



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS

**“DISEÑO DE UN BIOSENSOR DE FIBRA
ÓPTICA CON SOL-GEL, UTILIZANDO LA
ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE),
PARA DETECTAR PESTICIDAS
ORGANOFOSFORADOS (OP) EN AGUA.”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
DESARROLLO SUSTENTABLE Y GESTIÓN
DE RIESGOS**

PRESENTA:

VERÓNICA YAZMÍN JUÁREZ LÓPEZ

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, octubre de 2025



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

**“DISEÑO DE UN BIOSENSOR DE FIBRA
ÓPTICA CON SOL-GEL, UTILIZANDO LA
ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE),
PARA DETECTAR PESTICIDAS
ORGANOFOSFORADOS (OP) EN AGUA.”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
DESARROLLO SUSTENTABLE Y GESTIÓN
DE RIESGOS**

PRESENTA:

ING. VERÓNICA YAZMÍN JUÁREZ LÓPEZ

DIRECTOR:

DR. HUGO ALEJANDRO NÁJERA AGUILAR

CO-DIRECTOR:

DR. RUBÉN ALEJANDRO VÁZQUEZ SÁNCHEZ

ASESORES:

**MTRO. ULISES GONZÁLEZ VÁZQUEZ
DR. HEBER VILCHIS BRAVO**

REVISORES:

**DR. JOSE MANUEL GÓMEZ RAMOS
DR. ROBERTO HORACIO ALBORES ARZATE**

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, octubre de 2025.



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

SECRETARÍA ACADÉMICA

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 21 de octubre de 2025

Oficio No. SA/DIP/1263/2025

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

C. Verónica Yazmín Juárez López

CVU: 1228537

Candidata al Grado de Maestra en Ciencias en

Desarrollo Sustentable y Gestión de Riesgos

Facultad de Ingeniería

UNICACH

Presente

Con fundamento en la opinión favorable emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado **DISEÑO DE UN BIOSENSOR DE FIBRA OPTICA CON SOL-GEL, UTILIZANDO LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE), PARA DETECTAR PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS (OP) EN AGUA** y como Director de tesis el Dr. Hugo Alejandro Nájera Aguilar (CVU: 83503) quien avala el cumplimiento de los criterios metodológicos y de contenido; esta Dirección a mi cargo autoriza la impresión del documento en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Maestra en Ciencias en Desarrollo Sustentable y Gestión de Riesgos**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento, así como entregar en esta Dirección una copia de la *Constancia de Entrega de Documento Recepcional* que expide el Centro Universitario de Información y Documentación (CUID) de esta Casa de estudios, en sustitución al ejemplar empastado.

Atentamente
"Por la Cultura de mi Raza"

Dra. Dulce Karol Ramírez López
DIRECTORA



C.c.p. Dr. Segundo Jordán Orantes Alborez, Director de la Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Dr. Ángel Estrada Martínez, Coordinador del Posgrado, Facultad de Ingeniería, UNICACH. Para su conocimiento.
Archivo/minutario.

EPL/DKRL/iga/gr



2025, Año de la mujer indígena
Año de Rosario Castellanos

Ilustración: Nue Zenteno



Ciudad Universitaria, libramiento norte
poniente 1150, col. Lajas Maciel C.P. 29039.
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
investigacionyposgrado@unicach.mx

Dedicatoria

A Dios primeramente por la oportunidad de vivir esta experiencia y darme la fortaleza necesaria para culminar.

A mis padres Gustavo y Guadalupe que son pieza fundamental en todos los sentidos de mi vida y que han sido mi motor a seguir. A mi abuelita (mamá pita) Guadalupe quien es una gran inspiración para seguir superándome como persona y académicamente.

A mis hermanas Ale y Eliza, por su compañía, paciencia y apoyo, que sin darse cuenta son parte de cada logro en mi vida.

Agradecimientos

Agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el apoyo otorgado a través de la Beca en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) ciclo escolar 2022-2024 para realizar la Maestría en Ciencias en Desarrollo Sustentable y Gestión en Riesgos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH).

Agradezco al Dr. Rubén, quien es el director de este proyecto de investigación por el apoyo incondicional para iniciar y culminar este proyecto.

Al laboratorio de Sensores del Programa Educativo de Ingeniería Ambiental, lugar clave para llevar a cabo la investigación brindando facilidades al momento de usar los equipos. Así como a la Ingenieras encargadas del laboratorio del Programa Educativo de Ingeniería Ambiental por facilitarme los materiales y herramientas necesarias.

Al Dr. Arturo Carrillo y a la Ing. Vianey por la atención brindada y el apoyo durante el tiempo de la Maestría.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
I INTRODUCCIÓN	3
II ANTECEDENTES.....	8
III MARCO TEÓRICO	10
3.1 CONTAMINANTES EN EL AGUA	10
3.2 PESTICIDA	10
3.2.1 <i>Clasificación química de los pesticidas</i>	11
3.3 PESTICIDA ORGANOFOSFORADO	12
3.4 ENZIMA ACETILCOLINESTERASA	13
3.5 INHIBIDORES DE LA ACETILCOLINESTERASA	13
3.6 INMOVILIZACIÓN DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA POR SOL-GEL	14
3.7 FIBRA ÓPTICA	14
3.8 SENSOR	15
3.9 BIOSENSOR	15
3.10 SOL-GEL.....	18
3.10.1 <i>Etapas del proceso sol-gel</i>	20
3.10.2 <i>Precursores</i>	23
3.11 APLICACIONES DEL SOL-GEL	24
3.12 DEPÓSITO DE SOL-GEL	24
3.12.1 <i>Rotacional (Spin coating)</i>	24
3.12.2 <i>Inmersión (Dip coating)</i>	26
3.12.3 <i>Aspersión (Spray)</i>	27
3.12.4 <i>Pantalla o serigrafía (Screen)</i>	28
IV OBJETIVOS	29
4.1 OBJETIVO	29
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
V HIPÓTESIS.....	29
VI METODOLOGÍA.....	30
6.1 SOLUCIÓN SOL-GEL.....	32
6.1.1 <i>Tratamiento con ácido fluorhídrico a la fibra óptica</i>	33
6.2 PREPARACIÓN DE LA ACHE	34
6.3 DEPÓSITO DE SOL-GEL CON LA ENZIMA ACHE EN LA FIBRA ÓPTICA.....	35
6.4 PRUEBAS CON PESTICIDA ORGANOFOSFORADO.....	36
VII RESULTADOS	38
7.1 FORMACIÓN DE MATRIZ SOL-GEL.....	38
7.2 TRATAMIENTO DE LA FIBRA ÓPTICA CON ÁCIDO FLUORHÍDRICO	39
7.3 PRUEBA DE FIBRA ÓPTICA CON EL PESTICIDA DIAZINON	40
7.4 PRUEBA DE FIBRA ÓPTICA CON SOL-GEL Y PESTICIDA DIAZINON	41
7.5 GRÁFICA COMPARATIVA DE FIBRA Y SOL-GEL CON ENZIMA ACHE COMO DETECTOR VS FIBRA CON SOL-GEL SIN ENZIMA ACHE 1 CAPA.	42
7.6 FIBRA Y SOL-GEL CON ENZIMA ACHE COMO DETECTOR VS FIBRA CON SOL-GEL SIN ENZIMA ACHE 2 CAPAS.	43

VIII DISCUSIÓN DE RESULTADOS 45

IX CONCLUSIONES 48

X BIBLIOGRAFÍA 50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura básica de la fibra óptica (Rendón, 2012)	15
Figura 2. Representación esquemática de un Biosensor (Torres y Méndez, 2014).	16
Figura 3. Etapas del sol-gel (Borrell, 2018).....	19
Figura 4. Representación del proceso de depósito de películas por el método de rotación (Ramírez, 2009).	25
Figura 5. Representación del proceso de depósito de películas por el método de inmersión (Segura, 2019).	27
Figura 6. Representación del proceso de depósito de películas por el método de aspersion (Segura, 2019).	27
Figura 7. Representación del proceso de depósito de películas por el método de pantalla (Kreps 2009, como se menciona en Baño, 2017).	28
Figura 8. Arreglo experimental por transmisión.	30
Figura 9. Diagrama del arreglo experimental.	31
Figura 10. Cortadora de fibra.....	31
Figura 11. Empalmadora de fibra óptica.....	31
Figura 12. Preparación de la solución sol-gel.	33
Figura 13. Eliminación del recubrimiento en la fibra óptica.	34
Figura 14. Tratamiento de la fibra óptica.	34
Figura 15. Trizma hydrochloride y base trizma.	35
Figura 16. Depósito de sol-gel en la fibra óptica.	36
Figura 17. Prueba del biosensor con pesticida.	37
Figura 18. Matriz sol-gel, 1 inmersión.	38
Figura 19. Matriz sol-gel, 2 inmersiones.	38
Figura 20. Matriz sol-gel, 2 inmersiones.	39
Figura 21. Disminución del diámetro de la fibra óptica.....	40
Figura 22. Gráfica de señal de potencia óptica de fibra óptica con pesticida diazinón.	41
Figura 23. Gráfica de señal de potencia óptica de fibra óptica con sol-gel y pesticida diazinón.	42
Figura 24. Gráfica comparativa.	43
Figura 25. Gráfica comparativa.	44
Figura 26. Gráfica comparativa en 4 condiciones del biosensor.	46
Figura 27. Gráfica del biosensor con tres capas de sol-gel.	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales para hacer solución sol-gel.....	32
Tabla 2. Determinación del pesticida a utilizar.....	36

RESUMEN

Es necesario el desarrollo de dispositivos y técnicas que permitan detectar pesticidas en agua, para asegurar su consumo, por lo que en este trabajo de investigación presentamos un Biosensor de fibra óptica con sol-gel, para inmovilización de la enzima Acetilcolinesterasa, utilizando un arreglo experimental que consiste de fibra óptica, un diodo como fuente de luz, dispositivo para depositar capas de sol-gel, equipo de medición de potencia óptica y una computadora. El proceso consistió en retirar el recubrimiento de la punta de una fibra óptica, una zona de aproximadamente 1 cm que es la parte sensora dando tratamiento de ácido fluorhídrico. Esta zona que es la parte sensora se recubre con la enzima Acetilcolinesterasa aplicando la técnica sol-gel. Se hicieron pruebas a 10 ppm, 20 ppm y 30 ppm del pesticida diazinon y se evaluaron a 1, 2 y 3 capas de acetilcolinesterasa en la fibra óptica. Los resultados muestran buena respuesta cuando el biosensor consta de una fibra con 2 capas.

Palabras claves: Acetilcolinesterasa, biosensor, fibra óptica, pesticida, sol-gel.

ABSTRACT

It is necessary to develop devices and techniques that allow the detection of pesticides in water to ensure its consumption, so in this research we present a sol-gel fiber optic biosensor for immobilization of the enzyme Acetylcholinesterase, using an experimental setup consisting of optical fiber, a diode as a light source, a device to deposit sol-gel layers, optical power measuring equipment and a computer. The process consisted of removing the coating from the tip of an optical fiber, an area of approximately 1 cm which is the sensing part giving hydrofluoric acid treatment. This area, which is the sensing part, is coated with the enzyme Acetylcholinesterase applying the sol-gel technique. Tests were carried out at 10 ppm, 20 ppm and 30 ppm of the pesticide diazinon and were evaluated at 1, 2 and 3 layers of acetylcholinesterase in the optical fiber. The results show a good response when the biosensor consists of a fiber with 2 layers.

Keywords: Acetylcholinesterase, biosensor, optical fiber, pesticide, sol-gel.

I INTRODUCCIÓN

La población humana en crecimiento exponencial, con recursos limitados, ha ejercido una intensa presión sobre el sector agrícola, que, con el fin de lograr una alta productividad, el uso de pesticidas se ha multiplicado por muchos (Dhull, et al., 2013).

Las aguas superficiales y especialmente las subterráneas ubicadas en áreas de agricultura intensiva son más vulnerables a la contaminación por pesticidas, lo cual es una gran preocupación si el agua se destina al consumo humano (Herrero, et al., 2013). Algunos de estos pesticidas contienen compuestos tóxicos organofosforados (OP) que inhiben de forma irreversible la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en el cuerpo humano y en los animales, lo que provoca una interferencia con la acción de los órganos vitales y, en ocasiones, parálisis respiratoria y/o muerte.

Ramírez (2018) menciona que los elementos que contienen los pesticidas dentro de su estructura química al ser aplicados continuamente y en forma excesiva a los cultivos, llegan a generar un impacto dentro de un ecosistema y los componentes tóxicos pueden movilizarse a grandes distancias como residuos volátiles que pasan a la atmósfera y regresan con la lluvia hacia nuevas áreas o a través del suelo (escorrentía, lixiviación o lavado) por medio del agua de riego y lluvia para contaminar fuentes de agua tanto superficial (ríos, lagos y mares) como subterránea.

Si bien se reconoce que los pesticidas han contribuido a la producción agraria a nivel mundial permitiendo disponibilidad a ciertos alimentos y como menciona Martínez et al. (2005) incrementándose el rendimiento de las cosechas elevando la calidad de los alimentos, este progreso ha suministrado una gran cantidad de sustancias químicas de alta agresividad contra los organismos dañinos pero cuyos efectos sobre el hombre y

equilibrio del ecosistema continúan siendo debatidos (Ferrer, 2003). Así que, en este caso, son parte del espectro más amplio de productos químicos industriales utilizados en la sociedad moderna por las grandes compañías del mundo como forma de recurso económico (Campos, 2020).

Ahora bien, pese a los beneficios sobre el rendimiento de los cultivos, el consumo de alimentos y agua contaminados con estos pesticidas produce efectos negativos para la salud debido a su neurotoxicidad. La Agencia de Protección Ambiental (EPA, siglas en inglés) enumera los organofosforados como altamente tóxicos para las abejas, la vida silvestre y los humanos (Mulchandani, et al., 2001).

Estos se pueden clasificar por sus características principales, una de ellas es por su clasificación química, como los carbamatos, organofosforados piretroides y neonicotinoides, siendo estos los más comunes utilizadas en la agricultura y el control de plagas (Garud, et al., 2024).

Actualmente los pesticidas organofosforados (OP) siguen siendo un problema de salud mundial debido a su intoxicación aguda o crónica y su uso generalizado en la agricultura en todo el mundo. (Maanaki et al., 2023).

La intoxicación aguda por organofosforados constituye un problema de salud pública, ya que en la actualidad estos productos tienen una amplia aplicación como pesticidas en las zonas agrícolas, provocando la muerte de cientos de personas al año por la exposición ocupacional, accidental o intencional, en su mayoría trabajadores agrícolas, por el uso inadecuado del equipo de protección como la vestimenta y la maquinaria para la realización de estas labores (Saborio et al, 2019).

Jiménez y León (2009), mencionan que el análisis de la mayoría de los contaminantes químicos implica no solo mecanismos invasivos, sino complejas etapas de tratamiento y

procesamiento de la muestra, con técnicas instrumentales de alto costo, mientras que los controles microbiológicos están sujetos a procedimientos en el tiempo y obtiene resultados, en algunos casos, cuando el alimento ya se ha consumido. El coste y el tiempo que hay que invertir en este tipo de determinaciones han hecho que numerosos científicos desarrollen nuevas tecnologías y mejoren las ya existentes. En este ámbito, el desarrollo y empleo de biosensores se ha multiplicado en los últimos años (Royano, 2020).

Debido a sus excepcionales capacidades de rendimiento, facilidad de operación y trabajo en el sitio, se han desarrollado numerosos biosensores para el biomonitorio de diversas muestras ambientales para la evaluación de pesticidas en todo el mundo. (Morales et al., 2019).

Estos son dispositivos que utilizan un elemento biológico sensible, para obtener información del ambiente que los rodea. Este elemento, conocido como biomediador o biorreceptor, puede estar conformado por organelos celulares, células completas, enzimas, anticuerpos, etc., que tengan la capacidad de cambiar su comportamiento, como reacción a un agente externo (Verma y Bhardwaj, 2015).

La naturaleza de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito constituye el factor determinante para la selección del sistema de transducción, entre estos se destacan los sensores de fibra óptica u optodo, caracterizados por tener inmovilizado en sus extremos el elemento de reconocimiento y el elemento de detección, así mismo la presencia de marcadores que permitan detectar cambios entre el analito y el elemento de reconocimiento y difundirlos a través de la fibra (Jiménez y León, 2009).

Existe la necesidad del desarrollo de métodos y técnicas para la detección de residuos de pesticidas, que esos sean simples, sensibles, de bajo costo de desarrollo, ya que es un tema importante para garantizar la seguridad al momento del consumo de agua y alimentos.

Los biosensores basados en la inhibición de enzimas son herramientas analíticas útiles para la detección rápida de inhibidores, como los organofosforados y los carbamatos (Štěpánková y Vorčáková, 2016).

Los biosensores basados en inhibición (AChE) han surgido como herramientas simples, rápidas y ultrasensibles para el análisis de pesticidas en el monitoreo ambiental, la seguridad alimentaria y el control de calidad (Shekhar et al., 2012).

En el biosensor AChE, el electrodo de trabajo se prepara mediante la unión de la enzima en diferentes soportes. Los soportes pueden ser matrices, electrodos serigrafiados, semiconductores como puntos cuánticos (QD), nanomaterial, etc. (Pundir y Chauhan, 2012).

El sol-gel es uno de los soportes importantes que se pueden utilizar para la inmovilización de enzimas. Este tipo de inmovilización presenta una técnica fácil de realizar y permite una fabricación sencilla del electrodo en el que la enzima, los mediadores y los aditivos pueden colocarse simultáneamente en la misma capa (Štěpánková y Vorčáková, 2016). Las aplicaciones potenciales de los biosensores ópticos sol-gel cubren una amplia gama de analitos y entornos biológicos (Ligler y Rowe, 2002).

Se necesitan herramientas sólidas y desplegables en el campo para la detección in situ de pesticidas OP en alimentos y agua (Maanaki et al., 2023). La tecnología de biodetección cumple estos requisitos y se ha empleado a gran escala para la detección

(Pundir et al., 2019). El uso de sol-gel para desarrollar nuevos biosensores ha recibido gran atención debido a sus características y versatilidad.

Por ello se propone desarrollar un biosensor de fibra óptica basado en la encapsulación por sol-gel de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), utilizado para detectar pesticidas organofosforados (OP) en el agua, donde el principio de detección del biosensor se basa en la inhibición de la enzima por el pesticida organofosforado (OP).

II ANTECEDENTES

En los últimos años, un estímulo clave para el desarrollo de biosensores ópticos ha sido la disponibilidad de fibras y componentes optoelectrónicos de alta calidad. La selectividad del elemento de detección biológica ofrece la oportunidad para el desarrollo de dispositivos altamente específicos para el análisis en tiempo real de mezclas complejas (Velasco y Mottram, 2003).

El primero que se desarrolló fue un sensor enzimático para determinar la concentración de glucosa en sangre, a través de la reacción catalizada por la glucosa oxidasa. Este biosensor fue diseñado por Clark y Lyons en 1962, acoplando la glucosa oxidasa a un electrodo selectivo de oxígeno (Clark y Lyons en 1962, como se citó en Beleño, 2019).

En 1975 el biosensor tuvo una evolución en cuando Divis sugirió que una bacteria podía usarse como elemento de reconocimiento en electrodos microbiales para medir alcohol (Divis, 1995).

En 1994 Dzydevich et al., crearon biosensores conductimétricos basados en colinesterasas para la detección sensible de pesticidas. Se fabricaron microbio sensores conductimétricos desechables basados en la inmovilización de acetil y butirilcolinesterasa (BuChEs) en electrodos interdigitados. Las enzimas se inmovilizaron mediante reticulación con albúmina de suero bovino y se registró la salida diferencial entre el par de electrodos cubiertos con la membrana enzimática y el par cubierto solo con albúmina. Sobre la base de estos biosensores, se desarrolló un ensayo bioquímico para pesticidas en líquidos.

En 2002, Andreescu et al., evaluaron el desempeño analítico de tres biosensores serigrafiados con acetilcolinesterasa (AChE) diseñados para la

detección de pesticidas. La bioencapsulación de la enzima en un compuesto sol-gel y la inmovilización por afinidad de quelato metálico se compararon con el atrapamiento de la enzima en un polímero fotopolimerizable.

Por su parte, Rendón (2012) en su tesis “Biosensor de fibra óptica microestructurada por la técnica sol-gel” presenta 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, eligiendo la fibra óptica por su fácil manejo, inmunidad a interferencia electromagnética, tamaño compacto, y bajo costo. Explora la posibilidad de usar fibra óptica fotónica, rellena con un material sensible a variaciones de pH mediante la técnica sol-gel.

Long et al., (2023) construyeron un sensor electroquímico portátil basado en acetilcolinesterasa (AChE), el cual consistió en un electrodo de carbón serigrafiado (SPCE) y un potenciostato en miniatura para la detección rápida de pesticidas organofosforados (OP) en campo.

Los investigadores han informado que los biosensores enzimáticos basados en AChE son la herramienta más prometedora para el análisis del nivel de pesticidas, para controlar la toxicidad y para la conservación del medio ambiente. (Dhull et al, 2013).

III MARCO TEÓRICO

3.1 Contaminantes en el agua

Un agua está contaminada cuando se ve alterada en su composición o estado, en ocasiones como consecuencia de la actividad humana, quedando menos apta para el uso al que va destinada (Miranda, 2019).

Guadarrama y colaboradores (2016) mencionan algunos de los principales contaminantes:

- Los agentes patógenos: bacterias, virus y parásitos.
- Los desechos que requieren oxígeno: algunos desperdicios pueden ser descompuestos por bacterias que usan oxígeno para biodegradarlos. Cuando existen grandes poblaciones de estas bacterias pueden llegar a agotar el oxígeno del agua, matando toda la vida acuática.

El aumento de la temperatura disminuye la cantidad de oxígeno en el agua, vulnerando la supervivencia de los organismos acuáticos. Cabe mencionar que la industria es una enorme fuente de contaminación del agua, que produce contaminantes que son extremadamente perjudiciales para las personas y para el medio ambiente.

3.2 Pesticida

El término pesticida tiene un significado relativamente amplio, ya que incluye a todas las sustancias capaces de destruir y/o prevenir las acciones de animales, vegetales, hongos, microorganismos o virus susceptibles de causar daños (Trenc, 2001).

Se clasifican en función de algunas de sus características principales, como son la toxicidad aguda, la vida media, la estructura química y su uso (López, 1993 como se menciona en Ramírez y Lacasaña, 2001).

3.2.1 Clasificación química de los pesticidas

Doménech (2004) menciona que de las distintas clasificaciones que se realizan sobre plaguicidas, la de mayor interés sanitario es la correspondiente a su estructura química, ya que ésta determina en gran medida su incidencia en el organismo humano, clasificándolos de la siguiente manera:

- **Organoclorados:** Se utilizan como insecticidas y herbicidas. Son posiblemente los más persistentes y los de peor fama, fundamentalmente por el Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), compuesto prohibido en gran parte del planeta, pero que todavía se utiliza por su eficacia y bajo coste. Otros activos conocidos de este grupo son el lindano, metoxiclor, atracina, aldrin, dieldrin y simazina.
- **Organofosforados:** Fundamentalmente insecticidas, presentan una toxicidad más selectiva que los anteriores y son menos persistentes, por lo que han sustituido en gran parte a aquéllos. Los más conocidos son paratión, malatión, metidatión, fenitrotión o diazinón.
- **Carbamatos:** Utilizados como insecticidas domésticos y agrícolas, herbicidas y fungicidas son menos tóxicos que los anteriores. Pertenecen a este grupo carbofurán, dimetoato, mobán, propoxur, etc.
- **Piretrinas:** Después de los organoclorados, son los menos utilizados en nuestro país. Uno de sus compuestos, el pelitre, es posiblemente el primer insecticida de la historia. Hay piretrinas naturales y sintéticas, estas últimas denominadas

piretroides. Tienen la ventaja de una rápida degradación y escasa acumulación en los organismos.

- Otros compuestos: Hay gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos utilizados como plaguicidas, fundamentalmente como herbicidas y fungicidas, como triazinas, anilinas, derivados de azufre, mercurio y arsénico.

Pueden ingresar al cuerpo de una persona de diferentes maneras, pudiendo ser a través de las vías respiratorias, la boca o piel, y cuya exposición se da en forma de partículas de polvo, agua o vapor (Campos, 2020).

3.3 Pesticida organofosforado

Se encuentran ampliamente extendidos en la actualidad ya que son utilizados tanto en el medio laboral (agrícola y no agrícola) como en el doméstico, en diversas industrias, medicina e incluso como armamento químico (Carod, 2002). Es muy frecuente la intoxicación por estos productos al actuar sobre la enzima acetilcolinesterasa de las terminaciones nerviosas, produciendo la fosforilación de ésta, la pérdida de la función de la enzima conlleva a la acumulación de la acetilcolina en las uniones colinérgicas neuroefectoras, en las uniones mioneuronales del esqueleto y en los ganglios autónomos (produciendo efectos muscarínicos y nicotínicos, respectivamente) y también en el sistema nervioso central (Delgado *et al.*, 2008). Entre los principales insecticidas usados en nuestro país que son altamente tóxicos, se encuentran los organofosforados (OF) como el diazinón y malatión (Valdez, 2007).

3.4 Enzima acetilcolinesterasa

Esta enzima fue descubierta en 1920, y desde entonces, es una de las más estudiadas por sus grandes funciones fisiológicas (catalíticas y no catalíticas), su centro activo y su mecanismo de acción (Estrada, 2020).

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima del grupo de las hidrolasas que está presente en la mayoría de los seres vivos, localizada generalmente en el sistema nervioso y en los músculos. Esta enzima es la responsable de la regulación de la concentración de la acetilcolina (ACh), un neurotransmisor involucrado en la sinapsis colinérgica en el sistema nervioso, que permite la transmisión de la señal nerviosa en el sistema nervioso central y periférico (Yolima, et al., 2016).

Los vertebrados presentan dos tipos de colinesterasas: acetilcolinesterasa o colinesterasa verdadera (AChE) y butirilcolinesterasa (BChE o BuChE), también llamada pseudocolinesterasa, colinesterasa plasmática o sérica (Massoulié y Toutant, 1988, como se cita en López et al., 2018).

3.5 Inhibidores de la acetilcolinesterasa

El estudio de inhibidores de esta enzima es un campo de estudio sumamente importante para el testeo de nuevos compuestos con actividad plaguicida. La mayoría de los principios activos presentes en los pesticidas actuales se basan en la inhibición de esta enzima (Rodriguez, et al., 2018).

Los organofosforados (OP) y los carbamatos tienen una amplia variedad de aplicaciones, más comúnmente como pesticidas, utilizados para erradicar plagas agrícolas o controlar poblaciones de vectores portadores de enfermedades (King y Aaron, 2015). Estos pesticidas son las toxinas más comunes en los alimentos y el agua, debido a su uso

generalizado en la industria agrícola para mantener la salud y el rendimiento de los cultivos en todo el mundo (Maanaki et al., 2023).

Ciertos compuestos organofosforados, conocidos como agentes nerviosos, se han empleado en incidentes de terrorismo y guerra química. Ambas clases inhiben las enzimas acetilcolinesterasa (AChE), lo que provoca una acumulación excesiva de acetilcolina en las terminales nerviosas. Los efectos tóxicos de los OP y los carbamatos difieren con respecto a la reversibilidad y los efectos subagudos y crónicos (King y Aaron, 2015).

3.6 Inmovilización de la enzima acetilcolinesterasa por sol-gel

La inmovilización de enzimas dentro de matrices producidas por el proceso sol-gel es una técnica muy ventajosa, ya que preserva la actividad enzimática y evita la lixiviación de la enzima y pequeñas moléculas de mediadores electrónicos hacia la solución, al contrario de lo que ocurre cuando más frecuentemente, con películas delgadas o membranas que contienen estos mismos materiales inmovilizados (Alfaya y Kubota, 2002).

3.7 Fibra óptica

Una fibra óptica (FO) es una guía de onda dieléctrica cilíndrica a través de la cual se propaga la onda de luz. La FO tiene un núcleo central con índice de refracción n_1 y una capa de recubrimiento exterior llamada cubierta cuyo índice de refracción es n_2 menor a n_1 . El índice de refracción cuantifica la velocidad de propagación de una onda en un medio en relación a la velocidad de la luz en el vacío (González, 2020). La estructura básica de una fibra óptica, tiene un núcleo central, un revestimiento y un recubrimiento externo para proteger y reforzar la fibra.

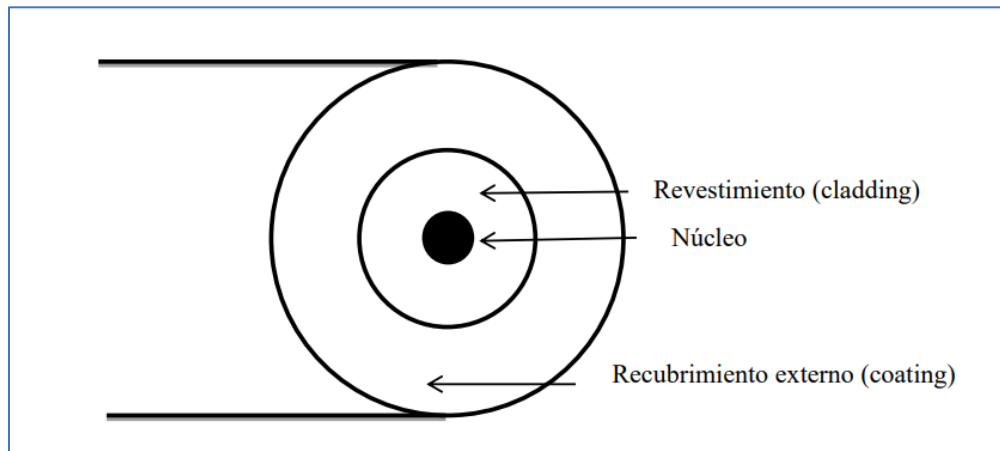


Figura 1 Estructura básica de la fibra óptica (Rendón, 2012)

3.8 **Sensor**

Un sensor es un dispositivo que detecta y mide diferentes tipos de variables físicas o químicas, como la temperatura, la luz, la distancia, la presión, el sonido etc. Las transformaciones en señales eléctricas que pueden ser procesadas y analizadas por otro dispositivo (Ramírez, et al., 2024).

Según Bustamante (2001) los sensores constan de tres partes: una terminal sensible, elemento de reconocimiento del sistema que responde selectivamente a los cambios que se producen en el analito objetivo, un transductor encargado de transformar las variaciones detectadas por el anterior en señales físicas, amplificadas y procesadas a continuación por un sistema electrónico.

3.9 **Biosensor**

Un biosensor es un dispositivo de análisis conformado por un elemento biológico de reconocimiento (célula, tejido, receptor, ácido nucleico, enzima, ribozima o anticuerpo, entre otros), o nanomateriales (nanopartículas, nanocompuestos), materiales inteligentes o compuestos biomiméticos (aptámeros, polímeros de microporosidad intrínseca, sondas de ácidos nucleicos), asociado a un mecanismo que garantiza la detección e

interpretación de la variación de propiedades ópticas, fisicoquímicas, eléctricas, entre otras, obtenida de la interacción entre el analito y el dispositivo analítico (Turner y Newman,1998).

Los elementos biológicos antes mencionados funcionan como elementos de reconocimiento, es decir, entran en contacto directo con el compuesto químico que nos interesa detectar (llamado analito), generando un cambio particular que otro componente del sensor, el elemento transductor, convierte en una señal fácilmente medible. En algunas ocasiones, entre el elemento de reconocimiento y el transductor se establece un tercer componente: una interfase para amplificar más la señal o hacer más estable el dispositivo. En la figura 1 se esquematiza un biosensor con los componentes básicos que lo integran (Torres y Méndez, 2014).

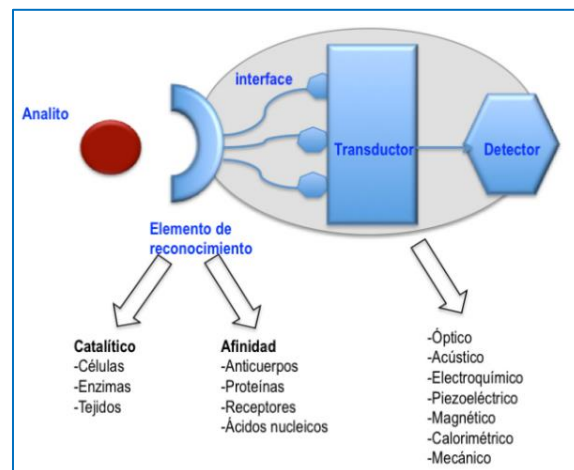


Figura 2. Representación esquemática de un Biosensor (Torres y Méndez, 2014).

Entre los distintos tipos de biosensores destacan aquellos en los que la monitorización del analito se basa en el principio de inhibición enzimática, en los que se mide la actividad antes y después de la inhibición. (Amina, et al., 2006, como se menciona en Marques y Yamanaka, 2008).

Dependiendo del tipo de inhibidor estudiado, así como del proceso de inhibición a seguir, el biosensor puede utilizarse para diversas determinaciones. Si el agente inhibidor realiza un proceso reversible hacia la enzima, el sensor puede ser reutilizado, previo tratamiento específico de la capa biológica inmovilizada, regenerando la capacidad catalítica del biosensor. Si el inhibidor ejerce una inhibición irreversible, el sistema tiene la limitación de utilizar sólo una carga enzimática específica para ser procesada por el sensor, ya que, con la inactivación total de esta carga, el biosensor ya no presenta el proceso analítico a monitorear (Marques y Yamanaka, 2008).

El biosensor óptico basado en enzimas puede ser construido empleando una fibra óptica o un haz de fibras ópticas, como plataforma para el elemento de reconocimiento biológico, y funciona como un transductor para la señal resultante (por ejemplo, absorbancia, quimioluminiscencia, fluorescencia, etc.) (Kulkarni y Karve, 2020).

Marazuela y Moreno (2002) mencionan que las enzimas son los componentes biológicos más utilizados de los biosensores de fibra óptica. Las principales razones son:

- El gran número de reacciones que catalizan.
- La posibilidad de detectar una amplia gama de analitos (sustratos, productos, inhibidores y moduladores de la actividad catalítica).
- Los diferentes principios de transducción que pueden ser utilizado para detectar el analito de interés.

3.10 Sol-gel

El proceso sol-gel parte de una mezcla de alcóxidos, agua y disolvente a la que se agrega un catalizador. Es entonces cuando se desencadenan las reacciones de hidrólisis y condensación que resultan en la formación de una dispersión o suspensión de partículas coloidales discretas (1-100 nm) en una fase líquida llamada Sol (Hench,1990 como se menciona en Salas 2014), donde un sol es una dispersión de partículas coloidales en fase líquida que son suficientemente pequeñas para permanecer suspendidas por movimiento Browniano (González et al., 2000).

Salas (2014), dice que a medida que continúan produciéndose estas reacciones, aumenta la viscosidad de la disolución hasta la formación de una matriz rígida y porosa llamada gel (figura 3). El estado gel se considera esencialmente como una dispersión en la cual las interacciones atractivas entre los elementos que componen la fase dispersa son lo suficientemente fuertes para que la totalidad del sistema se transforme en una estructura rígida, formando un sólido polimérico o coloidal, en función de la fase dispersa. Después de un proceso de secado a temperatura ambiente, se obtiene un gel con un mayor grado de secado, en el que la fracción líquida (disolvente) se ha eliminado en condiciones normales de presión y temperatura (xerogel).

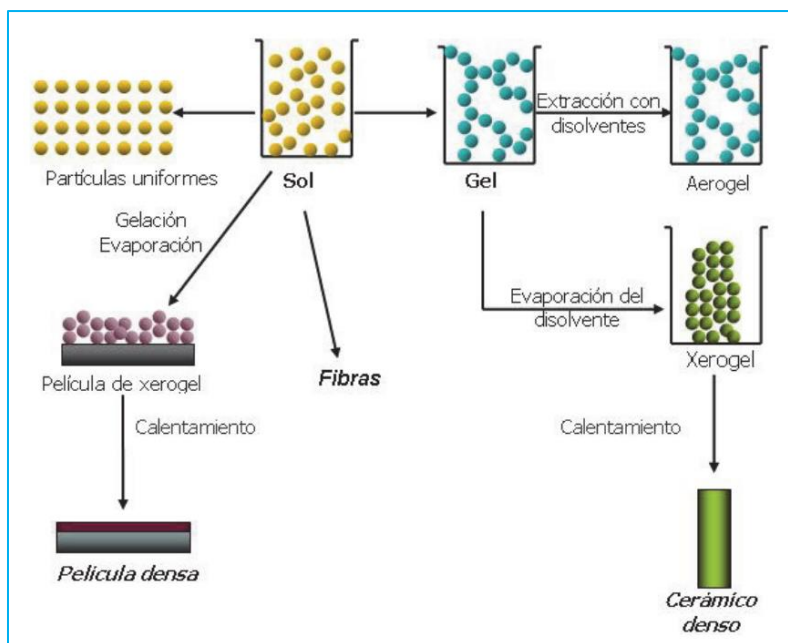


Figura 3. Etapas del sol-gel (Borrell, 2018).

Inicialmente, el proceso sol-gel producía sólidos, vidrios, fibras ópticas, objetos grandes como espejos o lentes formados con precisión a baja temperatura, siendo esto su mayor ventaja comparado con los métodos de obtención tradicionales (Ramírez et al, 2010).

En la actualidad este proceso ha emergido como una plataforma prometedora para la inmovilización, estabilización y el encapsulamiento de moléculas biológicas tales como enzimas, anticuerpos, microorganismos y una gran variedad de fármacos (Salvador, 2013).

Provee una metodología para dirigir y controlar la composición, homogeneidad, microestructura, tamaño de partícula, porosidad, área superficial y grado de dispersión de materiales cerámicos, vítreos y compuestos durante su síntesis a partir de precursores moleculares (Carballo y Galindo, 2001). Se clasifica dentro de los llamados procedimientos suaves de síntesis de materiales, muchas veces con base de óxidos metálico (Ramírez et al., 2010).

Las reacciones en el proceso sol-gel dependen de varios parámetros (Betancourt et al., 2019) por ejemplo:

- Composición y concentración de los precursores (alcóxido y solvente)
- Cantidad de agua adicionada, tipo y concentración del catalizador usado
- Aditivos adicionales como desecantes
- Secuencia en la cual los componentes son adicionados
- Tiempo de mezcla, tiempo de añejamiento
- Condiciones de mezclado (eficiencia de la mezcla, agitación por ultrasonido, atmósfera) y temperatura.

3.10.1 Etapas del proceso sol-gel

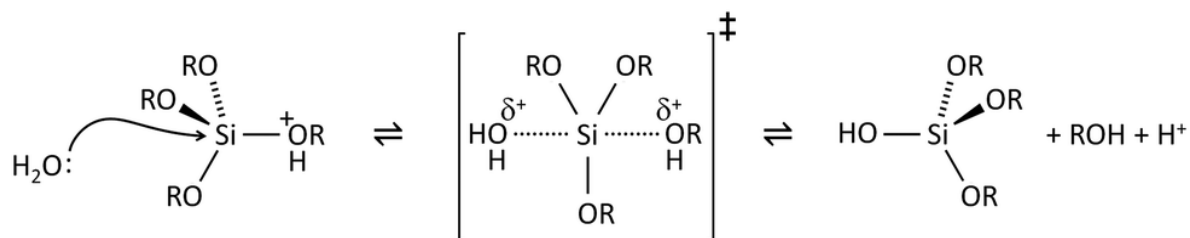
Hidrolisis y condensación:

Este proceso consiste básicamente en la formación de redes compuestas por elementos inorgánicos obtenidos a través de dos reacciones químicas simultáneas que son la hidrólisis y condensación, éstas se inician a partir de una solución homogénea de alcóxido, solvente, agua y un catalizador, este último puede o no, ser usado, y lo anterior depende básicamente del tipo de material y su aplicación final (Ramírez et al., 2010).

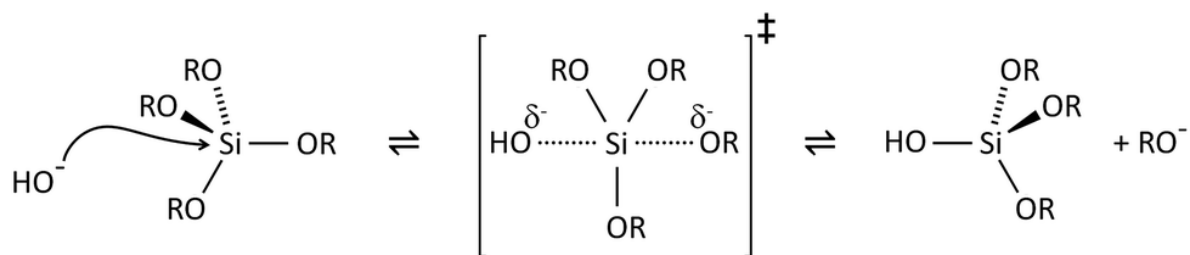
Las reacciones de hidrólisis y condensación conducen al crecimiento de grupos que eventualmente chocan y se unen formando un gel. Los geles a veces se definen como fuertes o débiles según si los enlaces que conectan la fase sólida son permanentes o reversibles.

Danks y colaboradores (2016) en su artículo, “La evolución de la química “sol-gel” como técnica de síntesis de materiales” explican el proceso de la hidrolisis y condensación de la siguiente manera:

La hidrólisis da como resultado la sustitución de un grupo alcoxi por un hidroxilo con un estado de transición pentacoordinado tanto en el ácido (esquema 1), como en la base, sistemas catalizados (esquema 2).

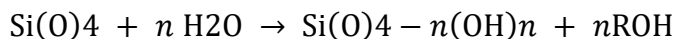


Esquema 1. Hidrólisis catalizada por ácido de alcóxidos de silicio.



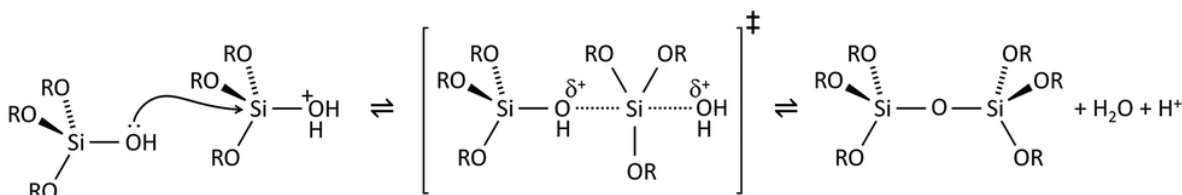
Esquema 2. Hidrólisis catalizada por bases de alcóxidos de silicio.

Dependiendo de las condiciones y de la relación Si/H₂O, se puede hidrolizar más de un grupo alcoxi:



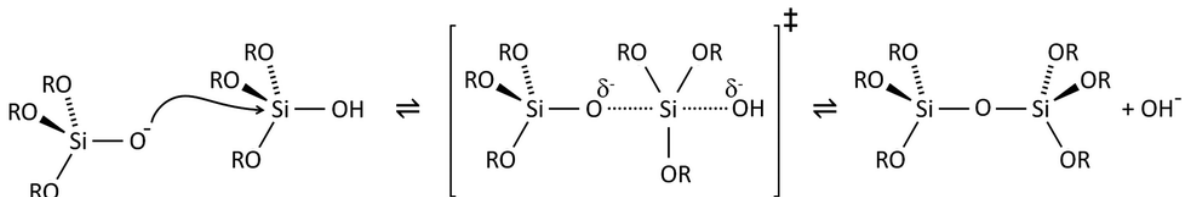
La velocidad de cada paso de hidrólisis depende de la estabilidad del estado de transición, que a su vez depende del poder relativo de extracción o donación de electrones de los grupos –OH *frente a* –OR. El resultado es que los pasos sucesivos de hidrólisis se vuelven progresivamente más lentos en condiciones ácidas y más rápidos en condiciones básicas.

La condensación sigue un patrón similar, siendo catalizada por un ácido, como se muestra en el Esquema 3 o una base, acorde al Esquema 4.



Esquema 3. Condensación catalizada por ácido de alcóxidos de silicio.

:



Esquema 4. Condensación catalizada por bases de alcóxidos de silicio.

y dando como resultado la formación de enlaces siloxano (o enlaces metaloxano para otros metales). La progresión de la condensación depende del grado de hidrólisis que ya se ha producido, ya que se requiere un grupo silanol en al menos un centro de silicio. Si la hidrólisis se completa antes de que ocurra el primer paso de condensación, el producto resultante $(\text{OH})_3\text{Si}-\text{O}-\text{Si}(\text{OH})_3$ dispone de 6 sitios para posteriores pasos de condensación. Esto se observa en condiciones básicas, donde los pasos de hidrólisis se vuelven progresivamente más rápidos. Múltiples pasos de condensación dan como resultado pequeños aglomerados altamente ramificados en el 'sol' que eventualmente se reticulan para formar un gel coloidal.

En condiciones ácidas, donde el primer paso de hidrólisis suele ser el más rápido, la condensación comienza antes de que se complete la hidrólisis. La condensación ocurre

a menudo en los silanoles terminales, lo que da como resultado estructuras en forma de cadena en el sol y geles en forma de red.

3.10.2 Precursores

La química sol-gel se origina con la hidrólisis y condensación de alcóxidos metálicos, aunque también puede ocurrir entre especies metálicas hidratadas (Danks et al., 2016)

Los precursores (reactivos de partida) son un alcóxido de fórmula química típica R-O-M, los cuales son compuestos que presentan un ion metálico (u otro catión) representado por la letra M, una molécula de oxígeno representada por la letra O y un grupo alquilo R (Betancourt et al., 2019).

Existen dos tipos de precursores, según menciona Arraiza (2022):

1. Precursores orgánicos: son los que se emplean en mayor medida. Es a este grupo al que pertenecen los alcóxidos metálicos. Estos presentan un elevado grado de reactividad.
2. Precursores inorgánicos: pertenecen a este grupo las sales metálicas los silicatos o los aluminatos, entre otros.

Los precursores más empleados son los de silicio, pues presentan una elevada velocidad en la reacción química. De este modo, es posible variar los parámetros de la reacción durante el proceso.

Los dos alcóxidos de silicio más empleados para realizar la síntesis de sílice son el tetraetil ortosilicato (TEOS), $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, y el tetrametil ortosilicato (TMOS), $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$, el primero es el más empleado (Huaman, 2021).

La hidrólisis sucede cuando TEOS y agua se mezclan en un mismo disolvente, que generalmente es el etanol debido a que el agua y el TEOS no son solubles entre sí,

apareciendo separación de fases líquidas, mientras que si son miscibles las mezclas TEOS+etanol y agua+etanol (Medina, 2010).

3.11 Aplicaciones del sol-gel

Según Gonzáles y colaboradores (2000), en su investigación “Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión” dicen que las aplicaciones del proceso sol-gel se derivan de las diferentes formas obtenidas directamente del estado gel (ej. monolitos, películas, fibras y polvos) combinado con el fácil control de la composición y la microestructura y aunado además a las bajas temperaturas involucradas en el proceso.

Según la forma, algunas de las aplicaciones incluyen:

Monolitos: componentes ópticos, superaisladores transparentes y vidrios de muy baja expansión térmica.

Fibras: refuerzos en compósitos y textiles refractarios

Películas delgadas y recubrimientos: es posible encontrar aplicaciones para producir recubrimientos ópticos, protectores o porosos.

Compósitos: producción de geles con materiales anfitriones como, partículas metálicas u orgánicas.

3.12 Depósito de sol-gel

La aplicación de películas delgadas por procesos sol gel se realiza principalmente por inmersión (Dip coating), aunque también existen otros procesos como lo menciona Betancourt y colaboradores (2019):

3.12.1 Rotacional (Spin coating)

Esta técnica basa su funcionamiento en la deposición de pequeñas cantidades de solución en la superficie de un sustrato, mientras gira a alta velocidad, de forma tal que

la solución se dispersa por acción de la fuerza centrífuga, formando una película líquida homogénea. La solución evapora rápidamente el solvente y las moléculas del óxido se depositan sobre el sustrato. El espesor de la película es una función que depende directamente de las variables: velocidad de rotación, la viscosidad, el contenido de solvente y sus propiedades al evaporarse. (Betancourt et al., 2019). No obstante, la evaporación final de la película generalmente se lleva a cabo mediante tratamiento térmico, el objetivo principal de la evaporación es retirar el exceso de solvente (Medina et al., 2009).

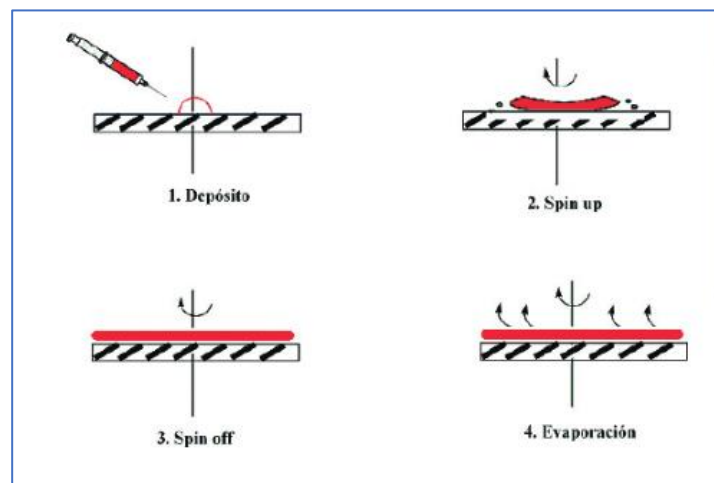


Figura 4. Representación del proceso de depósito de películas por el método de rotación (Ramírez, 2009).

Dicho procedimiento involucra cuatro pasos, de los cuales, los tres primeros (depósito, spin up y spin off) ocurren en orden secuencial, mientras que el cuarto (evaporación) ocurre durante todo el proceso de preparación y es el principal mecanismo de adelgazamiento de la película al final del proceso (Kamalasanan, 1996, como se menciona en Medina et al., 2009).

3.12.2 Inmersión (Dip coating)

En la técnica de inmersión (Dip) la pieza que se ha sumergido previamente para recubrir, se extrae de la solución en condiciones estacionarias de modo que se forme sobre el sustrato una capa de espesor uniforme; esta película se solidifica posteriormente sobre el vidrio por reacción en una atmósfera apropiada entre 400° y 500°C (Dislich y Hussmann 1981, como se menciona en Duran, 1986). El espesor de la película depende directamente de la velocidad de retracción del sustrato y la viscosidad de la solución, siendo bajas velocidades las apropiadas para obtener películas delgadas de espesor aproximado entre 0,3 y 3 μm , y rugosidad entre 60 y 690 nm (Arraiza, 2022).

Para Arraiza (2022) el proceso de creación de este tipo de recubrimientos consta de cinco etapas que se realizan de manera consecutiva. En primer lugar, el material que se desea recubrir se sumerge verticalmente en la solución previamente creada (1. Inmersión). A continuación, una vez el material ha sido completamente introducido en la solución, se extrae (2. Comienzo). Conforme el material es extraído de la solución, la capa delgada se deposita en él (3. Deposición). Cuando se extrae en su totalidad, se drena el exceso de solución (4. Drenaje). Finalmente, se evapora el solvente del líquido, dando lugar a la capa delgada definitiva (5. Evaporación). La duración de cada intervalo y demás parámetros de interés son establecidos y modificados de acuerdo con el objetivo buscado. La técnica es una de las formas de aplicación de los recubrimientos sol-gel.

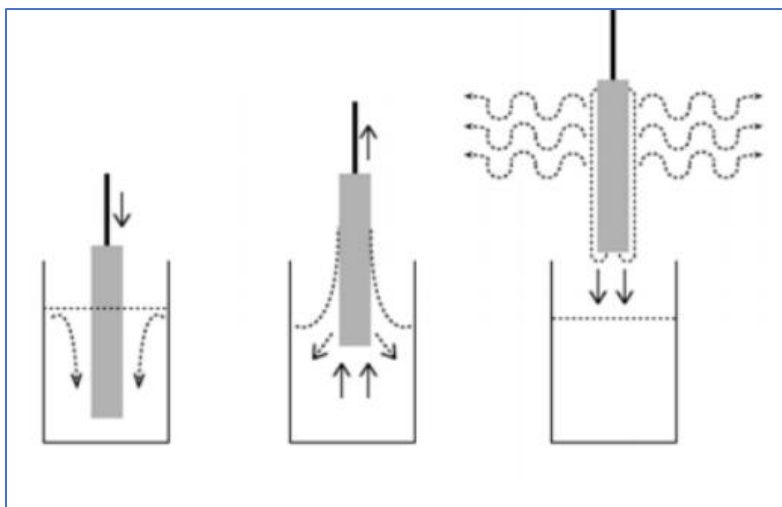


Figura 5. Representación del proceso de depósito de películas por el método de inmersión (Segura, 2019).

3.12.3 Aspersión (Spray)

Esta técnica de aplicación consiste en un proceso de aspersión o atomización vertical de una solución líquida estacionaria o en movimiento lineal, en donde un haz de fluido impulsado por aire comprimido se fragmenta en gotas dispersas que luego impactan sobre un sustrato (Betancourt et al., 2019).

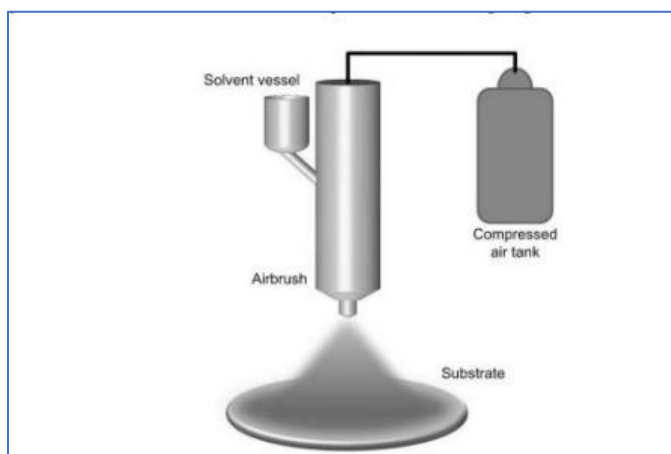


Figura 6. Representación del proceso de depósito de películas por el método de aspersión (Segura, 2019).

La atomización ocurre cuando existe la diferencia de presión del atomizador, provocada por una fuerza exterior, generalmente un gas como el nitrógeno. El uso de esta técnica

está indicado para sustratos con recubrimientos que demandan alta calidad y uniformidad, también es posible utilizarla para superficies no planas y de tamaño muy reducido, lo cual ha permitido el uso de esta técnica para la deposición de material en superficies 3D y con estructuras complejas (Segura, 2019).

3.12.4 Pantalla o serigrafía (Screen)

El proceso se realiza sobre una malla de material tejido (es decir, malla de acero o fibra sintética) que ha sido pegada en un bastidor. El área de la malla que se mantiene abierta con un determinado patrón, se llena con una solución de revestimiento que es forzado a entrar en la malla con una rasqueta de goma, poniendo en contacto la malla con el sustrato y luego estirado linealmente forzando así a la solución atravesar las aberturas de la malla (Baño, 2017).

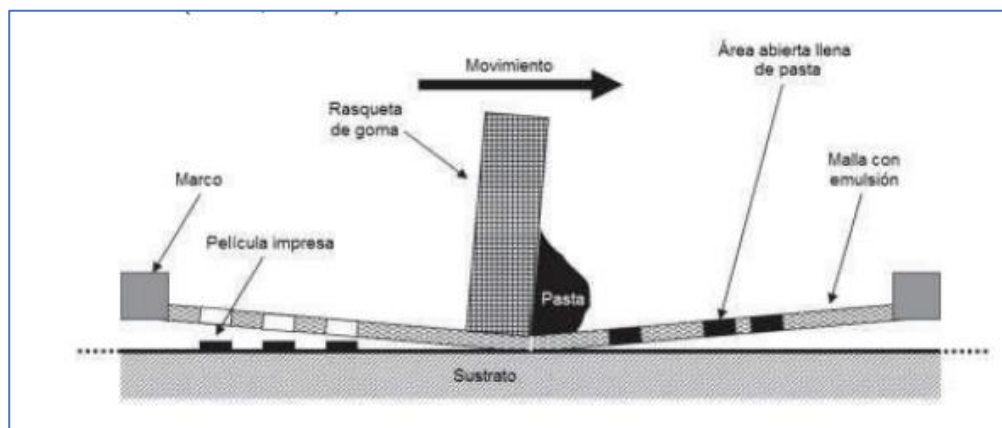


Figura 7. Representación del proceso de depósito de películas por el método de pantalla (Kreps 2009, como se menciona en Baño, 2017).

Es una técnica que prácticamente no ocasiona pérdidas de la solución de recubrimiento durante la impresión, pues el bastidor recorre la pantalla a una velocidad constante y al realizar la aplicación retrocede para repetir el procedimiento (Betancourt et al., 2019).

IV OBJETIVOS

4.1 Objetivo

Diseñar un biosensor de fibra óptica por la técnica sol-gel, utilizando la enzima acetilcolinesterasa (AChE), para detectar pesticidas organofosforados (OP) en agua.

4.2 Objetivos específicos

- Investigación documental de las características de la enzima AChE y métodos de inmovilización.
- Caracterizar en el laboratorio las distintas matrices de sol-gel incorporando la enzima AChE.
- Diseñar un arreglo de fibra óptica que puede ser por transmisión para implementarlo en el biosensor.
- Realizar pruebas con el biosensor con soluciones a distintos valores de concentración de un pesticida organofosforado.

V HIPÓTESIS

Un biosensor de fibra óptica que utiliza a la enzima acetilcolinesterasa (AChE) como indicador, inmovilizada en una matriz de sol-gel, puede ser útil para detectar pesticidas organofosforados (OP) en agua.

VI METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica, con la finalidad de tener un panorama de las distintas investigaciones y que resultados han obtenido sobre biosensores basados en la AChE, así mismo obtener las bases necesarias al desarrollar este proyecto de investigación.

Arreglo experimental

Se optó por un arreglo experimental por transmisión, como se observa en la figura 8 instalado en el laboratorio de sensores e ilustrado en forma de diagrama en la figura 9, compuesto por:

- Diodo como fuente de luz de 420nm a 5 mW de potencia.
- Dispositivo de inmersión desarrollado con un software, LABVIEW 2010 y un servomotor marca POLOLU 250:1 micro metal gearmotor.
- Equipo de medición de potencia óptica marca THOR LABS.
- Una computadora que recibe y procesa los datos usando el software THOR LABS PM320.



Figura 8. Arreglo experimental por transmisión.

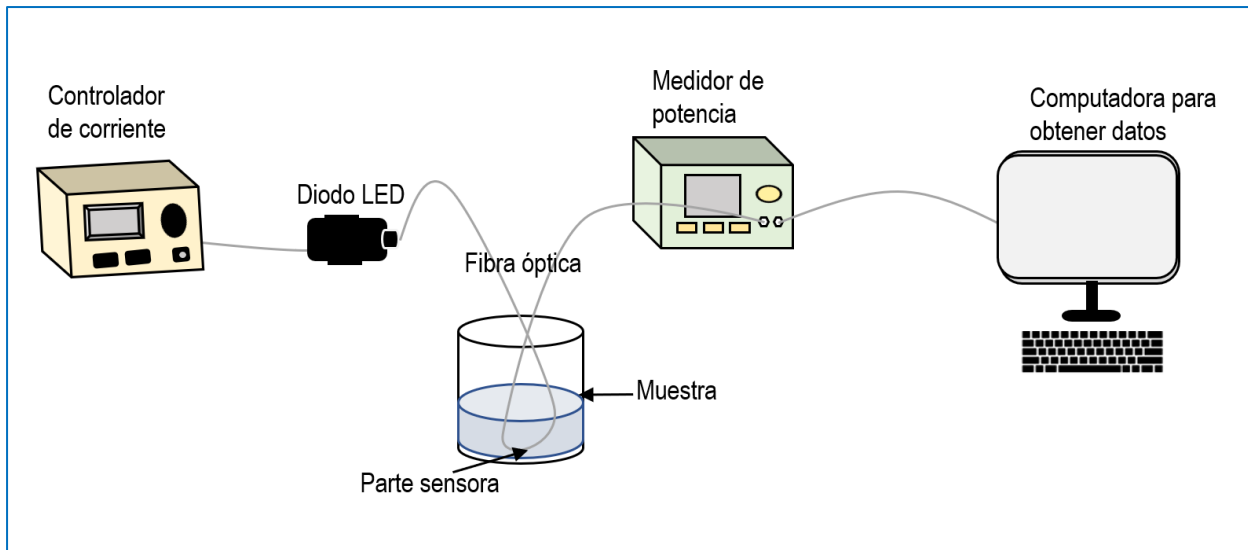


Figura 9. Diagrama del arreglo experimental.

De igual manera fue necesario utilizar una cortadora de fibra (figura 10) y una empalmadora (figura 11) para la unión de la fibra óptica, que una se conecta al emisor y el otro extremo al receptor.



Figura 10. Cortadora de fibra



Figura 11. Empalmadora de fibra óptica

6.1 Solución sol-gel

Para la preparación Sol-gel se utilizó Tetraetilortosilicato (TEOS), etanol como solvente común del precursor, ácido clorhídrico (HCl) y agua destilada como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Materiales para hacer solución sol-gel.

MATERIAL	CANTIDAD
Vaso de precipitado de 20 ml	2
Pipeta de 10 ml	2
Jeringa de 1ml	2
Agitador magnético	1
Ácido clorhídrico	3×10^{-3} ml
Etanol	10 ml
Agua destilada	5 ml
TEOS	20 ml
Parafilm	2 tiras de 5×5 cm

Basado en la metodología de González (2015), en un vaso de precipitado de 20 ml se vertió de una pipeta graduada 3.3 ml de TEOS (Tetraetilortosilicato), más 2 ml de etanol, cabe mencionar que, para el caso del disolvente, se hizo una disminución de la cantidad propuesta para evitar estimulación de la actividad de la AChE (Cabezas, Campoy y Vidal,1992).

Posteriormente se colocó en una parrilla magnética agitado a una velocidad de 650 rpm por un por 25 min, cubriendo el vaso con parafilm (figura 12). Una vez concluido el tiempo, se le agregó 0.53 ml de agua destilada junto a 0. 001 ml de ácido clorhídrico (HCl), y se agitó por 30 min, pasando este tiempo se incorporó la enzima y se dejó nuevamente agitando por 20 min mas a 650 rpm.



Figura 12. Preparación de la solución sol-gel.

Antes de agregar la enzima AChe, se realizaron pruebas con la solución sol-gel para observar la formación de las matrices, se usaron 3 portaobjetos cada uno de ellos a diferentes capas de la solución (1, 2 y 3 capas) por medio de la técnica de inmersión (Dip coating).

6.1.1 Tratamiento con ácido fluorhídrico a la fibra óptica

Se utilizó una fibra óptica multimodo, con un núcleo de 105/125 μm de diámetro con apertura numérica de 0.25. Se cortaron tramos de 15 cm y se procedió a dar tratamiento. Fue necesario primero eliminar la parte del recubrimiento de la fibra (figura 13), en la parte central del tramo, 1 cm aproximadamente, esto se realizó con una desforradora. Posterior a ello se le dio un tratamiento con ácido fluorhídrico que este es un método donde tiene un efecto agresivo sobre la superficie de los vidrios como mencionan Fernández (1985).



Figura 13. Eliminación del recubrimiento en la fibra óptica.

El tratamiento (figura 14) se llevó a cabo por 5 minutos y 30 segundos con la finalidad de llegar hasta el núcleo y posteriormente revestirlo con la solución sol-gel.



Figura 14. Tratamiento de la fibra óptica.

6.2 Preparación de la AChe

Esta enzima se disuelve en tampón Tris-HCl 20 mM, pH 7,5 como lo menciona en la ficha técnica del producto, dando como resultado una disolución transparente.

Para obtener este tampón se necesitó un ácido, Trizma hydrochloride y una base, Base Trizma obtenidos de Sigma-Aldrich (figura 15), así ambos mantengan el pH a 7.5.

Se utilizó 500 ml de agua destilada para cada reactivo, para obtener la cantidad de producto se utilizó la siguiente fórmula:

Concentración a 20 mM= $PM \times V \times M$

Donde: PM = peso molecular, V = Volumen, M =Molaridad



Figura 15. Trizma hydrochloride y base trizma.

6.3 Depósito de sol-gel con la enzima AChe en la fibra óptica

Se depositó sol-gel, con la enzima AChe ya incorporada, sobre la fibra óptica, cubriendo la parte sin revestimiento o donde el núcleo está expuesto, como se observa en la figura 16. Los depósitos se hicieron a diferentes capas (1,2 y 3 capas).

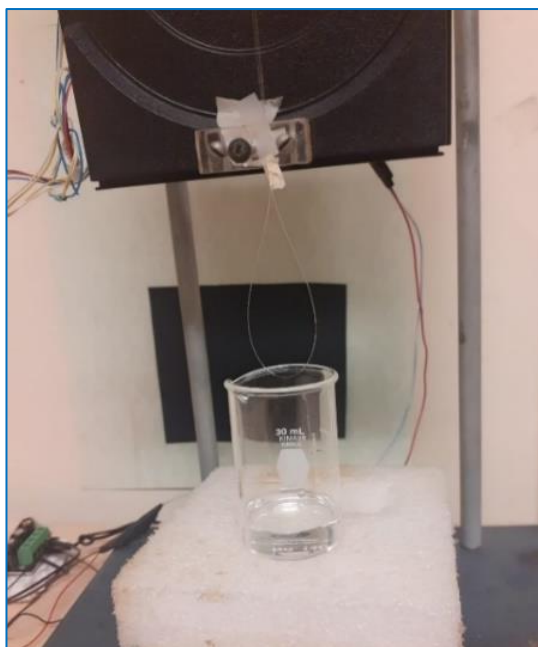


Figura 16. Depósito de sol-gel en la fibra óptica.

6.4 Pruebas con pesticida Organofosforado

Con la finalidad de obtener rangos donde el biosensor pueda tener mejores respuestas, se realizaron pruebas con diferentes concentraciones de pesticida, que para esta investigación fueron el malatión y diazinon ya que son pesticidas organofosforados.

Inicialmente las pruebas se hicieron solo con la fibra óptica con el núcleo expuesto, sin sumergirlo en sol-gel. Posteriormente se hicieron las inmersiones en sol-gel sin la enzima (AChe) para obtener un resultado base con respecto a una solución sol-gel incorporando la enzima. Así mismo las pruebas sirvieron para determinar que pesticida presentaba mejor respuesta óptica y elegir uno.

Tabla 2. Determinación del pesticida a utilizar.

PRUEBAS	RESULTADO
Fibra óptica + pesticida diazinon	Mayor respuesta
Fibra óptica + pesticida malatión	Mayor respuesta
Fibra óptica + sol-gel+ pesticida diazinon	Mayor respuesta
Fibra óptica + sol-gel+ pesticida malatión	Mayor respuesta

Una vez realizadas las pruebas iniciales se procedió a probar el biosensor con el inhibidor que en este caso fue el pesticida diazinon (figura 17), se utilizaron gotas de aproximadamente 0.5 ml, en un intervalo de 30 segundos de diferencia entre cada gota, que en total fueron 5.



Figura 17. Prueba del biosensor con pesticida.

Se utilizó 50 ml de agua destilada en un vaso de precipitado el cual se colocó en una parrilla magnética. El biosensor fue colocado en el aparato de inmersión, y se inició la medición de potencia óptica de la siguiente manera:

30 segundos al aire libre, seguido se sumergió en agua por el mismo tiempo. La etapa de inhibición inició a partir de agregar 0.5 ml de diazinon y se procedió a agitar, así se realizó 4 veces con intervalos de 30 segundos.

VII RESULTADOS

7.1 Formación de matriz sol-gel

Se realizó la solución por la técnica sol-gel y se colocó en porta objetos con la finalidad de observar su morfología al microscopio. Se utilizó el método de inmersión para depositar la solución sol-gel en el porta objetos ya que como se menciona anteriormente esta técnica hace que se forme sobre el sustrato una capa de espesor uniforme. Como se muestra en las figuras 18, 19 y 20, se obtuvieron matrices a diferentes capas (1, 2 y 3 capas), se puede observar la formación de la matriz sólida porosa (sol-gel) que permite la retención de la enzima dentro de estas cavidades lo que dará paso al pesticida para su detección, pero no el de la enzima al exterior como lo menciona Cebrian (2020). Las enzimas tienen mejor actividad tiempo de vida más largos que las enzimas libres, debido a que la movilidad dentro de la matriz es restringida evitando la desnaturalización, así como la degradación (De Santiago, 2014).

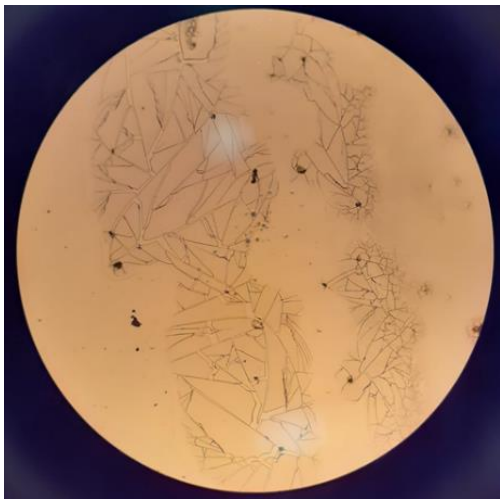


Figura 18. Matriz sol-gel, 1 inmersión.



Figura 19. Matriz sol-gel, 2 inmersiones.

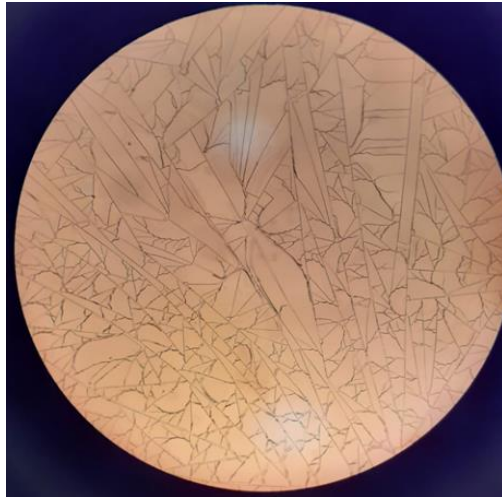


Figura 20. Matriz sol-gel, 2 inmersiones.

En la figura 19 (2 capas) y 20 (3 capas) se puede observar que el portaobjetos tuvo mejor recubrimiento, quiere decir que a medida que se acumulan las capas es más notoria la formación de la matriz, a diferencia de la figura 18 que se le colocó 1 capa.

7.2 Tratamiento de la fibra óptica con ácido fluorhídrico

Para un tramo de 15 cm de fibra óptica, se realizó el tratamiento con ácido fluorhídrico en la parte intermedia, con la finalidad de retirar el recubrimiento y dejar el núcleo expuesto con longitud de 1 cm, sumergiéndola por 5 minutos y 30 segundos. En la figura 21 se puede observar el desgaste que el ácido ha producido, al disminuir el diámetro hasta 90.12 μm ya que originalmente el diámetro de la fibra es de 125 μm , esta disminución se debe a que el ácido a corroído la superficie del vidrio tal como menciona Fernández (1985). Con esto se comprueba que se ha desgastado hasta el núcleo de la fibra óptica, ya que el núcleo tiene de diámetro 105 μm .

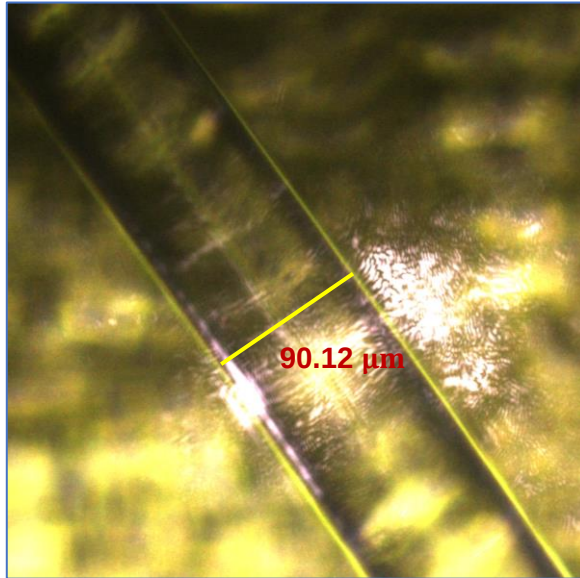


Figura 21. Disminución del diámetro de la fibra óptica.

7.3 Prueba de Fibra óptica con el pesticida diazinon

Se realizó una primera prueba de la fibra óptica con tratamiento en ácido fluorhídrico, sin sumergirlo en Sol-gel. El pesticida a utilizar fue el diazinón, ya que después de hacer pruebas, en comparación con el pesticida malatión fue el que presentó mejor respuesta óptica. En la figura 22 se puede observar en la gráfica un ligero cambio de intensidad óptica, debido a los cambios de índice de refracción de la sustancia.

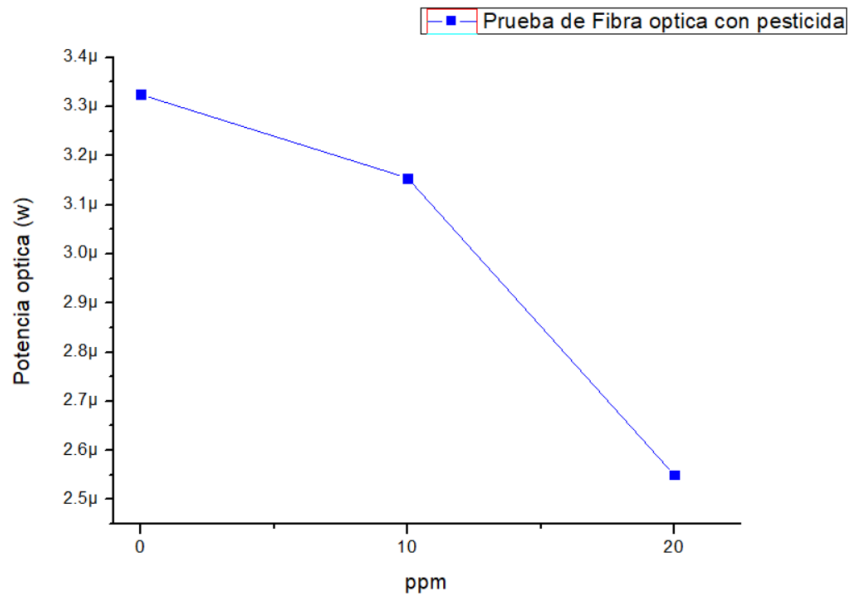


Figura 22. Gráfica de señal de potencia óptica de fibra óptica con pesticida diazinón.

7.4 Prueba de Fibra óptica con Sol-gel y pesticida diazinon

La siguiente prueba se realizó con la fibra óptica tratada con ácido fluorhídrico agregando 1 capa de sol-gel, con la finalidad de tener una base de comparación del antes y después de usar la enzima. Se puede observar en la figura 23 que el rango de medición de potencial óptico va disminuyendo conforme se va colocando el pesticida diazinon. Cuando se agrega de 10 ppm hasta 30 ppm de pesticida hay una caída de intensidad que va de 850 nW hasta los 250 nW, teniendo una diferencia de 600 nW.

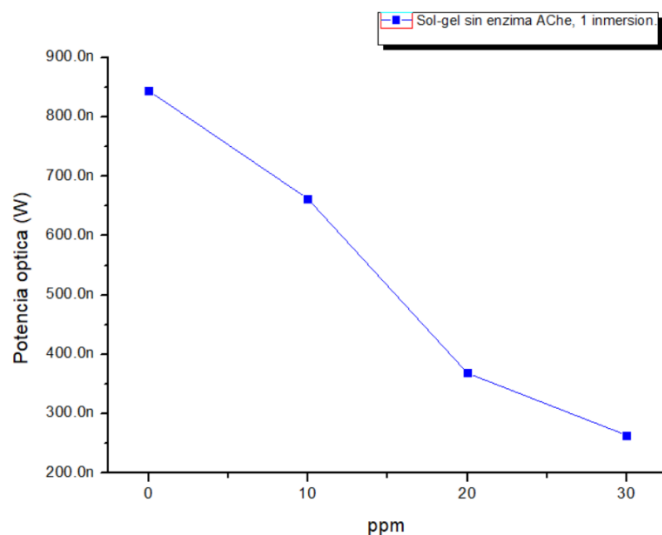


Figura 23. Gráfica de señal de potencia óptica de fibra óptica con sol-gel y pesticida diazinón.

7.5 Gráfica comparativa de Fibra y Sol-gel con enzima AChe como detector vs Fibra con Sol-gel sin enzima AChe 1 capa.

Después de las pruebas antes mencionadas se procedió colocar la enzima en sol-gel con la finalidad de que quedara dentro de las cavidades de la matriz como menciona Cebrian (2020). Se utilizó una longitud de onda de luz de 420 nm ya que es el rango en el que se obtuvo una mejor medición. En 50 ml de agua destilada se fueron añadiendo 10 ppm de pesticida cada 30 s por 5 veces. Como podemos observar en la figura 24, se comparan dos líneas, la roja representa a la fibra óptica con sol-gel sin la enzima y la línea azul representa a la fibra óptica con sol-gel y la enzima AChe incorporada. En el caso de la línea azul la primera medición se realiza cuando el biosensor está sumergido en agua, se observa que la potencia óptica mide arriba de 2.5 μ W, al agregarle las primeras 10 ppm la potencia óptica disminuya a menos de 1 μ W. Al tener 20 ppm de pesticida organofosforado hace otra reacción al disminuir la intensidad a menos de 500 nW hasta cuando se tienen 30 ppm se va acercando a 0 donde nos indica que hasta ese punto el

biosensor ya está saturado de pesticida y que la enzima inmovilizada ha disminuido su actividad como mencionan Tecles, Martínez y Cerón (2001). A diferencia de la línea roja donde no se agregó la enzima AChE se observa con menos pendiente al momento de ir agregando el pesticida que oscila entre 1 μ W hasta los 500 nW. Esta prueba se realizó con una sola capa de sol-gel.

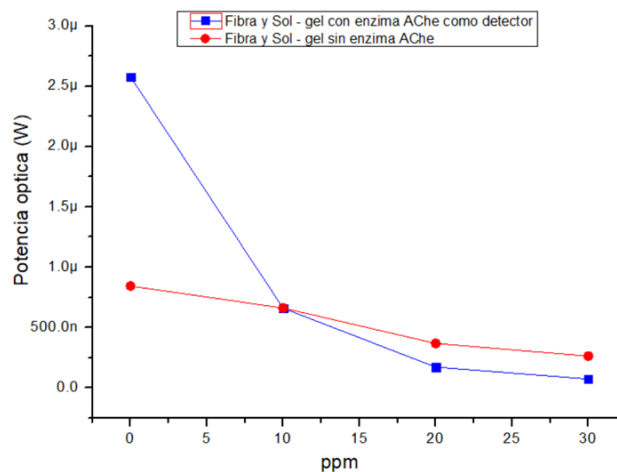


Figura 24. Gráfica comparativa.

7.6 Fibra y Sol-gel con enzima AChE como detector vs Fibra con Sol-gel sin enzima AChE 2 capas.

Bajo las mismas condiciones que en la figura anterior se mencionan, se realizó una gráfica comparativa del antes y después de incorporar la enzima AChE a la matriz sol-gel. Para este caso la prueba se realizó a dos capas (figura 25).

En comparación con la figura 24 podemos observar que el biosensor al sumergirlo en agua, la potencia óptica se muestra en 3.7 μ W aproximadamente. Conforme se va agregando el pesticida se va viendo la respuesta de reacción de inhibición de la enzima disminuyendo gradualmente. Cuando se agregan las 30 ppm del pesticida el biosensor

no pierde su actividad de respuesta en comparación con la gráfica de la figura 24 donde se recubre con una sola capa de sol-gel. Para el caso de la línea roja donde no hay enzima, ésta se muestra con menos pendiente y la línea más horizontal a la azul.

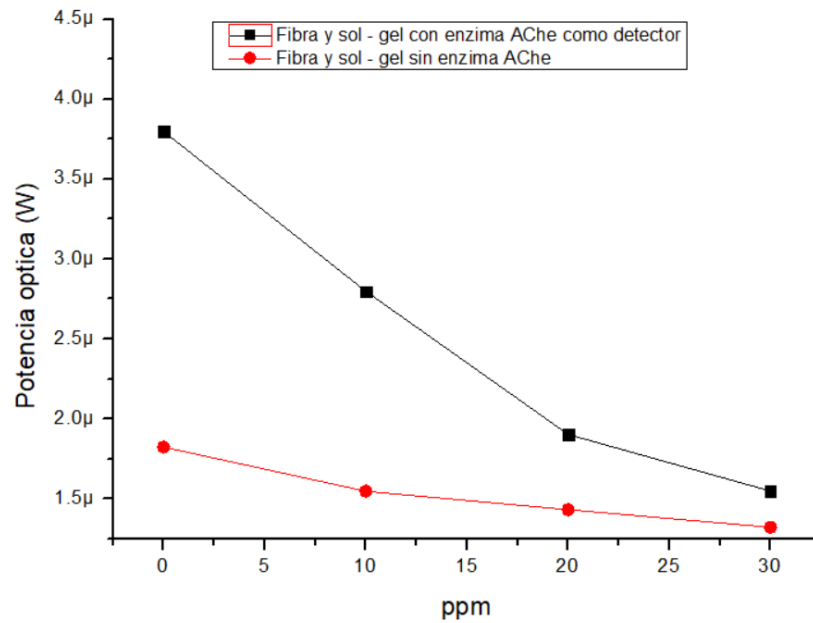


Figura 25. Gráfica comparativa.

VIII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la figura 26 se muestra una comparación entre 4 curvas características las cuales son resultado de la prueba del biosensor en distintas condiciones sumergido en pesticida diazinón. En la curva “a” se tiene solamente la fibra óptica a la cual se le retiro el recubrimiento y una parte del núcleo. Se observa que se tiene el efecto del cambio de índice de refracción entre la parte del núcleo y la muestra. Un cambio de aproximadamente de 1.57 (índice de refracción del núcleo) a una disminución de 1.33 para la muestra con diazinon. A medida que el índice de refracción de la muestra va disminuyendo conforme se agrega el pesticida, existe mayor absorción óptica y la potencia que se mide disminuye, aunque no de forma estable, considerando esto solo como un efecto de la fibra.

Al depositar sol-gel en la fibra se forma una especie de recubrimiento, en respuesta a esto se tiene una señal de salida como se observa en la curva “b” los cambios son mínimos y solo existe una disminución de la señal que se debe a la existencia de poros en la matriz de sol-gel. Es en esos poros en donde se lleva a efecto la absorción de la señal cuando se incluye algún tipo de indicador, como en este caso la enzima AChe (curva c).

En la curva “c” la inclusión de la enzima AChe en la matriz de sol-gel (una capa) provoca que la absorción óptica se lleve a cabo y se tiene una disminución al pasar de una concentración de 0 a 10 ppm. Después, se observa que la respuesta del sensor disminuye a medida que cambia la concentración del pesticida. Esto es debido a que solo existe una capa de sol-gel y eso provoca que el sensor se “lave” lo cual significa que la enzima desaparece y con ello la absorción óptica.

En la curva “d” se tiene los resultados del biosensor cuando se depositan dos capas de sol-gel junto con la enzima AChE. Se observa que la respuesta es más estable, esto debido a que existe un mayor espesor de la matriz y con ello se tiene más cantidad de la enzima lo cual mejora la absorción óptica para más concentración del pesticida.

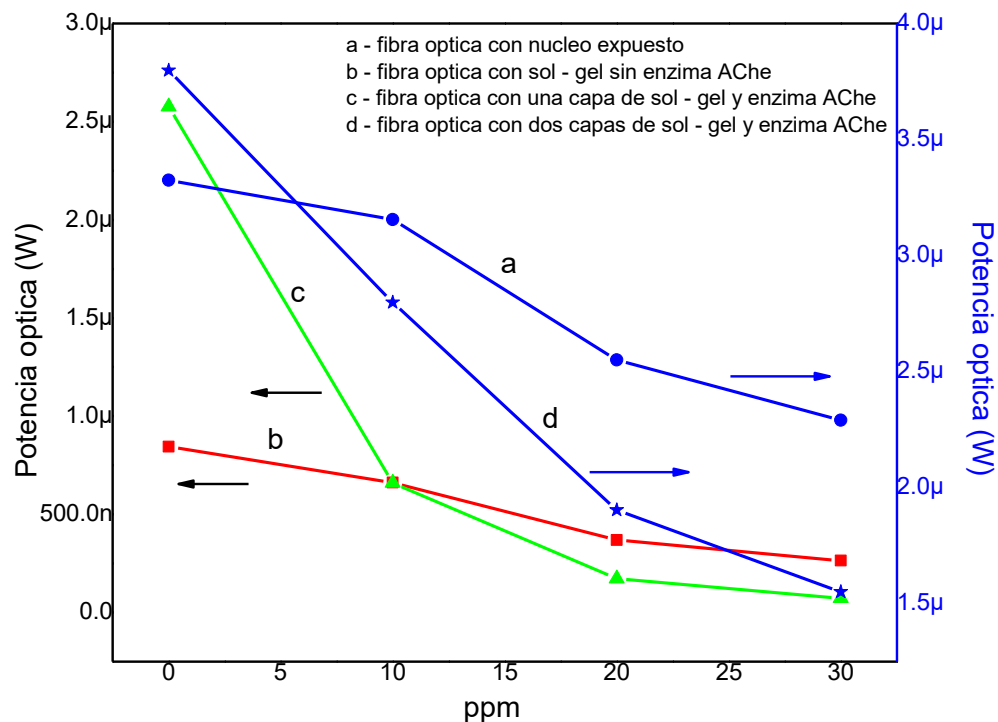


Figura 26. Gráfica comparativa en 4 condiciones del biosensor.

Se consideró hacer el depósito del biosensor en tres capas de sol-gel como se muestra en la figura 27, donde se observa que hay una caída de intensidad que va de 4.4 μW a 4.3 μW , esto debido a que los poros están saturados por las capas de sol-gel lo que impide el paso del pesticida para su detección. Esto significa que el biosensor en estas condiciones ya no presenta buena resolución entre mediciones, lo que puede dar lugar a errores o traslapes. Aun así, si se tratara de un biosensor en el cual solo funcionara en dos estados, es decir, presencia de pesticida o no, si puede funcionar utilizando un fotodetector con alta resolución.

De los resultados que se obtuvieron se comprobó que solo para un depósito de dos capas la respuesta del biosensor es buena.

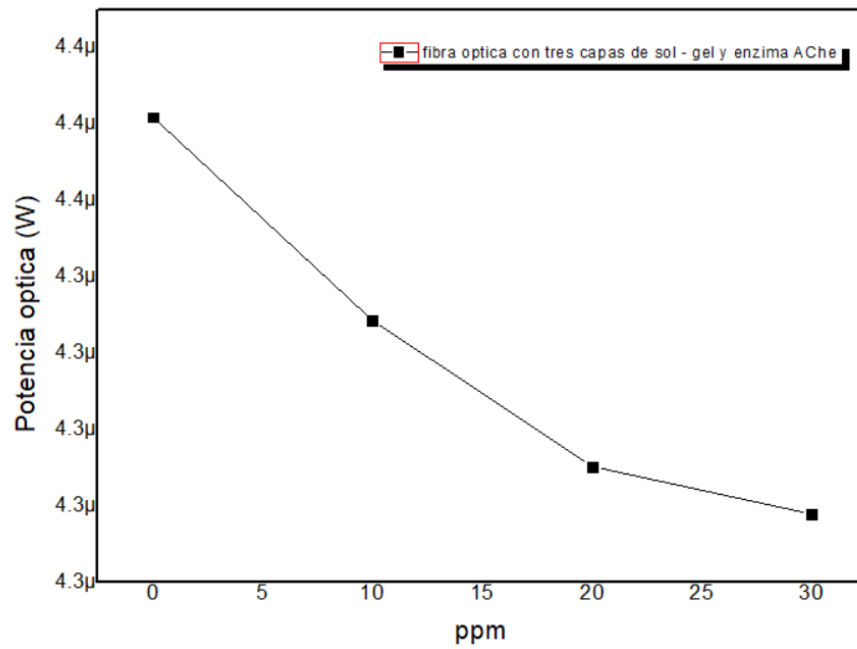


Figura 27. Gráfica del biosensor con tres capas de sol-gel.

IX CONCLUSIONES

En la presente investigación se tuvo como resultado un biosensor de fibra óptica utilizando como la parte sensible orgánica, a la enzima acetilcolinesterasa, teniendo como resultado una herramienta prometedora para la detección de pesticidas organofosforados, que para esta investigación fue el diazinon esto es basado en el principio de inhibición enzimática al entrar en contacto con los activos presentes del pesticida, llevando a detectar cuando estas sustancias químicas se encuentran en el agua. Se eligieron dos pesticidas organofosforados, que son utilizados comúnmente para eliminar plagas, el diazinon y malatión, eligiendo al pesticida diazinon ya que los resultados mostraron mayor respuesta óptica en su medición.

El mantener la estabilidad de las enzimas por medio de la inmovilización es de suma importancia para mejorar las capacidades de detección y que sean una herramienta confiable al momento de obtener resultados. En este caso la inmovilización de la enzima fue mediante la técnica sol-gel, la cual tiene ventajas, ya que estos componentes biológicos quedan retenidos dentro de las cavidades de la matriz lo que evita su pronta desnaturalización o degradación.

El depósito de sol-gel se realizó por la técnica de inmersión (Dip coating) resultando ser una de las mejores opciones para este tipo de investigación ya que permite que la parte expuesta de la fibra óptica sea recubierta por completo y se formen capas delgadas controlando su espesor de acuerdo a las necesidades de la investigación. Se realizaron pruebas a 1, 2 y 3 capas de sol-gel concluyendo que a 2 capas se obtiene una mejor respuesta óptica, debido al espesor que retiene a la enzima, alargando su vida útil, obteniendo resultados de mejor absorción óptica en comparación con 1 y 3 capas. El

arreglo experimental utilizado fue por transmisión, debido que no se cuenta con el equipo necesario para realizar un arreglo por reflexión.

Cabe mencionar que el biosensor no es reutilizable, lo cual significa que solo una vez se puede utilizar ya que hasta ese punto el biosensor ya está saturado razón por la cual la enzima pierde su actividad sensora que para este caso fue probado a una concentración máxima de 30 ppm.

X BIBLIOGRAFÍA

- Alfaya, AAS y Kubota, LT. (2002). El uso de materiales obtenidos por el proceso sol-gel en la construcción de biosensores. *Química Nova*, 25 (5), 835–841. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000500020>
- Andreescu, S., Barthelmebs, L. y Jean, L. (2002). Immobilization of acetylcholinesterase on screen-printed electrodes: comparative study between three immobilization methods and applications to the detection of organophosphorus insecticides, *Analytica Chimica Acta*.171-180. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00518-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00518-4).
- Arraiza, S. (2022). Desarrollo de recubrimientos sol-gel para el control de la corrosión en aleaciones de magnesio de uso biomédico (Tesis de licenciatura, para obtener el grado en ingeniería biomédica). Universidad Pública de Navarra.
- Baño, D. (2017). Síntesis de partículas nanométricas y su micrométricas de dióxido de titanio (TiO₂) para la formación de películas nanoestructuradas (Tesis de Maestría en Ingeniería mecánica, Escuela Politécnica Nacional).
- Beleño, M. (2019). DESARROLLO DE SENSORES Y BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS PARA LA VIGILANCIA MEDIOAMBIENTAL (Tesis de Doctorado, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA).
- Betancourt-Parra, S., Domínguez-Ortiz, M. A., Mosquera-Palacio, D. M., Herrera-Guerra, J., Ríos-Rendón, C. M., & Villa, C. E. (2019). Deposición de capas funcionales sobre esmaltes cerámicos mediante la técnica sol-gel (revisión). *Ingenius. Revista de Ciencia y Tecnología*, (21), 9-20.

- Borrell Tomás, MA.; Salvador Moya, MD. (2018). Materiales cerámicos avanzados: procesado y aplicaciones. Editorial Universitat Politècnica de València. <https://riunet.upv.es/handle/10251/113130>
- Bustamante, N. (2001). Sensores de temperatura, pH y detergentes para control medioambiental con un prototipo que utiliza fibra óptica y luminiscencia con resolución de fase (Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas). Docta Complutense.
- Cabezas, J., Campoy, F.J. & Vidal, C.J. (1992). Differential effects of ethanol on membrane-bound and soluble acetylcholinesterase from sarcoplasmic reticulum membranes. *Neurochem Res* 17, 717–722 <https://doi.org/10.1007/BF00968011>
- Campos, M. (2020). EL USO DE PESTICIDAS EN LA AGRICULTURA Y SU DESORDEN AMBIENTAL. Revista Enfermería la Vanguardia. 6. 40-47. [10.35563/revanv6i2.210](https://doi.org/10.35563/revanv6i2.210).
- Carballo, L. and Galindo, H. (2001). Estudio de los Procesos Sol-gel para la Obtención de un Aglutinante Apropriado para el Peletizado de Alúmina Revista Ingeniería e Investigación No. 48.
- Carod Benedico, E. (2002). Insecticidas organofosforados: "De la guerra química al riesgo laboral y doméstico". *Medifam*, 12(5), Pp. 51-62. Recuperado en 01 de octubre de 2024, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682002000500005&lng=es&tlng=es.
- Cebrián Cabo, S. (2020). Nuevos métodos y soportes para la inmovilización de enzimas. (Tesis de Maestría Universidad Autónoma de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural).

- Danks , AE., Hall , SR. y Schnepf Z .(2016) La evolución de la química “sol-gel” como técnica de síntesis de materiales. Scopus preview. Vol. 3, págs. 91-112
- De Santiago Peña, R. (2014). Desarrollo de matrices sol-gel como alternativa para mejorar la estabilidad de ibuprofeno o de indometacina. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_desantiago_pena.pdf
- Delgado, J., González, I., Delgado, I., Martín, F. (2008). Intento autolítico con insecticidas organofosforados y vía aérea difícil. Elsevier España.1(2), 209-214.
- Dhull V, Gahlaut A, Dilbaghi N, Hooda V. (2013). Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds: a review. doi: 10.1155/2013/731501.
- Divis, C. (1975). Notes on ethanol oxidation by a microbial electrode *Acetobacter zylinum*. *Ann Microbiol*, 126(A), 175-186.
- Doménech, J. (2004). Plaguicidas: sus efectos en la salud humana. *Offarm: farmacia y sociedad*, 23(7), 108-114.
- Duran, A. (1986) Sol-gel: Un nuevo camino hacia el vidrio (o cómo obtener materiales singulares a través de la química). Instituto de Cerámica y Vidrio. Vol. 25(6), 395-405.
- Dzydevich, SV, Shul'ga, AA, Soldatkin, AP, Hendji, AMN, Jaffrezic-Renault, N. y Martelet, C. (1994). Biosensores conductimétricos basados en colinesterasas para la detección sensible de plaguicidas. *Electroanálisis*, 6 (9), 752-758.
- ESTRADA, Y. (2020). DESARROLLO DE SISTEMAS MAGNÉTICOS NANOESTRUCTURADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS

BIOACTIVOS INHIBIDORES DE LA ACETILCOLINESTERASA A PARTIR DE PLANTAS (Para obtener el título de Maestro en ciencia y tecnología de alimentos). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA. Saltillo, Coahuila, México.

Fernández Navarro, J. M. (1985). El vidrio: constitución, fabricación, propiedades. España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Cerámica y Vidrio.

Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(1), 155-171.

Garud, A., Pawar, S., Patil, M. S., Kale, S. R., & Patil, S. (2024). A Scientific Review of Pesticides: Classification, Toxicity, Health Effects, Sustainability, and Environmental Impact. *Cureus*, 16(8), e67945. <https://doi.org/10.7759/cureus.67945>.

González, J., Pérez, J. F., Ruiz, F., & Martínez, J. R. (2000). Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión. *Superficies y vacío*, (11), 1-16.

Gonzalez, K. (2020). Desarrollo de un biosensor de fibra óptica para aplicaciones en optogenética (Tesis de maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas.

González, U. (2015). Construcción de un Sensor de Fibra Óptica con la Técnica Sol-Gel para Medir Oxígeno Disuelto en Agua, (Tesis de maestría, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas). Repositorio UNICACH.

Guadarrama, T., Kido, J., Roldan, G. y Salas, Marco. (2016). "Contaminación del agua". *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*. (2)5 1-10.

- Herrero E., Andrades, M.,Álvarez, A., Pose, E., Rodríguez, M.,and Sánchez, M. (2013). Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *J. Hydrol.* 486: 234-245.doi:10.1016/j.jhydrol.2013.01.025.
- Huaman, M. A. L. (2021). Proceso Sol-Gel en la Síntesis de Dióxido de Silicio (SiO₂). *Revista Bases de la Ciencia*, (6)2, 11-12.
- Jiménez, C. y León, D. (2009). BIOSENSORES: APLICACIONES Y PERSPECTIVAS EN EL CONTROL Y CALIDAD DE PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTICIOS. Universidad de Antioquia Medellín, Colombia vol. 16, núm. pp. 144-154.
- Kaur, H. y Garg, H. (2014). Pesticidas: impactos ambientales y estrategias de gestión. En tecnología. doi: 10.5772/57399
- King, A. M., & Aaron, C. K. (2015). Organophosphate and carbamate poisoning. *Emergency medicine clinics of North America*, 33(1), 133–151.
- Kulkarni, SJ, Karve, MS. (2020). Fabricación de un biosensor óptico basado en enzimas para la estimación de fosfato inorgánico en una muestra de orina. *Aplica SN Ciencia*. 2 , 1118.
- Ligler F., y Rowe C. (2002) “OPTICAL BIOSENSORS: PRESENT AND FUTURE”. ELSEVIER (Ed). Washington.
- Long, W., Jianfang, W., Zhuoliang, L., Cheng-an T., Jialing, R., Jian, H., y Yujiao, L. (2023). A portable acetylcholinesterase-based electrochemical sensor for field detection of organophosphorus
- López, R., Valencia, R., Sánchez, J., Pérez, B., Salinas, N., Serrano, H., García, M., Muñoz, H., Hernández, Á., Gómez, J., Vidal, C., (2018). LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS COLINESTERASAS: BLANCO DE LOS PLAGUICIDAS. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.esp02.06>

- Maanaki, H., Xu, T., Chen, G., Du, X., & Wang, J. (2023). Development of integrated smartphone/resistive biosensor for on-site rapid environmental monitoring of organophosphate pesticides in food and water. *Biosensors & bioelectronics: X*, 15, 100402. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2023.100402>
- Marazuela, M., & Moreno, M. (2002). Fiber-optic biosensors—an overview. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 372, Pp. 664-682.
- Marques, P. y Yamanaka, H. (2008). Biosensores basados en el proceso de inhibición enzimática. *Química Nova*, 31 (7), 1791–1799. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700034>
- Martínez Vidal, J., González-Rodríguez, M., Belmonte Vega, A., & Garrido Frenich, A. (2005). Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería: *Ecosistemas*, 13(3).
- Medina, J. (2010). Estudio y caracterización del vidrio de sílice-potasa-alúmina mediante el índice de polimerización (Tesis de licenciatura, Universidad Michoacana de San Nicolas Hidalgo). Repositorio Institucional de la Universidad Michoacana de San Nicolas Hidalgo.
- Medina Ramírez, I. E., Arámbula Miranda, L. E., Rizo Díaz, F., & Loera, A. R. (2009). Diseño y fabricación de un aparato para el depósito de películas delgadas por el método de rotación. *Investigación y Ciencia*, 17(45), 44-49.
- Miranda, R.E., Castellani, N.V., Romero, B.D., & Carreño, T.R. (2019). Contaminantes químicos del agua: contaminación antropogénica.
- Morales, D. F., Cano, J. B., & Londoño, N. (2019). Red inalámbrica de biosensores enzimáticos para la detección de contaminantes en aguas. *Revista Politécnica*, 15(29), 9-21. <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v15n29a1>

- Mulchandani A., Chen W., Mulchandani Wang P., J. y Rogers KR. (2001) "*Biosensores para la determinación directa de pesticidas organofosforados*", *Biosensores y bioelectrónica*, vol. 16, núm. 4-5, págs. 225–230.
- Pundir C.S., Malik A., Preety. (2019). *Bio-sensing of organophosphorus pesticides: A review*, *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 140,111348,ISSN 0956-5663,<https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111348>.
- Ramírez Estrada, R. C., Hernández-Sánchez, A. L., Aguilar-Díaz, D. A., & Pérez-Sánchez, J. M. (2024). Sensores y tipos de sensores. *TEPEXI Boletín Científico De La Escuela Superior Tepeji Del Río*, 11(21), 50–52. <https://doi.org/10.29057/estr.v11i21.11779>
- Ramírez, J & Lacasaña, Y. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor* 4(2):67-75
- Ramírez Palma, M. T., Huirache Acuña, R., Espinosa Acosta, G., & Hernández Padrón, G. (2010). Estado del arte del proceso sol-gel en México. *CIENCIA ergo-sum*, *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 17(2), 183-188.
- Ramirez. M. (2018). EL USO DE PESTICIDAS EN LA AGRICULTURA Y SU DESORDEN AMBIENTAL. *Revista Enfermería a la vanguardia*. 6(2) 40-47
- Rendón, A. (2012). Biosensor de fibra óptica microestructurada por la técnica sol gel (Tesis de maestría). Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Rodríguez, A.M., Zunino, M.P., & Dambolena, J.S. (2018). Optimización de ensayos de inhibición de acetilcolinesterasa en *Sitophilus zeamais* (Mots.). *Revista De La Facultad De Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 5(1), Pp. 51.
- Royano, S. (2020). Biosensores electroquímicos para la determinación de pesticidas en aguas. (Tesis de Posgrado, para obtener el título de Maestro). Universidad

Nacional de Educación a Distancia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica. España.

Rubio, Fausto. (1994). Estudio químico-físico de la preparación por el método Sol-Gel de materiales del Sistema SiO₂-ZrO₂ para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid.

Saborío Cervantes, Ishtar Estefanía, Mora Valverde, Mónica, & Durán Monge, María del Pilar. (2019). Intoxicación por organofosforados. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 110-117.

Salas, V. (2014). "Efecto de diferentes parámetros de la fabricación de matrices sol-gel en su porosidad". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/132383>

Salvador Amador, Nicolas. (2013). "Preparación de matrices de liberación modificada de aines fabricadas por el método Sol-Gel". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/169108>

Šárka Štěpánková & Katarína Vorčáková (2016) "*Biosensores basados en colinesterasa*", Revista de inhibición enzimática y química medicinal, 31:sup3, 180-193, DOI: [10.1080/14756366.2016.1204609](https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1204609)

Segura, Y., (2019). Estudio comparativo del peso molecular y otras variables en la obtención de películas delgadas poliméricas por spin coating (Tesis de Licenciatura). Universidad de sonora.

Shekhar C., Pundir, Chauhan N. (2012) "*Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review*" ,Analytical Biochemistry, Volume 429, Issue 1, Pp. 19-31, ISSN 0003-2697, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.06.025>.

- Tecles, F., Martínez, S., y Cerón, J. (2001). INFLUENCIA DE DIVERSAS CONDICIONES ANALÍTICAS EN LA DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA EN SANGRE ENTERA MEDIANTE EL MÉTODO DE ELLMAN. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 17, 67–80
- Torres, E. y Méndez, A. (2014) "Biosensores enzimáticos" *Revista Digital Universitaria*, 15(11), 3-4.
- Trenc, J. E. (2001). Percepción del riesgo y uso de pesticidas en la agricultura. *Ecología política*, (22), 17-30.
- Turner, A. & Newman, J. (1998). An introduction to biosensors. *Special Publications of the Royal Society of Chemistry*, 167, 13-27.
- Valdez, A. (2007). Efecto de los insecticidas diazinón y malatión durante la fertilización in vitro en ovocitos de cerdo (Master in experimental biology Thesis). Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, México, D. F.
- Velasco, M. y Mottram, T. (2003). Biosensor technology addressing agricultural problems. *Biosystems Engineering*, 84(1), 1-12.
- Verma, N., & Bhardwaj, A. (2015). Biosensor technology for pesticides--a review. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(6), 3093–3119. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1489-2>
- Yolima Nitola, Ledy, Ricardo Muñoz, Diego, Javier Patiño, Oscar, & Angélica Prieto, Juliet. (2016). Caracterización fitoquímica y evaluación de actividad inhibitoria sobre acetilcolinesterasa de hojas de Piper pesaresanum C. DC. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4), 1-10. Recuperado en 24 de septiembre de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000400005&lng=es&tlng=es.