que afectan a los cuerpos receptores*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Jiutepec, Morelos, México.
- [59] Márquez R, Chirinos R, Sánchez A. *Control de procesos*. Instituto Universitario de Tecnología Cabimas. República Bolivariana de Venezuela.
- [60] Clark, L.C. Jnr. Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs 2, 41-48 (1956).
- [61] Clark, L.C. Jnr. Ann. NY Acad. Sci. 102, 29-45 (1962).
- [62] Updike, S.J. and Hicks, J.P. Nature 214, 986-988 (1967).
- [63] Guilbault, G.G. and Montalvo, J. JACS 91, 2164-2569 (1969).
- [64] Divis, C. Annals of Microbiology 126A, 175-186 (1975).
- [65] Lubbers, D.W. and Opitz, N. Z. Naturforsch. C: Biosci. 30c, 532-533 (1975).
- [66] Voelkl, K.P., Opitz, N. and Lubbers, D.W. Fres. Z. Anal. Chem. 301, 162-163 (1980).
- [67] Clemens, A.H., Chang, P.H. and Myers, R.W. Proc. Journes Ann. de Diabtolgie de l'Htel-Dieu, Paris (1976).
- [68] Shichiri, M., Kawamori, R., Yamaski, R., Hakai, Y. and Abe, H. Lancet ii, 1129-1131 (1982).
- [69] Liedberg, B., Nylander, C. and Lundstrm, I. Sensors and Actuators 4, 299-304 (1983).
- [70] Cass, A.E.G., Francis, D.G., Hill, H.A.O., Aston, W.J., Higgins, I.J., Plotkin, E.V., Scott, L.D.L. and Turner, A.P.F. Anal. Chem. 56, 667-671 (1984).
- [71] Alcock, S.J. and Turner, A.P.F. IEEE Engineering in Medicine and Biology, June/July, 319 (1994).
- [72] Kress-Rogers, E. *Handbook of Biosensors and Electronic Noses: Medicine, Food and the Environment*, CRC Press, Boca Raton, USA, 1996.
- [73] White, S.F. and Turner, A.P.F. In: *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation* (Eds. M C Flickinger and S W Drew). Wiley, New York, USA, 1997.
- [74] Dennison, M.J. and Turner, A.P.F. Biotechnol. Adv., 13, 1 (1995).

- [75] J.I. Peterson, S.R. Goldstein, R.V. Fitzgerald, D.K. Buchwald, *Optical fiber pH probe for physiological use*, Anal. Chemistry 52, (1980) 864-869.
- [76] J. N. Liu, M.R. Shahriari, G.H. Sigel Jr, *Development of a porous polymer pH optrode*, Optical Letters, 17 (1992) 1815-1817.
- [77] D. Flannery, S.W. James, R.P. Tatam, G.J. Ashwell, *pH sensor using Langmuir-Blodgett overlays on polished optical fibers*, Optical Letters, 22 (1997) 567-569.
- [78] R.B. Charters, S.E. Staines, R.P. Tatam, *In-line optical fiber components using Langmuir-Blodgett films*, Optical Letters, 19 23 (1994) 2036-2037.
- [79] B.D. MacCraith, V. Ruddy, C. Potter, B. O' Kelly, J.F. McGilp, *Optical waveguide sensor using evanescent wave excitation of fluorescent dye in sol-gel glass*, Electron Lett. 27 (1991) 1247-1248.
- [80] K. Vorotilov, et al, *Spin Coating Process of Sol-Gel Silicate Films Deposition: Effect of Spin Speed and Processing Temperature*, J. of Sol-Gel Sci. and Technol., 5 (1995) 173-183.
- [81] B.D. Gupta, D.K. Sharma, *Evanescent wave absorption based optical fiber pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique*, Optics Communications, 140 (1997) 32-35.
- [82] B.D. Gupta, S. Sharma, *A long-range optical fiber pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique*, Optics Communications, (1998) 282-284.
- [83] W. Beir, A.A. Goktas, G.H. Frischat, *Thin SiO₂-TiO₂-ZrO₂ films from alkoxide solutions*, J. Non-Crystalline Solids, 10 (1998) 531-537.
- [84] Beltrán-Pérez G, Padilla-Martinez J.P, et al. *Sensor de pH basado en fibra óptica usando TiO₂ dopado con colorantes orgánicos mediante la técnica sol-gel*. Facultad de Ciencias Físico Matemáticas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla Puebla, México (2006).

