



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**DESARROLLO DE UN
NANOAMPÉRMETRO PARA LA
CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL CON
BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO EN ELECTRÓNICA Y
TELECOMUNICACIONES**

P R E S E N T A N:

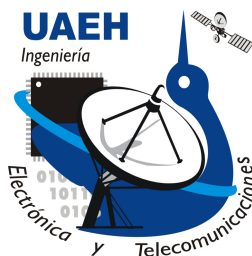
MAYRA REYES ANGELES

JOSÉ MIGUEL GARCÍA DÁVILA

DIRECTORES DE TESIS:

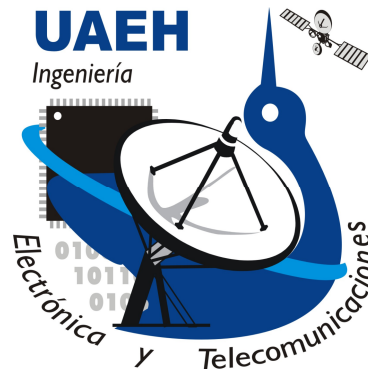
ING. FRANCISCO MORALES JIMÉNEZ.

DR. JOSÉ LUIS GONZÁLEZ VIDAL.



PACHUCA DE SOTO, HGO.

JULIO 2010



El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio Central de Electrónica; así como en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo bajo la supervisión del Dr. Carlos Andrés Galán Vidal, del Laboratorio de Electroquímica del Área Académica de Química.

Agradecemos el financiamiento otorgado por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a través del proyecto de Ciencia Básica 62462.

Agradecimientos

A Dios por todo lo que hasta ahora nos ha dado

Agradecemos el apoyo incondicional de nuestros asesores el Ing. Francisco Morales Jiménez y el Dr. José Luis González Vidal, así mismo al Dr. Carlos Andrés Galán Vidal por hacer posible el desarrollo de esta tesis.

A todos y cada uno de los profesores que estuvieron involucrados en nuestra formación académica, gracias por compartirnos su conocimiento

Dedicatorias

De: Mayra Reyes Angeles

A mi hija Luna que quiero mucho pues es mi motivo para salir adelante, a mis padres Amalia Angela Angeles Moreno y Manuel Reyes Pérez por el apoyo incondicional y a mi única hermana Anel a quien quiero mucho también. Y por supuesto a mi esposo por estar conmigo en las buenas y en las malas y compartir la realización de este proyecto.

De: José Miguel García Dávila

A mis padres Oralia Antonia Dávila Guerrero y José Antelmo García Zamora por su apoyo y educación a lo largo de estos años; a mis hermanos Daniel y Eduardo y muy en especial a mi hermana Diana quien fue un gran apoyo a lo largo de mis estudios y por su inigualable compañía y comprensión. Pero sobre todo a mi hija Luna María la nueva luz en mi vida.

INDICE GENERAL

1. ANTECEDENTES Y OBJETIVOS	1
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo General	3
1.1.2 Objetivos Específicos	3
1.2 Sensores Electroquímicos	4
1.2.1 Biosensores Electroquímicos	4
1.2.2 Construcción de Sensores	7
1.3 Instrumentación Electroquímica	8
1.3.1 Amperometría	9
1.3.2 Nanoampémetro	11
1.3.3 Cronoamperometría	
2. NANOAMPÉRMETRO	14
2.1 Introducción	14
2.1.1 Detectores Amperométricos Comerciales	14
2.2 Desarrollo de un nanoampémetro de bajo costo	17
2.2.1. Diseño básico del nanoampémetro	17
2.2.2 Diagrama a bloques del nanoampémetro y descripción del funcionamiento.	17
2.2.3 Diagrama Esquemático del nanoampémetro	23
2.2.4 Diagrama de flujo del programa para el microcontrolador PIC18F4585	29
2.2.5 Tabla de precios de los componentes y material idóneo para el desarrollo del nanoampémetro.	33
3. PARTE EXPERIMENTAL	35
3.1 Materiales	35
3.1.1 Reactivos y preparación de soluciones	35
3.2 Construcción de sensores electroquímicos	36
3.2.1 Instrumentación	
4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	42
4.1 Resultados	42
4.2 Conclusiones	37
4.3 Proyectos a futuro	47
5. APÉNDICE	48
6. GLOSARIO	49
7. REFERENCIAS	51

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.1: Esquema del funcionamiento de un biosensor amperométrico de colesterol.....</i>	6
<i>Figura 1.2. Esquema del funcionamiento de un biosensor amperométrico de colesterol con ferricianuro como mediador.....</i>	6
<i>Figura 1.3 Deposición secuencial de materiales sobre un substrato mediante tecnología thick-film....</i>	7
<i>Figura 1.4. Diagrama esquemático simplificado de un Potenciostato de Gamry Instruments.....</i>	9
<i>Figura 1.5. Esquema de un potenciostato con una celda electroquímica sustituida por dos impedancias</i>	10
<i>Figura 2.1. Potenciostato AUTOLAB PGSTAT30 Eco Chemie.....</i>	15
<i>Figura 2.2 Detector amperométrico BAS LC-4C.....</i>	15
<i>Figura 2.3 Detector amperométrico BAS LC-3D Petit.....</i>	16
<i>Figura 2.4 Diagrama a bloques del nanoampémetro para celda electroquímica.....</i>	18
<i>Figura 2.5. Diagrama del KIA431.....</i>	19
<i>Figura. 2.6 Amplificador Inversor.....</i>	19
<i>Figura 2.7 Seguidor de voltaje.....</i>	20
<i>Figura. 2.8 Retroalimentación de alta Impedancia.....</i>	20
<i>Figura 2.9. Configuración Red T para convertidor I-V.....</i>	21
<i>Figura 2.10 Acondicionamiento de señal para el convertidor analógico.-digital (ADC).....</i>	21
<i>Figura 2.11 Diagrama a bloques del MCP3421.....</i>	22
<i>Figura 2.12 Pantalla LCD donde se despliegan los datos de conversión.....</i>	22
<i>Figura 2.13 Herramienta para el diagrama esquemático y simulación, ISIS Professional del software para diseño de PCB Proteus 7 Professional.....</i>	23
<i>Figura 2.14 Diagrama esquemático del nanoampémetro.....</i>	24
<i>Figura. 2.15 Herramienta para el circuito impreso, ARES Professional del software para diseño de PCB Proteus 7.....</i>	26
<i>Figura 2.16. Bottom Copper del circuito.....</i>	27
<i>Figura 2.17 Top Copper.....</i>	27
<i>Figura 2.18. Imagen en 3D del circuito.....</i>	28
<i>Figura 2.19 Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585.....</i>	30
<i>Figura 2.19 a Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585 (Continuación 1).....</i>	31

<i>Figura 2.19 b Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585 (Continuación 1a).....</i>	32
<i>Figura 2.20. Aspecto final del nanoampérmetro desarrollado.....</i>	34
<i>Figura 3.1 Material del laboratorio de electroquímica para llevar a cabo las pruebas con el nanoampérmetro.....</i>	35
<i>Figura 3.2 Preparación de solución, buffer.....</i>	36
<i>Figura 3.3 Agitador para soluciones.....</i>	36
<i>Figura 3.4 Electrodo en solución acuosa.....</i>	37
<i>Figura 3.5 Electrodo preparados para colocar en la solución.....</i>	38
<i>Figura 3.6. Electrodo de trabajo.....</i>	38
<i>Figura 3.7 Electrodo de referencia.....</i>	38
<i>Figura 3.8 Preparación de solución con electrodos.....</i>	39
<i>Figura 3.9 Electrodo conectados al nanoampérmetro.....</i>	39
<i>Figura 3.10 Visualización de la corriente en nA.....</i>	40
<i>Figura 3.11 Detector amperométrico BAS LC-4C de laboratorio de electroquímica.....</i>	40
<i>Figura 3.12 Gráfica que representa los resultados de las pruebas realizadas con el nanoampérmetro.....</i>	41
<i>Figura 4.1. Registros cronoamperométricos para adiciones sucesivas de 20 μL de ferrocianuro de potasio 10 mM a 20 mL de buffer de fosfatos 0.1 M en NaCl 0.1 M pH = 7.0. Izquierda LC-4C. Derecha equipo desarrollado.....</i>	42
<i>Figura 4.2. Curvas de calibración de ferrocianuro de potasio, obtenidas a partir de los registros cronoamperométricos mostrados en la figura 4.1.....</i>	43
<i>Figura 4.3. Registros cronoamperométricos para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio 9.99 μM en buffer de fosfatos 0.1 M en NaCl 0.1 M pH = 7.0. Izquierda LC-4C. Derecha equipo desarrollado.....</i>	44
<i>Figura 4.4. Registros cronoamperométricos promedio para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio 9.99 μM en buffer de fosfatos 0.1 M en NaCl 0.1 M pH = 7.0. Abajo LC-4C. Arriba equipo desarrollado.....</i>	45

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.1 Ejemplos de electrodos enzimáticos comunes</i>	5
<i>Tabla 2.1. Especificaciones técnicas del detector amperométrico BAS LC-4C.....</i>	16
<i>Tabla 2.2 Lista de precios de algunos detectores BAS.....</i>	16
<i>Tabla 2.3 Lista de precios de componentes del nanoampémetro.....</i>	33
<i>Tabla 4.1. Resultados de registros cronoamperométricos</i>	43

Desarrollo de un Nanoampémetro para la Cuantificación de Colesterol con Biosensores Electroquímicos.

1. ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

Muchos de los esfuerzos dentro del campo de la química analítica están dirigidos a la simplificación del proceso analítico, reduciendo en gran medida su complejidad y costo. En la actualidad y como fruto de estas inquietudes, contamos con instrumentos que permiten realizar el análisis con elevada sensibilidad y fiabilidad en intervalos muy reducidos de tiempo; no obstante, estos equipos suelen ser altamente sofisticados y costosos, por lo que se encarece su utilización.

La evolución de las técnicas analíticas ha favorecido el desarrollo en diferentes disciplinas. Los cambios han sido notables y van desde el uso de la volumetría y la gravimetría, hasta acoplar en la actualidad técnicas de separación como integrantes imprescindibles de los modernos métodos instrumentales de análisis, los cuales son muy versátiles y sus aplicaciones se extienden a muchos campos científicos.

Dentro de los métodos instrumentales de análisis más económicos y versátiles destacan las técnicas electroanalíticas. Estos métodos relacionan la composición química de un sistema con alguna propiedad eléctrica como el potencial o voltaje (V) y la corriente eléctrica (A) en una celda electroquímica que contiene al analito. Estos métodos se pueden dividir en varias categorías dependiendo de que parámetros son controlados y cuáles otros se mide [1].

Existe una gran variedad de procesos o fenómenos electroquímicos, mismo que se definen como aquellos en los cuales una reacción química genera una corriente eléctrica o establece un voltaje; igualmente, una corriente eléctrica o un voltaje pueden estimular o inhibir las reacciones electroquímicas

Entre los métodos electroanalíticos más simples y asequibles se encuentra la amperometría. La amperometría es una técnica muy simple y como su nombre lo indica es la medición o seguimiento de la corriente eléctrica. Esta corriente es el resultado de una reacción electroquímica que se lleva a cabo en la interfase de un electrodo con la

solución que contiene al analito; dicha reacción es posible al imponer un potencial fijo y suficiente para que una reacción electroquímica tenga lugar. La característica clave de la técnica es que la corriente medida es proporcional a la concentración del analito mientras que el movimiento del material al electrodo es constante. La simplicidad de la técnica conduce a muchas aplicaciones, principalmente en el desarrollo de biosensores.

Las ventajas del desarrollo de la detección amperométrica han sido extendidas para la determinación *in situ* de moléculas importantes, incluyendo aquellas de significado biológico. La aplicación más ampliamente estudiada de biosensores amperométricos es la determinación de glucosa en la sangre, esta idea ha sido extendida a otros analitos como: colesterol, urea, triglicéridos, ácido úrico, creatinina, etc [2].

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Diseñar e implementar un nanoampérmetro con interfaz digital para la cuantificación de colesterol con biosensores electroquímicos.

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Diseñar un nanoampérmetro con interfaz digital
2. Evaluar el desempeño del nanoampérmetro mediante una celda electroquímica de prueba.
3. Evaluar el desempeño del nanoampérmetro con biosensores electroquímicos de colesterol.

1.2 Sensores Electroquímicos

Un sensor electroquímico es un pequeño dispositivo analítico que puede ser usado para mediciones directas del analito en la muestra o matriz compleja (sangre, orina, agua residual, leche, etc.). Consisten básicamente de un elemento de transducción cubierto con una capa de reconocimiento químico o biológico denominado receptor. Al interactuar el receptor con el analito, los cambios químicos resultantes son convertidos o traducidos por el elemento de transducción en señales eléctricas. Los sensores electroquímicos tienen un amplio campo interdisciplinario de aplicación. [3]

1.2.1 Biosensores Electroquímicos

Los biosensores electroquímicos combinan el potencial analítico de las técnicas electroquímicas con la especificidad de procesos de reconocimiento biológico. El objetivo es producir biológicamente una señal eléctrica que relacione a la concentración de un analito. Para este propósito, un agente bioespecífico (enzima, anticuerpo, tejido, organelo, fragmento de DNA, etc.) es inmovilizado o retenido a un electrodo compatible, el cual convierte el resultado de reconocimiento biológico en una respuesta amperométrica o potenciométrica cuantitativa.

- **Biosensores Enzimáticos**

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en sistemas vivos. Tales catalizadores no son únicamente eficientes sino que también son extremadamente selectivos por lo que en algunos casos son catalogados como específicos. Así, las enzimas combinan los pasos de reconocimiento y amplificación tan importantes para muchas aplicaciones de sensado.

Los electrodos enzimáticos están basados en el acoplamiento de una capa de una enzima con un electrodo apropiado. Como resultado de esta integración, los electrodos han demostrado ser extremadamente útiles en el monitoreo de una amplia variedad de

sustratos de importancia analítica en muestras clínicas, medioambientales y alimenticias [4].

Una gran variedad de electrodos enzimáticos han sido desarrollados para diversos sustratos de significado analítico. Ejemplos representativos son listados en la tabla 1.

Tabla 1.1 Ejemplos de electrodos enzimáticos comunes.

Especies Medidas	Enzima	Especie Detectada	Tipo de transducción
Colesterol	<i>Colesterol Oxidasa</i>	O ₂	Amperométrico
Creatinina	<i>Creatinasa</i>	NH ₃	Potenciométrico sensado de gas
Lactato	<i>Lactate dehidrogenasa</i> <i>Lactate oxidasa</i>	NADH H ₂ O ₂	Amperométrico Amperométrico
Penicilina	<i>Penicilinas</i>	H ⁺	Potenciométrico
Fenol	<i>Tirosinasa</i>	Quinone	Amperométrico
Salicilato	<i>Salicilato hidroxilasa</i>	CO ₂	Potenciométrico sensado de gas
Ácido úrico	<i>Uricasa</i>	CO ₂	Potenciométrico sensado de gas

▪ Biosensores de Colesterol

Este tipo de biosensores basa su principio de operación en el seguimiento, sobre un electrodo a un potencial constante, de alguno de los productos de la reacción entre la enzima y el colesterol. El esquema analítico más común implica el uso de la enzima colesterol oxidasa COx, misma que al interactuar con el colesterol en presencia de oxígeno y agua produce colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno H₂O₂ el cual es oxidado sobre la superficie del electrodo (a un potencial constante y adecuado) obteniendo una corriente eléctrica proporcional a la concentración del colesterol (Fig. 1.1).

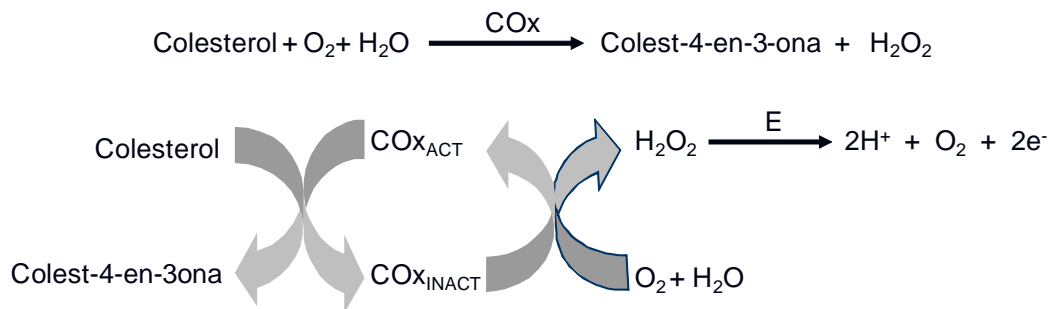


Figura 1.1: Esquema del funcionamiento de un biosensor amperométrico de colesterol.

Debido a que el peróxido de hidrógeno se oxida a potenciales muy elevados, en una muestra es posible oxidar otras sustancias además del H_2O_2 por lo que la corriente no correspondería exclusivamente con la concentración del colesterol. Así, para trabajar a menores potenciales y eliminar las interferencias se adiciona un mediador, el cual sustituye al oxígeno en la regeneración del sitio activo de la enzima y cuya corriente de oxidación, a un menor potencial de trabajo, será proporcional a la concentración del colesterol (Figura. 1.2).

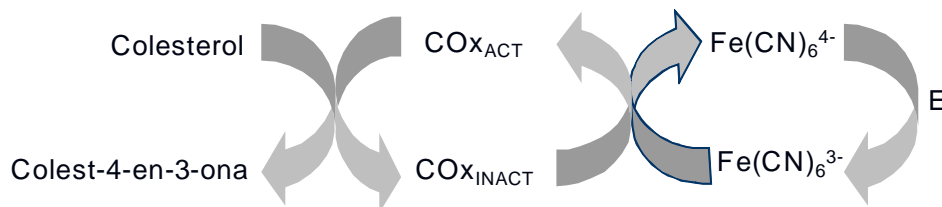


Figura 1.2. Esquema del funcionamiento de un biosensor amperométrico de colesterol con ferricianuro como mediador.

La escasa solubilidad del colesterol en medio acuoso hace necesaria su disolución en disolventes orgánicos; sin embargo, además se requiere la presencia de una capa de hidratación de la enzima para catalizar la reacción de oxidación del colesterol. Una estrategia adecuada para hacer compatibles estos dos puntos es el empleo de medios emulsionados agua/aceite, donde el colesterol se disuelve en la fase orgánica y el contenido de fase acuosa se puede controlar fácilmente para proporcionar una óptima actividad de la enzima [5].

1.2.2 Construcción de Sensores

Los sensores electroquímicos fueron construidos en el laboratorio de electroquímica del Área Académica de Química de la UAEH. Estos dispositivos son los encargados de recolectar la muestra de sangre, para la detección y cuantificación del colesterol con el nanoampérmetro construido.

La tecnología utilizada para su fabricación fue thick-film; más específicamente serigrafía (Fig. 1). Este proceso de fabricación permite la producción en masa de sensores electroquímicos de estado sólido en configuración plana, con buena reproducibilidad y bajo costo mediante una modesta infraestructura que puede ser automatizada [6]

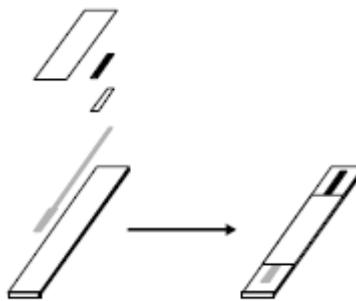


Figura 1.3 Deposición secuencial de materiales sobre un sustrato mediante tecnología thick-film

La construcción por tecnología thick-film de biosensores electroquímicos (amperométricos y potenciométricos) nos permite contar con una herramienta que complementará al nanoampérmetro para lograr el objetivo de cuantificación de colesterol.

1.3 Instrumentación Electroquímica

En el trabajo con biosensores electroquímicos, el potencióstato es la instrumentación necesaria. Este equipo, permite imponer diversos potenciales y corrientes fijas o programadas; en el caso particular de la amperometría se impone un potencial controlado a un electrodo para producir la perturbación deseada, y registrar paralelamente la intensidad de corriente, el potencial y el tiempo. El instrumento es conectado a la celda electroquímica, la cual típicamente consiste de una celda de tres electrodos denominados de trabajo, auxiliar (contraelectrodo) y de referencia.

En la instrumentación moderna el potencióstato, así como amplificadores y otros módulos empleados para acondicionar las señales de corriente y potencial, son dispositivos analógicos construidos con amplificadores operacionales[†] [7]

El esquemático de la figura 1.4 es el diagrama básico de un potencióstato; donde se controla el voltaje existente entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, sumergidos en una celda electroquímica. El potencióstato realiza el control por inyección de corriente dentro de la celda a través del electrodo auxiliar. La variable controlada en un potencióstato es el potencial de la celda y la variable medida es la corriente de la celda.

[†] Ver apéndice A, *Aspectos fundamentales de los amplificadores operacionales* pág. 1-6.

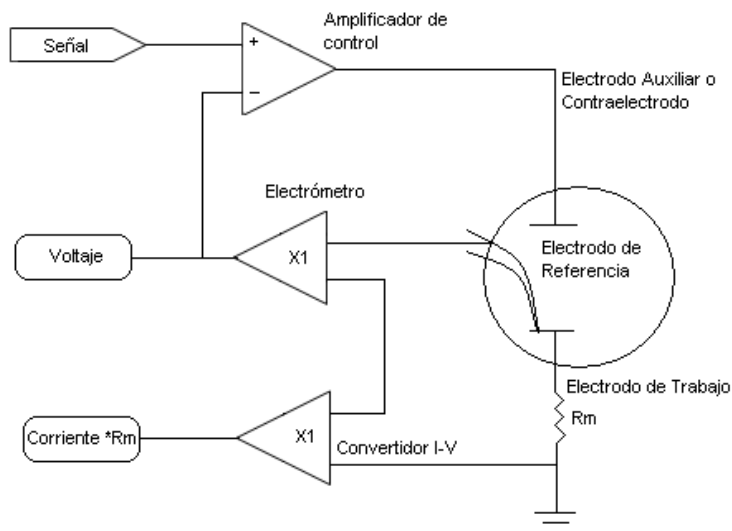


Figura 1.4. Diagrama esquemático simplificado de un Potenciostato de Gamry Instruments.

El símbolo X1 en la figura 1.4 indica que es un amplificador diferencial de ganancia unitaria. La salida de voltaje de este circuito es la diferencia entre sus dos entradas. Voltaje y Corriente *Rm son las señales de voltaje y corriente que son enviadas al sistema de conversión [8].

1.3.1 Amperometría

En la amperometría, se impone un potencial conveniente en el electrodo de trabajo, respecto del electrodo de referencia; sin embargo la corriente fluye entre los electodos de trabajo y auxiliar, a fin de no perturbar el potencial del electrodo de referencia. El potencial impuesto genera la oxidación o reducción del analito en la interfase del electrodo, siendo proporcional a su concentración la corriente generada [9].

La medición amperométrica, consiste en un circuito eléctrico que controla el potencial de una celda mediante a la detección de cambios en su resistencia, variando así la corriente del sistema, a mayor resistencia resulta una disminución en la corriente, mientras que a menor resistencia se tiene un incremento en la corriente. Para mantener un voltaje constante, esto se reduce a una simple aplicación de la ley de Ohm $R = V/I$. Despejando a la corriente se tiene:

$$I_o = \frac{E_c}{R_v} \quad \text{E 1.1}$$

I_o es la corriente eléctrica de salida del potencióstato, E_c es el potencial que se mantiene constante, R_v es la resistencia eléctrica que varía.

El amplificador CA mantiene el voltaje entre un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo que viene de E_i . La corriente se aplica a través del electrodo auxiliar (contraelectrodo) {Glenn Brown, 1977 12 /id; Bard A.J., 2001 5 /id}.

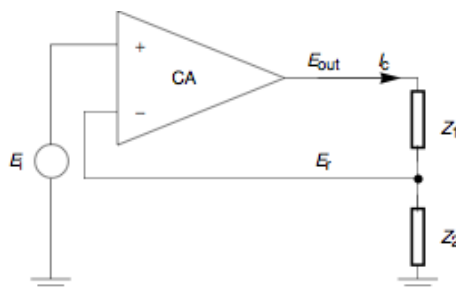


Figura 1.5. Esquema de un potencióstato, con una celda electroquímica sustituida por dos impedancias.

La función del CA (amplificador) es amplificar la diferencia de entrada entre la entrada + y la entrada -. Esto es:

$$E_{out} = A(E^+ - E^-) = A(E_i - E_r) \quad \text{E 1.2}$$

Donde A es el factor de amplificación de CA. En este punto se supone, no fluye corriente a través del electrodo de referencia. En términos reales como si estuviera conectado aun electrómetro de alta impedancia. La corriente de la celda se escribe de dos formas:

$$I_c = \frac{E_{out}}{Z_1 + Z_2} \quad E 1.3$$

y

$$I_c = \frac{E_r}{Z_2} \quad E 1.3$$

De lo anterior se obtiene

$$E_r = \frac{Z_2}{Z_1 + Z_2} E_{out} = \beta E_{out} \quad E 1.3$$

Dónde β es el factor de retroalimentación:

$$\beta = \frac{Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad E 1.3$$

La característica principal de los amplificadores que utiliza un potencióstato, es su alta impedancia, aunque el 741 se ha utilizado históricamente en audio y otros equipos sensibles, hoy en día es raro debido a las características de ruido y alta impedancia mejoradas de los operacionales más modernos. Dentro de los amplificadores operacionales desarrollados, anteriores al $\mu A741(1968)$ se encuentran el $\mu A702$ (1964), diseñado por Bob Widlar, y el $\mu A709$ (1965).

1.3.2 Nanoampérmetro

El nanoampérmetro detecta corrientes del rango de 10^{-9} A. Según la Norma Oficial Mexicana[†] en la tabla 19 titulada *Prefijos para formar múltiplos y submúltiplos* el prefijo nano equivale a 0.000 000 001, Entonces un *nanoampérmetro* es un instrumento calibrado para detectar mil millonésimas de ampere, 10^{-9} A [10].

Si hablamos en términos básicos, el nanoampérmetro funciona como un instrumento muy sensible y capaz de medir con precisión pequeñas cantidades de corriente. En principio los ampérmetros tienen una resistencia interna muy pequeña, por debajo de 1 ohm, con la finalidad de que su presencia no disminuya la corriente a medir cuando se conecta a un circuito eléctrico.

Los ampérmetros utilizan un convertidor analógico/digital para la medida de la caída de un voltaje en una resistencia por la que circula la corriente. La lectura del convertidor es leída por un microprocesador que realiza los cálculos para representarlos en un display alfanumérico [11].

[†] Ver Apéndice A pág. 26-27

1.3.3 Cronoamperometría

Es una técnica electroquímica en la que se mide en función del tiempo la intensidad de corriente que fluye por un electrodo de trabajo sumergido en una disolución y sometido a un potencial constante. De esta técnica se desprenden diferentes tipos de cronoamperometría las cuales se enumeran a continuación.

Cronoamperometría convectiva. Es una técnica en la que se mide en función del tiempo la intensidad de corriente que fluye por un electrodo de trabajo donde el transporte de materia se realiza por convección (agitación mecánica o térmica).

Cronoamperometría de barrido lineal del potencial. Es una técnica en la que se impone al electrodo un potencial que varía linealmente con el tiempo, midiendo en función del tiempo o implícitamente del potencial, la intensidad de corriente que fluye por electrodo.

Cronoamperometría de redisolución anódica con barrido lineal del potencial. Es la cronoamperometría en donde la sustancia a estudiar se concentra por reducción en el cátodo y posteriormente se redissuelve a un potencial más anódico mediante un barrido de potencial en el que la corriente de oxidación es seguida.

Cronoamperometría de doble salto. Es donde se impone al electrodo estacionario un doble salto de potencial y se mide la intensidad de corriente que fluye por el electrodo en función del tiempo transcurrido en el cambio de potencial.

Cronoamperometría lineal. Es donde se aplica al electrodo un potencial que varía linealmente con el tiempo, se mide la intensidad de corriente al final de cada impulso y se representa en función potencial.

Cronoamperometría polarográfica. Es donde se efectúan las medidas durante el tiempo de vida de una gota de mercurio que funge como electrodo de trabajo.

Las aplicaciones analíticas de la cronoamperometría dependen del pulso del potencial del electrodo de trabajo repetitivamente a intervalos de tiempo fijados. La cronoamperometría puede también ser aplicada al estudio de mecanismos de procesos del electrodo [12].

2. NANOAMPÉRMETRO

2.1 Introducción

La amperometría es un método electroquímico de análisis cuantitativo que permite determinar la concentración de una solución cuando se emplea un potencial constante y se mide la intensidad de corriente. Esta técnica permite medir la corriente eléctrica que pasa entre dos electrodos debido a un proceso de electrólisis. En el electrodo de trabajo el analito sufre una reacción de oxidación o reducción, mientras que en el contraelectrodo se cierra el circuito con la reacción contraria. La corriente medida es proporcional a la concentración de analito [13].

Un detector amperométrico o ampémetro, es el equipo o instrumento que se utiliza para registrar la corriente que fluye entre los dos electrodos (trabajo y auxiliar) mientras se impone un potencial de trabajo entre los electrodos de trabajo y referencia.

2.1.1 Detectores Amperométricos Comerciales

Existen diversos detectores amperométricos en el mercado; desde equipos versátiles y costosos como los denominados laboratorios electroquímicos, hasta equipos especializados que suelen ser más económicos e incluso portátiles.

En el Área Académica de Química de UAEH se cuenta con un laboratorio electroquímico AUTOLAB PGSTAT30 Eco Chemie. Este equipo es capaz de realizar diversas técnicas electroquímicas; entre ellas la amperometría, aunque a un elevado costo instrumental y baja sensibilidad y precisión (Fig. 2.1). En este equipo es posible medir corrientes en un intervalo o rango superior a 10 nA.



Figura 2.1. Potenciostato AUTOLAB PGSTAT30 Eco Chemie.

Asimismo se cuenta con un detector amperométrico analógico BAS LC-4C; equipo diseñado originalmente como un detector en equipos de cromatografía. Este instrumento presenta alta sensibilidad de corriente (rango mínimo de hasta 0.1 nA), amplias posibilidades de filtrado y menor costo que el laboratorio electroquímico, razón por la cual es empleado para el desarrollo y operación de biosensores amperométricos en el laboratorio. La tabla 2.1 muestra las especificaciones de este detector [14].



Figura 2.2 Detector amperométrico BAS LC-4C.

Tabla 2.1. Especificaciones técnicas del detector amperométrico BAS LC-4C

Equipo	Voltaje aplicado	Rangos de detección	Filtro	Potencia
BAS LC-4C	- 1.9 / +1.9 V	0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 200 y 500 nA. 1, 2, 5, 10, 20, 50 μ A.	0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.08, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.8, 1.0 Hz	100-120, 220-240 VAC, 50/60 Hz, 120 Watts máxima carga
Single LC-3D Petit Ampere	- 1.5 / +1.5 V	5, 10, 20, 50, 100, 200 nA	0.03, 0.08, 0.3 Hz	9V VDC
Nanoampérmetro desarrollado	+ 0.1 / +0.6 V	1,300 nA	1.5 Hz	9V VDC

Aunque el detector LC-4C es un detector amperométrico específico, no es conveniente su uso fuera del laboratorio en virtud de su alimentación, tamaño, peso y costo. Una idea del precio de esta instrumentación y algunas de sus variantes se presenta en la tabla 2.2.

Tabla 2.2 Lista de precios de algunos detectores BAS.

Detectores Electroquímicos	Precio (USD)
Controlador Amperométrico Simple Single LC-4C	\$ 5,568
Controlador Amperométrico Dual LC-4C	\$ 10,022
Controlador Amperométrico Simple LC-3D Petit	\$ 1,461

Cabe destacar el ampérmetro portátil LC-3D de la figura 2.3 como una alternativa útil para su uso en campo; sin embargo su costo sigue siendo prohibitivo para muchas aplicaciones.



Figura 2.3 Detector amperométrico BAS LC-3D Petit.

2.2 Desarrollo de un nanoampérmetro de bajo costo

Considerando el alto costo, tamaño y peso de la instrumentación amperométrica disponible comercialmente, además de la dependencia tecnológica y de servicio que implica el ser usuario de ella, desarrollar una unidad de bajo costo constituye ventajas importantes en términos económicos para usuarios nacionales; además de oportunidades de negocio e independencia tecnológica. Así, se planteó el diseño y construcción de un equipo portátil de bajo costo sin sacrificar la calidad de detección de corriente.

2.2.1. Diseño básico del nanoampérmetro

Tomando todas las consideraciones necesarias con respecto a costo, desempeño y portabilidad se lleva a cabo el diseño del nanoampérmetro, en el proceso se resaltan las características de aquellos componentes que conformarán al equipo. Con apoyo de software especializado se plasma el diseño y se realizan las simulaciones correspondientes, para comprobar su funcionamiento y llevarlo a la construcción física. Este proceso se representa mediante diagramas, expuestos de manera que se observe y se comprenda cada etapa del diseño[†].

2.2.2 Diagrama a bloques del nanoampérmetro y descripción del funcionamiento.

En la figura 2.4 se representa el funcionamiento estructurado del nanoampérmetro mediante un diagrama a bloques, la celda electroquímica representada en el diagrama es el dispositivo utilizado para llevar a cabo las reacciones de transferencia de electrones (redox). Los electrodos introducidos en la celda son los encargados de hacer el contacto con la solución. En seguida cada bloque se describe de manera breve, su funcionamiento y configuraciones correspondientes [15].

[†] Ver apéndice A , *Características de los amplificadores operacionales*, pág. 8-11.

Diagrama a bloques del nanoampérmetro.

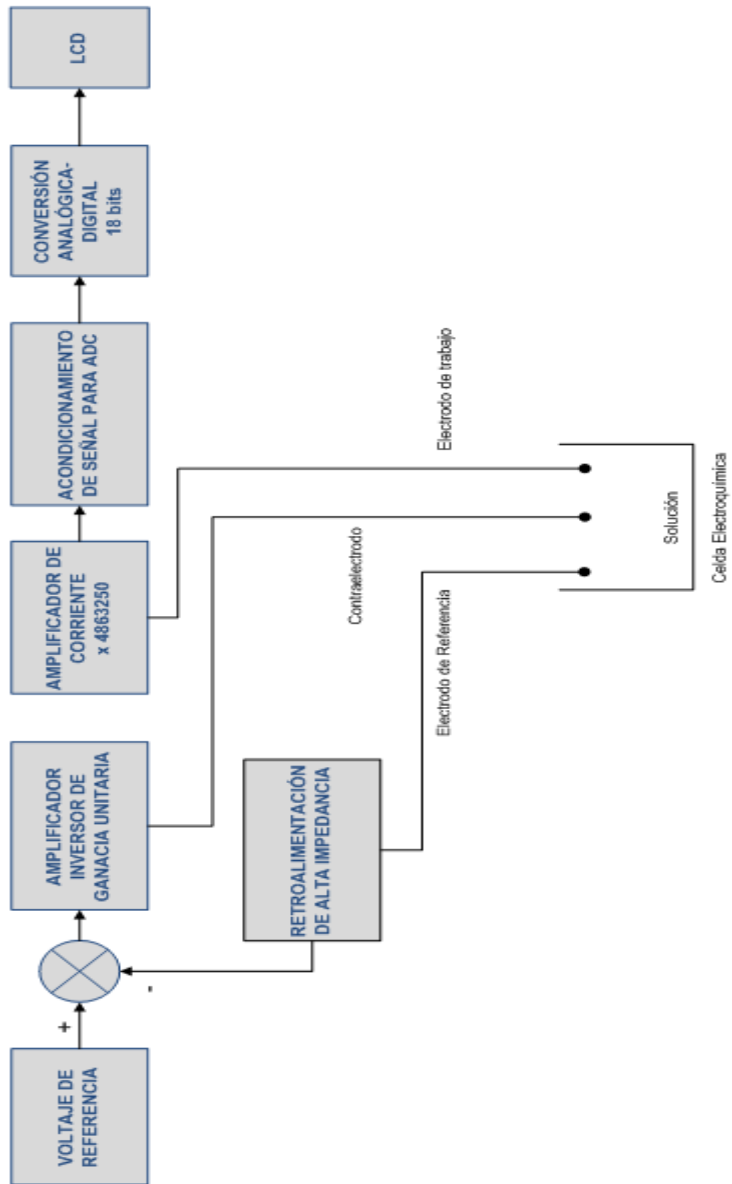


Figura 2.4 Diagrama a bloques del nanoampérmetro para celda electroquímica

Descripción del funcionamiento del diagrama a bloques

- **Voltaje de referencia**

Genera un voltaje de referencia ajustable. Gracias a su estabilidad y bajo ruido permite proveer un voltaje de DC estable. El dispositivo que realiza esta función es la referencia de voltaje KIA 431, la figura 2.4 representa el diagrama interno del componente.

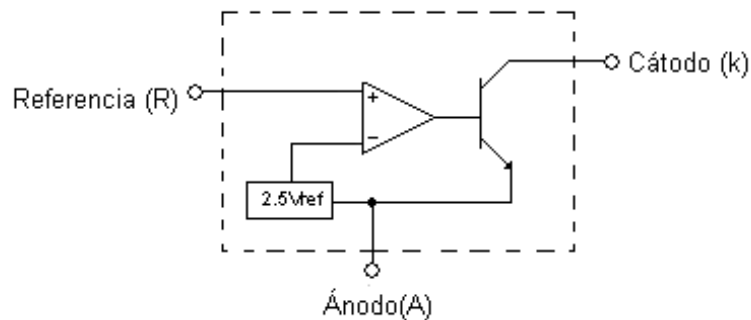


Figura 2.5. Diagrama del KIA431

- **Amplificador inversor de ganancia unitaria**

Impone el potencial constante del voltaje de referencia en el electrodo auxiliar (CE). Se utiliza un amplificador operacional de potencia OPA541. Este amplificador utiliza dos configuraciones de manera simultánea, la configuración de amplificador inversor de la figura 2.6 para obtener una retroalimentación negativa y como amplificador seguidor de voltaje, figura 2.5 se consigue la ganancia unitaria[†].

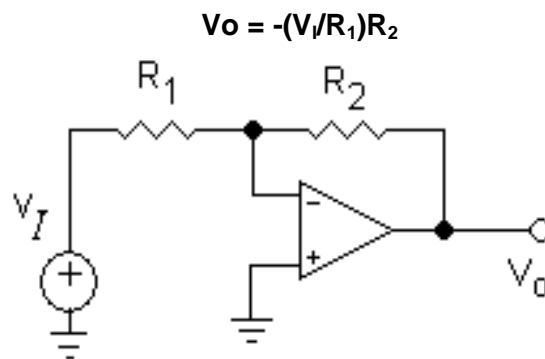


Figura. 2.6 Amplificador Inversor

[†] Ver apéndice A, *Configuraciones con amplificadores operacionales* pág. 12-18.

$$A = 1V/V \quad R_i = \infty \quad R_o = 0$$

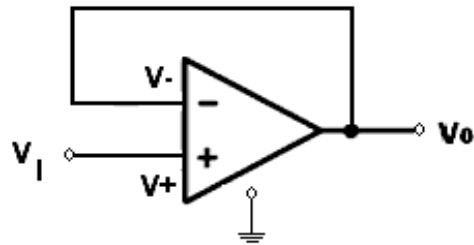


Figura 2.7 Seguidor de voltaje

- **Retroalimentación de alta impedancia**

El electrodo de referencia (RE) realiza la retroalimentación. La característica principal de la retroalimentación, es su alta impedancia, de tal manera que la corriente no pasa por este lazo, sino por el electrodo de trabajo. Se utiliza un op amp CA3140, y la representación es la siguiente.

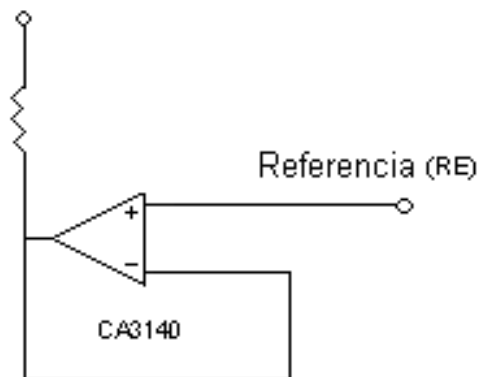


Figura. 2.8 Retroalimentación de alta Impedancia

- **Amplificador de corriente**

La corriente del electrodo de trabajo (WE) es amplificada por un factor ((bits de conversiónx15625)/966.479) y convertida a voltaje. Para disminuir la resistencia de la

red de realimentación y no afectar la precisión del circuito, se utiliza una red T (convertidor I-V) para lograr una alta sensibilidad. El dispositivo que realiza esta función es el OPA 129U, un amplificador operacional monolítico de ultra baja corriente de polarización[†].

$$V_o = i_i (R_2 + (R_2 * R) / R_1 + R)$$

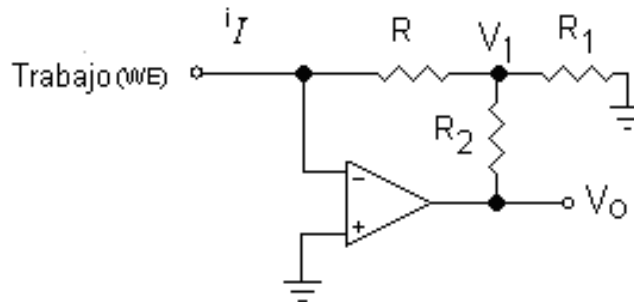


Figura 2.9. Configuración Red T para convertidor I-V

- **Acondicionamiento de la señal para ADC**

La salida del convertidor de corriente se ajusta al máximo voltaje de entrada del ADC de 18 bits. Para realizar el ajuste se utiliza la siguiente configuración con los op amps CA3140.

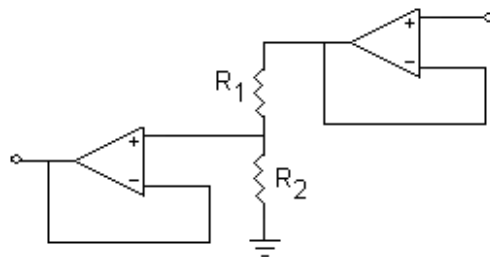


Figura 2.10 Acondicionamiento de señal para el convertidor analógico.-digital (ADC).

[†] Ver apéndice A, *Desarrollo del convertidor I-V* pág. 17-18

- **Conversión analógica digital**

Se utiliza un convertidor MCP3421, es un convertidor de un solo canal de bajo ruido y de alta precisión de conversión A/D, de 18 bits controlado por un PIC 18F4585, y con una capacidad de 3.75 sps. La figura 2.11 muestra el diagrama a bloques del proceso interno de conversión del componente.

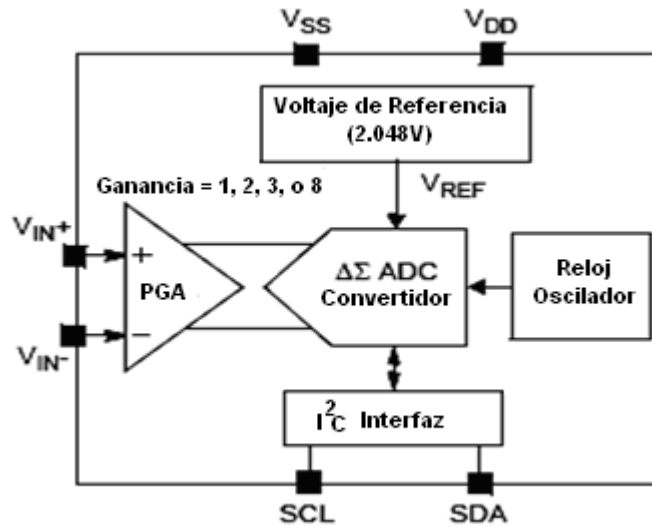


Figura 2.11 Diagrama a bloques del MCP3421

LCD

En este último elemento del diagrama, se muestra los valores de la conversión en una LCD¹.



Figura 2.12 Pantalla LCD donde se despliegan los datos de conversión

¹ Ver apéndice A, *Elementos que conforman al nanoamperímetro* pág. 19-25. Para información técnica de los componentes, consultar las hojas de datos del apéndice B al apéndice H.

2.2.3 Diagrama Esquemático del nanoampémetro

Nos permite ver de forma estructurada las configuraciones descritas de los amplificadores operacionales. El circuito esquemático representa las conexiones de los elementos utilizados en cada bloque. De la misma manera se aprecia la secuencia de cada acción. El diagrama esquemático de la figura 2.14 representa todo el proceso descrito con anterioridad.

- **Diseño del diagrama esquemático**

Existe software especializado para realizar los circuitos impresos. Proteus 7 Professional de © Labcenter Electronics 1989-2008 versión de prueba, es un programa para diseño de PCB (Printed Circuit Board) que cuenta con herramientas que facilitan el diseño, simulación y pruebas de circuitos electrónicos. ISIS 7 Professional (Figura 2.13) es una de las herramientas con las que cuenta Proteus, que se utilizó para el diseño del diagrama esquemático, cuenta con comandos que permiten visualizar el funcionamiento del circuito, entre otras aplicaciones.

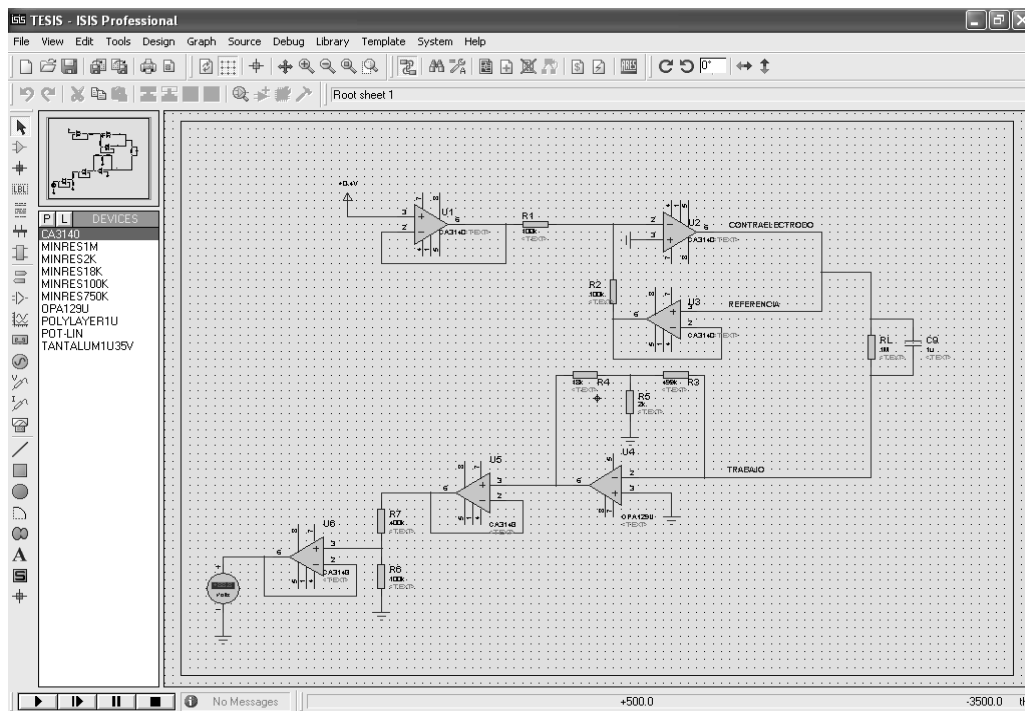


Figura 2.13 Herramienta para el diagrama esquemático y simulación, ISIS Professional del software para diseño de PCB Proteus 7 Professional.

▪ Diagrama esquemático del nanoampérmetro

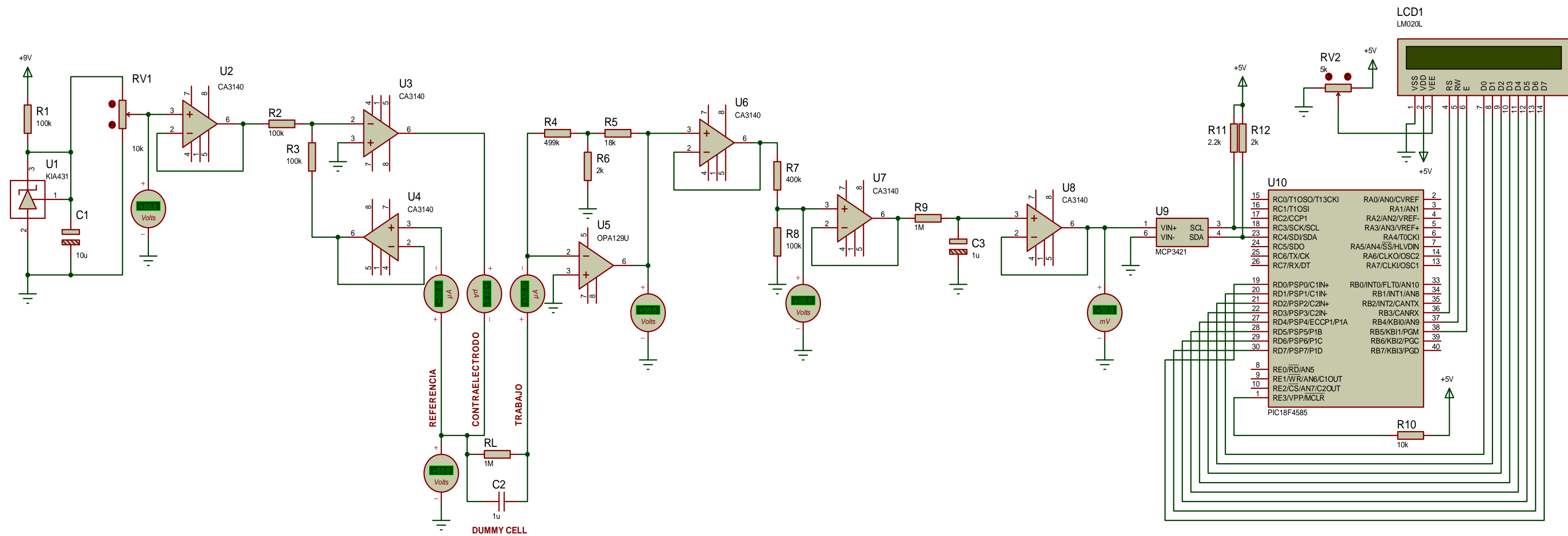


Figura 2.14 Diagrama esquemático del nanoampérmetro

- **Diseño del circuito impreso (PCB) del nanoampérmetro**

Para el diseño del PCB del circuito se utilizó la herramienta Ares Professional, figura 2.15, una herramienta más del software Proteus 7 Professional. Sus características permiten configurar las pistas y disposición de pines de cada componente, así como su distribución en la placa de cobre.

En la figura 2.16, que en Ares Professional se denomina Bottom copper, se plasman las pistas, se cuenta con comandos que permiten determinar el grosor tanto de la pista como de los hoyos de los pines.

La distribución de los componentes (Top copper), se observa en la figura 2.17. Donde los componentes se montan sobre las pistas y tener una apreciación de la distribución y realizar modificaciones si es necesario. En la figura 2.18, muestra el circuito en 3D con los componentes acoplados a la placa, adelantando la apariencia del circuito del nanoampérmetro. La herramienta 3D es imprescindible en la impresión del circuito, al visualizar el circuito en todo su ángulo, podemos ver que ninguna pista o componente quede muy cercano uno de otro y evitar problemas posteriores como son pistas encimadas y tener problemas de conexión, además de poder mejorar la apariencia del montaje.

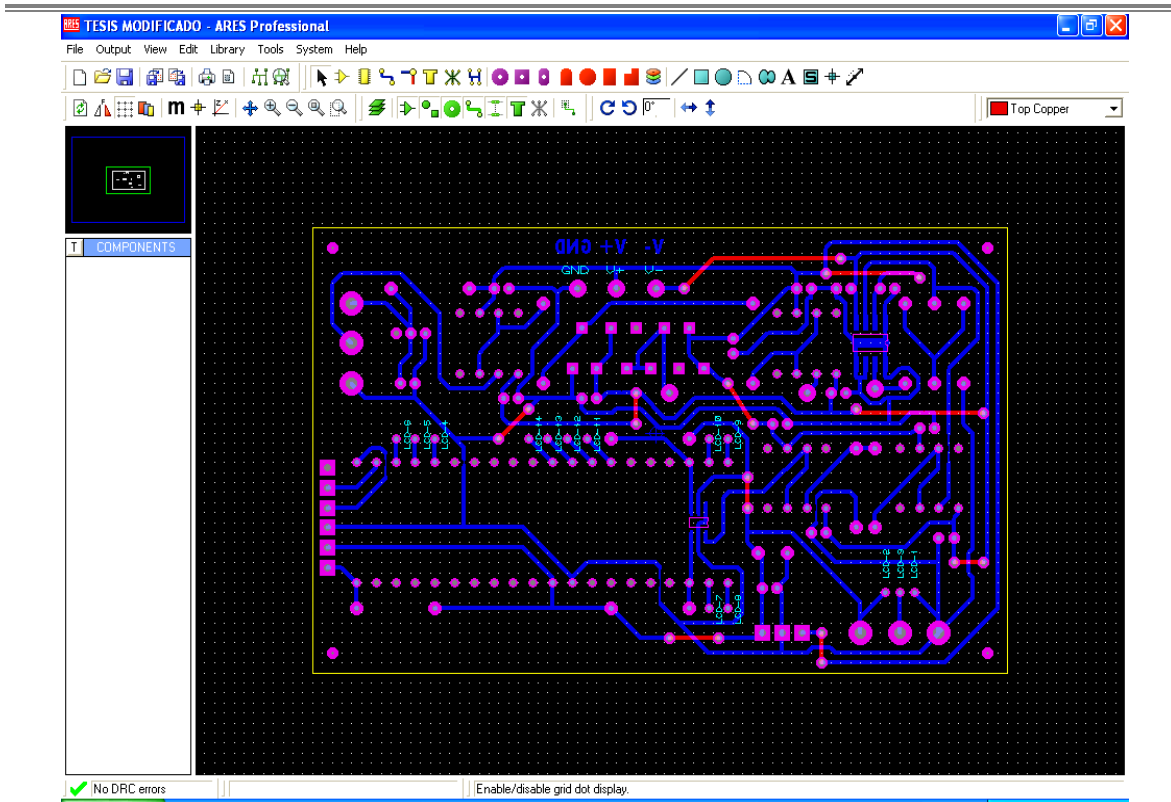


Figura. 2.15 Herramienta para el circuito impreso, ARES Professional del software para diseño de PCB Proteus 7.

- Impresión de pistas y distribución de pines del circuito

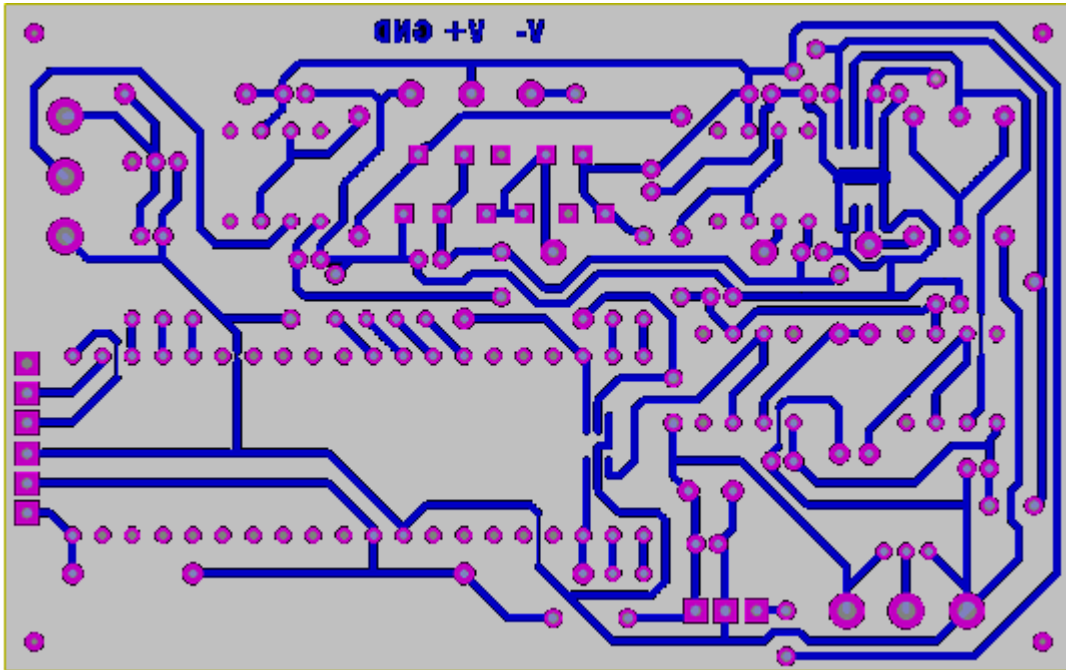


Figura 2.16. Bottom Copper del circuito

- Distribución de los componentes del circuito

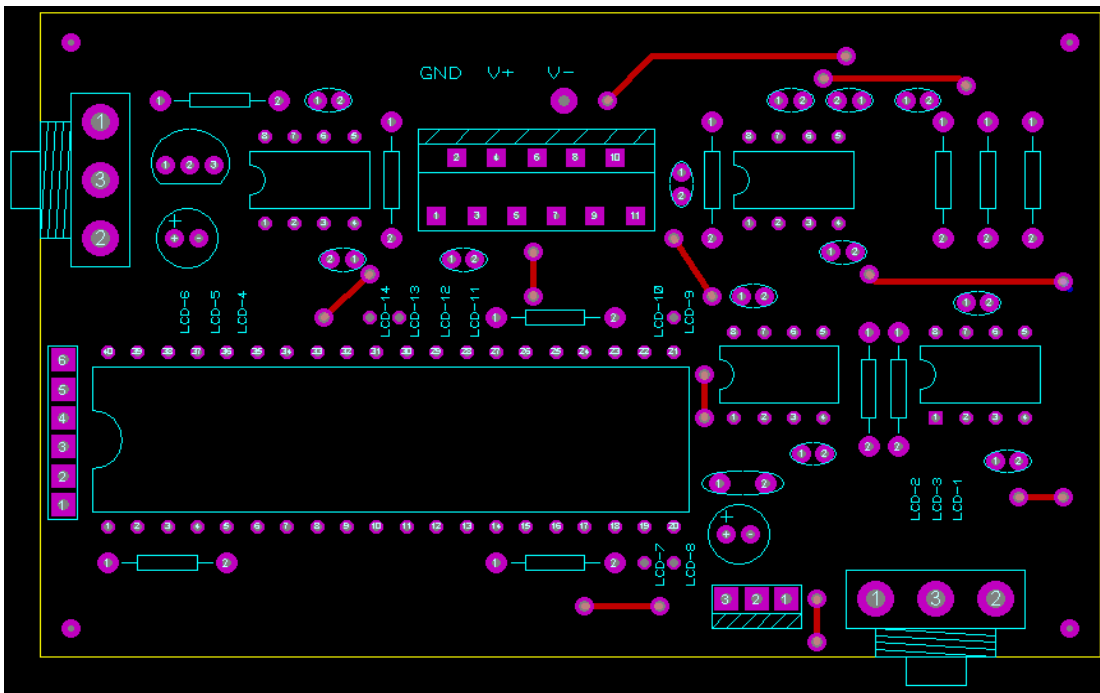


Figura 2.17 Top Copper

- Visualización en 3D del circuito con los componentes montados sobre la placa de cobre.

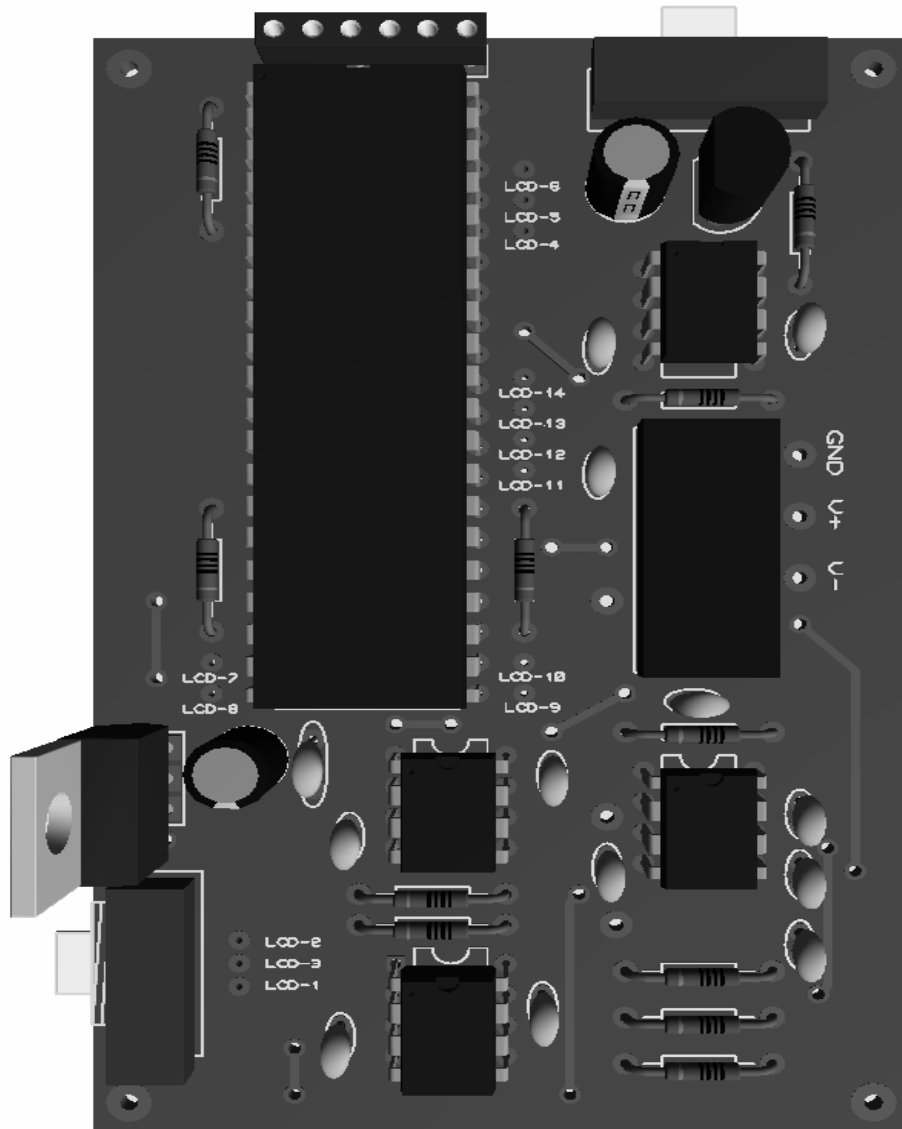


Figura 2.18. Imagen en 3D del circuito.

2.2.4 Diagrama de flujo del programa para el microcontrolador PIC18F4585

El diagrama de flujo, figura 2.19, es la descripción de cada una de las rutinas del programa del microcontrolador PIC18F4585, el programa se elaboró con ayuda de software MPLAB versión 8.43 de prueba. La tarea principal, es la de interpretar los datos del convertidor A/D MCP3421 para visualizarlos en la pantalla LCD. †

† Ver programa para el microcontrolador PIC18F4585 en apéndice C

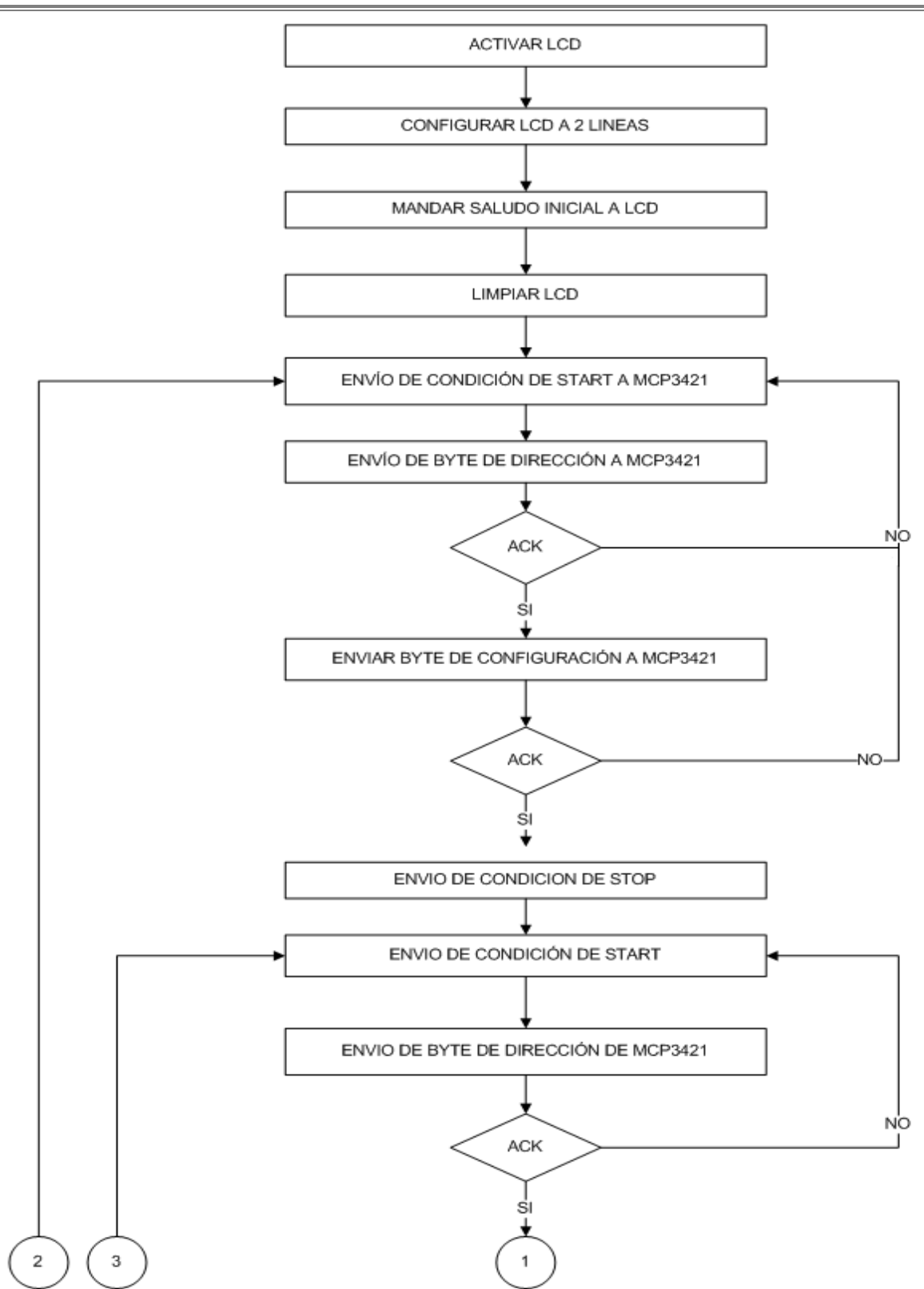


Figura 2.19 Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585

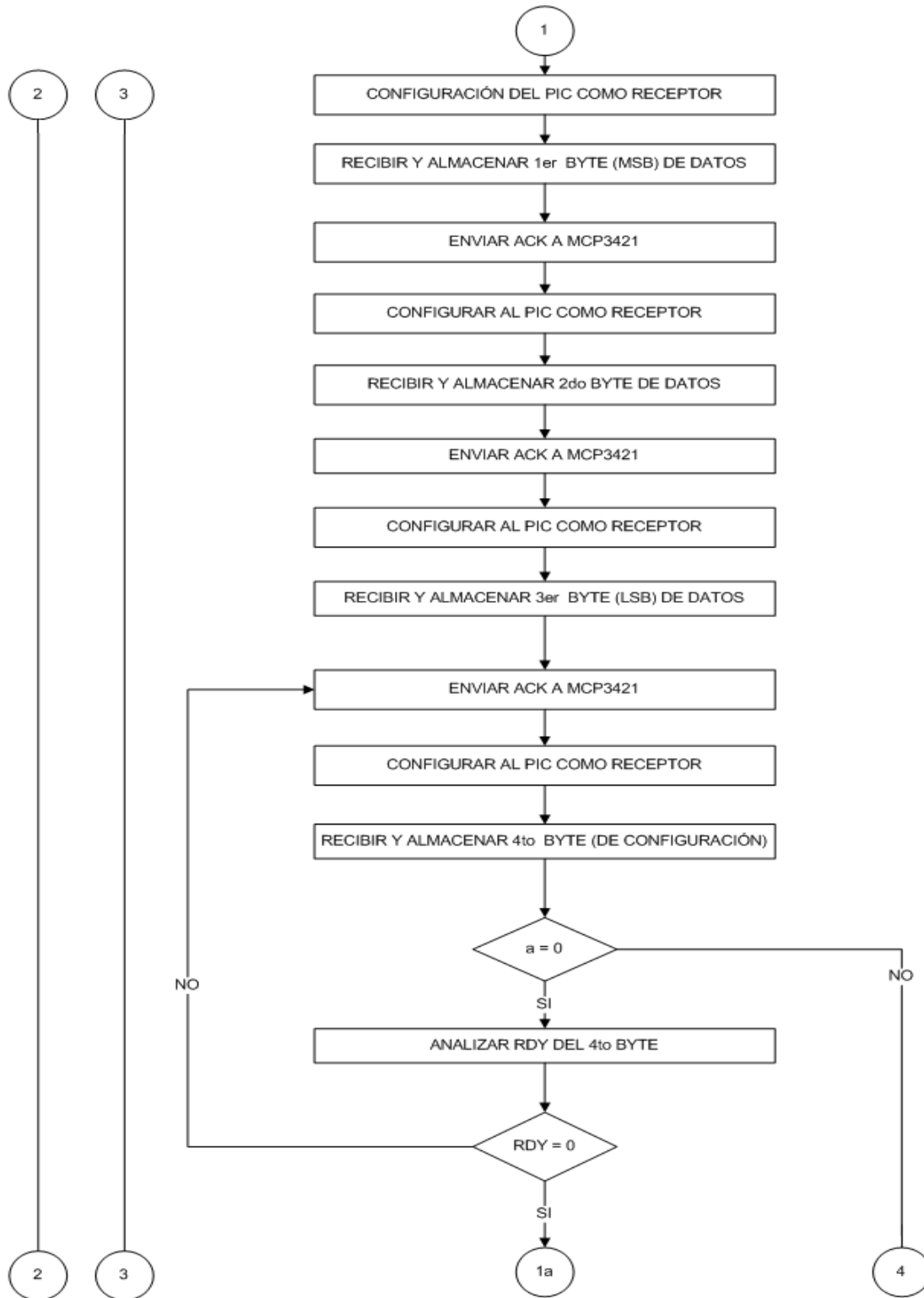


Figura 2.19a Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585 (Continuación 1)

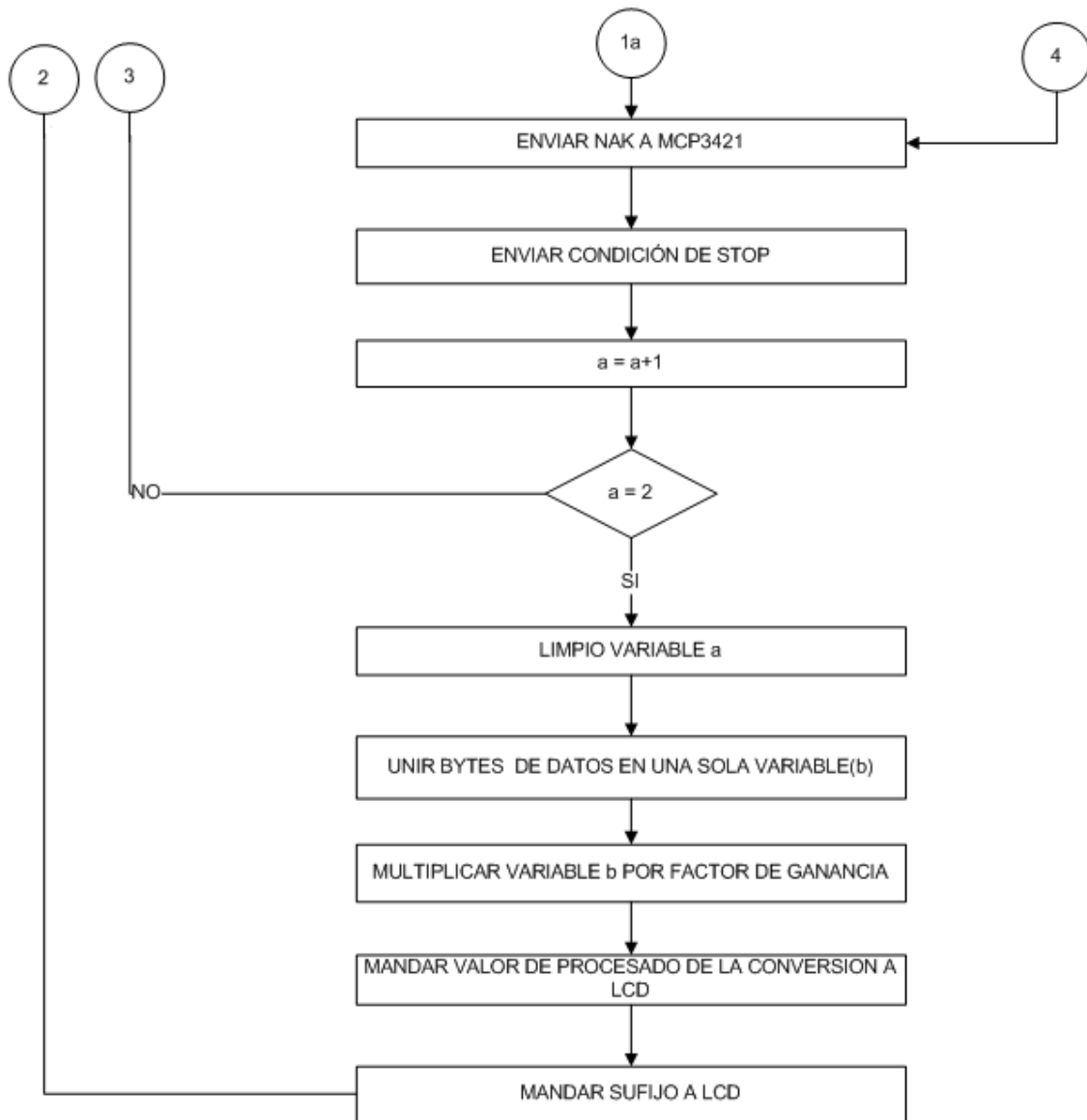


Figura 2.19b Diagrama a bloques del programa para el microcontrolador PIC 18F4585 (Continuación 1a)

2.2.5 Tabla de precios de los componentes y material idóneo para el desarrollo del nanoampérmetro.

Como se ha venido exponiendo, la característica principal del nanoampérmetro es su bajo costo sin sacrificar la calidad de detección de corriente. Existen muchas empresas de componentes electrónicos, que tienen opciones en cuanto a precios y características de los dispositivos. La tabla 2.3 contiene los componentes que se eligieron por costo y características de acuerdo a las necesidades del equipo. La imagen 2.19 es la apariencia final del equipo construido, con un tamaño de 9.2 X 10.5 X 5 cm.

Tabla 2.3 Lista de precios de componentes del nanoampérmetro.

LISTA DE COMPONENTES (RoSH)				
CANTIDAD	COMPONENTE	# DE PARTE EN NEWARK	PRECIO UNITARIO (USD)	TOTAL
5	CA3140MZ	57K3024	\$2.10	10.5
1	VOLT. REFERENCIA	68K9453	\$2.85	2.85
1	TRIMMER	74M7260	\$2.71	2.71
2	CAP. ELECTROLITICO	106CKE400M	\$0.40	0.80
12	CAP. TANTALIO	65K2807	\$0.24	2.916
1	PHOTO RESIST	08WX7709	\$14.51	14.51
1	FIBRA VIDRIO	08WX7701	\$9.05	9.05
1	R 499K	53K3831	\$0.06	0.063
2	R 100K	01N7136	\$0.06	0.112
2	R 18K	01N7154	\$0.06	0.112
2	R 2.15K	53K3680	\$0.05	0.09
2	R 10K	38K0259	\$0.025	0.05
2	R 1K	1N7134	\$0.06	0.112
2	PILAS 9V RECARGABLES	31M3366	\$29.42	58.84
1	OPA129U	80K6005	\$13.94	13.94
1	OPA541AP	72K9048	\$22.19	22.19
				83.025



Figura 2.20. Aspecto final del nanoampérmetro desarrollado

3. PARTE EXPERIMENTAL

El proceso de realización de pruebas para lograr el funcionamiento del nanoampérmetro, se efectuaron con el equipo del laboratorio de electroquímica del Centro de Investigaciones Químicas bajo la supervisión del Dr. Carlos Andrés Galán Vidal; investigador de la UAEH.

3.1 Materiales

3.1.1 Reactivos y preparación de soluciones

Todas las soluciones acuosas fueron preparadas con agua desionizada Milli Q (Millipore) (18 M Ω cm) a partir de reactivos comerciales de grado analítico (Sigma Aldrich) (Figuras 3.1 y 3.2).

La solución buffer para mantener el pH constante a 7.0, consistió de una solución de fosfatos de sodio 0.05 M con cloruro de sodio 0.1 M. Las soluciones de ferrocianuro de potasio se prepararon en el buffer de trabajo a partir de una solución stock 10 mM.

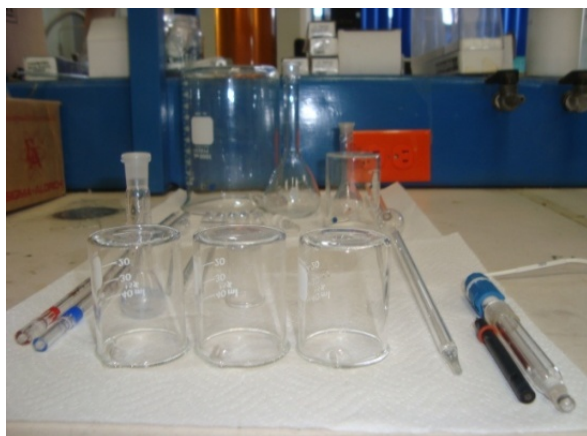


Figura 3.1 Material para preparar las soluciones y llevar a cabo las pruebas del nanoampérmetro.



Figura 3.2 Preparación de soluciones.

3.2 Construcción de sensores electroquímicos

Los transductores fueron fabricados por serigrafía sobre sustratos de estireno en configuración de dos electrodos conforme al diseño mostrado en las figura 3.3.

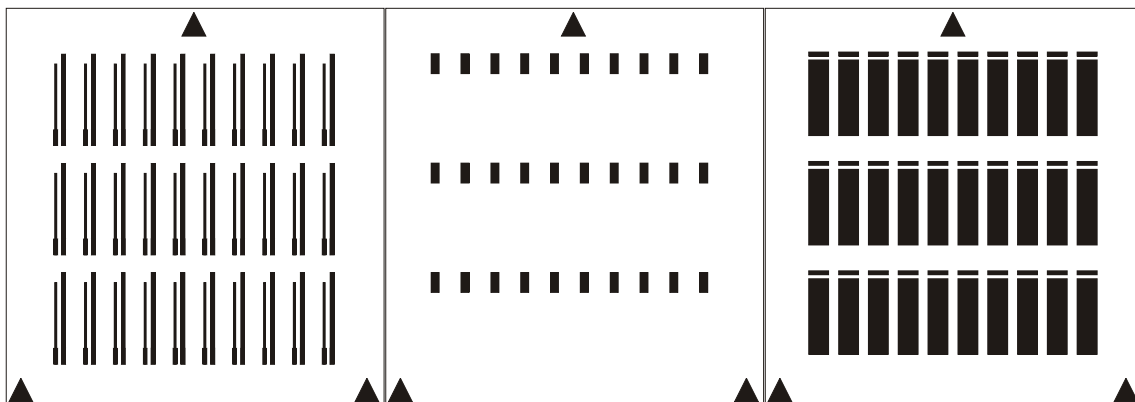


Figura 3.3. Diseño de impresión de transductores electroquímicos en configuración a dos electrodos. Izquierda: pistas de Ag/AgCl (electrodo de referencia y contactos). Centro: pistas de grafito (electrodo de trabajo). Derecha: Encapsulante (dieléctrico).

Para la fabricación de los dispositivos se empleó un equipo manual de impresión y pantallas de 90 hilos. Las pastas fueron aplicadas con la ayuda de un rasero de poliuretano. Para la impresión del electrodo de referencia se utilizó la pasta serigráfica comercial Electrodag 7019; dicha pasta esta constituida por una resina vinílica cargada con Ag y AgCl. El curado fue realizado a 40 °C por al menos 30 minutos. Posteriormente, para la fabricación del transductor, se empleó una pasta comercial de grafito con un

proceso de curado igual al anterior. Por último, se aplicó una resina dieléctrica fotocurable dejando bajo exposición directa a iluminación solar por una hora. Los sensores electroquímicos terminados se pueden apreciar en la figura 3.4.



Figura 3.4. Sensores electroquímicos en configuración plana.

3.2.1 Instrumentación

Para los estudios en celda convencional se utilizó un electrodo de referencia de doble camisa de Ag/AgCl Orion 90200 los cuales deben permanecer hidratados para su óptimo funcionamiento (Fig. 3.5); como electrodo de trabajo uno de carbón vítreo BAS (Fig. 3.6) y como electrodo auxiliar un electrodo de anillo de platino METHROM (Fig. 3.7).



Figura 3.5. Electrodo de referencia utilizados. Izquierda: hidratación previa a su uso.

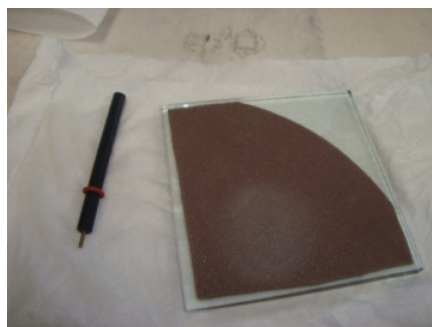


Figura 3.6. Electrodo de carbón vítreo



Figura 3.7 Electrodo de anillo de platino.

Para los sensores en configuración plana la celda electroquímica se constituyó por un electrodo de referencia de Ag/AgCl (1x3 mm), un electrodo de trabajo de grafito (2x3 mm) y un electrodo auxiliar de 4x3 mm (Fig. 3.4).

Los registros cronoamperométricos fueron obtenidos mediante un amperímetro BAS LC-4C y el equipo desarrollado en régimen convectivo por agitación magnética (Fig. 3.8).



Figura 3.8. Agitador magnético.

Con los electrodos y la solución preparados, en un soporte son colocados los tres electrodos y sumergidos ligeramente en la solución. Los electrodos se conectan al nanoampérmetro o ampérmetro comercial y se realizan las medidas respectivas (Fig. 3.9).

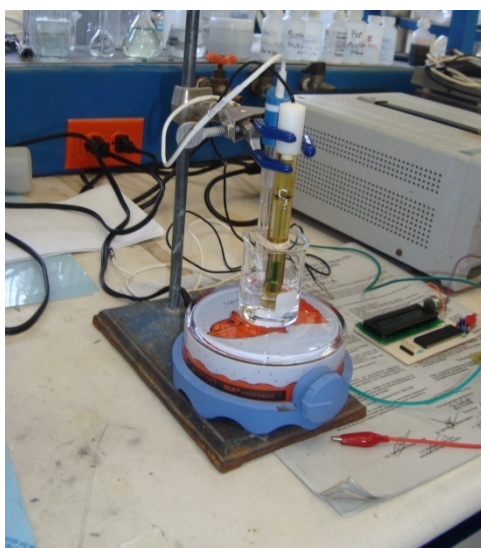


Figura 3.9. Celda de trabajo con los tres electrodos y el agitador magnético.

Una vez conectados los electrodos, se enciende el nanoampérmetro y se espera el tiempo suficiente para que se estabilice la lectura (3 minutos aproximadamente) y obtener mejores resultados. Es el mismo proceso para el amperímetro comercial del laboratorio de química (Fig. 3.10).

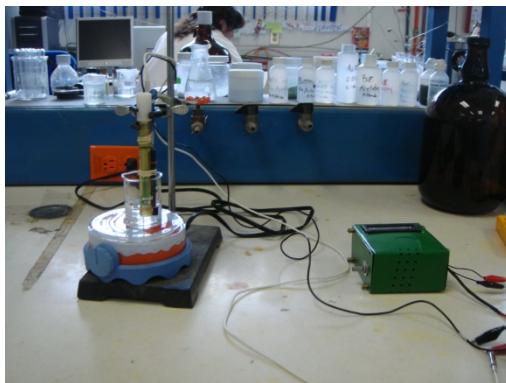


Figura 3.10. Electrodos conectados al nanoampérmetro desarrollado

Enseguida de que el nanoampérmetro se ha estabilizado, se agregan sucesivamente 20 μL de la solución de ferrocianuro 10 mM; en la pantalla LCD del nanoampérmetro se visualiza la corriente detectada en nA (Fig. 3.11).



Figura 3.11 Visualización de la corriente en nA.

Al agregar lentamente las adiciones de ferrocianuro se observan los cambios y se toma nota del desempeño del equipo desarrollado.

Después de ejecutar series de pruebas con el nanoampérmetro, se sigue la misma metodología para el amperímetro BAS LC-4C, se conectan los electrodos a este equipo, y

ahora se evalúa el desempeño del nanoampérmetro contra el equipo comercial BAS LC-4C (Fig 3.12).



Figura 3.12. Detector amperométrico BAS LC-4C de laboratorio de electroquímica.

4. Resultados y Conclusiones

4.1 Resultados

Para evaluar el comportamiento del nanoampérmetro, se obtuvieron registros cronoamperométricos haciendo adiciones sucesivas de ferrocianuro (Figura. 4.1). Dichos registros fueron obtenidos también con el equipo comercial LC-4C. En ambos casos se utilizaron el electrodo de trabajo de carbón vítreo (Figura 4.1).

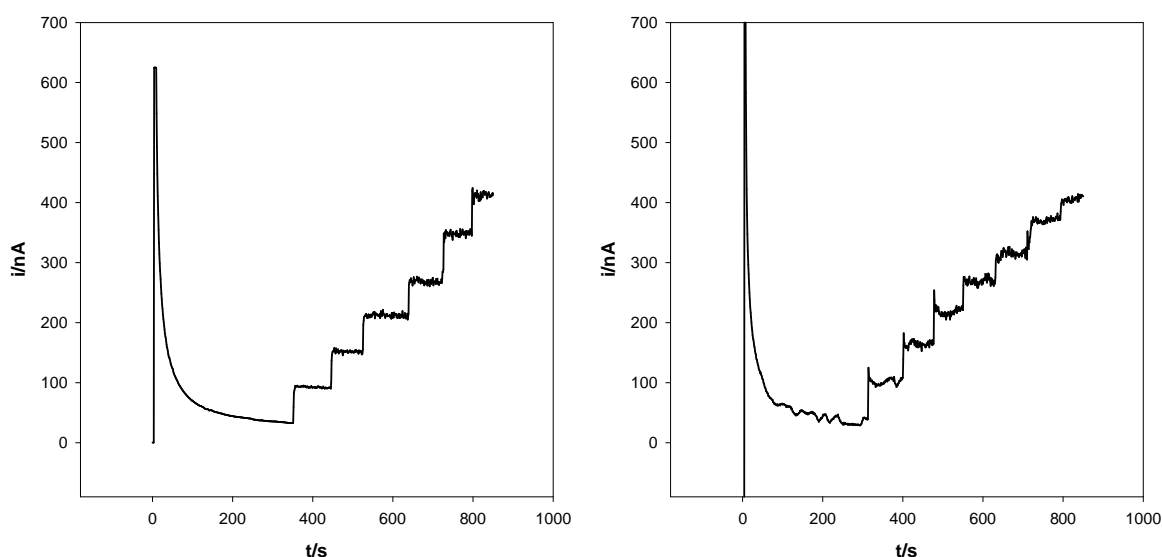


Figura 4.1. Registros cronoamperométricos para adiciones sucesivas de $20 \mu\text{L}$ de ferrocianuro de potasio 10 mM a 20 mL de buffer de fosfatos 0.1 M en $\text{NaCl } 0.1 \text{ M}$ $\text{pH} = 7.0$. Izquierda LC-4C. Derecha equipo desarrollado.

Como puede observarse, aunque ambos equipos registran corrientes similares, el instrumento desarrollado presenta mayor ruido. Este hecho puede resolverse en futuras versiones incorporando un filtro más eficiente que el de 1.5 Hz diseñado originalmente. Es importante mencionar que los registros del equipo comercial se obtuvieron con un filtro de 0.1 Hz .

A partir de las mesetas obtenidas después de cada adición, es posible obtener el promedio de corriente; así como su porcentaje de desviación estándar relativa. A partir de estos resultados se construyeron las respectivas curvas de calibración (Figura. 4.2 y Tabla 4.1).

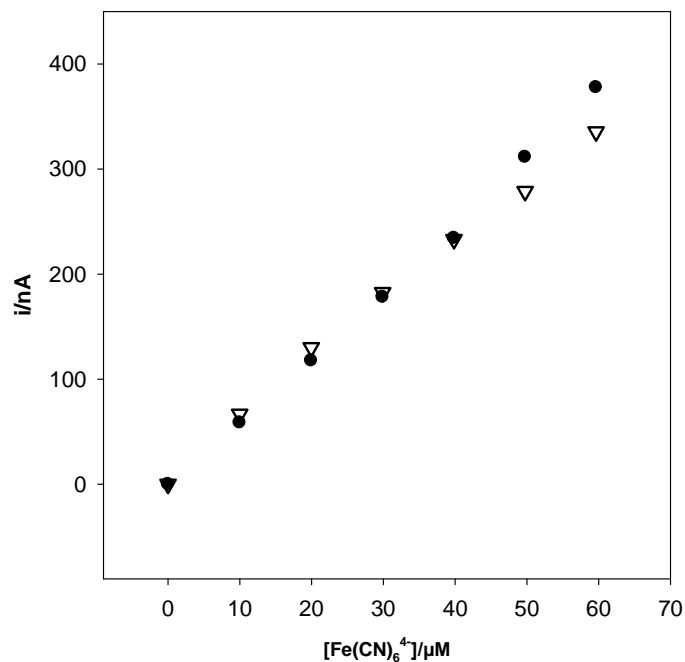


Figura 4.2. Curvas de calibración de ferrocianuro de potasio, obtenidas a partir de los registros cronoamperométricos mostrados en la figura 4.1.

Tabla 4.1. Resultados de registros cronoamperométricos (Fig. 4.1).

Ferrocianuro (μM)	Equipo comercial LC-4C			Equipo desarrollado		
	i (nA)	ds	%dsr	i (nA)	ds	%dsr
0.00	34.4	1.0	2.9	33.8	4.6	13.5
9.99	93.0	1.0	1.1	100.5	4.2	4.2
19.96	152.1	2.1	1.4	163.8	4.6	2.8
29.91	212.6	2.8	1.3	216.3	5.7	2.6
39.84	268.8	3.7	1.4	266.7	7.9	2.9
49.75	345.8	11.8	3.4	312.5	10.1	3.2
59.64	412.1	4.4	1.1	369.2	3.9	1.1

Conforme a los resultados mostrados anteriormente, es posible comprobar el buen desempeño del nanoampérmetro desarrollado; ya que en términos de corriente y desviación estándar es muy similar a su contraparte comercial.

Con la finalidad de comprobar el buen desempeño del nanompérmetro, se obtuvieron registros cronoamperométricos con los sensores electroquímicos en configuración plana; mismos que son la base del biosensor amperométricos de colesterol. Cabe destacar que

el orden de corrientes obtenidas es equivalente al registrado por dichos biosensores y que los gráficos se obtienen para una sola concentración en virtud del carácter desechable de los dispositivos electroquímicos. Los resultados obtenidos con tres sensores diferentes se presentan en la figura 4.3 para ambos equipos.

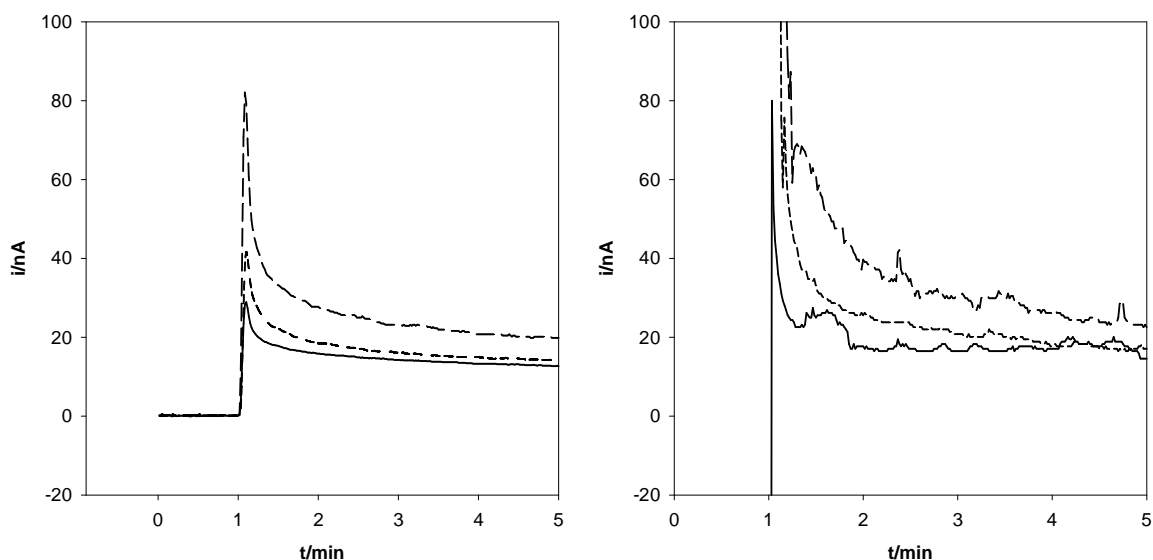


Figura 4.3. Registros cronoamperométricos para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio $9.99 \mu\text{M}$ en buffer de fosfatos 0.1 M en $\text{NaCl } 0.1 \text{ M}$ $\text{pH} = 7.0$. Izquierda LC-4C. Derecha equipo desarrollado.

En la figura 4.3 se puede observar que el comportamiento de ambos equipos es similar, aunque la estabilidad de la respuesta es menor que con el electrodo de carbón de carbón vítreo. Asimismo, es notable el mayor ruido registrado por el equipo desarrollado; mismo que se eliminará en futuras versiones con un circuito adicional de filtrado de la señal.

En cuanto a la magnitud promedio de la corriente obtenida a partir de los tres sensores en cada caso, se presenta mayor corriente en el equipo desarrollado; muy probablemente debido al filtro de 0.1 Hz del LC-4C (Fig. 4.4).

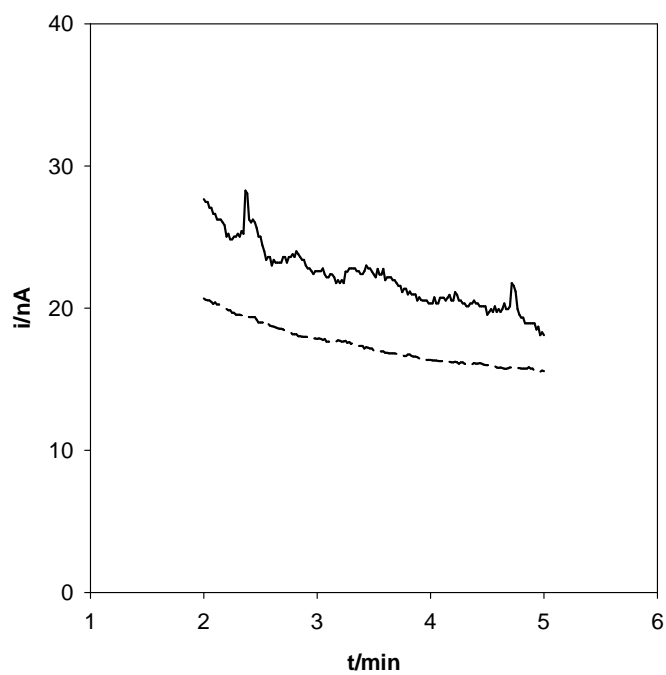


Figura 4.4. Registros cronoamperométricos promedio para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio $9.99 \mu\text{M}$ en buffer de fosfatos 0.1 M en $\text{NaCl } 0.1 \text{ M}$ $\text{pH} = 7.0$. Abajo LC-4C. Arriba equipo desarrollado.

4.2 Conclusiones

Cada serie de pruebas, permitió evaluar constantemente el desempeño del nanoampérmetro, y realizar las modificaciones respectivas, corregir operaciones, revisar las configuraciones de los amplificadores, para mejorar los resultados. En cada una de las gráficas se observa que el nanoampérmetro a pesar de contar con componentes de bajo costo, logra alcanzar resultados que entregan lo detectores amperométricos comerciales como el BAS LC- 4C.

El primer objetivo consiste en el diseño y construcción del nanoampérmetro y de aquí se concluye que el equipo diseñado es capaz de medir resistencias en $M\Omega$, con base en estos resultados se realizaron las pruebas con una celda electroquímica obteniendo resultados muy favorables, logrando de esta manera evaluar el funcionamiento del nanoampérmetro mediante una celda electroquímica de prueba, la sensibilidad del equipo, en la detección de corriente, se vio en cada resultado, hubo datos en unidades de pA ($10^{-15}A$). Dando muestra de la calidad de detección con la que cuenta el equipo, a un muy bajo costo en comparación con equipos como el BAS LC- 4C, del Laboratorio de Electroquímica

El nivel de corrientes medidas con eficiencia por parte de la instrumentación desarrollada, es totalmente compatible para su integración con los biosensores electroquímicos de colesterol que paralelamente a la realización de este trabajo, están en su etapa final de desarrollo. Así, el presente trabajo es un paso importante para constituir un sistema total de análisis portátil y económico de utilidad para cuantificar especies de interés biomédico e incluso medioambiental.

La parte química y experimental de esta tesis no habría sido posible sin la dirección del Dr. Carlos Andrés Galán Vidal investigador del Centro de Investigaciones Químicas de la UAEH.

4.3 Proyectos a futuro

No obstante el importante avance conseguido con la realización de este trabajo, quedan pendientes algunas actividades para capitalizar los resultados; entre ellas podemos listar las siguientes:

- Incorporar un sistema de filtrado de la señal de salida para minimizar el ruido.
- Programar el microcontrolador para desplegar en pantalla la concentración del analito.
- Miniaturizar el equipo.
- Integrar el biosensor de colesterol
- Evaluar el equipo en el análisis de campo (hogar y consultorio médico)
- Integrar otros biosensores para cuantificar otras especies de interés (glucosa, triglicéridos, etc.)
- Integrar otros sensores para cuantificar otras especies de interés medioambiental (metales pesados, pesticidas, fenoles, etc.).

5. APÉNDICE

Los apéndices referidos en el escrito se encuentran disponibles en el CD-ROM anexo a este documento.

6. GLOSARIO

Analito. En química analítica un analito es el componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra.

Ánodo. Se denomina ánodo al electrodo positivo de una célula electrolítica hacia el que se dirigen los iones negativos dentro del electrolito

Catalizador. (Enzima) en química, a la sustancia que, en un proceso llamado catálisis, modifica la velocidad de una reacción química.

Cátodo. Se denomina cátodo al electrodo negativo de una célula electrolítica.

Compósito. Es cualquier material constituido por más de un componente.

Corriente eléctrica. La corriente o intensidad eléctrica es el flujo de carga por unidad de tiempo que recorre un material.

Electrodo auxiliar o contraelectrodo. Es un conductor que completa el circuito de la celda. En celdas de laboratorio es generalmente un conductor inerte como platino o grafito. En pruebas de campo es generalmente otra pieza de material del electrodo de trabajo.

Electrodo de referencia. Es usado en la medición del potencial del electrodo de trabajo. Un electrodo de referencia puede tener un potencial electroquímico constante tan grande como la corriente fluya a través de él.

Electrodo de trabajo. El electrodo donde el potencial es controlado y donde la corriente es medida. Muchas veces es de un material inerte tal como, oro, platino o carbón vítreo.

Electrómetro. Nombre dado a diversos aparatos que miden magnitudes eléctricas, en especial, aparato electroestático que sirve para medir diferencias de potencial o de cargas eléctricas.

Enzima. Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sea termodinámicamente posible

Espectrómetro. El espectrómetro, o espectrógrafo, es un aparato capaz de analizar el espectro

característico de un movimiento ondulatorio.

Filtro. Un filtro eléctrico o filtro electrónico es un elemento que discrimina una determinada frecuencia o gama de frecuencias de una señal eléctrica que pasa a través de él, pudiendo modificar tanto su amplitud como su fase.

Gravimetría. Un método analítico cuantitativo para determinar la cantidad de una sustancia midiendo su peso.

Potenciometría. La potenciometría es una técnica electroanalítica con la que se puede determinar la concentración de una especie electroactiva en una disolución empleando un electrodo de referencia (un electrodo con un potencial constante con el tiempo y conocido) y un electrodo de trabajo (un electrodo sensible a la especie electroactiva).

Química analítica. Estudia los métodos para determinar la composición de las sustancias, tanto en lo que se refiere en la naturaleza de los constituyentes (cualitativa) como la cantidad (cuantitativa).

Redisolución. Acción y efecto de volver a disolverse un compuesto que se había depositado o precipitado.

Redox. Reducción-oxidación son las reacciones de transferencia de electrones. Esta transferencia se produce entre un conjunto de elementos químicos, uno oxidante y uno reductor (una forma reducida y una forma oxidada respectivamente).

Sustrato. El compuesto químico que se transforma en un producto en una reacción enzimática.

Volumetría. Determina la concentración desconocida de un reactivo conocido. Debido a que las medidas de volumen juegan un papel fundamental en las titulaciones, se le conoce también como *análisis volumétrico*.

7. REFERENCIAS

- [1] J. O. M. A. K. N. R. Bockris, "Modern electrochemistry," vol. 2, A ed Plenum/Rosetta, 1977.
- [2] "Fundamentals of Analytical Chemistry," 7th edición ed. Harcourt Brace College, Ed. 1995.
- [3] Joseph Wang, "Analytical Electrochemistry," 2000, pp. 171-183.
- [4] José Manuel Pingarrón Carrazón / Ángel Julio Reviejo García, "Biosensores Electroquímicos para la Determinación de Colesterol en Alimentos," 2010.
- [5] G.A.Rechnitz, "*Electroanalysis*," 1991, pp. 73-76.
- [6] F. L. R. Bard A.J., "Electrochemical methods," in *Fundamentals and Applications* 2001, pp. 650-676.
- [7] Gamry Instruments, "Potentiostat Primer," http://www.gamry.com/App_Notes/Potentiostat_Primer.htm, 2010.
- [8] Glenn Brown, "Química cuantitativa," 1977, p. 430.
- [9] Bard, A.J.; Faulkner, L.R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. New York: John Wiley & Sons, 2nd Edition, 2000 [ISBN 0-471-40521-3](https://doi.org/10.1002/9780471405213).
- [10] "Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 14 de enero de 1999. "Oct.2002.
- [11] "Ampémetro," <http://es.wikipedia.org/wiki/Amper%C3%ADmetro,2010>.
- [12] J.M Costa, "Diccionario de Química Física," 2000.
- [13] H. SUGIUCHI, "Metodos para Cuantificacion Fraccionada de Colesterol en Lipoproteinas y Reactivos de Cuantificacion." 2000.
- [14] I. Copyright © Bioanalytical Systems, "LC-4C Amperometric Detector," 10 A.D<http://www.basinc.com/products/ec/lc4c.html>.
- [15] Michael Faraday, " "On Electrical Decomposition", *Philosophical Transactions of the Royal Society*," 1834.
- [16] Franco Sergio, "Design with Operational Amplifiers and Analog Integrated Circuits," , third edition ed 2002.

[17] Cogdell J.R., *Fundamentos de Electrónica*, Pearson Educación ed 2000, pp. 247-249.

[18] R. F. Coughlin and F. F. Driscoll, *Operational Amplifiers and Linear Integrated Circuits*, 6 ed 2004.

[19] Texas Instruments, "Op Amps for Everyone,". Mancini Ron, Ed. 2002.

[20] Scherz Paul, "Practical Electronics for Inventors,". McGraw- Hill, Ed. 2000, p. 224.