



Programa Institucional
de Maestría en
**Ciencias
Biológicas**

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ÁREA TEMÁTICA: BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS DE MAESTRÍA

**SENSOR ELECTROQUÍMICO BASADO EN NANOTUBOS
DE TiO_2 DOPADOS CON PLATA PARA LA
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
IBQ. ZAIRA MORA MORA

DIRECTORA DE TESIS:
D.I. MA. GUADALUPE GARNICA ROMO

MORELIA, MICHOACÁN.

AGOSTO, 2022

DEDICATORIA

*A J. Emilio, por alegrar cada día.
A mi Familia, por la motivación y el gran apoyo.*

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue posible gracias al apoyo, asesoría y gestión de la Doctora en Ingeniería Ma. Guadalupe Garnica Romo y al consejo del comité tutorial conformado por la Dra. Nelly Flores, el Dr. Rafael Salgado, Dr. Héctor Martínez y el Dr. Leandro García a quienes agradezco cada una de sus contribuciones para culminar el presente trabajo y sobre todo por compartir su tiempo y conocimiento.

A los Doctores Juan José Alvarado y Fernando Cervantes del Departamento de Física Aplicada, Cinvestav unidad Mérida por su asistencia y colaboración en pruebas de caracterización.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por su importante aporte a través de la asignación de beca con registro 761425.

RESUMEN

SENSOR ELECTROQUÍMICO BASADO EN NANOTUBOS DE TiO₂ DOPADOS CON PLATA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Este trabajo describe el desarrollo de un sensor electroquímico no enzimático para la determinación cuantitativa de ácido ascórbico (AA). El sistema receptor y transductor del sensor se basa en un electrodo de nanotubos de TiO₂ dopados con plata (Ag-TiNTs) los cuáles se crecieron por el método de anodización electroquímica de un solo paso con potencial constante de 30 V por 45, 60 y 90 minutos en un electrolito orgánico con iones F⁻ y el dopante; seguido de un tratamiento térmico. Se evaluaron tres tratamientos con diferente contenido de agua y pH. Posterior, se realizaron estudios de caracterización morfológica, composicional, estructural y óptica por las técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM) y las técnicas espectrométricas de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), fotoelectrónica de rayos X (XPS), RAMAN, difracción de rayos X (DRX) y ultravioleta-visible por reflectancia difusa (UV-Vis DRS) tratada por el método Kubelka-Munk. Por último se utilizó la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) y la voltametría cíclica (CV) para evaluar la actividad electroquímica del sensor y validar su desempeño. Los resultados mostraron la obtención de nanotubos altamente ordenados en la síntesis con bajo contenido de agua y medio neutro, se confirmó la formación de TiO₂ en fase anatasa y un dopaje intersticial presente en baja proporción a lo largo de los nanotubos y en la superficie. La relación estequiométrica Ti: O sugiere presencia de otras formas de Ti entre otras impurezas. Los diferentes electrodos presentaron un perfil electroquímico no reversible, capacitivo y controlado por difusión. El electrodo con la menor resistencia a la transferencia de carga fue el Ag-TiNTs anodizado por 45 minutos, con sensibilidad de $1.4815 \times 10^{-4} \text{ A/mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, buena repetibilidad y reproducibilidad, además fue selectivo en presencia de glucosa. El sensor desarrollado demostró las cualidades necesarias para la determinación exitosa de AA en bebidas.

Palabras Clave. Anodización electroquímica, electrocatálisis, dopaje en un paso, TiNTs, Ag-TiNTs.

ABSTRACT**ELECTROCHEMICAL SENSOR BASED ON SILVER-DOPED TiO₂ NANOTUBES FOR THE DETERMINATION OF ASCORBIC ACID**

This work describes the development of a non-enzymatic electrochemical sensor for the quantitative determination of ascorbic acid (AA). The receiver and transducer system of the sensor is based on an electrode of silver-doped TiO₂ nanotubes (Ag-TiNTs) which were grown by one-step electrochemical anodization method with a constant potential of 30 V for 45, 60 y 90 minutes in an organic electrolyte with F⁻ ions and the dopant; followed by a thermal treatment. Three treatments with different water content and pH were evaluated. Subsequently, morphological, compositional, structural, and optical characterization studies were carried out using scanning electron microscopy (SEM) and different spectrometric techniques such as Fourier transform infrared (FTIR), X-ray photoelectronic (XPS), RAMAN, X-ray diffraction and ultraviolet-visible by diffuse reflectance (UV-Vis DRS) treated by the Kubelka-Munk method. Finally, electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV) were used to evaluate the sensor's electrochemical activity and validate it's performance. The results showed the obtaining of highly ordered nanotubes in the synthesis with low water content and neutral medium, confirming the formation of TiO₂ in the anatase phase and an interstitial doping present in a low proportion along the nanotubes and on the surface. The stoichiometric ratio Ti: O suggests the presence of other forms of Ti among other impurities. The different electrodes presented a non-reversible, capacitive, and diffusion-controlled electrochemical profile. The electrode with the lowest resistance to charge transfer was the Ag-TiNTs anodized for 45 minutes, with a sensitivity of $1.4815 \times 10^{-4} \text{ A/mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$, good repeatability reproducibility, and was also selective in the presence of glucose. The developed sensor demonstrated the necessary qualities for the successful determination of AA in beverages.

Keywords. Electrochemical anodization, electrocatalysis, one-step doping, TiNTs, Ag-TiNTs.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	PÁG.
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
1 INTRODUCCIÓN.....	9
2 ANTECEDENTES	10
3 FUNDAMENTO TEÓRICO	14
3.1 Ácido Ascórbico: Vitamina C	14
3.1.1 Fortificación de bebidas	16
3.1.2 Métodos analíticos: Determinación cuantitativa de Vitamina C.	17
3.2 Electroquímica	17
3.3 Sensores Electroquímicos	20
3.3.1 Sensores basados en nanotubos de TiO ₂ (TiNTs)	21
3.4 Caracterización de nanomateriales	25
3.4.1 Técnicas Microscópicas.....	25
3.4.2 Técnicas Espectrométricas	27
3.5 Caracterización electroquímica de nanosensores	38
3.5.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica	38
3.5.2 Voltametría Cíclica.....	40
4 JUSTIFICACIÓN	42
5 HIPÓTESIS	43
6 OBJETIVOS.....	43
6.1 Objetivo general	43
6.2 Objetivos específicos	43
7 METODOLOGÍA	44
7.1 Reactivos, materiales y equipos.....	44
7.2 Síntesis de nanotubos de TiO ₂ con y sin dopaje.....	45

7.3	Caracterización de nanotubos de TiO₂ con y sin dopaje.....	47
7.4	Evaluación de la respuesta electroanalítica con Ácido Ascórbico (AA).	49
8	RESULTADOS.....	51
8.1	Síntesis y caracterización de TiNTs: Microscopía y técnicas espectroscópicas	51
8.1.1	SEM	51
8.1.2	EDS.....	56
8.1.3	FTIR	57
8.1.4	DRX	58
8.1.5	RAMAN	59
8.1.6	XPS	60
8.1.7	UV-Vis DRS: Ancho de banda prohibida	61
8.2	Síntesis y caracterización de TiNTs-Ag: Microscopía y técnicas espectroscópicas.....	63
8.2.1	SEM	63
8.2.2	EDS.....	64
8.2.3	FTIR	67
8.2.4	DRX	68
8.2.5	XPS	69
8.2.6	UV-Vis DRS: Ancho de banda prohibida	71
8.3	Caracterización de TiNTs vs. Ag-TiNTs: Técnicas electroquímicas	72
8.4	Validación de la respuesta electrocatalítica de la muestra AgT5 como sensor electroquímico de Ácido Ascórbico.	76
9	CONCLUSIONES.....	80
10	REFERENCIAS	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del Ácido Ascórbico _____	14
Figura 2. Reacciones de óxido-reducción e hidrólisis del Ácido Ascórbico. _____	15
Figura 3. IDR de Vitamina C recomendado en la NOM-086-SSA1-1994. Modificado de Profeco (2014) _____	15
Figura 4. Representación de una celda electrolítica y las reacciones redox en la interfase electrodo-disolución. _____	18
Figura 5. Clasificación de la técnicas electroquímicas en función de la señal de perturbación. _____	20
Figura 6. Componentes de un biosensor. Modificado de Ragavan et., al. (2019) _____	21
Figura 7. Breve reseña de la evolución histórica sobre la síntesis de nanotubos de TiO ₂ . _____	22
Figura 8. Etapas del mecanismo de formación de TiNTs. Modificado de Bavykin & Walsh (2010) _____	23
Figura 9. Elementos que han sido evaluados en la literatura como dopantes de nanotubos de TiO ₂ . _____	24
Figura 10. La escala microscópica y sus referentes. Modificado de Reyes (2020) _____	25
Figura 11. Espectro electromagnético. Modificado de Wade (2011) _____	27
Figura 12. Propagación de la luz (radiación electromagnética) _____	28
Figura 13. Movimientos “modos” vibracionales característicos del agua. Tomado de Wade (2011) _____	29
Figura 14. Regiones del espectrograma Infrarrojo. Tomado de Wade (2011) _____	29
Figura 15. Dispersión de luz esquematizada por la teoría de bandas a) y en un espectrograma (b). Tomado de la red. _____	31
Figura 16. W. H. Bragg y W. L. Bragg (padre e hijo) ganadores del premio nobel de física en 1915 por sus aportaciones cristalográficas de rayos X (Ley de Bragg esquematizada en el inciso a). Tomado y modificado de la red. _____	33
Figura 17. Difractograma: Representación gráfica del análisis de difracción de rayos X de un material cristalino. _____	33
Figura 18 Redes cristalinas de Bravais _____ ¡Error! Marcador no definido.	
Figura 19. Esquema del efecto fotoeléctrico y su ecuación establecida por Albert Einstein en 1905. _____	34
Figura 20. Espectro de barrido amplio (a) y local de alta resolución del Titanio (b), energías de enlace típicas del Ti (c). _____	35
Figura 21. Ejemplo de un espectro de absorbancia en las regiones UV, Visible y NIR y sus coloraciones características. _____	36
Figura 22. Ejemplo de un espectro DRS UV-Vis y su transformación por la función Kubelka-Munk _____	37
Figura 23. Elementos que pueden presentarse en un circuito eléctrico equivalente de un análisis EIS. _____	38
Figura 24. Representación de un análisis EIS en un diagrama de Nyquist (a) de Bode (b) y su circuito equivalente (c) _____	39
Figura 25. Tipos de señales de excitación que dan origen a distintas técnicas de voltametría _____	40
Figura 26. Voltametría cíclica: Perturbación triangular y su curva característica (voltamograma). _____	40
Figura 27. Metodología experimental _____	44
Figura 28. Celda electroquímica para el crecimiento de TiNT por anodización electroquímica _____	45
Figura 29. Corte de láminas de Titanio metálico _____	46
Figura 30. Lámina de titanio metálico (blanco) y sustratos anodizados y calcinados (Tratamientos T1-T7). _____	51
Figura 31. SEM: Lámina de Titanio metálico (muestra “blanco”). _____	51
Figura 32. SEM: Tratamientos T1, T2 y T3. Electrolito con alto contenido de agua. _____	52
Figura 33. SEM vista frontal: Tratamiento T4. Electrolito con alto contenido de agua y acidificación de medio (HCl 1 M). _____	53
Figura 34. SEM: Micrografías frontales de los tratamientos T5-T7 _____	54
Figura 35. SEM: Micrografías transversales de la muestra T5, T6 y T7 _____	55
Figura 36. Espectros EDS: Lámina de Titanio metálico (blanco) y Tratamientos T1-T7. _____	56
Figura 37. Espectro FTIR: Comparativo de los tratamientos T6, T7, T8 y Lámina de titanio metálico. _____	57
Figura 38. Difractogramas DRX: Tratamientos T5, T6, T7 y Lámina de Titanio metálico (blanco) _____	58

Figura 39. Espectros RAMAN: Tratamientos T5, T6 y T7.	59
Figura 40. Escaneo completo XPS de T5, T6 y T7	60
Figura 41. Escaneos de alta resolución XPS para O y Ti de las muestras T5, T6 y T7.	61
Figura 42. Band gap obtenido por Kubelka-munk para las muestras T5, T6 Y T7.	62
Figura 43. Micrografías SEM frontales de las muestras dopadas AgT5, AgT6 y AgT7	63
Figura 44. SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT5.	64
Figura 45. SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT6.	65
Figura 46. Resultados SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT6.	65
Figura 47. Resultados SEM-EDS: Micrografías transversales y mapeo elemental (Muestras AgT5-AgT7)	66
Figura 48. Espectros FTIR de las muestras dopadas	67
Figura 49. Difractograma de las muestras de TiNTs dopados.	68
Figura 50. Espectros XPS de las muestras dopadas (AgT5-AgT7)	69
Figura 51. Escaneos de alta resolución XPS para a) Ti, b) O y c) Ag de las muestras AgT5, AgT6 y AgT7.c) Deconvolución de los picos Ag3d.	70
Figura 52. Ancho de banda prohibida obtenida por Kubelka-munk para las muestras AgT5, AgT6 y AgT7.	71
Figura 53. Voltamogramas cíclicos (Barrido -1 V a +1 V) de los TiNTs puros (a y c) y dopados (b y d) en electrolito KCl (1 M) con (c y d) o sin (a y b) presencia de Ácido Ascórbico (AA; 5 Mm)	72
Figura 54. Voltamograma cíclico de AgT5 comparativo con T5 en una ventana de potencial de -1 V a + 1.6 V, evaluados con Ácido Ascórbico (10 Mm) en KCl (1 M).	73
Figura 55. Espectro de Impedancia electroquímica. Comparativo entre Lámina de Titanio metálico, TiNTs (T5) y Ag-TiNTs (AgT5) en electrolito KCl (1 M) con presencia o ausencia de Ácido Ascórbico (5 Mm). A la derechas se muestra un circuito eléctrico equivalente generalmente propuesto en la literatura para sistemas altamente porosos.	74
Figura 56. Voltamograma cíclico en función de la velocidad de barrido de la muestra nanotubos dopados (AgT5) en electrolito KCl (1 M) + Ácido Ascórbico (10 mM).	75
Figura 57. Voltamograma cíclico: Perfil de concentraciones de Ácido Ascórbico en el electrodo AgT5	76
Figura 58. Ajuste lineal del perfil de concentraciones de Ácido Ascórbico en el electrodo AgT5.	76
Figura 59. Evaluación de estabilidad del electrodo AgT5 a 10 ciclos de barrido VC.	77
Figura 60. Comparación de la respuesta de tres diferentes electrodos con una muestra de AA (10mM) en KCl (1M).	77
Figura 61. Evaluación de estabilidad del electrodo AgT5 a los 10, 15 y 20 días posteriores a la síntesis.	78
Figura 62. Voltamogramas del electrodo AgT5 a los 10, 15 y 20 días posteriores a la síntesis cada uno con un perfil de concentración de 0 →4 ml de AA (50mM) en KCl (1M).	78
Figura 63. Voltamogramas obtenidos de la respuesta del electrodo AgT5 con Ácido Ascórbico (10mM) y Glucosa (10mM)	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sensores electroquímicos de L-ácido ascórbico.	11
Tabla 2 Métodos Analíticos Electroquímicos en función de la señal respuesta.	19
Tabla 3 Pretratamiento de láminas de Titanio metálico	46
Tabla 4. Dimensiones promedio de los TiNTs obtenidos en T4, T5, T6 y T7.	53
Tabla 5. Análisis elemental EDS: % Atómicos.	56
Tabla 6. Picos obtenidos en las muestras T5, T6 y T7 correspondientes a fase Anatasa y al Ti metálico	58
Tabla 7. Resultados EDS: Composición elemental (% Atómico) de TiNTs dopados con plata	64

1 INTRODUCCIÓN

El ácido L-ascórbico (AA) es un imprescindible regulador metabólico y un potente antioxidante, mejor conocido como vitamina C. Además de retardar el envejecimiento celular desempeña un papel fundamental en el correcto funcionamiento del sistema inmunológico, cardiovascular y neurológico. El ser humano es incapaz de producirlo y su naturaleza hidrosoluble impide que se acumule en el organismo, por lo que se recomienda un aporte diario a través de la ingesta de frutas y verduras frescas o de suplementos alimenticios (Serra & Cafaro, 2007; Villagrán, *et al.*, 2019).

Esta vitamina es utilizada en diversas aplicaciones industriales, en los sectores farmacéutico, químico, cosmético y alimenticio. En la industria alimentaria se emplea principalmente como conservador y fortificante, y su uso, al igual que todo compuesto aditivo, está regulado por un marco legal (Varvara, *et al.*, 2016). Recientemente, su uso como fortificante nutracéutico ha incrementado por su vinculación en estudios de tratamiento y prevención de diversas patologías (De Faria, *et al.*, 2020), por lo que determinar la concentración de ácido ascórbico en productos alimenticios a lo largo de la cadena de producción y en pruebas de anaquel se ha convertido en uno de los controles claves no solo como parámetro de bioseguridad, sino como referente de calidad y un indicativo de valor agregado (Bastías & Cepero, 2016; Gruczynska, *et al.*, 2014).

Entre los métodos analíticos clásicos empleados para la determinación de AA se encuentran los métodos químicos cuya desventaja es una baja sensibilidad, en contraparte se usan métodos instrumentales más sensibles y confiables, liderando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Estos últimos, tienen la desventaja de ser costosos, lentos y muy complejos. Requieren personal especializado y pretratamientos complejos de la muestra, lo que consume bastante tiempo (Chavhan, *et al.*, 2012).

Desde hace algunos años, el reto en la innovación de tecnologías analíticas implica resolver las limitaciones de los métodos clásicos. Se busca un funcionamiento eficiente con resultados de alta fiabilidad a un bajo costo de operación. Los métodos electroquímicos reúnen estas características, siendo los biosensores enzimáticos nanoestructurados punta de lanza de estas investigaciones, sin embargo, no han tenido el éxito esperado dada la inestabilidad que confiere el uso de material biológico (Zhu, *et al.*, 2016).

El desarrollo de esta investigación explora una alternativa análoga al biosensor enzimático para determinar electroquímicamente ácido ascórbico; sustituyendo la actividad catalítica del biorreceptor enzimático por nanoestructuras de un óxido metálico (TiO₂) dopadas con un metal de transición (Ag), con el supuesto de eliminar las limitantes que confiere el uso de un elemento biológico susceptible de desnaturalización a consecuencia de variaciones en las condiciones ambientales (temperatura, pH, etc.).

2 ANTECEDENTES

La cuantificación de compuestos alimenticios es uno de los controles altamente aplicados en el campo de la industria alimentaria, no solo para el monitoreo de procesos o como indicador de calidad, si no, en el caso de alimentos funcionales y procesados es imperativo determinar y declarar su composición en cumplimiento con las regulaciones y legislaciones aplicables. El desarrollo de nuevas tecnologías analíticas se ha encaminado a dar respuesta a estas necesidades del sector de manera más eficiente, es decir, que provean resultados con una alta fiabilidad ante un bajo coste de operación. Los biosensores enzimáticos son punta de lanza de estas investigaciones, sin embargo, no han tenido el éxito esperado dada la inestabilidad que confiere el uso de material biológico.

En 1962, Clark y Lyons presentaron el primer sensor electroquímico de glucosa utilizando la enzima glucosa oxidasa (GLOx) como biorreceptor, con esto introdujeron el concepto de biosensor enzimático que se caracteriza por utilizar una enzima como elemento biológico de reconocimiento del analito y desde entonces este fundamento de medición comenzó a dispersarse a un gran número de aplicaciones lideradas por el sector clínico, seguido por el farmacéutico, ambiental y más reciente el alimentario.

Estos dispositivos han sido de gran interés para determinar, sobre todo aquellos compuestos de interés industrial, por ejemplo, la glucosa, algunas proteínas, y diversos compuestos bioactivos entre ellos la vitamina C.

Los múltiples biosensores desarrollados a través de los años han demostrado su efectividad para realizar mediciones selectivas, sensibles, fáciles y económicas; el reto consiste en mejorar su estabilidad ya que la enzima pierde fácilmente su función con variaciones de temperatura, humedad y pH. Con esta finalidad aparecen los sensores no enzimáticos conformando la cuarta generación de sensores electroquímicos (Zhu, *et al.*, 2016) estos sustituyen la actividad electrocatalítica de la enzima por un receptor basado en nanomateriales semiconductores que incrementan el área superficial del electrodo y favorecen la sensibilidad del sensor, para esto, los avances en nanotecnología han tenido un papel muy importante, ya que este tipo de estructuras incrementan la densidad de sitios activos del material y promueven mayor difusión e interacción entre el analito y el sensor (Mercante, *et al.*, 2017). Entre las nanoestructuras utilizadas como receptores en sensores electroquímicos se han reportado nanocompositos (3D), nanocapas (2D), nanotubos (1D), nanocables (1D), nanovarillas (1D) y nanopartículas (0D) principalmente.

Una de las desventajas más desafiantes de prescindir de la enzima es mantener la selectividad que esta confiere al sensor, para mitigar esto, Brunetti (2016) asegura que elegir un adecuado modificador de superficie del electrodo es crucial para incrementar la sensibilidad, reducir el potencial aplicado y favorece la selectividad al permitir mayor diferenciación entre picos del analito de interés y especies electroactivas interferentes; por su

parte, la investigación presentada por Li *et. al.* (2016), que consistió en la sustitución de la enzima por un metal con propiedades catalíticas para medir glucosa en sangre, reportó que una correcta aplicación de potencial puede disminuir las interferencias obteniendo resultados favorables en cuanto a estabilidad, repetibilidad y principalmente selectividad.

En la **tabla 1** se resumen algunos de los sensores que se han desarrollado para la determinación de AA en diferentes muestras. Continuamente se exploran nuevos materiales y sus combinaciones cuyo uso como electrodos (soporte) o modificadores de electrodos (electrocatalizadores soportados) eficienten la determinación de AA y/o aumenten el tiempo de vida del electrodo.

Tabla 1. Sensores electroquímicos de L-ácido ascórbico.

Receptor	Condiciones	Muestra	Sensibilidad (S) /Límite de detección (LD)	Selectividad	Estabilidad	Referencia
PEDOT/MWCNTs/AO	Buffer= 0.05 M PBS pH=6.5 +0.4 V	-----	S= 23.95 mA/ μ M. cm ² LD= 15 μ M	L- Alanina causó una disminución de la respuesta de 15%	La sensibilidad disminuyó 1% en 10 días y 40% en 30 días.	(Liu, et al., 2011)
AuNPs/TiO ₂	Buffer= 0.1 M PBS pH=7 +0.17 V	Muestra farmacéutica	S= 46.8 μ A/ μ M. cm ² LD= 0.1 μ M	Anti-interferencias	La sensibilidad disminuyó 3% posterior a 1 mes.	(Satheesh, et al., 2010)
CNTs/AuNPs/SPCE	Buffer= 0.1 M PBS pH=6.9 +0.1 V	Muestra farmacéutica	S= ----- LD= 0.4 mg/L	Sensible a dopamina	-----	(Mehmeti, et al., 2016)
AuNPs-SPCEs	Buffer= 0.1 M PBS pH=6.9 +0.2 V	Suero sanguíneo	S= 4.39 μ A/ μ M LD= 0.99 \pm 0.05 μ M	Sensible a interferentes como dopamina y ácido úrico.	-----	(Alonso-Lomillo, et al., 2017)
TiO ₂ -AuNPs-MWCNTs-DHP/GCE	Buffer= 0.1 M KCl 0.2 V	Muestra farmacéutica y jugo de fruta	S= 2.82 $\times 10^3$ μ A/ μ M.cm ² LD= 1.2 μ M	Interferencias no significativas	-----	(Sremin, et al., 2018)
PPy/C/GCE	Buffer= 0.1 M PBS pH=7.0 0.34 V	Jugo de frutas comercial	S= ----- LD= 0.75 μ M	Anti-interferencias	-----	(Shalinia, et al., 2019)
PAP/ZrO ₂ NPs/CNT/GCE	Buffer= 0.1 M PBS pH=4.0	Muestra farmacéutica y jugo de fruta	S= 0.12781 μ A/ μ M. cm ² .	Anti-interferencias	Cambio entre 5-6% respecto a la medida inicial a las 2 semanas.	(Duzmen, et al., 2020)
PANI/NiO/GCE	Buffer=0.2 M PBS pH=7	Jugo de naranja, limón y pan.	S= 2990 μ A/ μ M. cm ² .	Anti-interferencias	-25% a las 2 semanas respecto de la medida inicial.	(Zhu, et al., 2020)

Electrodos metálicos como Pt, Au y Ni se han utilizado como eficientes electrodos directos o modificados, enzimáticos y no enzimáticos, pero debido a su alto costo, los electrodos base carbón han ganado popularidad, además, su uso reporta un buen desempeño aunque de menor eficiencia. El diamante, el grafito, grafeno, pasta de carbón y carbón vitreo son electrodos derivados del carbón reportados en diferentes sensores y biosensores clínicos y ambientales principalmente, sin embargo, el electrodo de grafito se posiciona sobre los electrodos de carbón vitreo y de diamante por ofrecer una amplia área superficial y altas propiedades conductoras a un menor costo (De Faria, et al., 2020). Una de las tendencias actuales destaca que la clave para incrementar la selectividad y sensibilidad de los sensores no enzimáticos es el uso de electrodos modificados con nanoestructuras de óxidos metálicos (ZnO, CuO, TiO₂, MnO, Fe₂O₃) cuyas propiedades electrocatalíticas actúan sinérgicamente mejorando el desempeño del sensor, también se ha propuesto la modificación con metales de transición (p.e. Fe, Ag, Cu, Au, Pd, Ni, Pt) con la finalidad de incrementar el área superficial que finalmente se traducirá en mayor sensibilidad y selectividad (Zhu, *et al.*, 2016; Liang & Zhang, 2018).

Los nanotubos de TiO₂ (TiNT) son tendencia en electrodos modificados enzimáticos (biosensores) y no enzimáticos principalmente en aplicaciones ambientales y clínicas por su biocompatibilidad, gran área superficial, estabilidad térmica, bajo costo, procesos simples de síntesis a baja temperatura, alta resistencia mecánica y propiedades de semiconductor; recientemente han adquirido gran interés en el sector alimentario por su estabilidad y nula toxicidad además de las características antes mencionadas (Oliveira, *et al.*, 2017; Liang & Zhang, 2018; Khaliq, *et al.*, 2019).

En la síntesis de TiNT se reconocen dos principales vías: Crecimiento asistido por plantilla y crecimiento auto-estructurado (Sekino, 2010). El método hidrotérmal (Kmentova, et al., 2016) y sol-gel (Takahashi, 2018), son ejemplos de técnicas asistidas por plantilla. Entre los métodos auto-estructurados se encuentran la síntesis química a baja temperatura (Kasuga, *et al.*, 1999), método hidrotérmal asistido con microondas (Sales, *et al.*, 2020) y anodización electroquímica (Bhadra, *et al.*, 2020). Este último método también conocido como oxidación anódica, destaca entre los anteriores por su baja temperatura de síntesis, procesamiento relativamente simple, bajo costo y estructuras resultantes altamente ordenadas y orientadas perpendicularmente al sustrato favoreciendo la difusión de iones y aunado a una mayor área superficial incentiva la eficiencia de operación del sensor posicionando este tipo de estructuras sobre otras como las nanopartículas o los nanohilos (Vasquez-García, *et al.*, 2018; Esmailnejada, *et al.*, 2019; Wu, *et al.*, 2020).

El dopaje de TiNT se ha realizado eficientemente por varias técnicas como el método de poliol a baja temperatura, electrodeposición, baño químico, intercambio iónico, entre otros, sin embargo, el dopaje simultáneo a la síntesis de matrices de nanotubos conocido

como dopaje por anodizado de un paso ha tomado interés en los últimos años por la simplicidad del método (Nah, *et al.*, 2010; Wang, *et al.*, 2014).

Los métodos comunes de caracterización de los electrodos preparados consisten en espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía RAMAN y espectroscopía UV-Vis para determinar la composición química, difracción de rayos-X (DRX) para constatar las fases cristalinas deseadas y microscopía electrónica de barrido (SEM) para examinar la morfología superficial y determinar diámetro y longitud de los nanotubos formados (Bavykin & Walsh, 2010), además para determinar área superficial se emplea el método BET por absorción de nitrógeno. Se aplican pruebas espectroscopía de impedancia electroquímica para asegurar que el sensor fabricado posee actividad electrocatalítica y pruebas de voltametría cíclica con rangos de potencial para determinar los parámetros de operación del sensor (Chen & Dong, 2003; Bhajanthri, *et al.*, 2016).

3 FUNDAMENTO TEÓRICO

En esta sección se compilan los conceptos y las principales bases teóricas que fundamentan el desarrollo de la presente investigación y cimientan las conclusiones inferidas a partir de los resultados obtenidos.

3.1 Ácido Ascórbico: Vitamina C

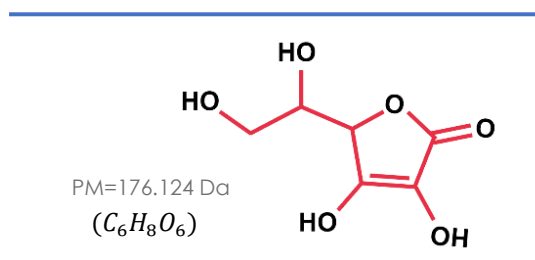


Figura 1. Estructura química del Ácido Ascórbico

El ácido L-ascórbico (AA), comúnmente llamado vitamina C, es un compuesto orgánico, cristalino de color blanco, se compone de 6 Carbonos ordenados cíclicamente en un anillo lactona con estructura enediol (*Figura 1*).

Este compuesto es ampliamente reportado en la literatura como el antioxidante natural más potente y uno de los compuestos bioactivos más investigados científicamente contra diversas enfermedades gracias a sus propiedades nutraceuticas. en humanos se encuentra concentrado en ciertos órganos como: ojo, hígado, bazo, cerebro y glándulas suprarrenales y tiroideas.

Estas propiedades se atribuyen a su naturaleza fuertemente reductora, bioquímicamente es un donador de electrones que funge como neutralizador de radicales libres (antioxidante) y como cofactor enzimático indispensable en la biosíntesis de colágeno, L-carnitina, tejido conectivo, hormonas y neurotransmisores, además de regenerar la vitamina E y oxidar el hierro para facilitar su fijación (González & Miranda-Massari, 2014).

Su capacidad reductora es atribuida a su estructura enediol (un alqueno con un grupo hidroxilo R-OH ligado a cada uno de los carbonos involucrados en el doble enlace) que le confiere la facilidad de perder un electrón (e^-) al ionizar el hidroxilo ligado al carbono 3 por originando el anión L-Ascorbato (AH^-) y con la pérdida de un segundo electrón del otro hidroxilo del doble enlace da origen a su forma oxidada el Ácido Dehidroascórbico (ADA) el cuál es susceptible de hidrolizarse al Ácido 2,3-Dicetogulónico (DGC) que posterior es degradado por descarboxilación abriendo irreversiblemente el anillo lactona con lo que pierde su funcionalidad (*Figura 2*). Estas reacciones están influenciadas por el pH, la concentración de oxígeno y/o la presencia de catalizadores como enzimas o metales.

La conversión de $AA \leftrightarrow ADA$ es una reacción de óxido-reducción reversible y representa la base de la viabilidad para ser detectado con métodos analíticos electroquímicos.

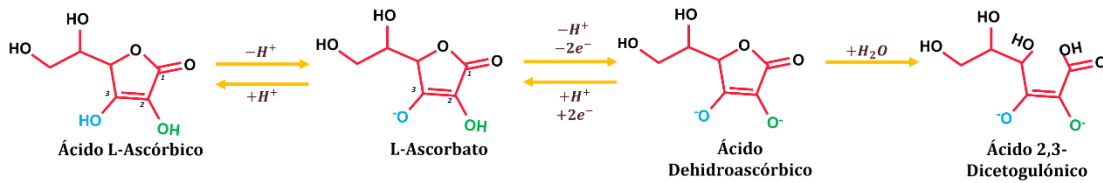


Figura 2. Reacciones de óxido-reducción e hidrólisis del Ácido Ascórbico. Tomado y modificado de Fang, 2017.

Es una vitamina hidrosoluble y esencial, sintetizada químicamente a partir de glucosa, mediante una serie de reacciones catalizadas por enzimas, siendo la L-gulono- γ -lactona oxidasa (GLO) la última enzima involucrada en su síntesis.

Los humanos y diversas especies animales no poseemos la capacidad de sintetizar AA debido a la ausencia de la enzima GLO, además, dada su naturaleza hidrosoluble no se acumula en el cuerpo, por lo que es importante garantizar un aporte diario a través de la dieta, principalmente con el consumo de frutas y verduras frescas.

La falta o deficiencia en su ingesta ($AA < 2,5 \text{ mg/L}$) conlleva a la aparición de escorbuto, haciéndose presente luego de tres semanas de no ingestión con signos clínicos como fatiga, mialgias, artralgias, púrpura vascular y síndrome hemorrágico; gingivo-hemorragia, pérdida de dientes, anemia, hipocolesterolemia, hipoalbuminemia hiperqueratosis folicular, hemorragias peri-foliculares, equimosis, edema y deficiencia en la cicatrización (Serra & Cafaro, 2007). Es por esta razón el hincapié de las campañas de salud en consumir una dieta balanceada rica en frutas y verduras.

La cantidad recomendada difiere del grupo etario y de algunas condiciones como embarazo, lactancia, enfermedades renales y otras consideraciones como el consumo de tabaco por ejemplo. La NOM-086- SSA1-1994 propone los siguientes IDR:

Referencia:
NOM-086-SSA1-1994

IDR* por etapa



*IDR: Índice Diario Recomendado

NUTRIMENTO (unidad de medida)	1 a 3 años	0 a 5 meses	6 a 11 meses	Adultos
Vitamina C (mg)	40	35	40	60

Figura 3. IDR de Vitamina C recomendado en la NOM-086-SSA1-1994. Modificado de Profeco (2014)

Por otra parte, la FAO recomienda un aporte mínimo de 30 mg al día para adultos, mientras de la OMS recomienda una ingesta de 100mg al día para el mismo grupo.

Como se mencionó podemos encontrarla en frutas y verduras, sin embargo, deben consumirse en estado fresco pues la vitamina C es un compuesto inestable, y se descompone con facilidad en el procesamiento y conservación de los alimentos al aplicar calor o exponer a cationes metálicos debido a la facilidad con la que se oxida e hidroliza perdiendo su actividad funcional.

3.1.1 Fortificación de bebidas

En opinión de los expertos, investigaciones en el campo de la epidemiología y dietética han establecido una estrecha relación del estilo de vida y los hábitos alimentarios con la incidencia de algunas enfermedades con las más altas tasas de mortalidad a nivel mundial. Por otra parte algunos trabajos científicos han puesto de relieve que ciertos componentes naturales de los alimentos proporcionan beneficios medicinales y resultan útiles para la prevención de enfermedades e incluso han logrado algunos avances para su tratamiento terapéutico (Martínez & Astiasarán, 2000).

De ahí, la creciente tendencia social en el mercado alimentario por lo “natural y saludable” y la inclinación por aquellos alimentos que se anuncian como beneficiosos para la salud, aperturando con esto, un nuevo mercado para la industria alimentaria y dando origen a la introducción de los “alimentos para la salud”, también denominados según el país “alimentos funcionales” o “productos nutraceuticos” y se recurrió a técnicas como la fortificación o adición de vitaminas, minerales o algún compuesto bioactivo que justifique la etiqueta “alimento para la salud”.

Tal es el caso de la vitamina C, cuyos múltiples beneficios se ven mermados en los alimentos procesados. Una de las soluciones para garantizar su funcionalidad es la fortificación y así poder ser una buena fuente de consumo para cubrir el aporte diario recomendado.

Recordando que la fortificación es una técnica que consiste en la adición de uno o más nutrientes a un alimento el objeto de reducir o controlar una carencia de nutrientes a fin de mejorar su calidad nutricional para las personas que lo consumen, además, brinda valor agregado. (Bastías & Cepero, 2016)

En la actualidad se están desarrollando múltiples trabajos de investigación que intentan evidenciar el efecto beneficioso de la fortificación con ácido ascórbico. Dadas las propiedades hidrosolubles de esta vitamina, el principal sector de alimentos donde se introduce la técnica de fortificación es el de bebidas no alcohólicas.

Las bebidas de frutas fortificadas con vitamina C son cada vez más aceptadas a medida que se difunde su participación en la prevención de las disminuciones funcionales asociadas con el envejecimiento y el desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas.

Entre las bebidas que se comercializan actualmente como fortificadas o enriquecidas con vitamina C u otros antioxidantes podemos encontrar: jugos y néctares de frutas o verduras, aguas saborizadas, chocolate en polvo, polvos para bebidas saborizadas, polvos y bebidas de derivados lácteos y a base de soya. Con estos productos, las industrias buscan brindar alternativas a los consumidores para el cuidado de su salud.

En un estudio de calidad a más de 50 productos presentado por PROFECO (2014) concluyeron que la vitamina C está presente en cantidades muy variables. Además mostró que los productos con los valores más altos son el grupo de las bebidas, en contraposición a los polvos para preparar bebidas de sabor, que presentaron contenidos muy bajos. Algunos productos superan los IDR de la NOM-086 sin embargo, entra en juego el concepto de biodisponibilidad por lo que algunas fuentes sugieren consumir la vitamina C en cantidades sufra fisiológicas para compensar las pérdidas por baja biodisponibilidad.

3.1.2 Métodos analíticos: Determinación cuantitativa de Vitamina C.

En 2014, Pisoschi y colaboradores realizaron una revisión de los diferentes métodos utilizados tradicionalmente para la determinación de AA, reportando los siguientes: métodos químicos de titulación con solución oxidante: diclorofenol indofenol (DCPIP), titulación por ioduro o bromuro de potasio; métodos cromatográficos como HPLC con detección electroquímica; métodos fluorimétricos basados en la reacción del ácido dehidroacórbico con fenildiamina; también reportan el uso de espectroscopía UV-vis y espectrofotometría basada en la reacción de oxidación de hexacianoferrato (III) con Cu(II); por último nombran los métodos basados en quimioluminiscencia.

Los métodos químicos son simples y rápidos, pero de baja precisión por lo que el método utilizado por excelencia para determinaciones oficiales es Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC); este método es muy preciso, pero tiene la desventaja de ser costoso, complicado y lento. En los últimos años los métodos electroquímicos aplicados al análisis fisicoquímico de compuestos orgánicos e inorgánicos representan la alternativa más prometedora por su sencillez, rapidez, bajo costo, y precisión; dada la naturaleza reductora el AA que le confiere una alta actividad electroquímica es un candidato ideal para determinación por este método (Brunetti, 2016).

3.2 Electroquímica

La Electroquímica es una rama de la Química que estudia los fenómenos de interconversión de energía química y energía eléctrica (reacciones electroquímicas) que tienen lugar en una celda electroquímica.

Una celda electroquímica consiste en dos electrodos sumergidos en un electrolito. El electrodo donde ocurre la reducción es el cátodo y el ánodo es el electrodo en el cual ocurre

la oxidación (*Figura 4*). Los electrodos son conductores eléctricos y pueden ser un material metálico o un semiconductor, mientras que el electrolito es un conductor iónico generalmente una disolución, aunque también podría ser un sólido que favorezca la presencia de iones libres.

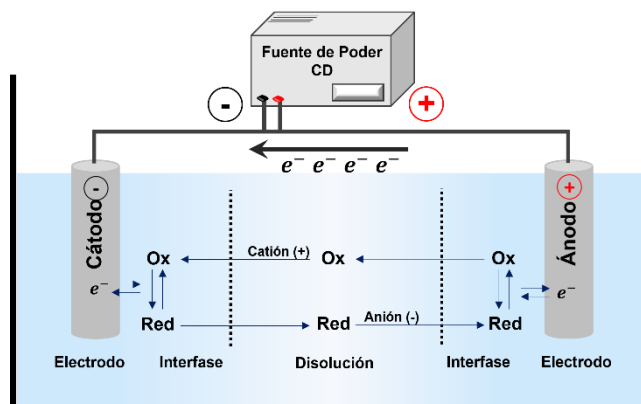


Figura 4. Representación de una celda electrolítica y las reacciones redox en la interfase electrodo-disolución. Tomado y modificado de <https://www.yubrain.com/ciencia/quimica/definicion-de-celda-electrolitica/>.

Considerando lo anterior, podemos deducir que la Electroquímica, se encarga del estudio de las reacciones químicas de óxido-reducción que ocurren en la interfase de un conductor eléctrico y un conductor iónico. En este tipo de reacciones también conocidas como “redox” se caracteriza por producir una transferencia de electrones entre las moléculas reactantes, es decir, participa una especie oxidada que acepta electrones denominada *agente oxidante* y una especie reducida que dona electrones denominada *agente reductor*.

En una celda electroquímica las reacciones redox pueden ocurrir de forma espontánea o ser inducidas por una fuente externa, por lo que es posible distinguir dos tipos: celdas galvánicas (voltaicas) y celdas electrolíticas. Las *celdas galvánicas o voltaicas*, almacenan energía eléctrica por lo que las reacciones redox ocurren de forma espontánea y liberan energía, se les conoce como “baterías” o “pilas”. En contraste, una *celda electrolítica* consume energía, ya que para que sucedan las reacciones redox se requiere aplicar un voltaje por una fuente externa, a esta inducción de la reacción se le conoce como “electrólisis” (Skoog, *et al.*, 2015).

Particularmente las reacciones de óxido-reducción generadas por electrólisis permiten obtener información de alto valor respecto de las especies reactantes, por lo que son de gran interés para una subrama de la Electroquímica en el campo de la Química Analítica, hablamos de la **Química Electroanalítica**, disciplina que fundamenta el objeto de la presente investigación.

Para este tipo de aplicación con fines analíticos es aconsejable emplear un tercer electrodo en la celda electroquímica, el electrodo donde tendrá lugar la reacción de interés se identifica como electrodo de trabajo (ET), un electrodo de referencia (ER) que proporciona un potencial

de equilibrio constante y conocido para contrastar los potenciales aplicados o medidos en la celda, y por último el circuito se completa con un contra electrodo o electrodo “auxiliar” (CE) para poder aplicar una corriente eléctrica controlada por un potencióstato.

En la electrolisis, inducir una reacción redox al aplicar un campo eléctrico involucra una separación de cargas eléctricas y consecuentemente la transferencia de dichas cargas en la disolución y/o en la superficie de un electrodo. Las cargas eléctricas en movimiento generan una diferencia de potencial, por consiguiente una corriente eléctrica (Hayt & Buck, 2006). La corriente eléctrica (**I**) cuya unidad de medida es el ampere (**A**) se describe como la razón de cambio del movimiento de las cargas al pasar por un punto de referencia (**Ecu. 1**), en otras palabras es la velocidad a la que fluye la electricidad (carga eléctrica). Por otra parte, cuando se habla de una “densidad de corriente” se refiere a la corriente eléctrica por unidad de área de la superficie del electrodo expresada en (**A/cm²**).

$$I = \frac{dC}{dt} \left(\frac{\text{Coulomb}}{\text{segundo}} \right) \dots \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

Dado que estos procesos están regidos por las leyes de Faraday (Leyes de la electrolisis) se denominan procesos faradaicos (Brett & Oliveira, 1994).

Entre los métodos analíticos electroquímicos se incluyen: la valoración (o titulación) redox, potenciometría, coulombimetría, electrogravimetría y voltametría. El instrumento de medida para estos métodos son los denominados sensores o electrodos electroquímicos. (Skoog, *et al.*, 2015). No existe una clasificación bien definida pero podemos identificar los métodos de acuerdo con el tipo de señal medida en respuesta a la perturbación que se aplique en la celda como se muestra tabla 2 o en función de la perturbación aplicada como se muestra en la figura 5:

Tabla 2 Métodos Analíticos Electroquímicos en función de la señal respuesta (Baeza & García, 2011).

Método Analíticos Electroquímicos	
Señal de Respuesta	Método
<ul style="list-style-type: none"> • Potencial 	<ul style="list-style-type: none"> • Potenciometría
<ul style="list-style-type: none"> • Intensidad de corriente 	<ul style="list-style-type: none"> • Amperometría • Voltamperometría
<ul style="list-style-type: none"> • Carga eléctrica 	<ul style="list-style-type: none"> • Coulombimetría • Electrogravimetría

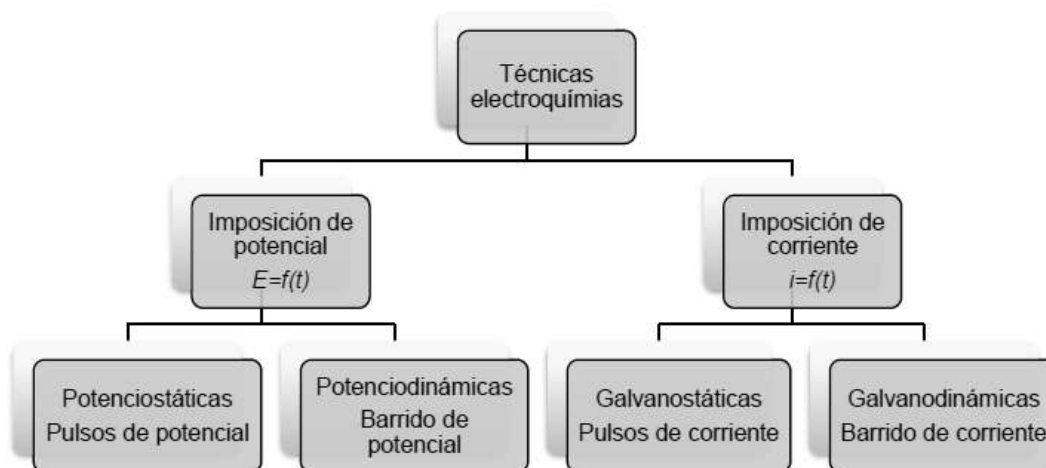


Figura 5. Clasificación de la técnicas electroquímicas en función de la señal de perturbación. Extraído de Baeza y García (2011).

3.3 Sensores Electroquímicos

Los sensores electroquímicos son dispositivos analíticos que responden a cambios específicos en el potencial o corriente eléctrica al interactuar con una especie química; constan de un elemento químico orgánico o inorgánico como receptor del analito, y un elemento transductor de la señal de reconocimiento (Thévenot, *et al.*, 1999).

La tendencia, es el uso de compuestos biológicos (enzimas, anticuerpos, tejidos, etc.) como receptor que permite aumentar la selectividad del análisis, y el uso de nanomateriales metálicos como elemento transductor que favorece una alta sensibilidad por lo que reciben el nombre de sensores modificados.

Los biosensores son sensores que deben el prefijo “bio” al uso de un elemento biológico como receptor; se pueden clasificar atendiendo a las siguientes variables de acuerdo con González *et al.*, (2005):

- Tipo de interacción: biocatalíticos o de bioafinidad. Método de detección: directo o indirecto.
- Elemento de reconocimiento: célula, orgánulo, tejido, enzima, receptor, anticuerpo, ácido nucleico, polímero de impresión molecular, ácido nucleico peptídico o aptómero.
- Sistema de transducción: nanomecánico, piezoeléctrico, electroquímico, termoeléctrico u óptico.

En la figura 6 se esquematiza los diferentes componentes de un sensor.

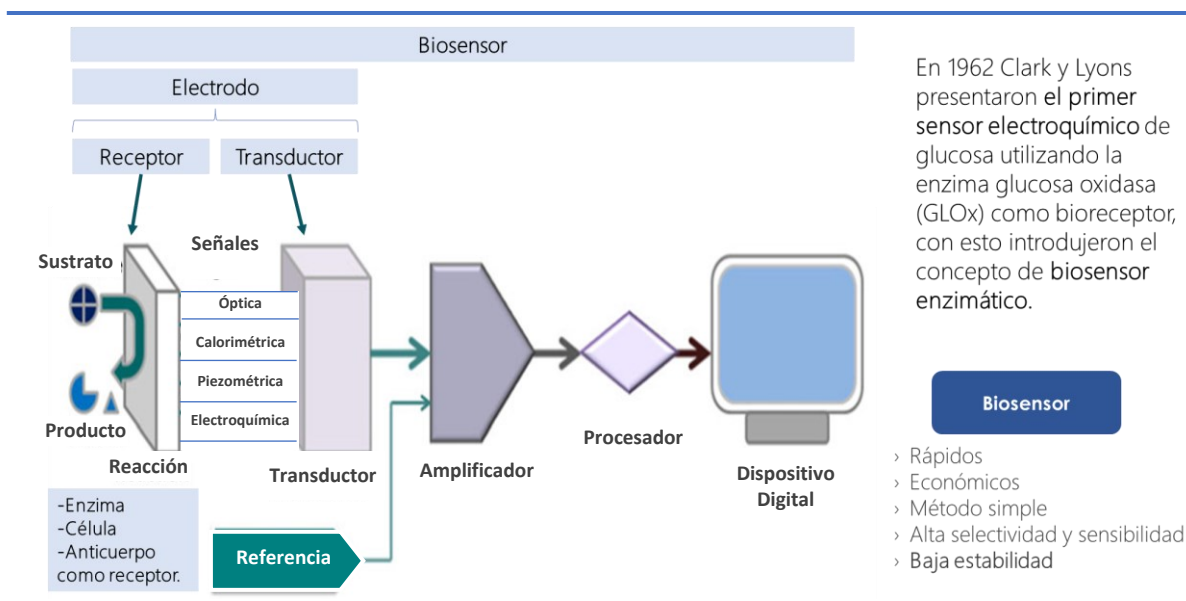


Figura 6. Componentes de un biosensor. Modificado de Ragavan et al., (2019).

Los biosensores enzimáticos utilizan enzimas como biorreceptor del analito; las cuales son moléculas de naturaleza proteica o ribozimica, altamente específicas, eficientes y regulables, acoplables a transductores amperométricos principalmente y son del tipo biocatalíticos (Jiménez y León, 2008).

Por el contrario, un biosensor no enzimático, sustituye el uso de enzimas por un elemento inerte con propiedades catalíticas, como son los metales de transición, que le confieren estabilidad al electrodo.

3.3.1 Sensores basados en nanotubos de TiO_2 (TiNTs)

El dióxido de titanio, TiO_2 , es un semiconductor tipo n sensible a la luz que absorbe radiación electromagnética en la región del UV, es anfótero y muy estable químicamente. En la naturaleza se encuentra mayoritariamente en combinaciones con oxígeno y hierro.

El TiO_2 es el estado más estable como óxido de las múltiples combinaciones que tiene el titanio con oxígeno (Ti_3O_2 , Ti_2O , TiO , Ti_2O_3 , Ti_3O_5 , Ti_4O_7 , Ti_5O_9 , TiO_2) (Angeles de la Cruz, 2012).

El uso de nanotubos de TiO_2 es cada vez más popular para la confección de sensores amperométricos gracias a sus propiedades, como una mejor estabilidad térmica, bajo costo, alta biocompatibilidad, nula toxicidad y baja temperatura de procesamiento, además de sus propiedades únicas que incluyen alta resistencia mecánica, conductividad de iones de oxígeno, biocompatibilidad y retención de actividades biológicas. La modificación de nanotubos de TiO_2 con metales incrementa el área superficial mejorando la actividad catalítica.

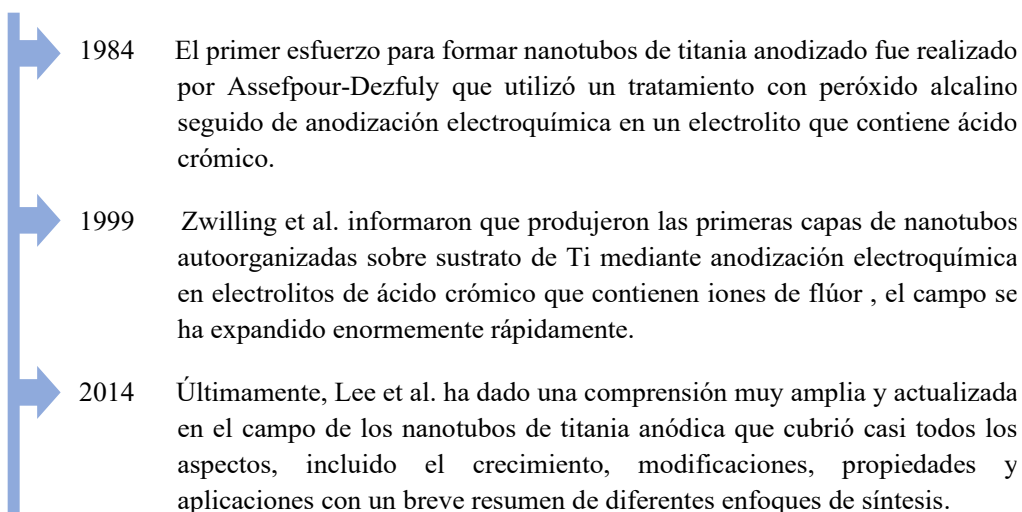


Figura 7. Breve reseña de la evolución histórica sobre la síntesis de nanotubos de TiO₂ (Bavykin & Walsh, 2010).

En la figura 7 se presenta una breve reseña del surgimiento y aportes significativos sobre el método de síntesis de nanotubos de óxido de titanio.

En los últimos años, aunque se han desarrollado con éxito muchas formas diversas de dióxido de titanio nanoestructurado, incluidas nanovarillas, nanopartículas, nanocables y nanotubos, los nanotubos han atraído un interés creciente para las aplicaciones tecnológicas debido a la estructura única auto ensamblada con una gran área interfacial y un control conveniente del tamaño y la forma, convirtiéndose para las aplicaciones que dependen del área de superficie como el mejor candidato.

Debido a la geometría particular, las capas de nanotubos de óxido auto alineadas que tienen una estructura altamente organizada y una relación superficie-volumen representan propiedades únicas, como:

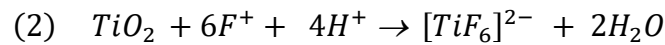
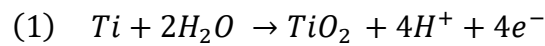
- Resistencia mecánica muy alta
- Gran área de superficie específica,
- Propiedades electrónicas como alto contenido de electrones.
- Tasa de movilidad
- Efectos de confinamiento cuántico
- Además, la anodización electroquímica es un proceso de bajo costo

En comparación con otros métodos de síntesis como el Solvothermal y métodos asistidos por plantilla la oxidación directa (anodización electroquímica) resulta ser una técnica simple con una alta operatividad, donde puede controlarse el tamaño, la forma y el grado de orden de la nanoestructura resultante mediante la optimización de los parámetros de oxidación como el potencial aplicado, el tiempo, temperatura, pH y composición del electrolito.

3.3.1.1 Anodización electroquímica

El método consiste en aplicar una diferencia de potencial (V) en una celda electrolítica generalmente constituida por dos electrodos, donde el sustrato para el crecimiento de las nanoestructuras se conecta como ánodo y como cátodo se usa un conductor inerte. Se utiliza un electrolito ácido u orgánico en presencia de iones F^- . Las condiciones del proceso están ligadas a las características morfológicas, composicionales y estructurales resultantes.

Este proceso considera un enfoque top-down donde el crecimiento de los nanotubos se rige por la competencia de dos principales reacciones: La formación de una capa de óxido anódico (1) y la disolución química de la capa de óxido anódico (2).



El mecanismo de formación involucra 3 etapas principales (*Figura 8*) las cuales pueden inferirse a partir del comportamiento de la densidad de corriente en función del tiempo.

- Fase a)** Formación de la capa pasiva de óxido provocando una disminución abrupta de la corriente debido a la baja conductividad de la capa.
- Fase b)** Comienzan a crecer poros, y se observa un incremento de la corriente por mayor superficie.
- Fase c)** Crecimiento de los nanotubos, se estabiliza el paso de corriente a través del electrodo. La velocidad de las reacciones (1) y (2) casi se iguala.

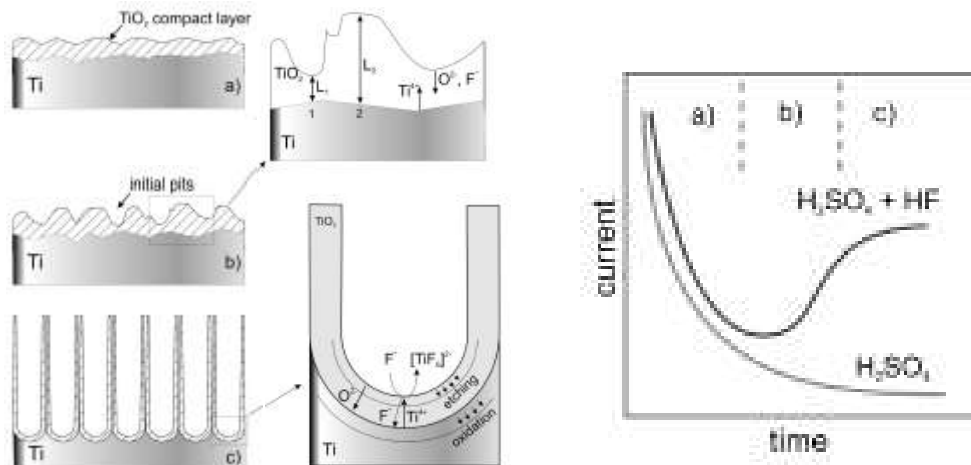


Figura 8. Etapas del mecanismo de formación de TiNTs. Modificado de Bavykin & Walsh (2010).

Puesto que el proceso está mediado directamente con la difusión de iones F^- , las condiciones de síntesis (voltaje, pH, temperatura, composición del electrolito, etc) afectarán directamente la cinética de crecimiento.

Longitud de los NTs: Aumenta con voltajes altos, mayor tiempo de exposición, pH ácido, electrolitos orgánicos y alta concentración de iones F^- .

Diámetro interno de los NTs: Disminuye con mayor tiempo de exposición.

Paredes de los NTs: El contenido de agua se relaciona con superficies rugosas al igual que aplicación de voltaje ascendente.

Las características esperadas de los nanotubos estarán en función de la aplicación deseada, no ha sido reportado ampliamente para sensores de matrices alimenticias, sin embargo, algunos autores sugieren que en aplicaciones que dependen directamente del área superficial se recomiendan menores longitudes y diámetros.

3.3.1.2 Dopantes

La modificación de nanotubos de TiO_2 con metales incrementa el área superficial mejorando la actividad catalítica. Un volumen considerable de trabajos ha indagado sobre las propiedades del dopaje de TiNT con diversos elementos orgánicos, inorgánicos o sus mezclas así como doble o triple dopaje.

En la figura 9 se enlistan algunos de los elementos que se han evaluado como dopantes:

Metálicos	No Metálicos	Co - dopantes
Nb	N	N-Ta
Fe	F	N – Nb
Cu	B	C – N - Ni
Cr	C	
Zr	S	
Zn	I	
V		

Figura 9. Elementos que han sido evaluados en la literatura como dopantes de nanotubos de TiO_2 .
Elaborado con información de Bavykin & Walsh (2010).

3.4 Caracterización de nanomateriales

Sin duda alguna la escala nano ha revolucionado el mundo de los materiales, como todo compuesto nuevo para la investigación de materiales en su forma nanométrica es importante determinar su estructura, composición y de manera trascendental en esta escala la morfología; en primera instancia para corroborar la pertinencia del método de síntesis o identificar las modificaciones necesarias para favorecer el producto deseado, y por otra parte, interpretar estas características nos permitirá conocer las propiedades físicas y/o químicas del material bajo estudio y prospectar sus posibles aplicaciones. En los siguientes apartados se abordan de forma general algunas de las técnicas instrumentales comúnmente utilizadas para indagar respecto de la morfología, la estructura y composición de un nanomaterial.

3.4.1 Técnicas Microscópicas

Las técnicas microscópicas son ampliamente utilizadas para las investigaciones morfológicas de los materiales (*Figura 10*). Existen diferentes tipos, pero todas con el mismo objetivo de observar el mundo microscópico y nanoscópico con el mayor detalle posible (Reyes, 2020).

Considerando los últimos avances en este campo, hay una amplia clasificación de microscopios de acuerdo con su configuración, características, fundamento de operación y elementos utilizados para la obtención de imágenes, sin embargo, la microscopía electrónica se ha constituido como una herramienta invaluable en el ámbito de la caracterización de los nanomateriales. Consiste en técnicas de análisis instrumental caracterizadas por usar un haz de electrones para obtener imágenes del material estudiado con la suficiente resolución para poder observar con detalle esta escala. Permite conocer la morfología y topología de la muestra, características que ya pueden sugerirnos información respecto a sus propiedades físicas y/o químicas o incluso orientarnos respecto a la pertinencia del método de síntesis de dicho material si es que se busca una forma específica (Reyes, 2020).

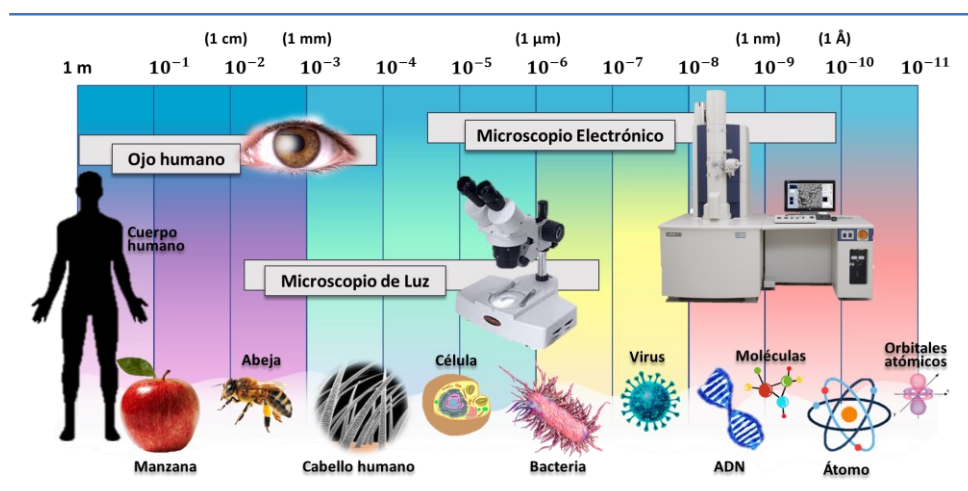


Figura 10. La escala microscópica y sus referentes. Modificado de Reyes (2020).

Elegir la correcta técnica de microscopía electrónica dependerá de la naturaleza del material bajo estudio y las características esperadas, principalmente la resolución requerida, es importante considerar que el uso de este tipo de microscopía requiere de apoyo económico considerable, tanto por el costo de los equipos como por el costo de mantenimiento y consumibles.

En las últimas décadas dependiendo de la resolución requerida o de la accesibilidad las técnicas más habituales en la caracterización morfológica de nanomateriales han sido en primera instancia la microscopía electrónica de barrido o SEM (scanning electron microscopy) seguida por el uso de la microscopía electrónica de transmisión o TEM (transmission electron microscopy); sin embargo, en años recientes también se ha popularizado el uso de microscopía de fuerza atómica identificada como AFM (atomic force microscopy) y efecto túnel o STM (scanning tunneling microscopy) las cuales proveen notables ventajas sobre las primeras técnicas mencionadas, no obstante, aún son de difícil acceso sin mencionar que la literatura al respecto aún es limitada. Razón por la cual SEM sigue siendo la técnica de microscopía por excelencia utilizada (Reyes, 2020).

3.4.1.1 *Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

La caracterización de materiales mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido utiliza como instrumento de medición el microscopio electrónico de barrido mejor conocido como SEM (por sus siglas en inglés *Scanning Electron Microscope*) el cual opera con un sistema de microscopía óptica-electrónica compuesto con lentes electromagnéticas, bobinas deflectoras, detectores de radiación y un haz de electrones móvil y concentrado que va recorriendo toda la muestra punto por punto, y como resultado de esta interacción electrón-materia provoca la generación de diversas radiaciones (Faraldos & Goberna, 2011).

La imagen resultante se visualiza en una pantalla e incluye información morfológica, cristalográfica, topográfica y de composición. La interpretación de las imágenes obtenidas requiere el entendimiento de la interacción del haz electrónico con el material bajo estudio (Reyes, 2020). Tiene una gran ventaja de no ser una técnica destructiva y en función de la interacción del haz de electrones con la muestra pueden ocurrir diferentes fenómenos por lo que el equipo cuenta con diferentes detectores para captar dichas señales respuesta y con ellas poder obtener información precisa y característica de cada fenómeno, a continuación se mencionan los tres principales (Guozhong & Ying, 2011):

- Detector de electrones secundarios (SE): proporciona información morfológica superficial de la muestra.
- Detector de electrones retro dispersos (RE): estos generan imágenes con distinta brillantez en función de la composición química de los elementos presentes superficialmente.
- Detector EDS: detecta rayos X característicos de los elementos superficiales y permite un análisis semicuantitativo de la composición química, además, de proveer mapeos elementales para conocer su distribución superficial.

3.4.2 Técnicas Espectrométricas

La teoría Espectroscópica fundamenta un amplio catálogo de técnicas de gran aporte para la caracterización de materiales también conocidas como *Espectrometrías*, todas ellas basadas en la interacción de los átomos o moléculas del material bajo estudio con la radiación electromagnética (Guozhong & Ying, 2011).

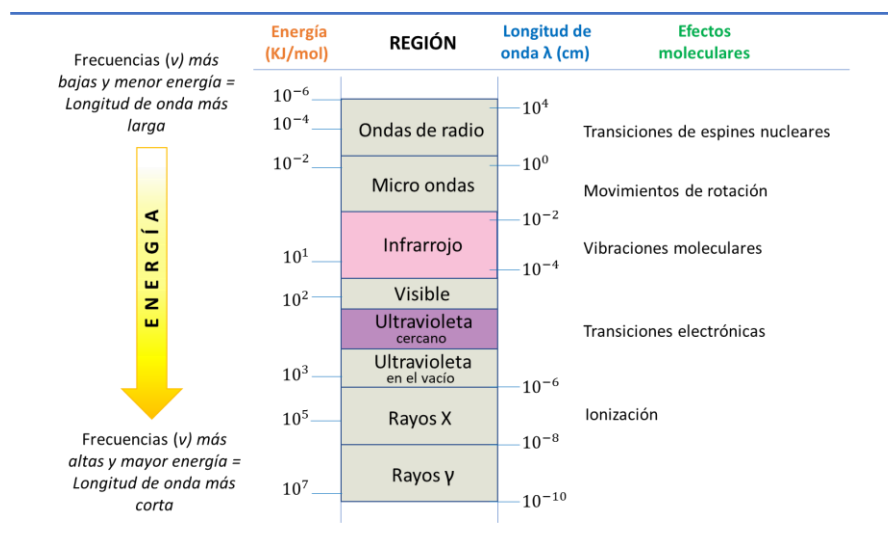


Figura 11. Espectro electromagnético. Modificado de Wade (2011).

Las diferentes Espectrometrías se diferencian entre sí por la región del espectro electromagnético a la que pertenece la radiación o luz con la que operaran; la luz visible, la luz infrarroja o las ondas de radio son ejemplos de radiación electromagnética y en la figura 11 podemos ver cómo están distribuidas en el espectro dependiendo de su nivel energético, frecuencia o longitud de onda (Skoog, *et al.*, 2015).

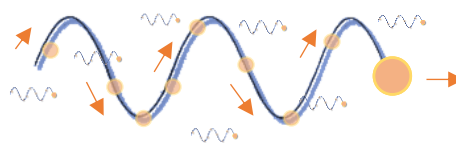
Por consiguiente, y sabiendo que los diferentes tipos de radiación viajan a la misma velocidad (velocidad de la luz: 3×10^{10} cm/s) pero difieren en frecuencia y longitud de onda cada una de la Espectrometrías afectará a los materiales en una forma diferente, generando efectos moleculares distintos que brindarán información valiosa que podemos interpretar respecto a su estructura y composición, entre otras propiedades (McMurry, 2012). La aplicación de una sola de estas técnicas no es lo suficientemente concluyente por lo que se recomienda complementar los resultados con más de uno de estos análisis, además, de ser posible el uso de bibliotecas o bases de datos simplificará bastante la interpretación de los resultados.

Estas técnicas espectroscópicas son complementarias y son más poderosas cuando se usan en conjunto. En muchos casos, no se puede identificar por completo un compuesto desconocido a partir de un solo espectro sin información adicional, aunque la estructura puede determinarse de manera confiable empleando dos o más tipos distintos de espectros (Wade, 2011).

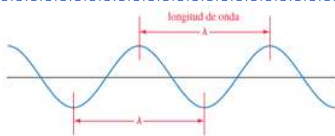
La interpretación de los espectros obtenidos en cada una de estas técnicas está fundamentada en el comportamiento dual de onda y partícula de la radiación electromagnética, por lo que es importante tener presente los modelos que rigen este comportamiento.

El comportamiento de la radiación electromagnética (también denominada “luz”) es complejo, pero puede describirse a través de un modelo ondulatorio complementado con un modelo corpuscular, es decir, tiene un comportamiento dual como onda y como partícula (Figura 12). Considerando lo anterior, la luz viaja en el espacio a una velocidad de 3×10^{10} cm/s como una corriente ondulatoria de partículas (fotones) que transportan energía sin masa, dando origen a diferentes tipos de radiación de acuerdo con la longitud y frecuencia de onda con la que se desplazan (Skoog, *et al.*, 2015; Wade, 2011).

Comportamiento DUAL de la radiación: La Luz se propaga en el espacio como una corriente de partículas denominadas “fotones,” que transportan energía sin masa y siguen una trayectoria ondulatoria con una determinada frecuencia y longitud de onda.



Modelo ondulatorio:
La luz como onda



Modelo corpuscular:
La luz como partícula
(un haz de fotones)



Frecuencia (ν , “nu”): Ciclos de onda completos que atraviesan un punto fijo en un segundo.

Longitud de onda (λ , “lambda”): Distancia entre dos crestas o dos valles de la onda.

La longitud y la frecuencia de una onda son inversamente proporcionales, se relacionan por la siguiente ecuación:

$$\nu \lambda = c \quad \text{o} \quad \lambda = \frac{c}{\nu}$$

donde:

c = velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s)

ν = Frecuencia en hertzios

λ = longitud de onda en centímetros

Fotón de luz: Partícula de luz que funge como un paquete de energía sin masa. La cantidad de energía del fotón es directamente proporcional a la frecuencia de onda con la que viaja en el espacio.

$$\text{Energía (E)} = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

donde:

h = Constante de Planck (6.62×10^{-37} KJ*s)

c = velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s)

ν = Frecuencia en hertzios

λ = longitud de onda en centímetros

Figura 12. Propagación de la luz (radiación electromagnética).
Elaborado con información de Skoog, *et al.*, (2006) y Wade, (2011).

3.4.2.1 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS)

La energía de los fotones de rayos X resulta característica de la transición electrónica ocurrida, siendo así característica de cada átomo. Esta técnica es complementaria con SEM pues se obtiene mediante un detector de rayos X emitidos durante un barrido SEM, permitiendo así realizar un análisis elemental así como mapeos elementales para conocer la distribución superficial de dichos elementos en la muestra.

3.4.2.2 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica permite el estudio de la composición principalmente de compuestos orgánicos, utiliza luz infrarroja (IR) cuya energía provoca las vibraciones de los enlaces entre

los elementos de la muestra y proporciona evidencia de los grupos funcionales presentes en la figura 13.

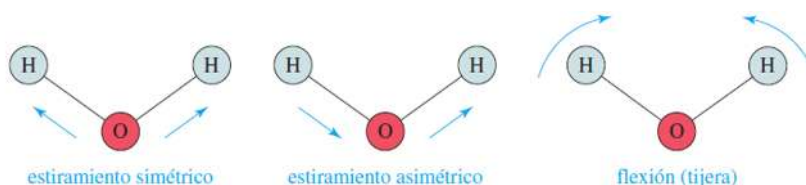


Figura 13. Movimientos “modos” vibracionales característicos del agua. Tomado de Wade (2011).

Un espectro de infrarrojo (Figura 14) es la representación gráfica de la luz infrarroja que la muestra absorbió o transmitió y provee una zona de “vibraciones sencillas” las cuales son predecibles y ampliamente reportadas en la literatura y una zona de vibraciones complejas conocida como “huella dactilar” pues es característica de cada compuesto.

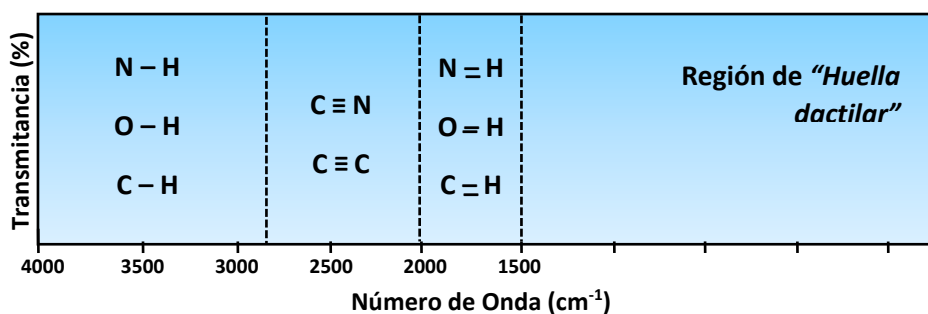


Figura 14. Regiones del espectrograma Infrarrojo. Tomado de Wade (2011).

Un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (IR-TF) usa un interferómetro para medir un espectro IR. La luz IR va de la fuente a un separador de haces. Parte del haz pasa a través del separador de haces y parte se refleja a un ángulo recto. El haz reflejado pega en un espejo estacionario, mientras que el haz transmitido pega en un espejo que se mueve a una velocidad constante. Los haces regresan de los espejos para volver a combinarse en el separador de haces. El haz del espejo móvil ha recorrido una distancia distinta a la del haz del espejo fijo, y los dos haces se combinan para crear un patrón de interferencia llamado interferograma. Este interferograma, contiene de manera simultánea todas las frecuencias, pasa a través del compartimiento de la muestra para alcanzar el detector. Se dice que el interferograma está en el *dominio del tiempo*, que corresponde a la energía observada por el detector a medida que el espejo se mueve a través de la señal. Un algoritmo de cómputo estándar llamado transformada de Fourier convierte el dominio del tiempo al espectro en el *dominio de la frecuencia* que permite observar la intensidad de la absorción como una función de la frecuencia o longitud de onda (Wade, 2011).

3.4.2.3 Espectroscopía RAMAN

La Espectroscopía RAMAN es una técnica fotónica de alta resolución análoga de la espectroscopía infrarroja pues ambas proporcionan información molecular de la misma índole, pero complementaria. Debe su nombre al Físico Hindú Chandrasekhara Venkata Raman (1888-1970) quien descubrió este efecto en 1928 al irradiar un líquido transparente con una luz monocromática y al estudiar el espectro resultante de luz difundida observo que había una porción de variaciones de frecuencia comprobando con esto las predicciones teóricas de la difusión inelástica de los fotones propuestas en 1923 por uno de sus alumnos el Físico A. G. S. Smekal (1895-1959); este trabajo lo haría meritorio del premio Nobel de Física en 1930 reconociendo sus descubrimientos como el “efecto RAMAN” o “dispersión RAMAN”.

En los años siguientes con fundamento en la dispersión Raman comenzó a consolidarse la técnica *Espectroscopía Raman* de análisis molecular que ganó terreno frente a la espectroscopía infrarroja dado que estos espectros debían registrarse manualmente mientras que en Raman se obtenían en una placa fotográfica, para 1945 con la introducción del registro automático en los instrumentos de infrarrojo estos volvieron a ganar popularidad considerablemente respecto a la preferencia de Raman y fue hasta 1965 con la integración de registradores electrónicos en lugar de los fotográficos, los sistemas de amplificación y con el descubrimiento del láser que se incorporó como fuente de excitación que la Espectroscopía Raman tuvo la aceptación definitiva que hoy en día la coloca como una de las técnicas de identificación y análisis instrumental de materiales más destacada (Smith & Dent, 2019).

Esta técnica se caracteriza por proporcionar información cualitativa y cuantitativa sobre la composición química y estructural en pocos segundos de materiales tanto orgánicos como inorgánicos en cualquier estado de agregación (sólido, líquido o gaseoso) y su aplicación no está limitada para ningún campo de aplicación ya que se basa en el estudio de modos vibracionales y rotacionales (entre otros) que están presentes en todo material. Entre otras ventajas encontramos que se realiza directamente sobre la muestra sin necesidad de algún tratamiento previo y se cataloga como una técnica no destructiva ya que no provoca alteraciones en la superficie de la muestra analizada (Pérez, *et al.*, 2022).

El análisis consiste al igual que los trabajos galardonados de C.V. Raman, en hacer incidir un haz de luz monocromática con una determinada frecuencia (ν_0) sobre el material a analizar e interpretar el espectro resultante de luz dispersada. Para su interpretación se requiere consultar literatura previa que reporte la asignación de las bandas Raman registradas.

En sus estudios el Dr. Raman describió que aproximadamente el 99% de la luz dispersada posee la misma frecuencia que la radiación incidente (ν_0) denominada dispersión de Rayleigh (dispersión elástica) y la pequeña porción restante ($\approx 1\%$) presenta una variación en su frecuencia y es la que se conoce como dispersión Raman (dispersión inelástica) dividida

en *dispersión Raman “Stokes”* o *“anti-Stokes”*. En el caso de líneas Stokes ocurre que el fotón incidente choca con una molécula en estado fundamental que al absorber la energía del fotón sube momentáneamente a un nivel energético no permitido y al relajarse regresa a un estado mayor al original es decir que hubo transferencia de energía del fotón a la molécula por lo que al ser dispersado tiene una frecuencia menor a la incidente ($\nu_0 - \nu_r$), por el contrario las líneas anti-Stokes se producen cuando el fotón es dispersado con una frecuencia mayor a la incidente ($\nu_0 + \nu_r$) a consecuencia de que es la molécula quien transfiere energía al fotón dado que al chocar con la molécula esta no se encontraba en su estado de vibración fundamental sino en uno de mayor energía y al relajarse después de ser excitada a un nivel mayor esta regresa hasta su estado fundamental (*Figura 15*)(Pérez, 2005).

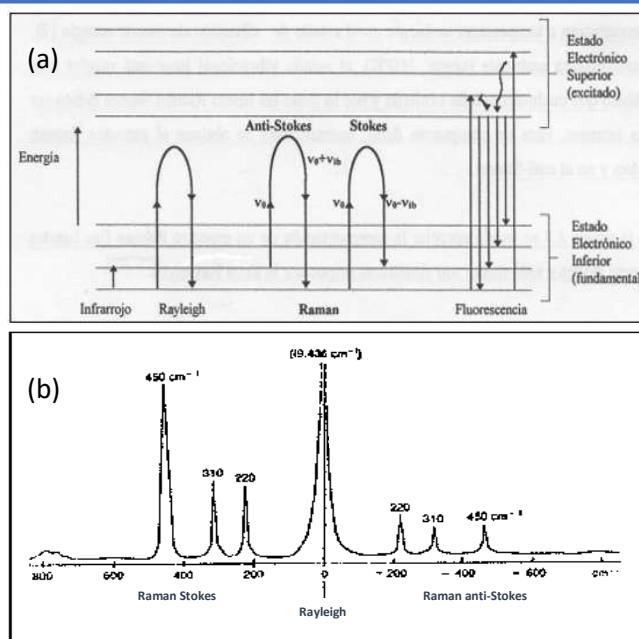


Figura 15. *Dispersión de luz esquematizada por la teoría de bandas a) y en un espectrograma b)*(Pérez, 2005).

La dispersión Rayleigh no aporta ninguna información sobre la composición molecular de la muestra pero la dispersión Raman si, la diferencia entre la frecuencia de la luz incidente y la dispersión Raman es característica de la molécula irradiada y numéricamente igual a algunas frecuencias de vibración o rotación de la molécula esto permite el estudio de modos de baja frecuencia (como los vibratorios, rotatorios entre otros) lo que hace posible la identificación de casi cualquier material orgánico y/o inorgánico (a diferencia del infrarrojo). En un espectrograma Raman típico suele tomarse el centro del pico Rayleigh como el origen y graficar en el eje de la abscisas únicamente el desplazamiento Raman Stokes dado que es el de mayor intensidad, y por conveniencia se toma como un eje positivo (Pérez, 2005).

3.4.2.4 Espectroscopía de Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de Rayos X (DRX) es una técnica espectroscópica de análisis instrumental que provee información cualitativa y cuantitativa sobre la geometría cristalográfica de un material (Faraldos & Goberna, 2011). El descubrimiento de los Rayos X en 1895 fue meritorio del premio nobel de Física en 1901 para su autor el ingeniero físico-mecánico alemán Wilhelm Conrad Röntgen (1845 – 1923), fueron nombrados así porque en ese entonces se desconocía su naturaleza además Röntgen solicitó no llevaran su nombre. En 1912 fueron explicados pero el nombre Rayos “X” se mantuvo (Brusch, 2016).

El primer gran impacto de los Rayos X fue en el campo de la medicina dando origen a las radiografías. Röntgen describió que estos rayos a diferencia de la luz ordinaria eran invisibles y viajaban en línea recta pero ennegrecían las películas fotográficas similar a la luz y eran más penetrantes al grado de poder atravesar el cuerpo humano, madera, piezas delgadas de metal, entre otros, de esta manera en un radiografía es posible localizar fracturas puesto que las porciones menos densas de hueso dejan pasar mayor proporción de radiación X que las porciones más densas (Guerra, 2015).

Los Rayos X fueron descritos gracias al descubrimiento del fenómeno de difracción de rayos X en cristales, consolidándose como un método de análisis de materiales. W.H y W. L. Bragg (padre e hijo) al trabajar con cristales observaron patrones de dispersión que no ocurrían en líquidos, para una cierta longitud de onda (λ) y una dirección específica (ángulo θ) se registraban intensidades máximas de luz dispersada (conocidos ahora como picos de Bragg). Para su entendimiento Bragg hijo describió a estas estructuras cristalinas como un conjunto de planos paralelos que dispersaban los rayos X en todas direcciones, parte de estos chocan y se cancelan mutuamente (interferencia destructiva) y otra parte coincidían en fase reforzándose mutuamente (interferencia constructiva), por lo tanto sugirió que a través de una cierta reflexión especular entre los planos ordenados regularmente se podía explicar la interferencia constructiva (Ley de Bragg, *ecuación 2*) que da origen a los intensos picos observados, el fenómeno fue llamado *difracción de rayos X* (Castellano, 2022). Por estas aportaciones cristalográficas los Bragg fueron galardonados con el premio Nobel de Física en 1915.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Ley de Bragg} \quad \dots\dots\dots \text{ecuación (2)}$$

Describe la interacción constructiva en términos de la relación existente entre la distancia interplanar (d_{hkl}), la longitud de onda (λ) y el ángulo del haz de rayos X

Resumidamente la Difracción es luz dispersada con la misma frecuencia que el haz incidente (elásticamente) y se presenta únicamente cuando ocurre una interferencia constructiva entre los rayos dispersados, es decir, cuando cumplen con la Ley de Bragg (*Figura 16*)(Castellano, 2022).

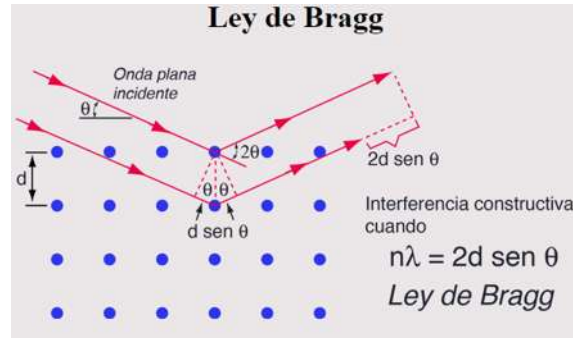


Figura 16. W. H. Bragg y W. L. Bragg (padre e hijo) ganadores del premio nobel de física en 1915 por sus aportaciones cristalográficas de rayos X (Ley de Bragg esquematizada en el inciso a). Elaborado con elementos disponibles en biografiasyvidas.com y López (2019) disponible en uvadoc.uva.es

En un análisis DRX se realiza un barrido angular con un haz monocromático, en un material cristalino se ira cumpliendo la condición de Bragg para diferentes valores obteniendo picos cuya intensidad se presentará gráficamente en función del ángulo de difracción en un difractoograma o patrón de difracción (Figura 17a) que será característico de la geometría cristalina del material (Castellano, 2022), la posición de los picos proveerá información respecto a la estructura del cristal y posición de los átomos en la red (sistema cristalino, red de Bravais, parámetros de red, índices de Miller, distancias interplanares) (Figura 17b-c), a su vez esta información posibilitará identificar las fases presentes en muestras policristalinas, y a partir de la intensidad y anchura de pico se calcula el grado de cristalinidad y tamaño de cristal, respectivamente. Para la interpretación y asignación deberá cotejarse con una base de datos y es recomendable complementar con otras técnicas de análisis de materiales (Faraldos & Goberna, 2011; Waseda *et al.*, 2011; Martínez, 2018).

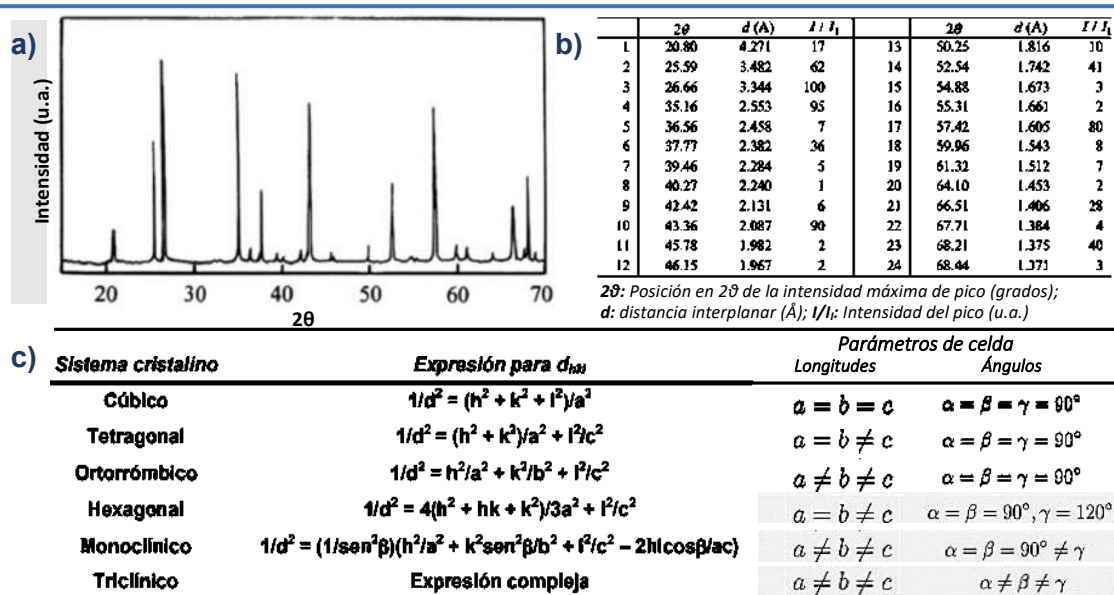


Figura 17. (a) Representación gráfica del análisis de difracción de rayos X de un material cristalino, (b) información relevante para el análisis (b). Modificados de Waseda *et al.*, (2011). (c) Ecuación de espaciado interplanar y parámetros de celda unidad de los sistemas cristalinos. Modificados de Pérez (2019).

3.4.2.5 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X mejor conocida como XPS (por sus siglas en inglés “*X-ray photoelectron spectroscopy*”) es una técnica analítica cualitativa y cuantitativa de superficie que proporciona información composicional y química de los elementos presentes excepto el hidrogeno y el helio (De la Cruz, 2017).

El desarrollo de esta técnica es la suma de las contribuciones de Heinrich Hertz (1857-1894) quien descubrió el efecto fotoeléctrico en 1887, la contribución de Albert Einstein (1879-1955) quien describió teóricamente dicho efecto en 1905 (premio Nobel en 1921) y por último, con fundamento en este efecto el fisico sueco Kai Manne Börje Siegbahn (1918-2007) y sus colaboradores desarrollaron esta técnica llamada originalmente *espectroscopía electrónica para el análisis químico (ESCA, Electron Spectroscopy for Chemical Analysis)* meritoria del Nobel de Física en 1981(Faraldos & Goberna, 2011).

El análisis consiste en irradiar la superficie de la muestra con un haz de rayos x, debido al efecto fotoeléctrico cuando los fotones del haz se encuentran con un elemento presente es posible que un fotón con energía $h\nu$ interactúe con un electrón de un cierto nivel de energía de enlace (BE , *Binding Energy*) y le transfiera toda su energía dando como resultado la emisión de un fotoelectrón con una energía cinética (KE , *Kinetic Energy*) característica del elemento involucrado y de su entorno químico (*Figura 19*). El prefijo *foto* indica precisamente que los electrones han sido expulsados de la superficie de un material a causa de la luz incidente (Moulder *et al.*, 1993; Faraldos & Goberna, 2011).

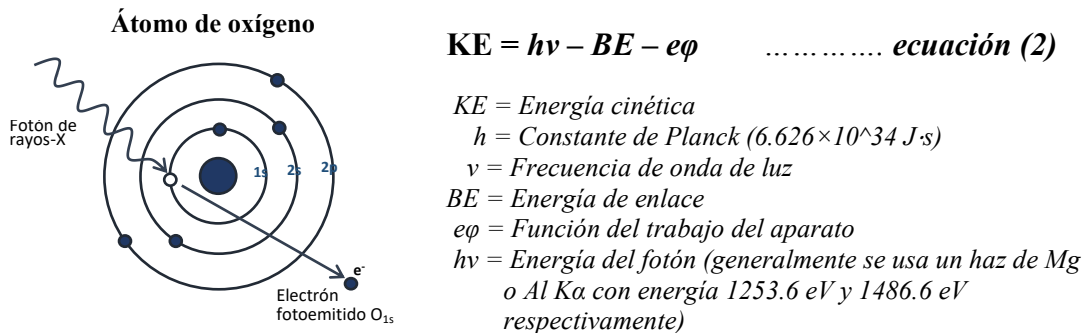


Figura 18. Esquema del efecto fotoeléctrico y su ecuación establecida por Albert Einstein en 1905. Elaborado con información de De la Cruz, 2017.

Por lo tanto, el equipo se encarga de medir la energía cinética con la que los electrones son expulsados y los resultados se presentan gráficamente en un espectrograma representando la intensidad del energía cinética (picos) en función de las energías de enlace, dado que cada elemento genera un patrón único es posible el análisis elemental y derivado de la ecuación 2 se infiere que los cambios de BE repercuten directamente sobre la KE y de esta forma es que este análisis también proporciona información respecto al estado químico de los elementos presentes en la superficie de la muestra analizada. Al igual que otras técnicas

espectroscópicas la atribución del patrón de picos obtenidos se realiza mediante un cotejo con bases de datos y lo ideal es apoyarse y complementar con otras técnicas (Guozhong & Ying, 2011).

Además como regla general en un análisis XPS se realiza primero un espectro de barrido amplio (*Figura 20.a*) y posterior se realizan barridos locales de alta resolución sobre las zonas donde se encontraron picos en el primer barrido para corroborar y ampliar la información (*Figura 20.b*). En este segundo barrido en las zonas características de cada elemento es posible apreciar picos correspondientes a los dobletes característicos del elemento químico y por consiguiente la notación de indexado que se usa es el acoplamiento espín-órbita ($2p_{1/2}$, $2p_{3/2}$, $3d_{3/2}$, $3d_{5/2}$,...) (De la Cruz, 2017).

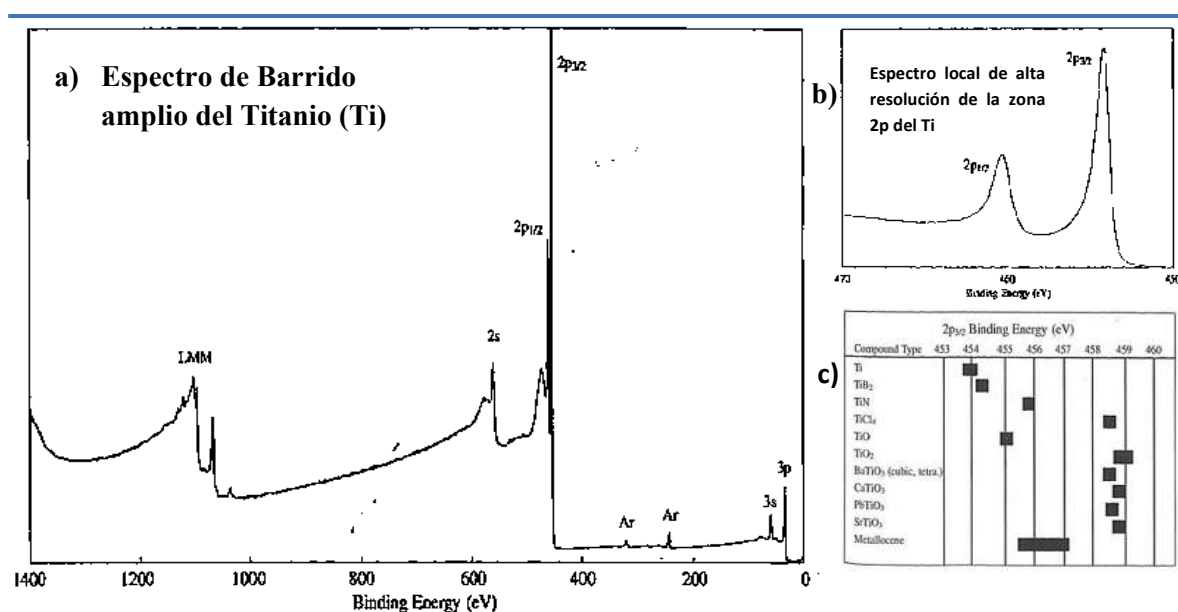


Figura 19. Espectro de barrido amplio (a) y local de alta resolución del Titanio (b), energías de enlace típicas del Ti (c).

Extraído de Moulder et al., (1993) disponible en <https://www.cnyun.unam.mx/~wencil/XPS/xpsmedellin.pdf>

Los valores de separación de un doblete (producido por la interacción Spin-Órbita) de un nivel interno de un elemento así como la resta de las áreas de estos picos en diferentes compuestos son casi los mismos. El valor de separación de los dobletes y el cociente de las áreas son de gran ayuda para la identificación de elementos. Complementariamente los corrimientos químicos son una herramienta poderosa para identificar ambientes químicos, estados de oxidación y grupos funcionales, por ejemplo, en la figura 20.c se presentan distintas zonas donde aparecen los picos característicos del Ti en función del compuesto (Moulder, 2011). Esta técnica es muy útil en el análisis de superficies e interfases de un amplio tipo de materiales compatibles con el sistema de ultra-alto vacío que requiere el equipo como son metales, aleaciones, materiales cerámicos, polímeros, vidrios, semiconductores, muestras geológicas (De la Cruz, 2017).

3.4.2.6 Espectroscopía Ultravioleta-Visible por Reflectancia Difusa (UV-Vis DRS)

La técnica de análisis espectroscópico ultravioleta-visible (UV-Vis) se caracteriza por utilizar radiación de las regiones del espectro visible, ultravioleta cercano (UV) e infrarrojo cercano (NIR) aproximadamente en un rango de longitudes (λ) desde 160 hasta 780 nm. La interacción de la luz correspondiente a estas regiones del espectro electromagnético con la materia provoca transiciones electrónicas desde un estado fundamental o basal a un estado excitado (de mayor energía) liberando el exceso de energía en forma de calor, estas transiciones pueden ser cuantificadas y con ello proveer información útil para su análisis e interpretación. Considerando que los electrones que pueden absorber energía a estas frecuencias son aquellos que participan en los enlaces moleculares (electrones de valencia) los diferentes picos o bandas que son observados en un espectro UV-Vis pueden ser relacionados con el tipo de enlaces presentes en la muestra y con ello permitir la identificación de grupos funcionales (Owen, 2000; Rubinson & Rubinson, 2001).

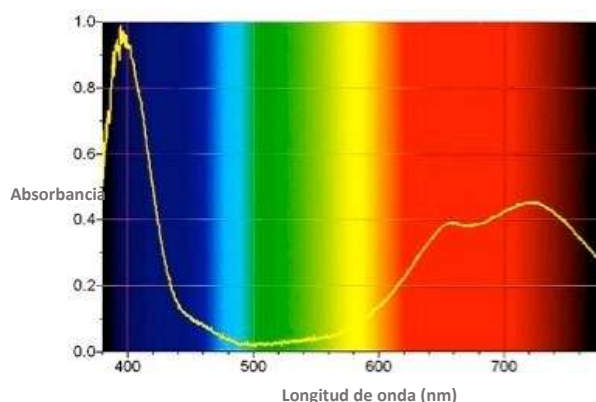


Figura 20. Ejemplo de un espectro de absorción en las regiones UV, Visible y NIR y sus coloraciones características. Tomado de <https://steemit.com/stem-espanol/@rossyholg/espectroscopia-de-reflectancia-difusa>

Cuando se hace incidir un haz de luz o radiación UV-Vis este puede absorberse, atravesar o reflejarse en la muestra que contiene el analito, es decir que, a partir de la intensidad del haz incidente o inicial identificada como I_0 se obtiene una intensidad I al atravesar la muestra, a esta porción de luz que corresponde a una fracción de la radiación inicial se le conoce como transmitancia (T) (ecuación 3), por consiguiente la diferencia entre la intensidad de luz incidente y la que atraviesa la muestra se conoce como absorbancia (A) (ecuación 4) y corresponde a la fracción de luz absorbida (Owen, 2000).

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \dots \dots \text{ecuación (3)} \quad \quad A = -\text{Log} T \quad \dots \dots \text{ecuación (4)}$$

Es común que en los espectros UV-Vis los resultados se presenten en términos de la absorbancia (A) con fines prácticos, ya que esta característica se relaciona linealmente con la concentración del analito o especie absorbente según la ley de Lambert-Beer definida matemática en la ecuación 5 (Owen, 2000; Pavia *et al.*, 2001; Skoog *et al.*, 2015):

3.5 Caracterización electroquímica de nanosensores

Como se abordó en la sección 3.2 en temas sobre electroquímica existen diversas técnicas que permiten obtener información cualitativa y cuantitativa sobre especies electroactivas, sin embargo a continuación se mencionan únicamente las dos técnicas de esta naturaleza que se usaron en el presente trabajo para la caracterización y evaluación electroquímica de los sensores sintetizados.

3.5.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica

Esta técnica mejor identificada por sus siglas en inglés *EIS* (Electrochemical Impedance Spectroscopy) es una herramienta muy útil para el análisis de comportamientos electroquímicos de interfaces de electrodo-electrolito o el comportamiento de recubrimientos sobre sustratos metálicos.

Para adentrarse en la comprensión de la técnica se requiere tener en cuenta el concepto de circuito eléctrico, ya que para el análisis e interpretación de cualquier análisis EIS se requiere que los resultados sean aproximados a un modelo propuesto de circuito equivalente que se ajuste lo mejor posible al comportamiento del sistema. Por lo tanto y de forma general conviene mantener en mente que un circuito eléctrico consiste en un conjunto de elementos conectados entre sí por los que puede circular una corriente eléctrica. El circuito eléctrico más simple se compone por lo menos de tres elementos eléctricos: la resistencia, capacitancia y la inductancia, mientras que en circuitos más complejos aparecen otros componentes cuya contribución ayuda a entender el comportamiento del sistema (*Figura 23*). Esta información da origen al concepto de impedancia, que no es más que la resistencia de un sistema al paso de una corriente eléctrica, cualidad bastante importante en un dispositivo electroquímico. Si bien la resistencia o impedancia es el principal objetivo a determinar con esta técnica, el análisis por sí solo entrega mucha más información de utilidad si se realizan las interpretaciones correspondientes (Rubinson & Rubinson, 2001).

Elemento equivalente	Impedancia
Resistor (R)	R
Capacitor (C)	$1/j\omega C$
Inductor (L)	$j\omega L$
Elemento de fase constante (Q)	$1/Y(j\omega)^p$
Warburg semi infinito (W)	$1/Y(j\omega)^{1/2}$
Warburg limites porosos (O)	$1/Y(j\omega)^{1/2} \text{Coth } \beta$ $(j\omega)^{1/2}$
Warburg finito (T)	$1/Y(j\omega)^{1/2} \text{Tanh } \beta (j\omega)^{1/2}$

Figura 22. Elementos que pueden presentarse en un circuito eléctrico equivalente de un análisis EIS.
Extraído de <https://revistas.unal.edu.co>

El análisis EIS se realiza en un celda electroquímica del mismo arreglo que una voltimetría o potenciometría, pero su ejecución consiste en aplicar un potencial eléctrico de

frecuencia variable al material estudiado y medir el desfase de la respuesta de intensidad del material respecto a la frecuencia del potencial aplicado. Para la representación gráfica de los resultados EIS existen dos tipos: El diagrama de Nyquist y el diagrama de Bode.

- Los diagramas de Nyquist son los más empleados y en estos se representa la parte imaginaria (Z'' multiplicada por -1) en función de la parte real (Z').
- En la representación Bode se gráfica el módulo de la impedancia ($\log |Z|$) y el desfase (φ) en función del logaritmo de la frecuencia ($\log \omega$).

Si bien un analizador experimentado podrá inferir información cualitativa a partir de los gráficos, para su interpretación se requiere la aproximación de los datos experimentales a un circuito eléctrico equivalente para obtener los valores de los elementos que integran dicho circuito como la resistencia de la disolución, la resistencia de polarización la capacitancia de la doble capa eléctrica, entre otros parámetros. Como dato importante la resistencia de la disolución o impedancia del electrodo se obtiene a altas frecuencias y en conjunto con lo otros elementos eléctricos presentes dan información sobre la cinética de la reacción (Bavykin & Walsh, 2010).

En la figura 23 se muestran ejemplos de un sistema simple expresado en el gráfico de Nyquist y el de Bode así como el circuito equivalente que modela el comportamiento esquematizado en cada gráfico (Vázquez, 2007).

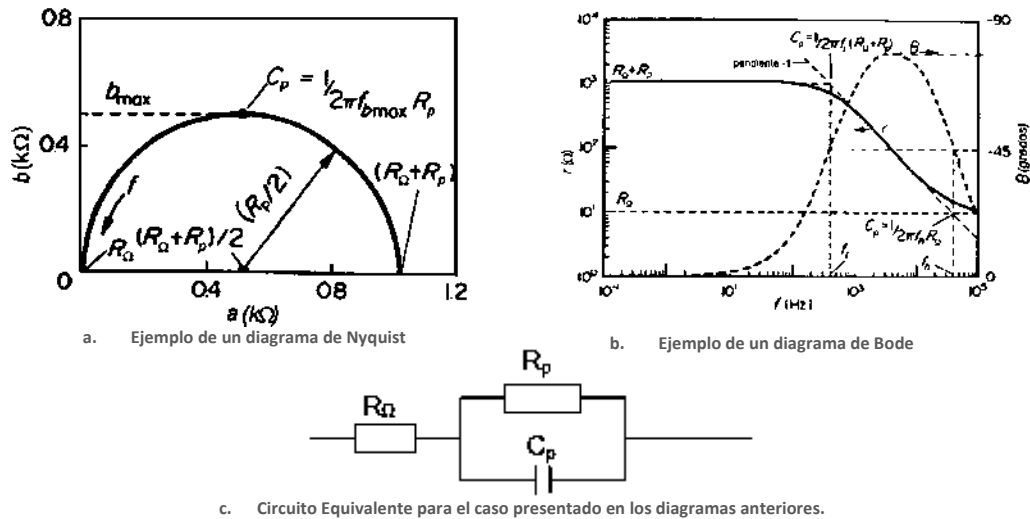


Figura 23. Representación de un análisis EIS en un diagrama de Nyquist (a) de Bode (b) y su circuito equivalente (c) Tomado de Vázquez (2007).

En los diagramas de la figura 24 se observa el valor de la resistencia a la transferencia de carga o resistencia de polarización (R_p) y la resistencia eléctrica del electrolito de trabajo (R_Ω) así como el calcular el valor de la capacitancia de la doble capa electroquímica (C_p) partiendo del valor de la frecuencia en el punto máximo de la curva de Nyquist (Vázquez, 2007).

3.5.2 Voltametría Cíclica

Las técnicas de voltametría se aplica una señal de potencial variable al electrodo de trabajo de una celda electroquímica, esta señal incidente de excitación causa como respuesta una corriente eléctrica medible. En la figura 25 se muestran cuatro posibles tipos de señal de excitación, de cada una de ellas se deriva una técnica de análisis electroanalítica (Skoog, et al., 2015).

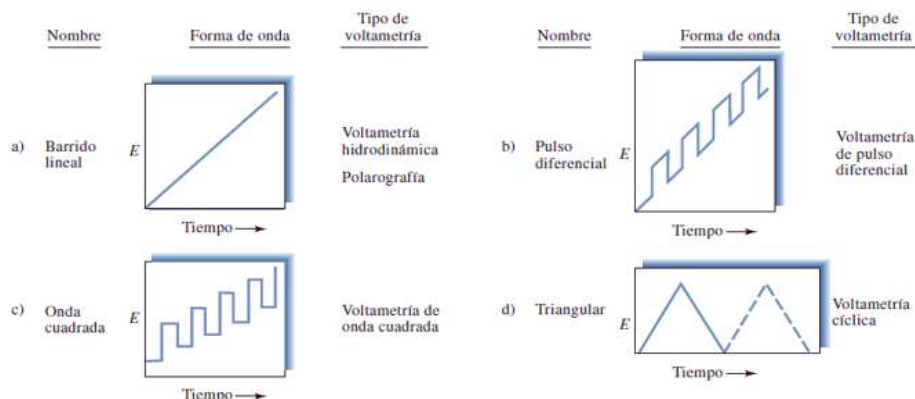


Figura 24. Tipos de señales de excitación que dan origen a distintas técnicas de voltametría (Skoog, et al., 2015).

Particularmente la señal más ampliamente utilizada es la triangular que sustenta la técnica de voltametría cíclica (VC). En esta técnica en particular es una herramienta muy popular para investigar procesos que involucran reacciones de óxido-reducción, así como los procesos de transferencia electrónica como la catálisis.

En un estudio común de VC, en un celda electroquímica de tres electrodos (ET, *electrodo de trabajo*; CE, *contraelectrodo*; ER, *de referencias*) se mide la intensidad de corriente obtenida para cada valor de un rango de potencial medido en forma triangular, el barrido parte de un valor inicial (A) hasta un límite (D) donde la dirección del barrido invierte su sentido y regresa al punto (A→G) para completar el ciclo como se muestra en la figura 26, según la forma que tome la curva derivada del barrido puede ofrecer información cualitativa útil respecto del sistema electrodo-electrolito así como de la reacción redox involucrada.

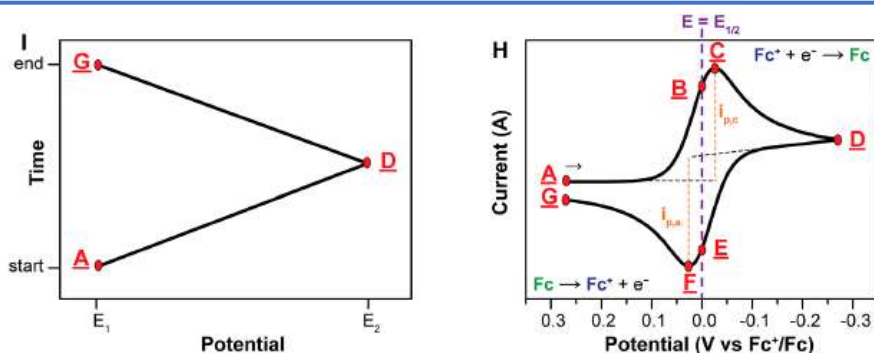


Figura 25. Voltametría cíclica: Perturbación triangular y su curva característica (voltamograma) Extraído de Elgrishi et al., (2018).

A partir de un voltamograma los datos más importantes que pueden obtenerse de acuerdo con Elgrishi *et al.*, (2018) son el potencial de pico anódico (E_a), potencial de pico catódico (E_c) y asociado cada uno de estos la intensidad de pico anódico y pico catódico (I_a , I_c respectivamente), estas intensidades se relacionan proporcionalmente con la cantidad de especie redox bajo análisis por lo que es posible obtener la información cualitativa y cuantitativa de dicho analito. También es posible diferenciar entre distintas especies electroactivas según el potencial donde se registre su pico de oxidación y/o reducción. Esta relación intensidad-concentración se establece en la ecuación de Randles-Sevcik:

$$I_p = (2.69 * 10^5) * n^{3/2} * A * C * D^{1/2} * v^{1/2} \quad \dots \dots \dots \text{ecuación (7)}$$

Ecuación de Randles - Sevcik; donde:

n = número de moles de electrones involucrados en la reacción

A= Área del electrodo en cm^2

C= Concentración del analito en moles/cm^3

D= Coeficiente de difusión en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

V= velocidad de barrido de potencial en $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$

Por otro lado, esta técnica también aporta información cualitativa respecto de la cinética de reacción y sobre el mecanismo de reacción del electrodo que puede obtenerse a partir de la forma del voltamograma, puede inferirse si la reacción es reversible, cuasi-reversible o no reversible y se puede estimar el potencial formal de celda y semicelda usando la ecuación de Nernst que relaciona el potencial de una celda electroquímica (E) con el potencial estándar de semicelda (E^0) y las concentraciones de la especie oxidada (Ox) y la reducida (Red) del analito en un sistema en equilibrio.

$$E = E^0 + 2.3026 \frac{RT}{F} \log_{10} \frac{[Ox]}{[Red]} \quad \dots \dots \dots \text{ecuación (8)}$$

Ecuación de Nernst; donde:

E= Potencial de celda

E^0 = Potencial estándar de semicelda

F= Constante de Faraday

R= Constante universal de los gases

n= número de electrones involucrados en la reacción

T= Temperatura

Derivado de esta ecuación es posible asegurar la reversibilidad del sistema si la separación entre el pico anódico y catódico cumple con la siguiente expresión:

$$|E_{pa} - E_{pc}| = 2.218 \frac{RT}{nF} \quad \dots \dots \dots \text{ecuación (9)}$$

Donde:

E_{pa} = Potencial de pico anódico

E_{pc} = Potencial de pico catódico

F= Constante de Faraday

R= Constante universal de los gases

n= número de electrones involucrados en la reacción

T= Temperatura absoluta en Kelvin

4 JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos años, el interés por la ingesta de compuestos nutraceuticos como el ácido ascórbico, ha adquirido una importancia exponencial entre la población, no solo por sus efectos nutricionales, inmunodefensivos y estructurales antienvjecimiento sino por su relación con estudios sobre tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares y cronicodegenerativas como el Cáncer (González & Miranda-Massari, 2014), Diabetes (Mendoza *et al.*, 2019) y Alzheimer (González-Rodríguez *et al.*, 2016). Según la OMS (2018) son las principales causas de muerte en el mundo desde hace más de 15 años.

Este creciente interés sobre el AA, ha incentivado a la industria alimentaria para buscar estrategias que garanticen que sus productos sean una buena fuente de ingesta de esta vitamina ya sea como una excelente estrategia de marketing o una acción de responsabilidad social; un ejemplo de estas estrategias es la fortificación (Bastías & Cepero, 2016). Esto involucra un monitoreo constante y es realizado principalmente por cromatografía líquida de alta densidad (HPLC) (De Faria, *et al.*, 2020). Este tipo de métodos instrumentales proveen un análisis ultra confiable pero son robustos, costosos y requieren un manejo bastante especializado; por su parte el uso de métodos químicos menos complejos como titulación con 2,6-diclorofenol (DCPIP) resulta en sensibilidad limitada (Pisoschi, *et al.*, 2014; Jiménez & León, 2008).

La alternativa, ha sido el desarrollo de biosensores enzimáticos que son pequeños, sencillos, económicos y han mostrado una alta sensibilidad y selectividad. Sin embargo, no han tenido el éxito deseado debido a las limitantes atribuidas a la inestabilidad del bioreceptor enzimático resultando en baja repetibilidad, poca estabilidad, corto periodo de vida, entre otros (Zheng *et al.*, 2016). Estas desventajas han abierto diversas líneas de investigación entre las que destaca la electrocatálisis no enzimática que busca constantemente materiales con alta porosidad o área superficial específica y con propiedad conductoras (Zhu, *et al.*, 2016).

Con este fundamento, el sensor electroquímico de ácido ascórbico propuesto en este trabajo puede aportar una alternativa analítica confiable, simple, económica, sensible y estable para determinaciones de esta vitamina en aplicaciones de control y calidad de procesos y productos en la industria alimentaria.

5 HIPÓTESIS

El prototipo de un sensor electroquímico basado en nanotubos de Óxido de Titanio (TiO_2) dopado con Plata (Ag) cuantifica concentraciones de ácido L-ascórbico (AA), exhibiendo sensibilidad, repetibilidad, estabilidad y selectividad en el mecanismo de análisis.

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Desarrollar un sensor electroquímico basado en nanotubos de TiO_2 (TiNT) dopados con Ag para la determinación de ácido ascórbico (AA).

6.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar y caracterizar TiNTs morfológica, composicional, estructural y electroquímicamente.
- b) Sintetizar y caracterizar TiNTs dopados con Ag (TiNT-Ag) morfológica, composicional, estructural y electroquímicamente.
- c) Evaluar el funcionamiento de la estructura sintetizada y seleccionada como sensor de AA con una muestra patrón grado reactivo.

7 METODOLOGÍA

La metodología empleada comprende tres etapas principales: Síntesis, caracterización y validación, como se muestra en la figura 27. Se inició con la síntesis y caracterización de los nanotubos de Óxido de Titanio puros (TiNTs) y comprobada la morfología y composición se comenzó con la síntesis de nanotubos de Óxido de Titanio dopados (TiNTs-Ag), por último se realizó la caracterización electroquímica y la validación de la respuesta electroanalítica en presencia de Ácido Ascórbico grado reactivo.

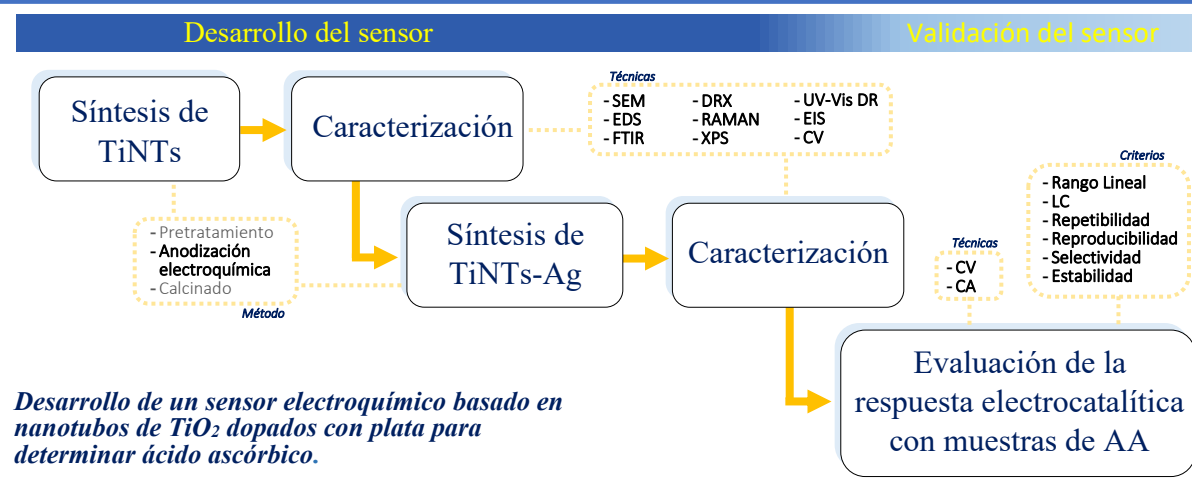


Figura 26. Metodología experimental

En los apartados siguientes se describe cada una de las etapas involucradas y se enlistan los diferentes reactivos, materiales y equipos utilizados en la realización del presente proyecto.

7.1 Reactivos, materiales y equipos.

Reactivos: Los diferentes reactivos empleados fueron de grado analítico, y en la preparación de las distintas soluciones se utilizó agua desionizada.

- Acetona (C₃H₆O)
- Alcohol Isopropílico (C₃H₈OH)
- Alcohol Metílico (CH₃OH)
- Agua Desionizada
- Ácido Clorhídrico (HCl, 0.1 M). Reactivo Fermont.
- Etilenglicol (C₂H₆O₂). Reactivo Meyer.
- Fluoruro de Amonio ACS (NH₄F). Reactivo Fermont.
- Nitrato de Plata (AgNO₃). Reactivo J.T. Baker.
- Ferrocianuro de Potasio (K₄Fe(CN)₆, 5 mM). Reactivo Meyer.
- Cloruro de Potasio (KCl, 1M). Reactivo Meyer.
- Ácido Ascórbico (C₆H₈O₆)

Materiales

- Lámina de titanio metálico, marca Sigma Aldrich (espesor de 0.127mm y pureza de 99.7%)
- Papel abrasivo de Carburo de Silicio de granulometría 400, 600, 1200, 1500 y 2000.
- Celda electroquímica para proceso de síntesis (Vaso de precipitados de 400 ml)
- Barras de agitación magnética. (“Moscas de agitación”)
- Celda electrolítica para pruebas electroquímicas (Vaso de precipitados de 100 ml)
- Electrodo de Platino
- Electrodo de Ag/AgCl saturado con KCl (Marca Gamry).

Equipos

- Baño ultrasónico con calentamiento (Branson 3800)
- Fuente de poder para suministro de corriente directa (Marca Wanptek modelo NPS3010W, 0-30 V/10 A)
- Potenciómetro (Conductronic pH 120)
- Agitador magnético con calefacción (IKA C-MAG HS 7)
- Horno de Mufla (Felisa)
- Desecador.
- Potenciaostato (Gamry Instruments). Software Echem Analyst.
- Agitador magnético con calefacción (IKA C-MAG HS 7)

7.2 Síntesis de nanotubos de TiO₂ con y sin dopaje.

Los TiNTs se sintetizaron por el método de anodización electroquímica, de acuerdo con la literatura (Bavykin & Walsh, 2010; Takahashi, 2018, entre otros) este método resulta en nanotubos orientados perpendicularmente al sustrato favoreciendo el flujo de electrones; además permite mayor control del diámetro y longitud a través de la manipulación de los parámetros electroquímicos, principalmente el voltaje, composición del electrolito y tiempo de oxidación anódica.

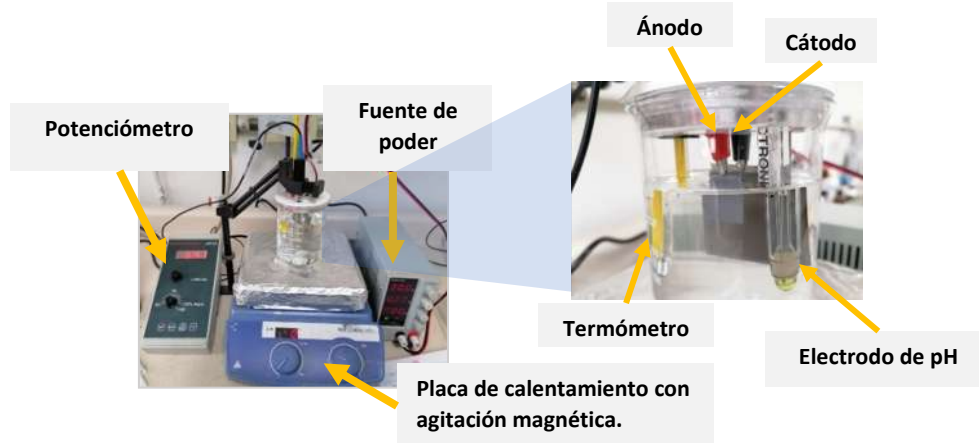


Figura 27. Celda electroquímica para el crecimiento de TiNT por anodización electroquímica

El sustrato utilizado para el crecimiento de los TiNTs fue una lámina de Titanio metálico (Sigma Aldrich, 99.7% pureza, espesor 0.127 mm) de la cual se cortaron rectángulos de 1.5 x 2 cm y 4 x 4.5 cm (*Figura 29*), la primera para fungir como sustrato y la última para utilizarse como cátodo en el arreglo de la celda electrolítica conectados respectivamente al polo positivo y negativo de una fuente de poder de corriente directa, y suspendidos paralelamente en un medio electrolito a una distancia aproximada de 2 cm como se muestra en la figura 28.



Figura 28. Corte de láminas de Titanio metálico

Previo a la anodización la placa sustrato recibió un pretratamiento de limpieza por pulido mecánico y químico para eliminar impurezas, de igual manera posterior al anodizado se realizó un tratamiento térmico para favorecer la cristalinidad del TiO_2 formado.

El pretratamiento de limpieza consistió en un pulido mecánico con papel abrasivo de números 400, 600, 1200, 1500 y 2000 sucesivamente. Seguido de baño ultrasónico en acetona, alcohol isopropílico, alcohol metílico y agua desionizada durante 15 minutos con cada solvente, por último, se sumergieron durante 10s en HCl 0.1 M y se enjuagaron con abundante agua desionizada (*Tabla 3*). Se secaron a temperatura ambiente y se almacenaron en desecador a la espera del tratamiento electroquímico.

Tabla 3 Pretratamiento de láminas de Titanio metálico

1	Pulido mecánico con papel abrasivo	#400	#600	#1000	#1200	#1500	#2000
		Ultra sonicación				Sumergir por 10s en HCl (0.1 M) y enjuagar con agua desionizada.	
2	Limpieza por ataque químico	Acetona	Alcohol isopropílico	Alcohol metílico	Agua desionizada		
		15 min	15 min	15 min	15 min		

El anodizado se realizó a potencial constante de 30 V y se evaluaron tres tiempos de anodizado (45, 60 y 90 minutos), el electrolito se preparó como lo reportado por Zaragoza

(2018) y se realizaron modificaciones obteniendo un total de 3 electrolitos diferentes con los que se valoró el efecto del contenido de agua y de la adición de HCl (0.1 M).

Posterior el anodizado, las muestras se enjuagaron con agua desionizada y se secaron a temperatura ambiente. Por último, se sometieron a tratamiento térmico en un horno de mufla a una temperatura de 500 °C por 2 horas.

Para la síntesis de los nanotubos de titanio dopados se utilizó Nitrato de Plata como fuente del dopante. El dopaje se realizó por anodización electroquímica en un paso, para lo cual se adiciono 1% en peso del dopante al electrolito soporte definido como optimo a partir de los resultados de las muestras de TiNTs puros y se sometió a las mismas condiciones de anodizado de los tratamientos T5, T6 y T7, por lo que en lo sucesivo las diferentes muestras de TiNT-Ag se identificaran como AgT5, AgT6 y AgT7 respectivamente.

7.3 Caracterización de nanotubos de TiO₂ con y sin dopaje

Cuando un compuesto de interes es obtenido de una nueva fuente o vía es importante determinar las características obtenidas para evaluar la pertinencia del método utilizado. De acuerdo con la aplicación que se pretende para los electrodos sintetizados de nanotubos de titanio con y sin dopaje se analizaran la composición, estructura y morfología además de propiedades ópticas y electroquímicas mediante las técnicas espectroscópicas FTIR, RAMAN, DRX, XPS, UV-Vis DRS, las electroquímicas EIS y CV y Microscopía Electrónica de Barrido.

Microscopía electrónica de barrido (SEM):

La morfología de las muestras se analizó en un Microscopio Electrónico de Barrido de emisión de campo, marca JEOL modelo JSM-7600F. Las muestras fueron analizadas a distintas magnificaciones y se utilizó un colector de electrones secundarios y un detector EDS con el cual se realizó microanálisis y mapeo elemental. Las muestras únicamente fueron fijadas al porta muestras con cinta adhesiva doble cara de carbono, para las vistas laterales fue necesario realizar un corte mecánico transversal a la lámina.

Difracción de Rayos X (DRX):

Con esta técnica se determina la estructura cristalina de las muestras sintetizadas. Se realizó en un difractómetro de rayos X Bruker D8 Advance Davinci el cual utiliza un fuente de radiación de K- α con longitud de onda (λ) de 1.5406 ángstroms. Para el análisis se aplicó un barrido de 20° a 80° en 2 θ con tamaño de paso de 0.02° por 0.4s.

Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR):

Esta técnica se realizó para obtener una aproximación de la composición química de la muestra mediante la determinación de los modos vibracionales presentes. Se empleo un

espectrómetro Bruker IR-FT Vertex 70 con aditamento ATR. El análisis se llevó a cabo en un rango de número de onda de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} con resolución de 4 cm^{-1} y tiempo de escaneo de 32 s. Los resultados se obtuvieron en % de Transmitancia.

Espectroscopía RAMAN

En el análisis de espectroscopía Raman se utilizó el equipo con microscopio confocal Witec Alpha 300R. Se usó un láser con longitud de onda (λ) de 488 nm. Esta técnica se realizó como complemento de FTIR y DRX para la determinación composicional y estructural.

Espectroscopía Ultravioleta-Visible con reflectancia difusa (UV-Vis DRS):

En las mediciones UV-Vis se empleó el espectrómetro Avantes AvaSpec 2048 con una lámpara de tungsteno-halógeno y la esfera de integración con trampa de luz para evitar la señal especular Ocean Optics ISP-50-8-R-GT con rango espectral de 200-2500 nm. Este sistema permite medir la reflectancia difusa de manera confiable, a partir de esta última se estimó el ancho de banda prohibida (Band gap) de las distintas muestras por el método de Kubelka-Munk.

Espectroscopía Fotoelectronica de rayos X (XPS):

Para la obtención de los espectros XPS se realizó un barrido general (0-1350 V) con tamaño y energía de paso de 1 eV/paso, y 100eV/paso respectivamente, además de un barrido de alta resolución en regiones específicas. Se aplicó erosión de 15s con haz de iones de argón acelerados 3 kV con potencia de 30 W que incide en un área de 1 x 2 mm concéntrico al haz de Rayos X. Se usó el equipo K-Alpha Surface Analysis de la compañía Thermo Fisher Scientific. El cañón de Rayos X utiliza una línea de excitación de K- α monocromada de aluminio (1486.6 eV) a 12 KV y 40 watts de potencia en un área ovalada de 400 μm de diámetro (spot) e incide a la muestra con un ángulo de 30°. Esta técnica además de respaldar los resultados de las técnicas anteriores respecto a composición proporcionará información respecto al estado electrónico de los elementos presentes en la superficie de la muestra, esto será útil para la interpretación de los resultados electroquímicos.

Caracterización Electroquímica

La caracterización electroquímica se realizó mediante pruebas de voltametría cíclica (VC) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en un sistema de 3 electrodos para tener un mejor control del sistema, donde las nanoestructuras sintetizadas fungieron como el electrodo de trabajo, como contraelectrodo se utilizó un hilo de platino y como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de Ag/AgCl saturado con KCl. Se empleó un potenciostato marca Gamry Instruments como fuente de poder externa y controlador del sistema.

Previo a la realización de las pruebas electroquímicas los electrodos sintetizados de nanotubos de TiO_2 puro y dopado se cubrieron con cinta aislante e impermeable dejando expuesta únicamente un área de 1 cm^2 . Los electrodos se evaluaron con una solución redox de ácido ascórbico 5 mM en cloruro de potasio (KCl , 1 M).

Voltametría Cíclica (CV)

Esta técnica se empleó para obtener la sensibilidad, límite de detección y cuantificación así como para evaluar la reversibilidad y estabilidad de los electrodos sintetizados. La evaluación se realizó en función de un rango de potencial de -1 a 1 V y en función de la velocidad de barrido ($25, 50, 75$ y $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$). De los resultados de estas pruebas se eligió a los dos electrodos con mejor respuesta electroquímica al ácido ascórbico de los cuales se realizó el análisis siguiente de impedancia electroquímica, una vez seleccionado uno de estos se realizó la evaluación de las cualidades de un sensor utilizando esta misma técnica de voltametría cíclica pero se con un ventana de potencial más amplia de -1 a 1.6 V .

Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS):

Las pruebas de impedancia se realizaron como para evaluar el efecto del dopaje sobre el TiO_2 puro respecto a la resistencia al paso de corriente, esperando menor impedancia en las muestra con dopaje. Se realizó en circuito abierto de potenciales, en un rango de frecuencia de 0.01 Hz hasta $100\,000 \text{ Hz}$ y amplitud de 5 mV .

7.4 Evaluación de la respuesta electroanalítica con Ácido Ascórbico (AA).

Se realizaron pruebas de voltametría Cíclica de tres ciclos en un rango de potencial de -1.0 a 1.6 V a una velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} en electrolito soporte de KCl 1 M bajo condiciones neutras, como lo reporta Pei et al. (2016).

Perfil de concentraciones: Sensibilidad, LD y LQ.

Para determinar la respuesta del sensor a concentraciones de ácido L-ascórbico se construyó una curva de calibración partiendo de la medición del blanco (35 ml de KCl 1 M) para posterior adicionar alícuotas de solución estándar de AA al electrolito soporte en un rango de concentración de 0 a 11 mM . A partir de las respuestas obtenidas se realizó la curva de calibración (Concentración vs. Corriente) y por ajuste lineal se obtuvo la ecuación de la recta para determinar los parámetros de sensibilidad y los límites de cuantificación (LQ) y detección (LD).

Repetibilidad

Para la evaluación de este criterio, se empleó un electrodo para medir repetidamente una solución 4 mM de AA en KCl 1 M durante 10 ciclos de CV en rango de -1 a 1.6 V y velocidad de barrido de 100 mVs⁻¹, los resultados se expresaron en términos de la desviación estándar.

Reproducibilidad

Se evaluó la respuesta de 3 electrodos distintos para una concentración 5 mM de AA en KCl (1 M) por VC en rango de -1 a 1.6 V y velocidad de barrido de 100 mVs⁻¹, los resultados se expresaron en términos de la desviación estándar

Estabilidad: $f(t)$.

Se evaluó el cambio en el desempeño del sensor en función del tiempo, las medición se realizaron a 10, 15, y 20 días posteriores a la medición inicial realizada inmediatamente después de la síntesis.

Selectividad

Se emplearon pruebas de voltametría cíclica aplicando la ventana de potencial y velocidad de barrido que se usó en las pruebas anteriores, la medición se comenzó con 35 ml de una solución con AA (10Mm) en KCl (1 M) al cual se le añade 1ml de AA 5 mM seguido de 1 ml de Glucosa 10 mM para observar si la glucosa afecta la medición de AA.

8 RESULTADOS

8.1 Síntesis y caracterización de TiNTs: Microscopía y técnicas espectroscópicas

Durante la síntesis de los TiNTs se observaron diversos cambios de color en las láminas sustrato, resultando en diferentes coloraciones finales entre los tratamientos debido a los diferentes tiempos de anodizado y la composición del electrolito utilizado, lo cual, Zaragoza (2018) menciona que está relacionado con el espesor de la capa de óxido.



Figura 29. Lámina de titanio metálico (blanco) y sustratos anodizados y calcinados (Tratamientos T1-T7).

En las tres primeras muestras (T1-T3) de la figura 30 se observan coloraciones irregulares a lo largo del área anodizada y una tenue coloración azul mientras que en la muestra T4 la tonalidad azul resultante es intensa y podría indicar una gran espesor de la capa de óxido sin embargo es evidente una corrosión excesiva atribuida a la aceleración de la difusión de iones F⁻ provocada por la adición de HCl (1 M). Las muestras de los tratamientos T5, T6 y T7 presentan coloración uniforme en el área anodizada y de tonalidad azul semejante.

8.1.1 SEM

En este apartado se presentan los resultados de las pruebas de Microscopía Electrónica de Barrido de los tratamientos T1-T7 evaluados para la síntesis de TiNTs puros.

En la figura 31, se muestra la micrografía de la lámina de titanio metálico sin ningún tratamiento como un referente para la comparación superficial de las muestras que se sometieron a los diferentes tratamientos de anodizado electroquímico.

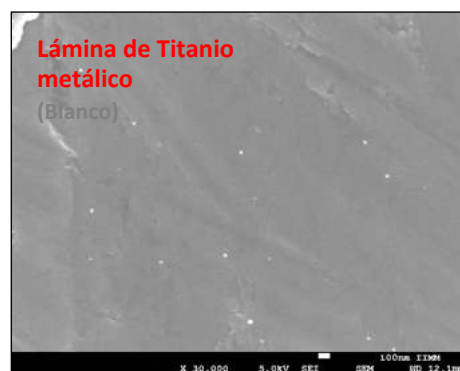


Figura 30. SEM: Lámina de Titanio metálico (muestra "blanco").

En los resultados de los tratamientos T1, T2 y T3 ya se observa un claro cambio superficial respecto de la muestra “blanco” sin embargo no se consiguió la formación de las nanoestructuras tubulares buscadas (*Figura 32*).

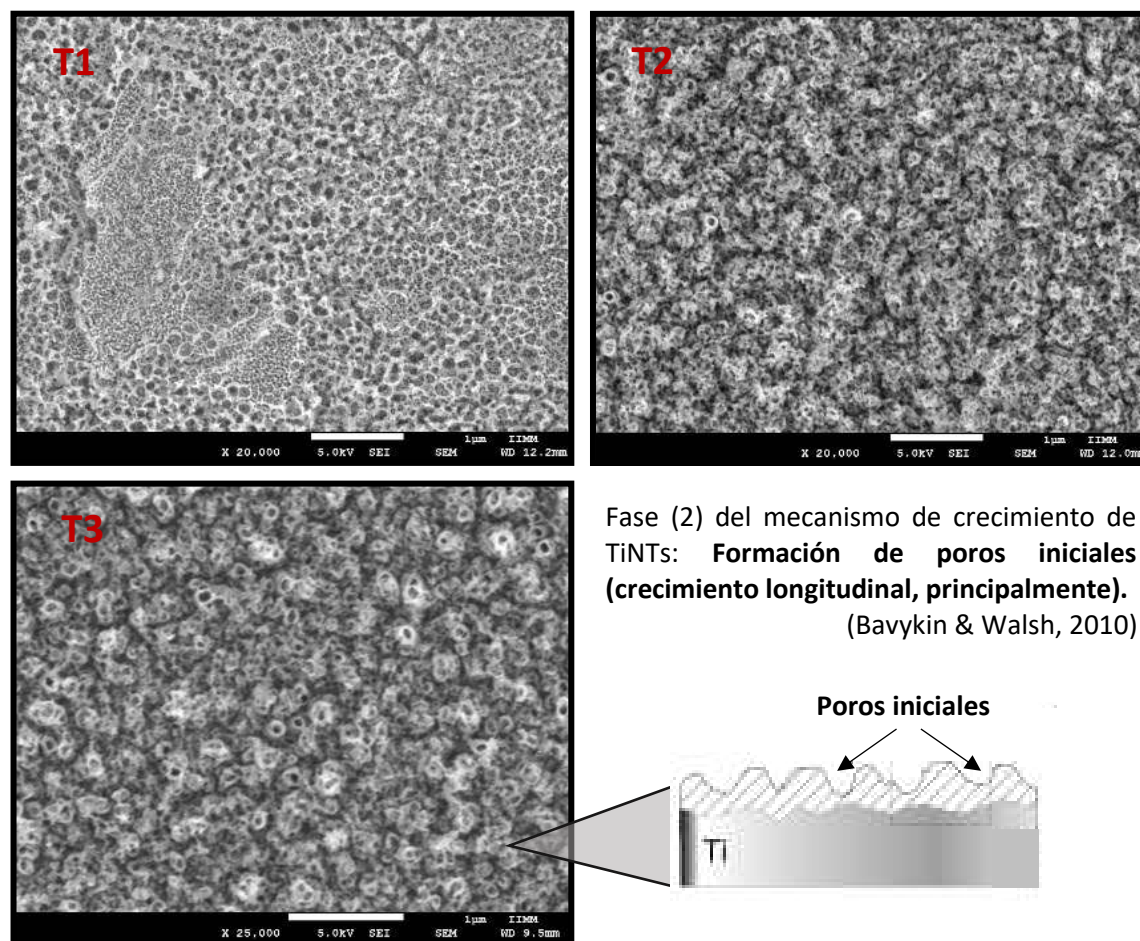


Figura 31. SEM: Tratamientos T1, T2 y T3. Electrolito con alto contenido de agua.

Como se puede apreciar en las muestras T1 y T2 existe una nucleación y crecimiento transversal (aumento de diámetro) de poros sin un orden definido, en la muestra T3 se observa crecimiento inicial longitudinal sin embargo no hay uniformidad en los poros y se aprecian corrugaciones y fragmentaciones en las paredes, un efecto propio de electrolitos con alto contenido de agua.

Contrastando con los tratamientos anteriores, en la muestra T4 (*Figura 33*) se consiguió el crecimiento de nanotubos largos, delgados y de pared lisa sin embargo debido al rápido crecimiento debido a la acidificación del medio perdieron soporte, separándose del sustrato y creciendo de manera desordenada y arbitraria. Las estructuras muestran un diámetro aproximado promedio de 79 nm y un espesor de pared de 19 nm.

Si bien, con este tratamiento se logró la obtención de la morfología nanotubular buscada para los objetivos del presente proyecto, los TiNTs resultantes no cuentan con la orientación adecuada para favorecer el flujo electrónico como se esquematiza en la figura (a y b) y por consiguiente podría disminuir la eficiencia de su desempeño como sensor electroquímico.

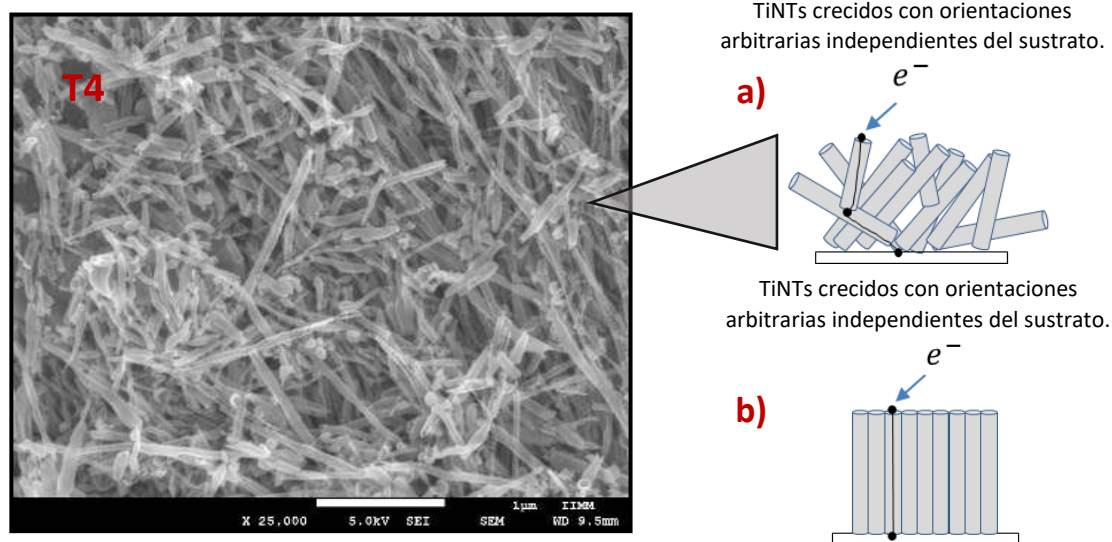


Figura 32. SEM vista frontal: Tratamiento T4. Electrolito con alto contenido de agua y acidificación de medio (HCl 1 M). a) Esquema de TiNTs crecidos arbitrariamente y b) Esquema de TiNTs crecidos perpendiculares al sustrato.

Por otro lado, en las micrografías de las muestras T5, T6 y T7 (Figura 34) ya es posible apreciar estructuras tubulares alineadas verticalmente al sustrato y paralelas entre sí.

Los nanotubos obtenidos para T5 y T6 rondan desde 78 hasta 114 nm de diámetro con promedio de 93 nm y un promedio de 19 nm de espesor de pared, mientras que en T7 el diámetro promedio es de 100 nm y el espesor de pared de 23 nm, además, presenta mayor remanencia de óxido en la superficie, posiblemente debido a la disminución de iones F^- en un mayor tiempo de anodizado.

Tabla 4. Dimensiones promedio de los TiNTs obtenidos en T4, T5, T6 y T7.

Muestra	T4	T5	T6	T7
Diámetro (nm)	79	93	93	100
Espesor de pared (nm)	19	19	19	23

Se hace evidente un ligero aumento en diámetro respecto de T4, este resultado se esperaría debido a la cinética de disolución del óxido más rápida de T4. La consistencia en los diámetros obtenidos en las tres muestras (T5-T7) corroboran lo reportado en la literatura donde se establece que el diámetro se ve afectado principalmente por el potencial aplicado, en este caso al mantener un potencial constante se esperarían diámetros similares.

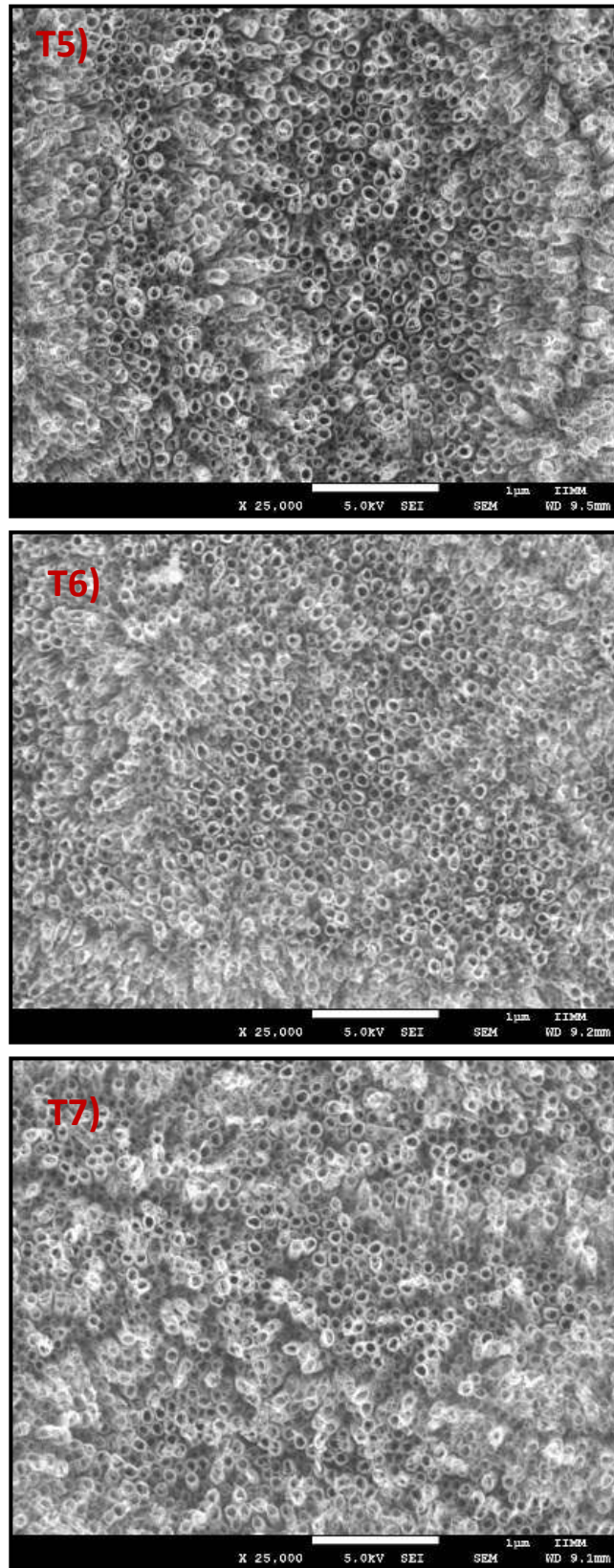


Figura 33. SEM: Micrografías frontales de los tratamientos T5-T7.

Con la finalidad de observar las estructuras obtenidas longitudinalmente se realizó un corte mecánico transversal de las muestras T5, T6 y T7 (Figuras 35). Se aprecia una capa compacta de tubos de pared lisa mayoritariamente y diámetro uniforme a lo largo de las nanoestructuras, con una longitud aproximada de $2.65\ \mu\text{m}$, $2.76\ \mu\text{m}$ y $2.96\ \mu\text{m}$ respectivamente para T5, T6 y T6. Las diversas fracturas se atribuyen al corte mecánico.

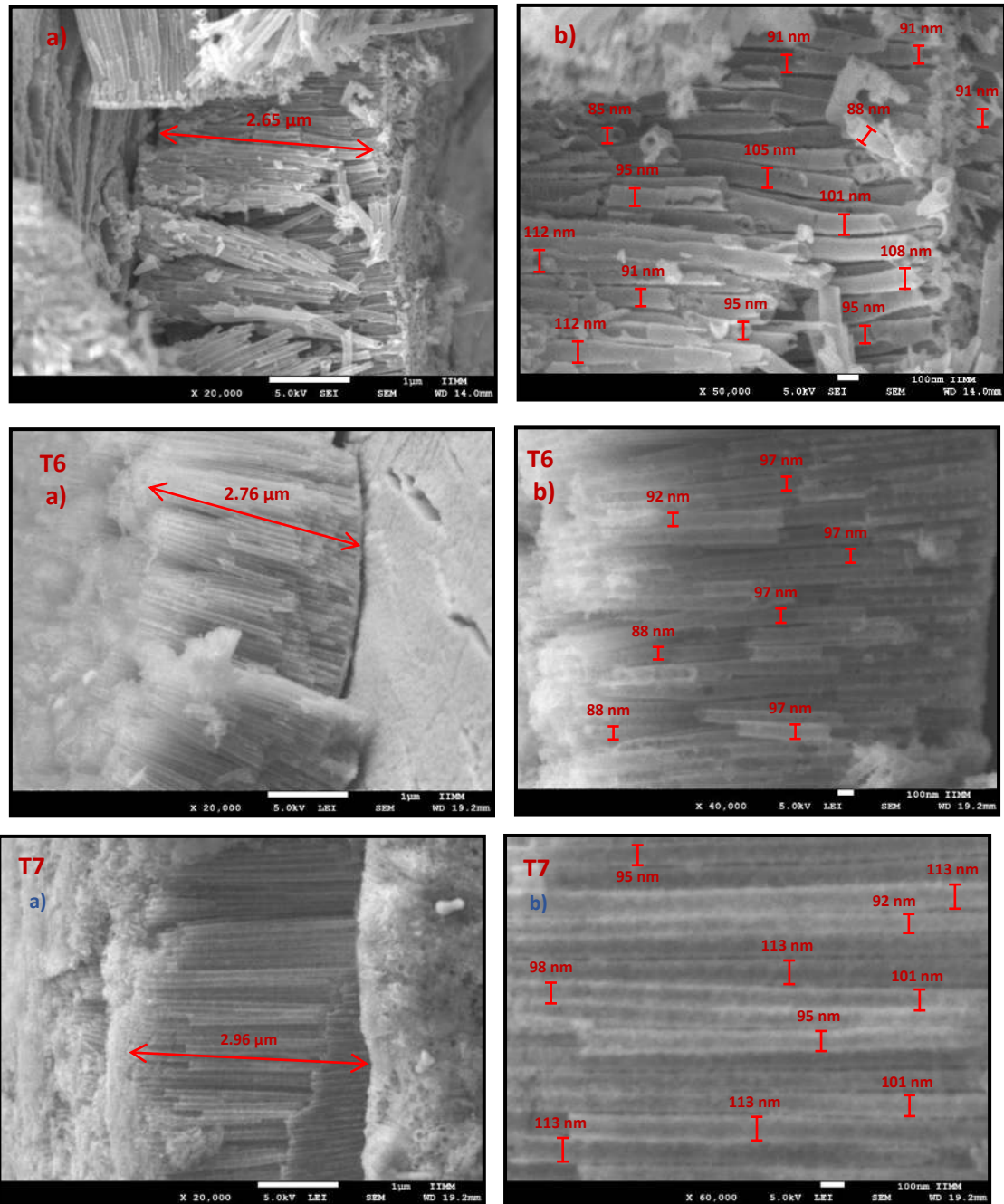


Figura 34. SEM: Micrografías transversales de la muestra T5, T6 y T7.

8.1.2 EDS

Se realizó un análisis elemental de las muestras mediante un detector de energía dispersa (rayos X) acoplado al Microscopio Electrónico de Barrido, donde se obtuvieron los % atómicos enlistados en la tabla 5 y los espectros EDS de la figura 36.

Tabla 5. Análisis elemental EDS: % Atómicos.

Elemento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Oxígeno	36.2%	34.5%	12.6%	19.8%	34.7%	31.9%	36.5%
Titanio	63.8%	65.5%	87.4%	80.2%	65.3%	68.1%	63.5%

Los resultados confirman la presencia de oxígeno en todas las muestras anodizadas. Se observan porcentajes similares entre las muestras (excepto en T3 y T4) consistente con trabajos que reportan síntesis anódica bajo condiciones análogas.

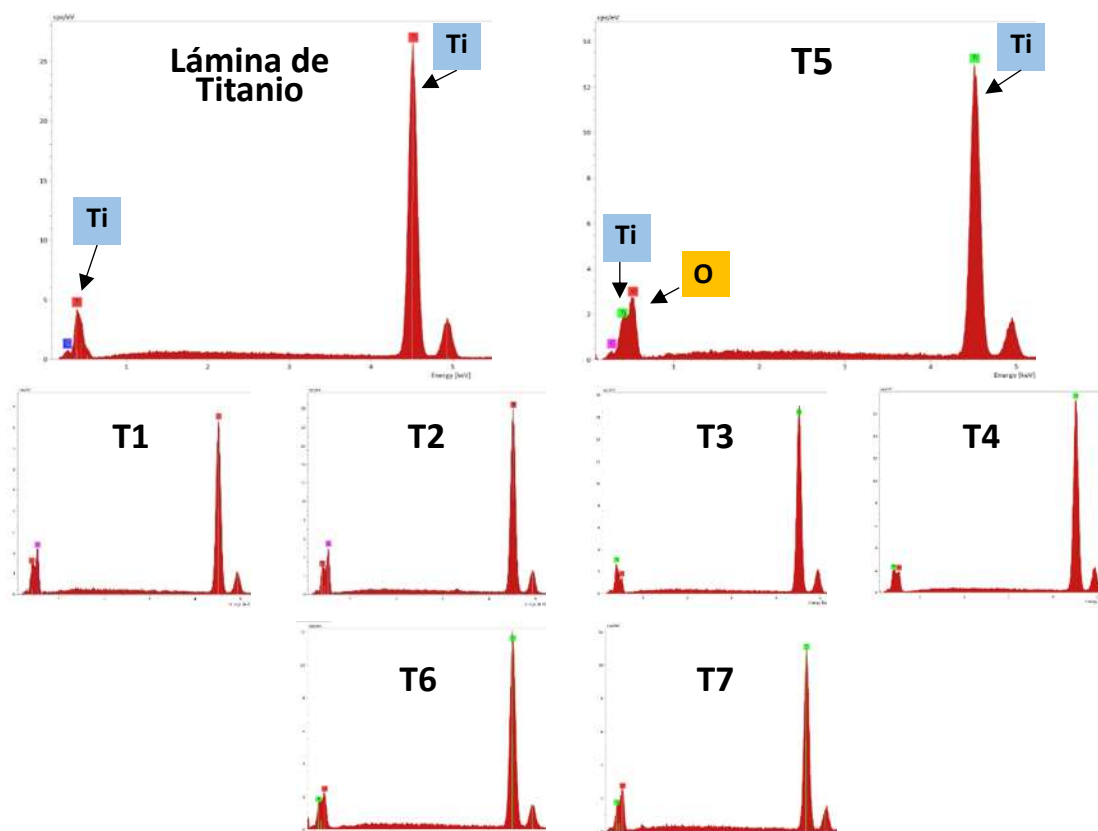


Figura 35. Espectros EDS: Lámina de Titanio metálico (blanco) y Tratamientos T1-T7.

Tomando en cuenta los resultados de microscopía electrónica de barrido, se continuó con la caracterización composicional y estructural por diferentes técnicas espectroscópicas únicamente de las muestras T5, T6 y T7.

8.1.3 FTIR

Los espectros obtenidos por FTIR (*Figura 37*) muestran bandas de diferente magnitud en la región de huella digital característica para los enlaces Ti-O-Ti ($420\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$), lo que indica que una parte del oxígeno presente en las muestras determinado en las pruebas EDS se encuentran formando enlaces con el Titanio (O-Ti-O), esto comprueba la formación de la capa de TiO_2 .

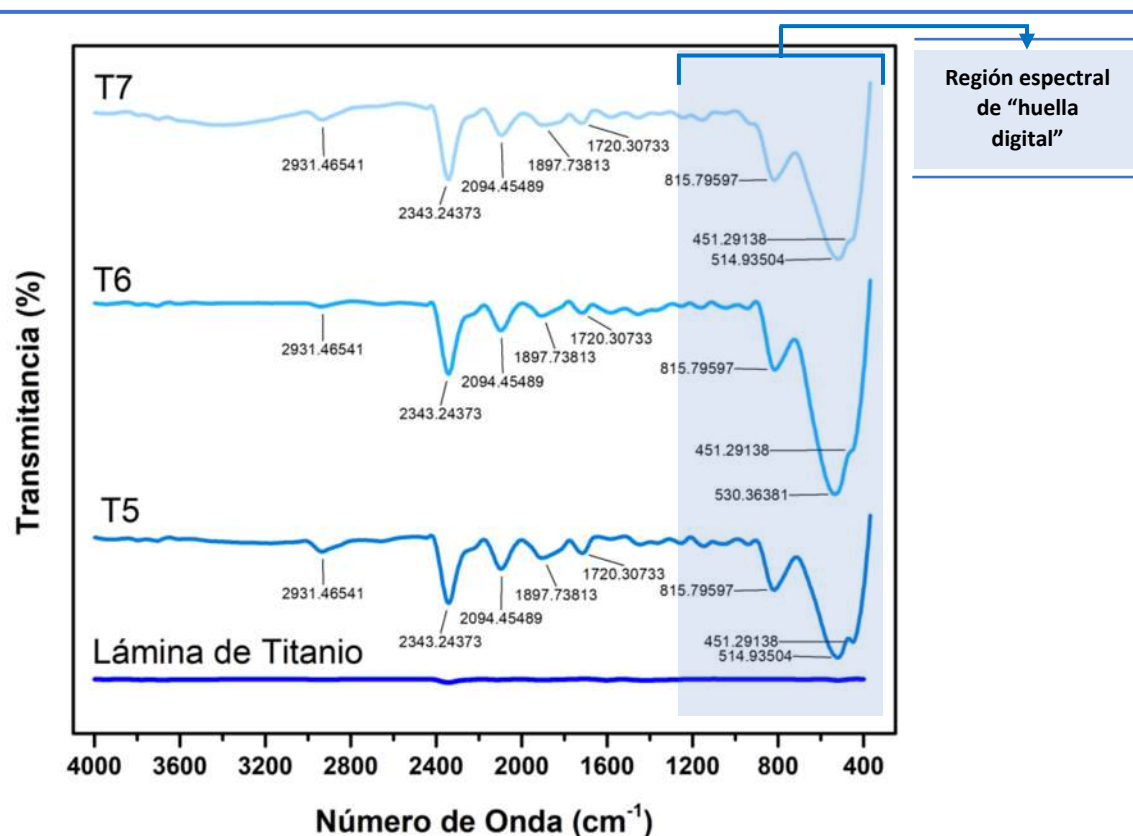


Figura 36. Espectro FTIR: Comparativo de los tratamientos T6, T7, T8 y Lámina de titanio metálico.

Además, los picos comprendidos en la región de $1620\text{ a }3394\text{ cm}^{-1}$ corresponden a las vibraciones de los grupos hidroxilo (-OH) de las moléculas de agua que pudieron quedar atrapadas en la superficie de la capa de óxido (Misriyani & Kunarti, 2020).

Mientras que el pico en 2343 cm^{-1} podría deberse a un doble enlace C=O proveniente del CO_2 presente durante el análisis.

8.1.4 DRX

La caracterización estructural se realizó por Difracción de Rayos X (DRX), en la figura 38 se presentan los difractogramas en los que se obtuvieron picos característicos enlistados en la tabla 6 para el TiO₂ fase Anatasa y picos característicos de Titanio propios del material sustrato utilizado en las tres muestras analizadas (T5, T6 y T7) (Zaragoza, 2018).

Tabla 6. Picos obtenidos en las muestras T5, T6 y T7 correspondientes a fase Anatasa y al Titanio metálico (Zaragoza, 2018).

Picos característicos para Anatasa PDF 01-070-6826	Picos característicos para Titanio PDF 04-001-8963
25.41°	35.09°
38.14°	38.43°
48.22°	40.18°
54.34°	53.23°
55.29°	70.68°
63.8°	76.23°
	77.40°

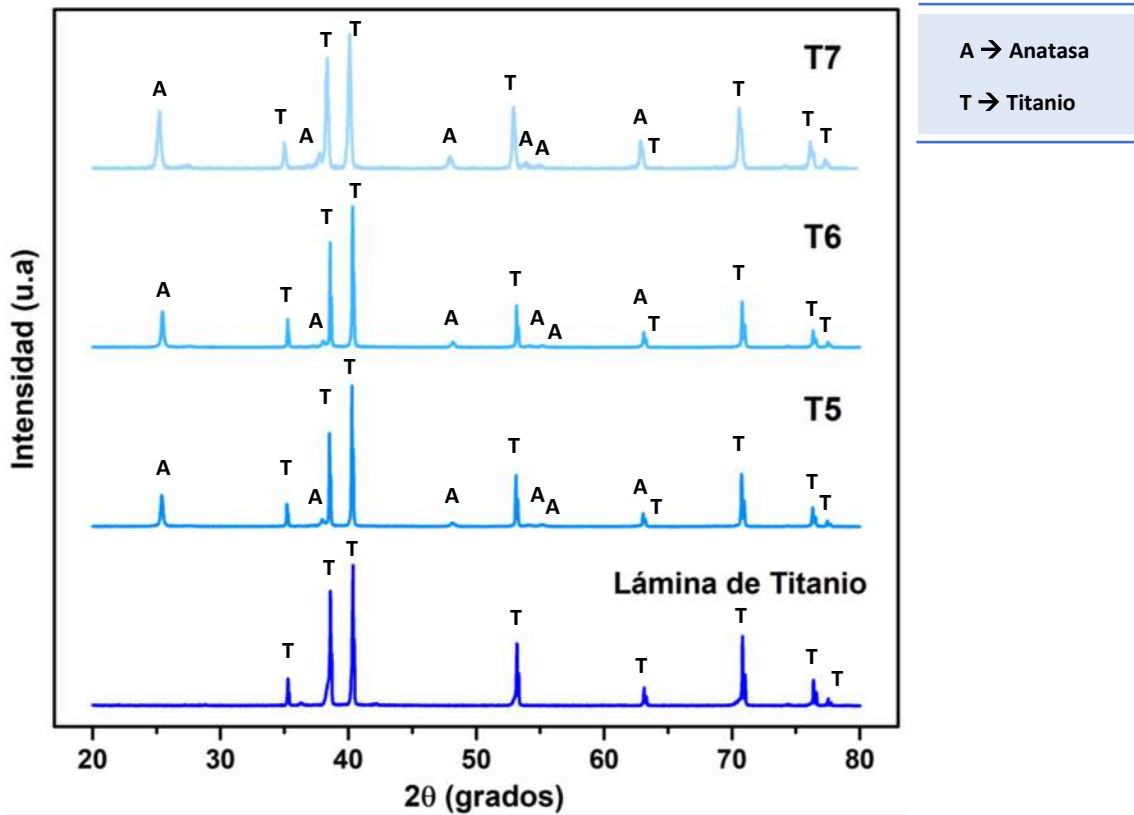


Figura 37. Difractogramas DRX: Tratamientos T5, T6, T7 y Lámina de Titanio metálico (blanco).

8.1.5 RAMAN

El espectro RAMAN, entre otras ventajas, permite analizar la complejidad estructural del material estudiado ya que los picos de cada fase cristalina están claramente separados en frecuencias, lo cual ayuda a distinguir con más seguridad cada fase. Esta técnica se utilizó para analizar a mayor detalle la estructura cristalina del material y sustentar los resultados obtenidos por Difracción de Rayos X y Espectroscopía de Infrarrojo.

Los espectros obtenidos (*Figura 39*) de los nanotubos de TiO_2 de los tratamientos T5, T6 y T7 muestran picos de diferente intensidad característicos para los modos activos de la fase Anatasa (A_{1g} a 528cm^{-1} , B_{1g} a 528cm^{-1} y E_g a 163 , 215 y 648cm^{-1}), además no se registró algún pico relacionado con la fase Rutilo (Absalan *et al.*, 2020; Guaglianoni *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

Estos resultados son congruentes y corroboran la composición y estructura de las muestras indicadas en las técnicas antes mencionadas.

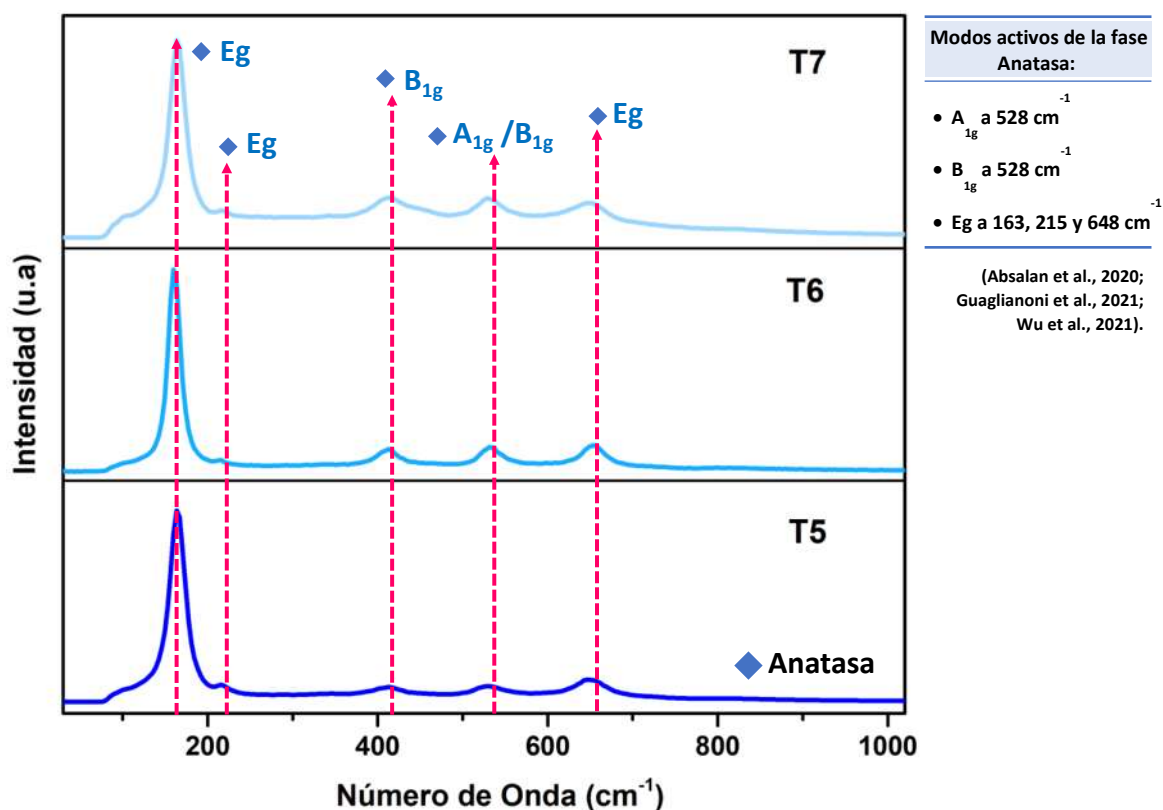


Figura 38. Espectros RAMAN: Tratamientos T5, T6 y T7.

8.1.6 XPS

La composición elemental superficial se evaluó con la técnica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (*Figura 40*), las mediciones corroboran la presencia de Ti, O y C confirmando los resultados del microanálisis EDS. El C puede atribuirse a remanentes del electrolito orgánico utilizado en la síntesis.

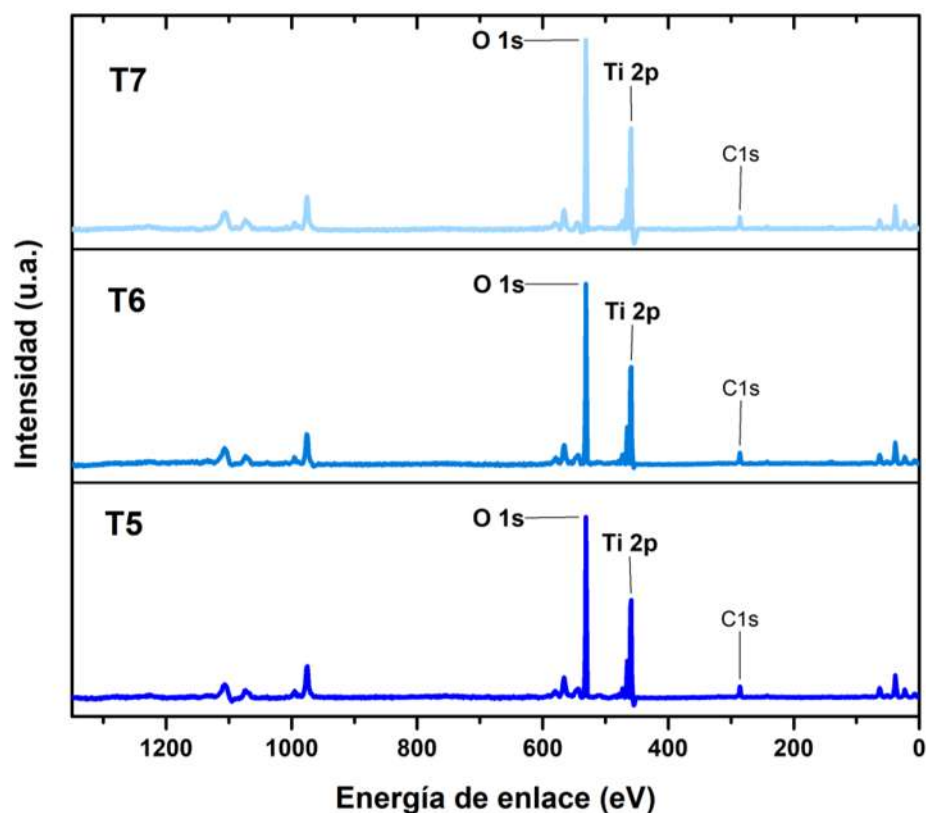


Figura 39. Escaneo completo XPS de T5, T6 y T7.

En los espectros XPS de alta resolución de las muestras (*Figura 41*) aparece un pico O1s a una energía de enlace de 530 eV indicando la existencia de oxígeno en estado de oxidación O^{-2} característico del oxígeno presente en la red de TiO_2 , para los espectros de Ti2p se observan dos picos en las posiciones 458.68 y 464.38 eV correspondientes al doblete $Ti2p_{1/2}$ y $Ti2p_{3/2}$ ambas señales características reportadas para el catión metálico Ti^{+4} propio de las nanoestructuras de TiO_2 (Sebek *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

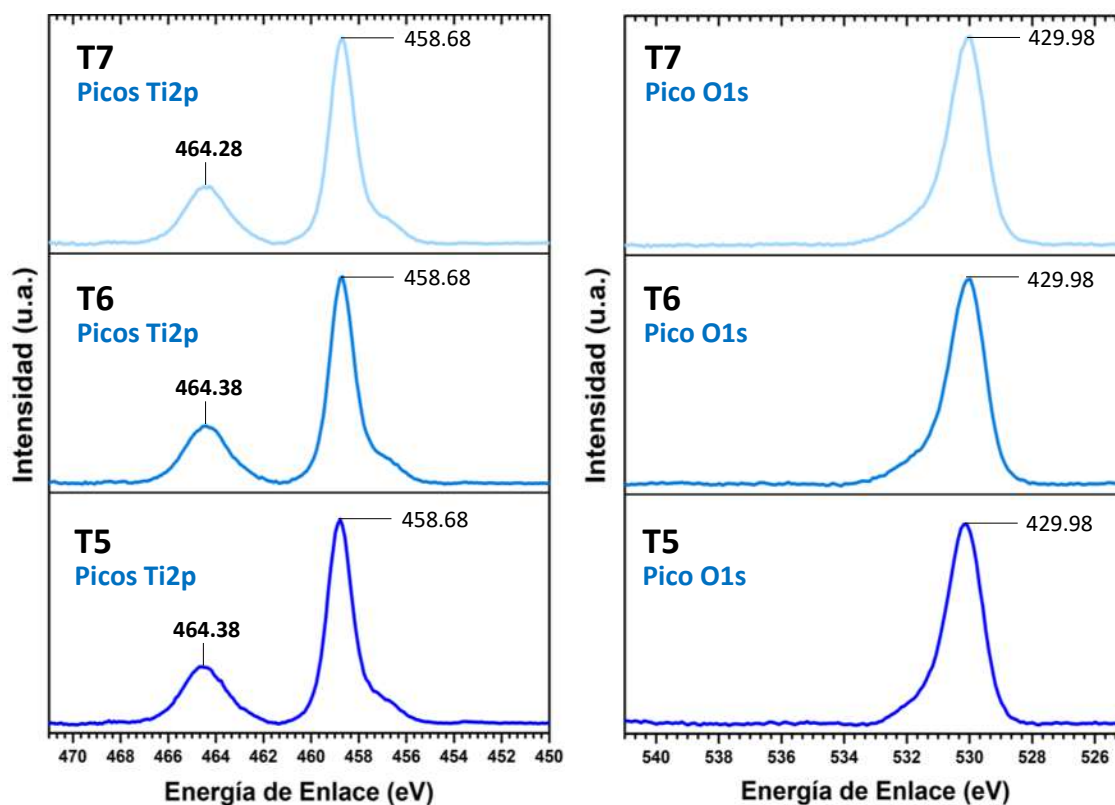


Figura 40. Escaneos de alta resolución XPS para O y Ti de las muestras T5, T6 y T7.

8.1.7 UV-Vis DRS: Ancho de banda prohibida

Adicionalmente se estimó el ancho de banda prohibida (Band gap) de las muestras utilizando el método de Kubelka-Munk a partir del espectro de reflectancia difusa obtenido de las pruebas de absorción ultravioleta-visible (Figura 42).

La banda prohibida resultante fue de 3.22, 3.27 y 3.30 eV para las muestras T5, T6 y T7, respectivamente, lo cual es característico de la fase anatasa, además se observa un ligero incremento a mayor tiempo de anodizado (Tiempo de anodizado: $T5 < T7$) posiblemente debido a la mayor longitud de los nanotubos o a una mayor presencia de estructuras colapsadas en la capa superficial derivado de mayor tiempo de anodizado como se observa en las micrografías SEM. Este parámetro además de confirmar indirectamente la composición y estructura del material bajo análisis nos servirá más adelante como punto de comparación respecto a las muestras con dopaje.

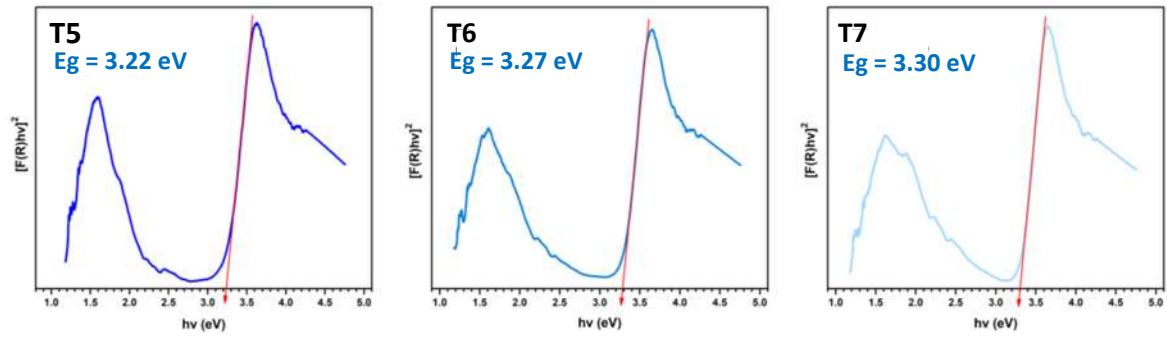


Figura 41. Band gap obtenido por Kubelka-munk para las muestras T5, T6 Y T7.

8.2 Síntesis y caracterización de TiNTs-Ag: Microscopía y técnicas espectroscópicas.

8.2.1 SEM

Los nanotubos de titanio dopados con plata (TiNTs-Ag) se caracterizaron superficialmente al igual que los TiNTs puros con la técnica de microscopía electrónica de barrido (*Figura 43*), a partir de la cual se concluye que los dopajes no ejercen un efecto significativo en la morfología ya que mantuvo la estructura altamente ordenada de tubos perpendiculares al sustrato con diámetros de poro y espesor de pared promedio de 84 nm y 16 nm respectivamente, apenas menos 10 nm de diámetro y 5 nm de espesor de pared a diferencia de los nanotubos puros de TiO₂. Podemos destacar que el dopaje minimizó la presencia de estructuras colapsadas en la superficie.

En la siguiente sección (EDS) se muestran las micrografías transversales que corroboran el crecimiento longitudinal y la presencia de plata en las nanoestructuras resultantes.

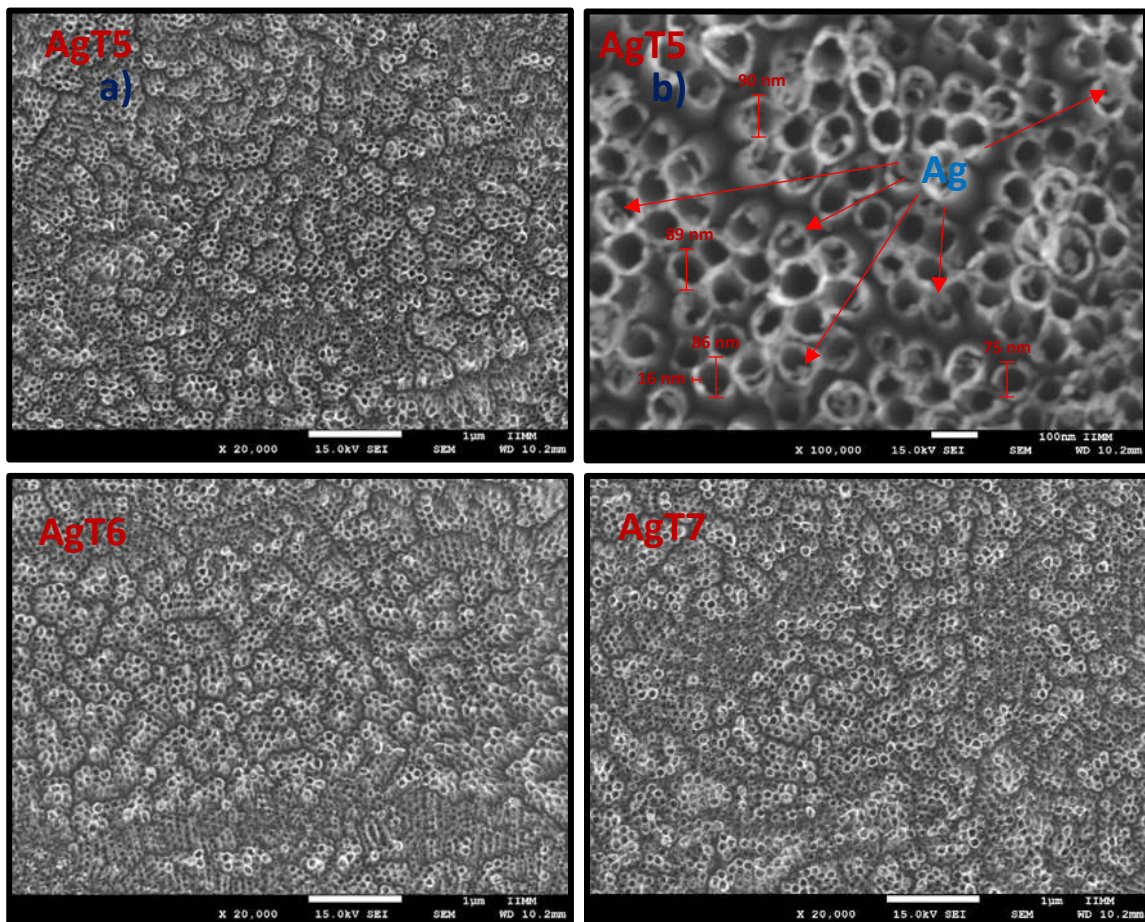


Figura 42. Micrografías SEM frontales de las muestras dopadas AgT5, AgT6 y AgT7.

8.2.2 EDS

Al igual que para los TiNTs puros, se realizó el análisis elemental por espectroscopía de energía dispersiva para las muestras dopadas. Además, con esta técnica se realizaron mapeos elementales frontales y transversales para observar su distribución en las zonas analizadas.

El microanálisis elemental determino la presencia de plata además de la del titanio y del oxígeno (figuras x-x), registrando la presencia de plata en porcentajes atómicos de 0.29%, 0.39% y 0.26% respectivamente para los tratamientos T5, T6 y T7 (*tabla 7*). Estos resultados son consistentes con lo reportado por López et al. (2019).

Tabla 7. Resultados EDS: Composición elemental (% Atómico) de TiNTs dopados con plata

Elemento	AgT5	AgT6	AgT7
Oxígeno	38.30	30.01	30.72
Titanio	61.41	69.60	69.02
Plata	0.29	0.39	0.26

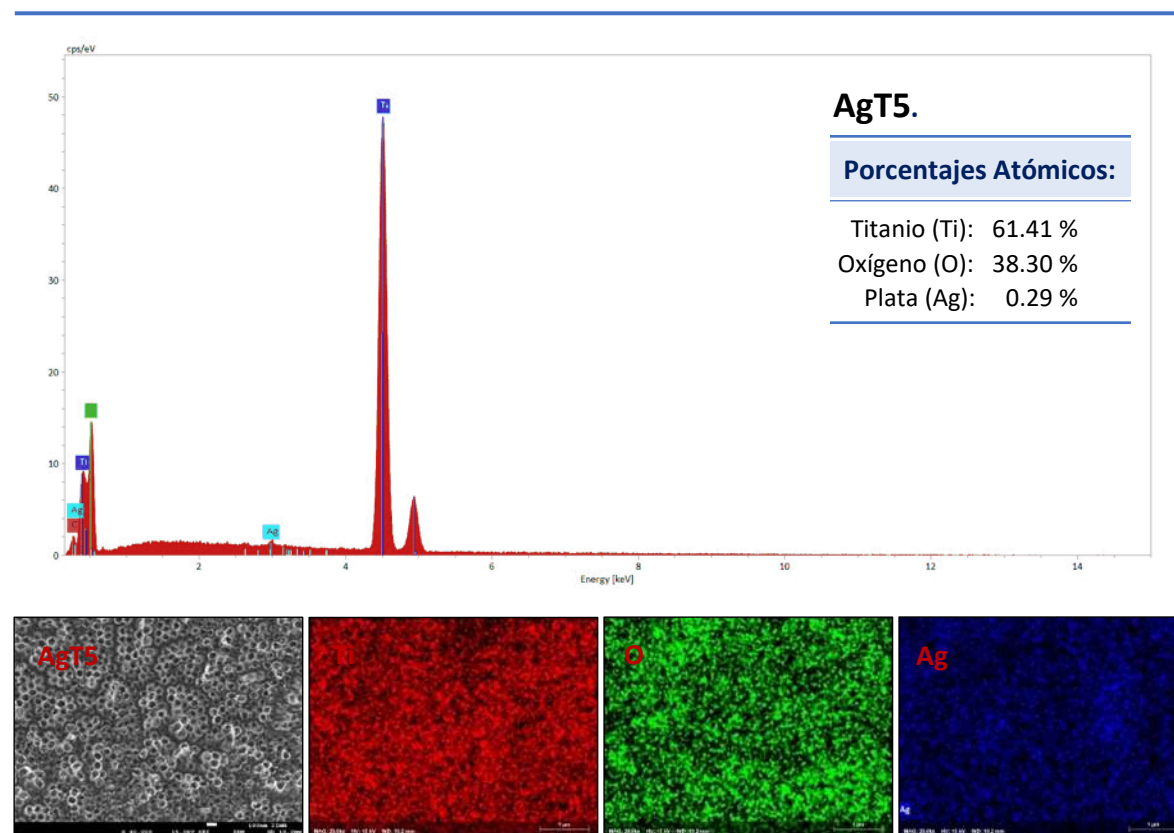


Figura 43. SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT5.

Los mapeos frontales obtenidos se presentan en las figuras 44, 45 y 46 para los tratamientos AgT5, AgT6 y AgT7 correspondientemente, estos sugieren una distribución uniforme del dopante en la superficie de los TiNTs con tamaño de partícula en el rango nanométrico.

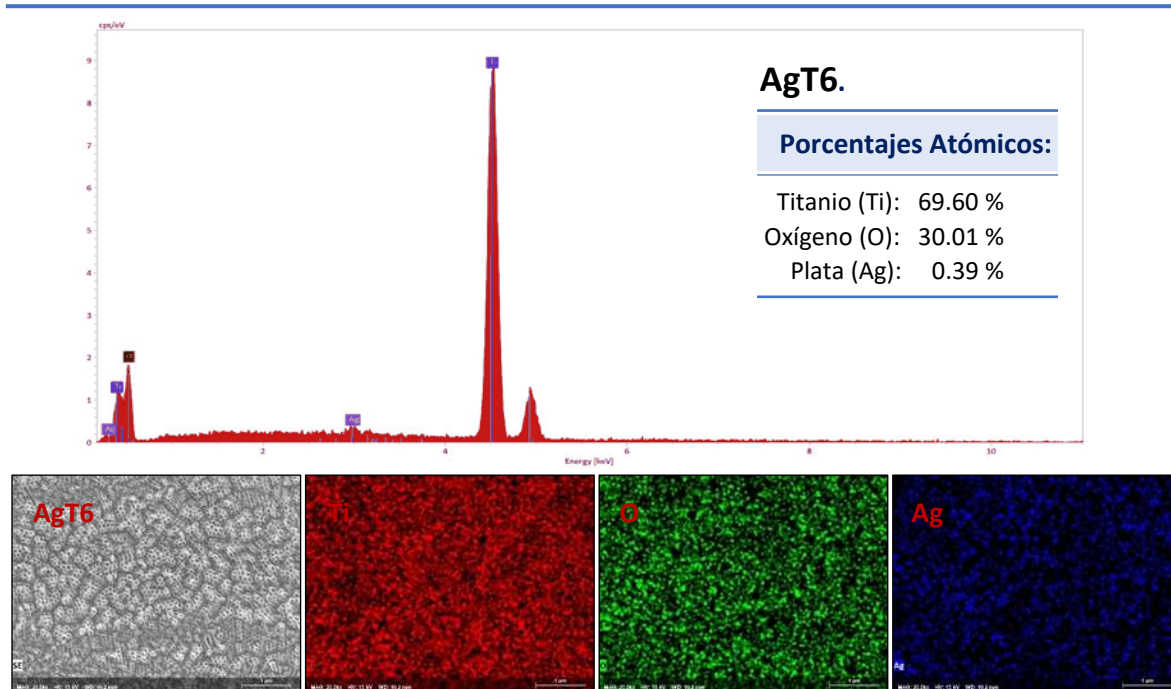


Figura 44. SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT6.

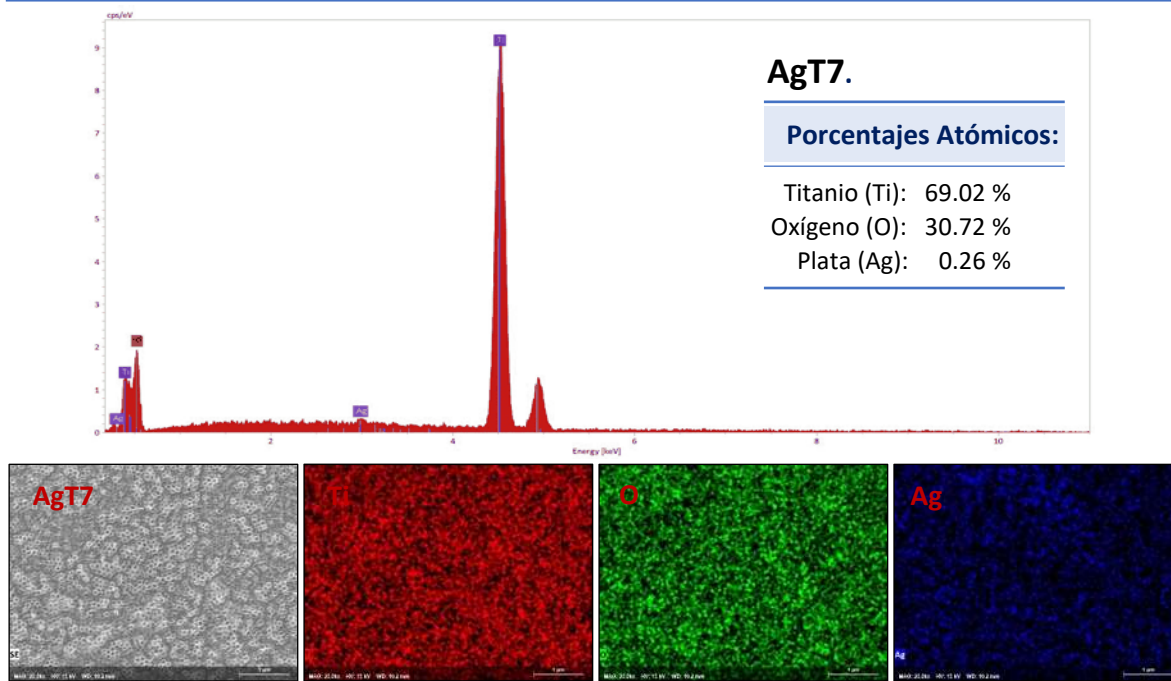


Figura 45. Resultados SEM-EDS: Análisis y mapeos elementales de la muestra AgT6.

Complementando la información de los mapeos frontales, en las vistas transversales (Figura 47), se observó que la plata también se encuentra presente a lo largo de los nanotubos y en la superficie como partículas de mayor tamaño consistente con los resultados de Liang et al. (2018) . Si bien el dopante no afectó los diámetros o espesores de pared de los NTs si hubo una disminución en cuanto a longitud respecto a las muestras sin dopaje.

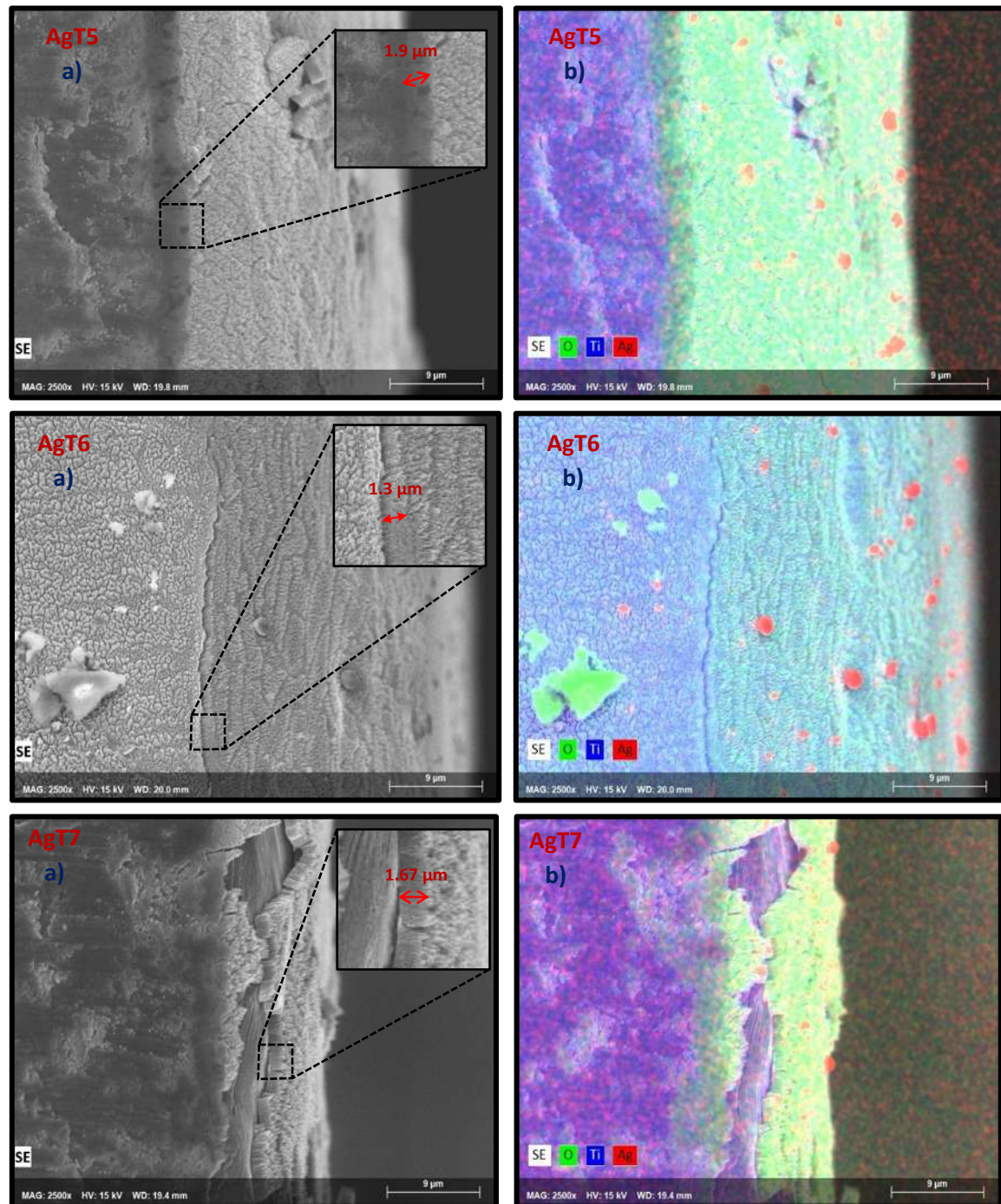


Figura 46. Resultados SEM-EDS: Micrografías transversales y mapeo elemental (Muestras AgT5-AgT7).

8.2.3 FTIR

En los espectros de infrarrojo (*Figura 48*) se observa que los picos de la región de huella dactilar de Ti-O-Ti que se encontraron en las muestras sin dopaje sufrieron cambios como menor intensidad y un corrimiento hacia números de onda mayores, este corrimiento puede deberse a la presencia de las partículas de Ag en el TiO_2 (Olgun *et al.*, 2018).

Se observa un nuevo pico en 1531 cm^{-1} asociado con el doble enlace del grupo amino $\text{N}=\text{H}$ resultado posiblemente de la presencia de AgNO_3 en el electrolito como precursor para el dopaje o a vibraciones $\text{C}=\text{O}$ por remanentes del electrolito (López *et al.* 2019). Las bandas en 1691 y en 2541 se relacionan con los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) de moléculas de agua en la superficie de la muestra (Misriyani & Kunarti, 2020). El pico ubicado en 2347 cm^{-1} podría asociarse con el grupo carbonilo ($-\text{C}=\text{O}$) de la señal de fondo (CO_2) o de la oxidación ambiental del carbono remanente del electrolito, también podría deberse a la presencia del triple enlace de un grupo cianuro ($-\text{CN}$).

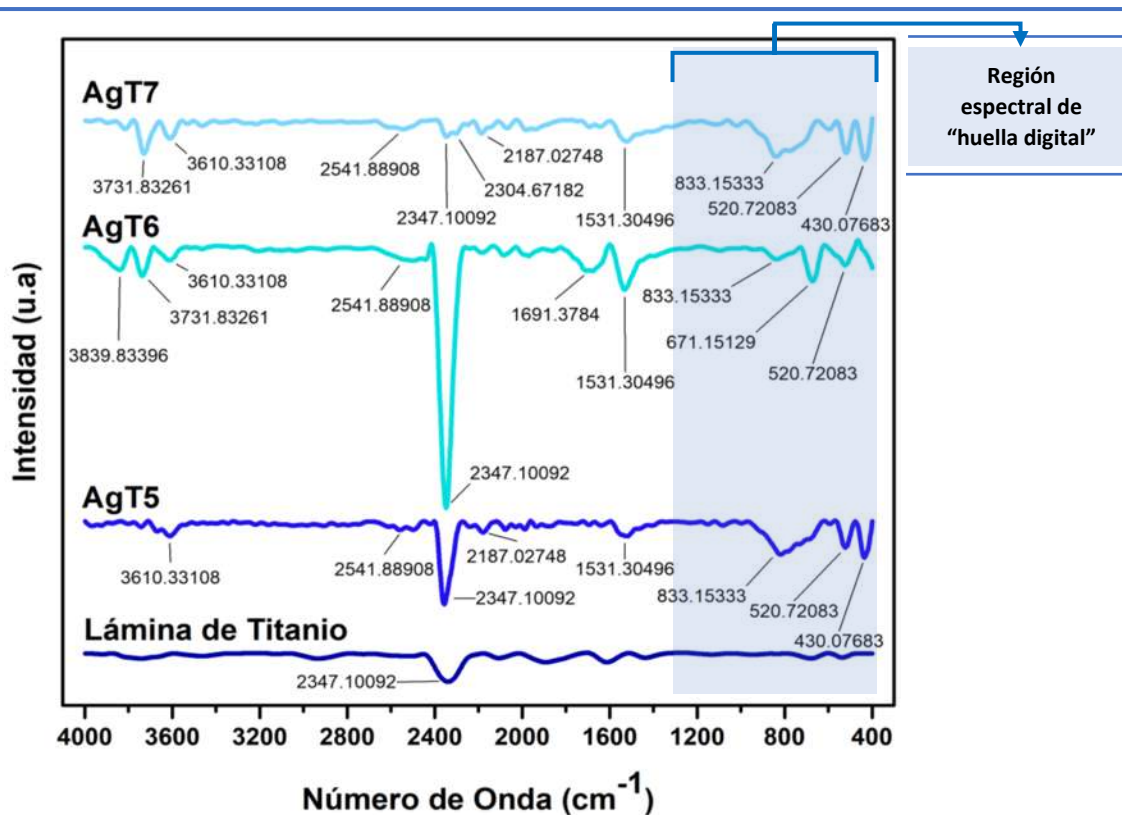


Figura 47. Espectros FTIR de las muestras dopadas.

Las picos situados en el rango $3400\text{--}3900\text{ cm}^{-1}$ generalmente son asociados a estiramientos de los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) provenientes del agua, sin embargo la forma menos intensa y puntiaguda de la señal puede indicar que se encuentran anclados a una molécula distinta del agua, por ejemplo Ti-OH .

8.2.4 DRX

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras dopadas (Ag-TiNTs) se presentan en la figura 49. Al igual que las muestras puras de TiNTs se presentan los picos característicos atribuidos al titanio metálico en los ángulos 35.19° , 38.5° , 40.30° , 53.23° , 63.13° , 70.83° , 76.33° y 77.50° , además de los característicos para TiO_2 fase Anatasa (25.40° , 37.96° , 48.07° , 53.23° , 55.16° y 63.04°) y no se obtuvo algún pico referente a la fase Rutilo, por lo que comprueba que la fase cristalina presente es únicamente Anatasa e implica que el dopaje no influyo en la formación de alguna otra fase cristalina (Zaragoza, 2018; Zhang, *et al.*, 2019).

Comparado con los TiNTs puros podemos ver un aumento en el pico de Anatasa en 37.96 (plano 004) posiblemente debido al solapamiento con un pico característico para la plata metálica reportado en $2\theta=38.1^\circ$ (plano 111) y otros picos correspondientes a la plata no se observan debido al bajo contenido de dopaje. Al no obtener cambios apreciables en los difractogramas de TiNTs y Ag-TiNTs se deduce que no hay cambios significativos en la estructura de los nanotubos debido al dopaje, esto debido a que el ion Ag^+ (126 pm) es más grande comparado con el ion Ti^{4+} por lo que los iones plata entran en la red cristalina del TiO_2 durante la síntesis integrándose de forma intersticial (Wang, *et al.*, 2014).

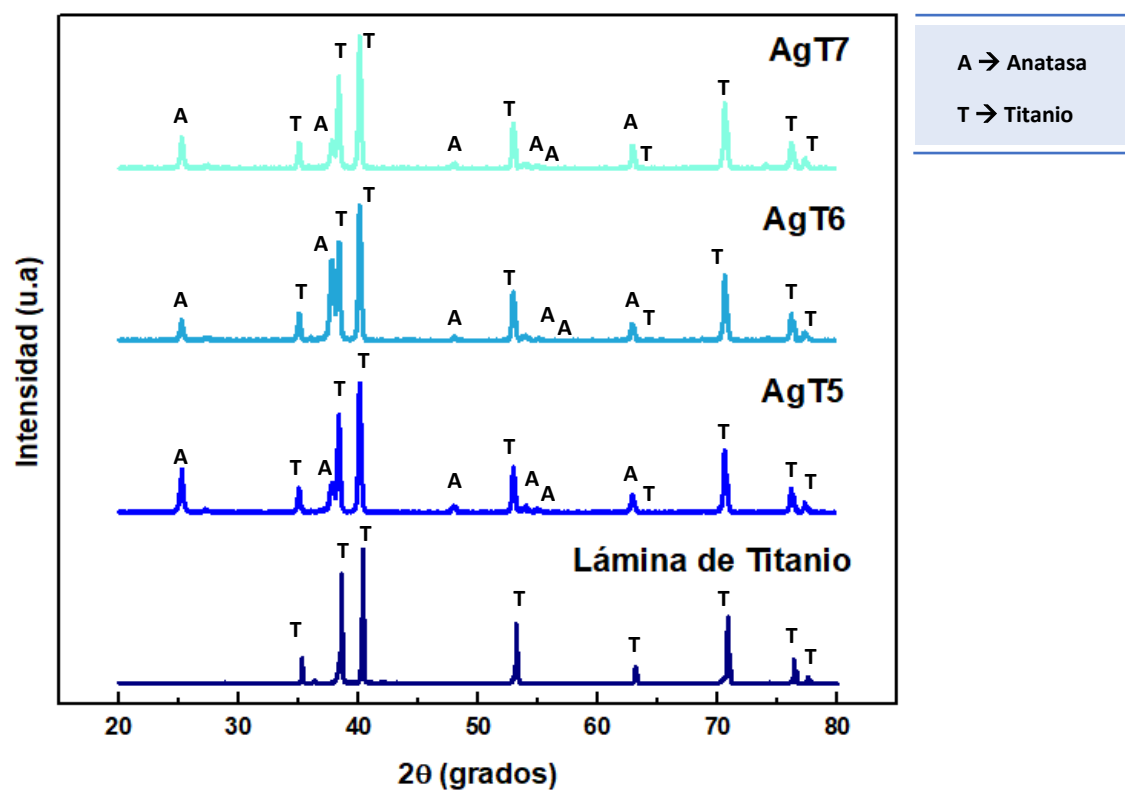


Figura 48. Difractograma de las muestras de TiNTs dopados.

8.2.5 XPS

Los resultados del análisis elemental de superficie de las muestras dopadas con plata (Ag-TiNTs: Tratamientos T5-T7) por la técnica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X se muestran en la figura 50, las mediciones corroboran la presencia de Ti, O, C y Ag congruentes con los resultados del microanálisis EDS, confirma el dopaje de Ag en las muestras en un bajo porcentaje respecto al titanio y el oxígeno.

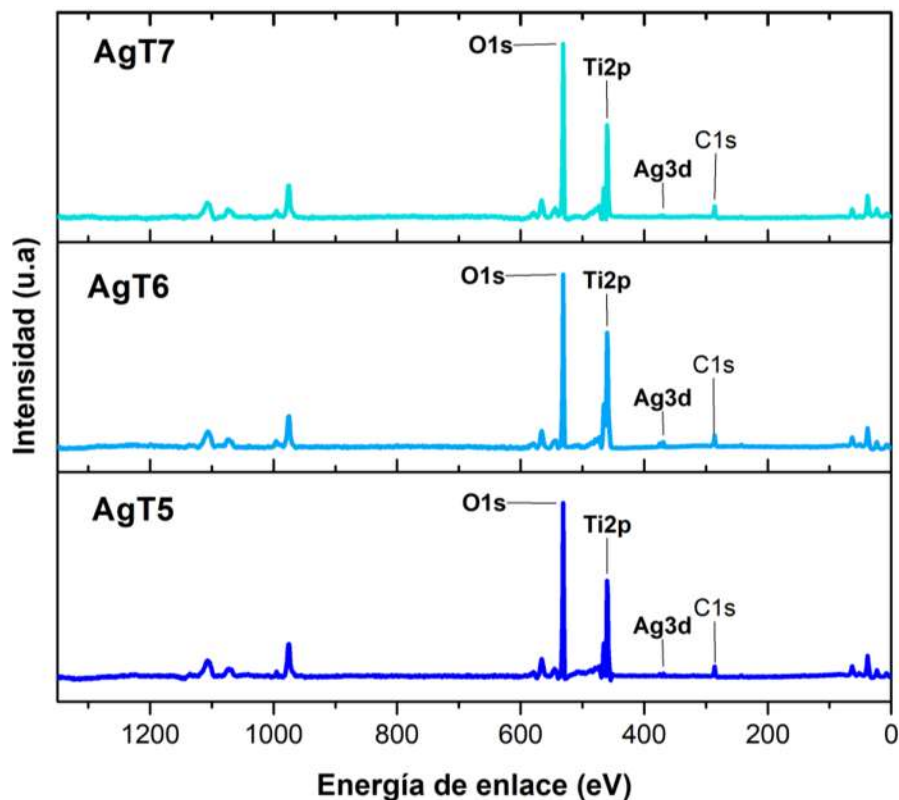


Figura 49. Espectros XPS de las muestras dopadas (AgT5-AgT7)

Los espectros locales XPS de alta resolución para Ti y O presentados en la figura 51 (a y b) no muestran diferencia respecto a los resultados obtenidos para los TiNTs puros. La separación entre los dobletes del Ti ($Ti2p_{3/2}=464.28$ eV y $Ti2p_{1/2}=458.68$ eV) se mantiene en el valor aproximado de 5.6 eV, indicando que el estado de valencia Ti^{+4} propio de la red de TiO_2 es el de mayor presencia (Li, *et al.*, 2014; Liang, *et al.*, 2018). Respecto del O, el pico O1s se registra en 429.98 eV que corresponde al oxígeno en la red de TiO_2 . En la figura 51.c, se encuentran los picos originados por la plata ($Ag3d_{3/2}=373.78$ eV y $Ag3d_{5/2}=367.78$ eV), cuya diferencia de energía es de 6 eV característica del ion Ag^+ . Considerando la asimetría de estos picos se realizó una deconvolución (Figura 51.d) obteniendo un pico $Ag_{5/2}$ a una energía mayor (368.14 eV) la cual es relacionada con el estado Ag^0 (Kaspar, *et al.*, 2014).

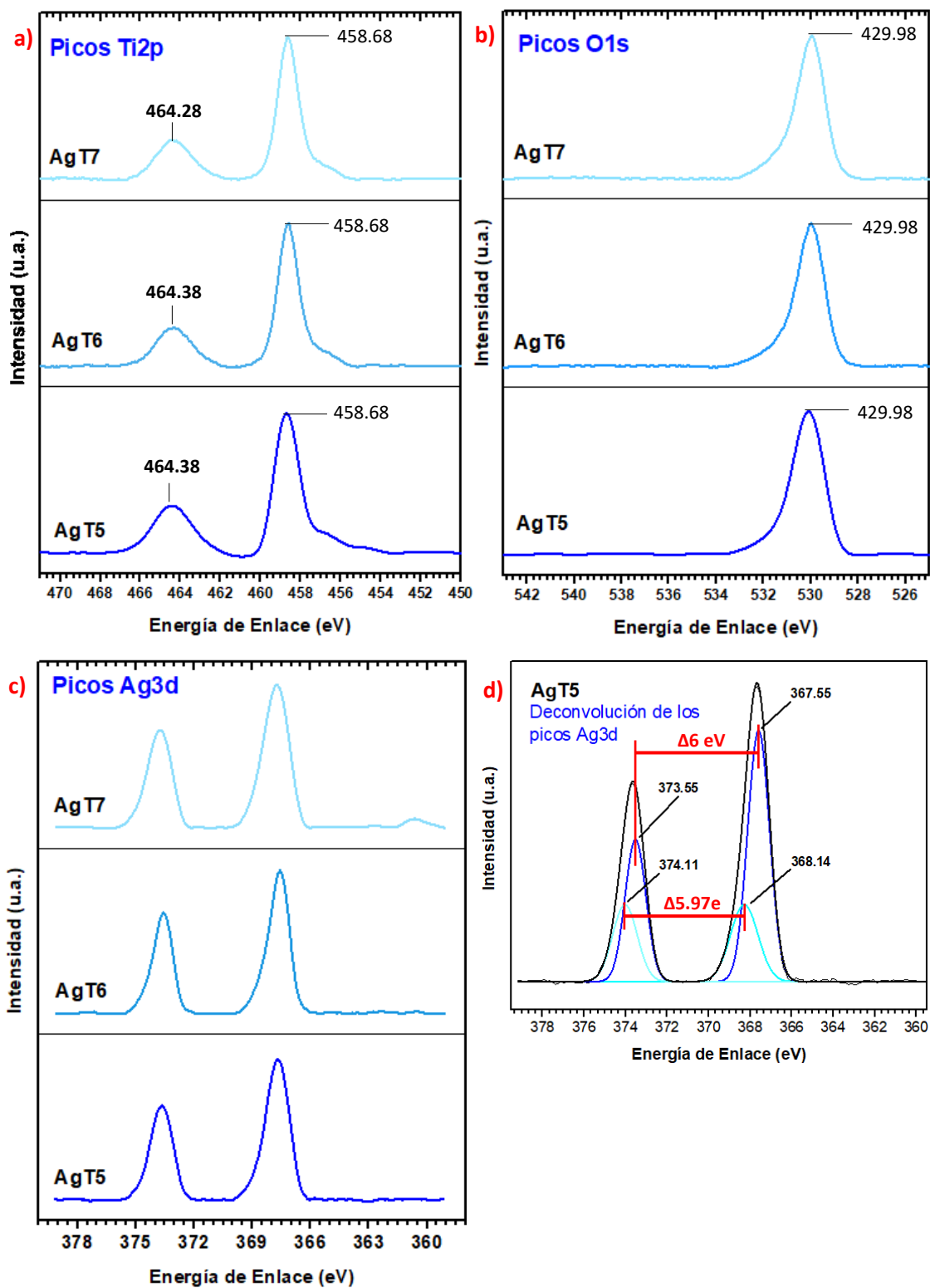


Figura 50. Escaneos de alta resolución XPS para a) Ti, b) O y c) Ag de las muestras AgT5, AgT6 y AgT7. c) Deconvolución de los picos Ag3d.

8.2.6 UV-Vis DRS: Ancho de banda prohibida

El ancho de banda prohibida (Band gap) calculado por el método de Kubelka-Munk a partir del espectro de reflectancia difusa para las muestras con dopaje de plata (Ag-TiNTs) fue de 3.24, 3.29 y 3.30 eV para las muestras T5, T6 y T7, respectivamente (*Figura 52*), estos resultados mantienen el valor característico de la fase anatasa sin embargo no se refleja la disminución esperada con la adición del dopante, posiblemente debido al bajo porcentaje de plata presente en las muestras obtenido bajo las condiciones de síntesis utilizadas.

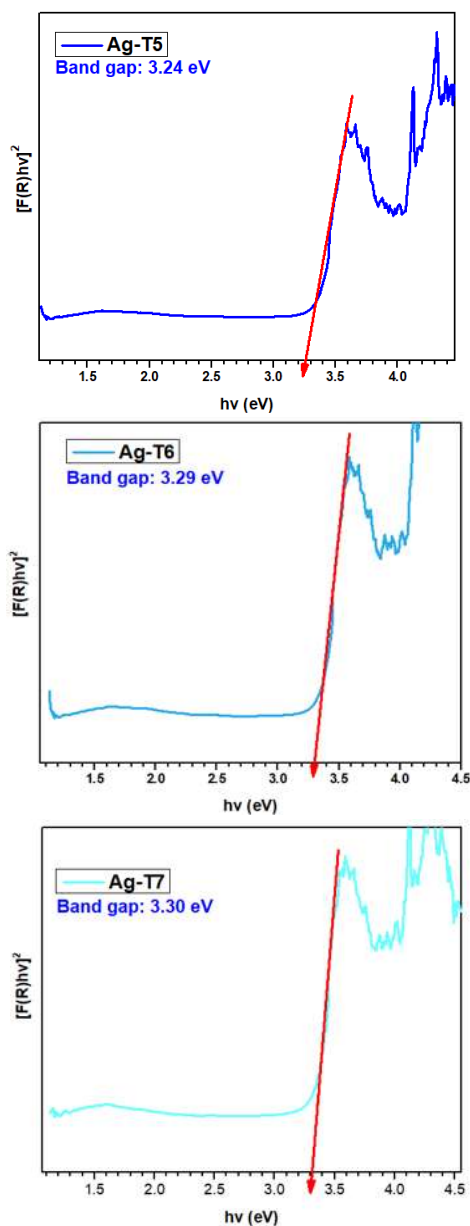


Figura 51. Ancho de banda prohibida obtenida por Kubelka-munk para las muestras AgT5, AgT6 y AgT7.

8.3 Caracterización de TiNTs vs. Ag-TiNTs: Técnicas electroquímicas

Como se mencionó en la sección de metodología, en este análisis las diferentes laminas correspondientes a los tratamientos T5-T7 tanto de nanotubos de titanio puros y con dopaje de plata fueron sometidos a un barrido de voltimetría cíclica fungiendo como el electrodo de trabajo (ET), los voltamogramas obtenidos se presentan por grupo de tratamientos y tipo de NTs en la figura 53. Con fines prácticos en los sucesivos se identificara únicamente como T5, T6 y T7 a los diferentes tratamientos de TiNTs uros y los dopados Ag-TiNTs se identificarán como AgT5, AgT6 y AgT7.

Los gráficos 53a y 53b corresponden a la respuesta únicamente con el medio electrolítico utilizado (KCl 1 M) de los TiNTs y los Ag-TiNTs respectivamente, se observa un pico anódico y uno catódico ambos en potenciales negativos, García y colaboradores (2017) se los atribuyen a la reducción del T^{4+} a T^{3+} al igual que el pico catódico máximo se asocia con la acumulación de H^+ en la superficie del electrodo, a potenciales más positivos no se observa señal alguna.

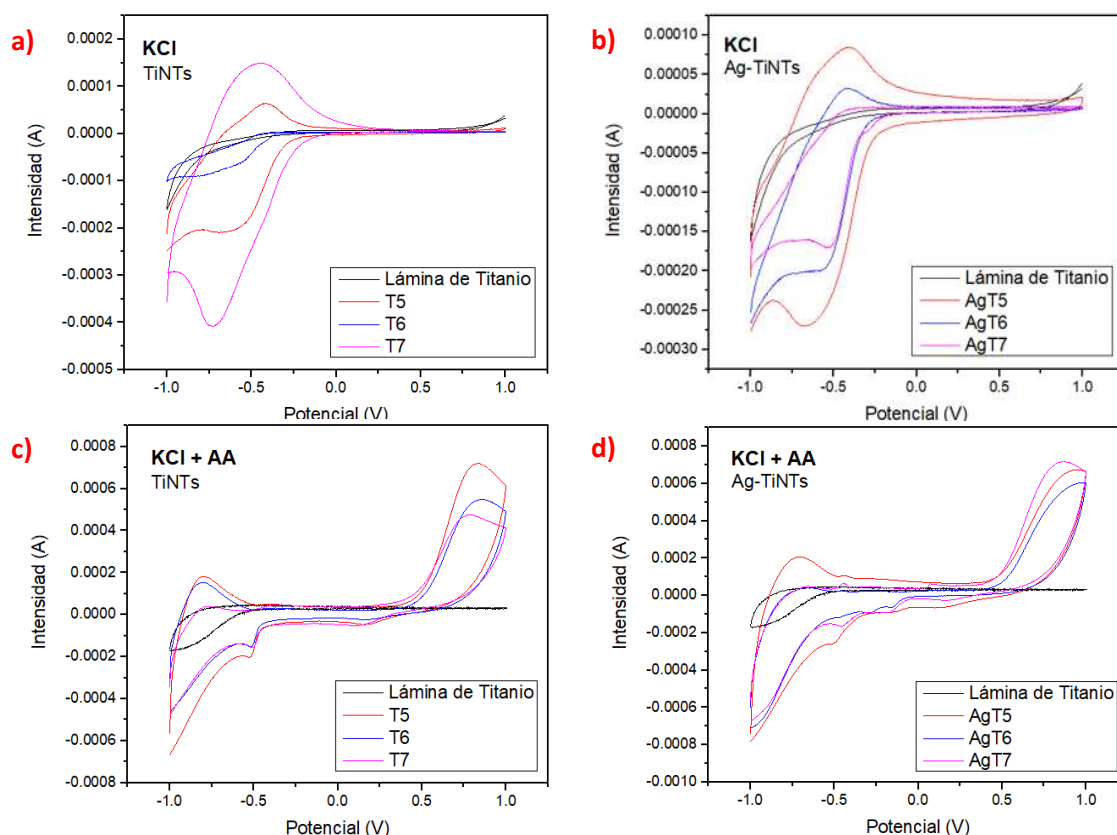


Figura 52. Voltamogramas cíclicos (Barrido -1 V a +1 V) de los TiNTs puros (a y c) y dopados (b y d) en electrolito KCl (1 M) con (c y d) o sin (a y b) presencia de Ácido Ascórbico (AA; 5 Mm).

Se repitieron los barridos de VC bajo las mismas condiciones pero se adicionó ácido ascórbico (AA, 5Mm) en el electrolito (gráficos 53c y 53d), como principal respuesta comparando con el análisis sin AA se aprecia la aparición de un pico anódico en todos los voltamogramas a potenciales positivos (0.7-0.8V) que se asocia con la oxidación del AA, sin embargo no se registra un pico catódico que se asocie con la reducción de las especies oxidadas de AA por lo que se deduce que la reacción electrodo-electrolito no es reversible por lo que se esperaría una disminución de corriente tras medidas consecutivas con un mismo electrodo.

Con la finalidad de seleccionar el electrodo con la mejor respuesta electroquímica y consolidar la propuesta de sensor de ácido ascórbico se seleccionó el electrodo T5 puesto que es el que registro una intensidad de corriente mayor al resto de electrodos, esto contrario al resultado esperado ya que se esperaba que el dopaje con plata mejorara tanto el transporte electrónico y aumente los sitios activos sin embargo la intensidad obtenida fue menor incluso menor que AgT7 con tubos de menor longitud, por lo que considerando además que la forma de pico del AgT5 pareciera que está incompleto y aparentando que continua en un potencial mayor se decidió evaluar nuevamente el tratamiento T5 de ambos NTs usando una ventana de potencial extendido desde -1V hasta 1.6 V cuyo resultado se muestra en la figura 54.

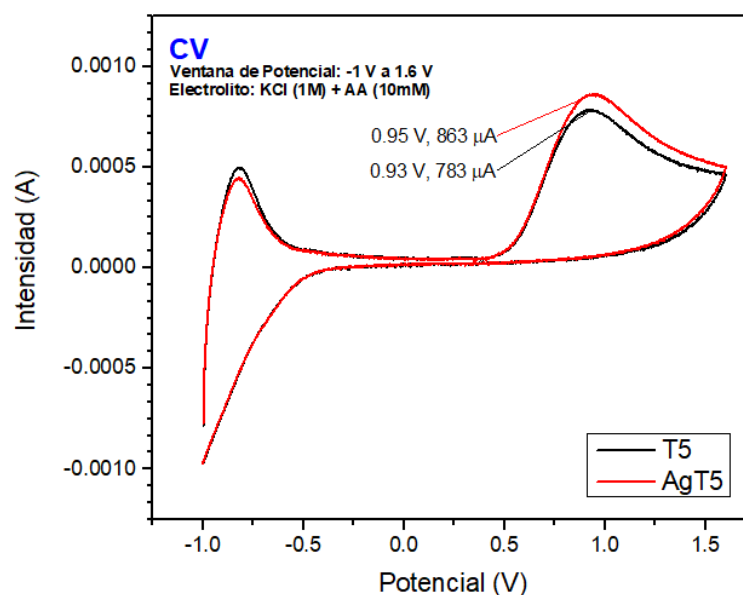


Figura 53. Voltamograma cíclico de AgT5 comparativo con T5 en una ventana de potencial de -1 V a + 1.6 V, evaluados con Ácido Ascórbico (10 Mm) en KCl (1 M).

Los voltamogramas obtenidos tanto para T5 como AgT5 realizados en una ventana de potencial más grande se registró claramente el pico característico de un análisis de voltametría cíclica, si bien se mantuvo el carácter irreversible, los picos anódicos de ambos electrodos de registraron en un potencial de 0.9 V y en este caso, aunque con una mínima

diferencia atribuido al bajo contenido de dopante el electrodo AgT5 registró mayor intensidad de corriente que T5. Por lo que AgT5 se seleccionó como el mejor candidato para ser evaluado su desempeño como potencial sensor electroquímico de ácido ascórbico con perspectiva de uso en bebidas.

Como complemento de los resultados anteriores de voltametría cíclica en la figura 55 se presenta un comparativo de los diagramas de Nyquist resultados del análisis por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) de la lámina de titanio metálico, el electrodo T5 y el AgT5 en electrolito de KCl (1 M) con y sin AA (5mM). La primer característica que llama la atención de estos diagramas en la ausencia del semicírculo tan característico de la técnica, sin embargo, esto ocurre cuando el sistema no opone resistencia a la transferencia electrónica electrolito-electrodo (Appadurai et al., 2019) por consiguiente registrar únicamente un comportamiento semilineal se atribuye a que el sistema está condicionado más bien por el proceso de difusión o transferencia de masa del seno del electrolito hasta la superficie del electrodo.

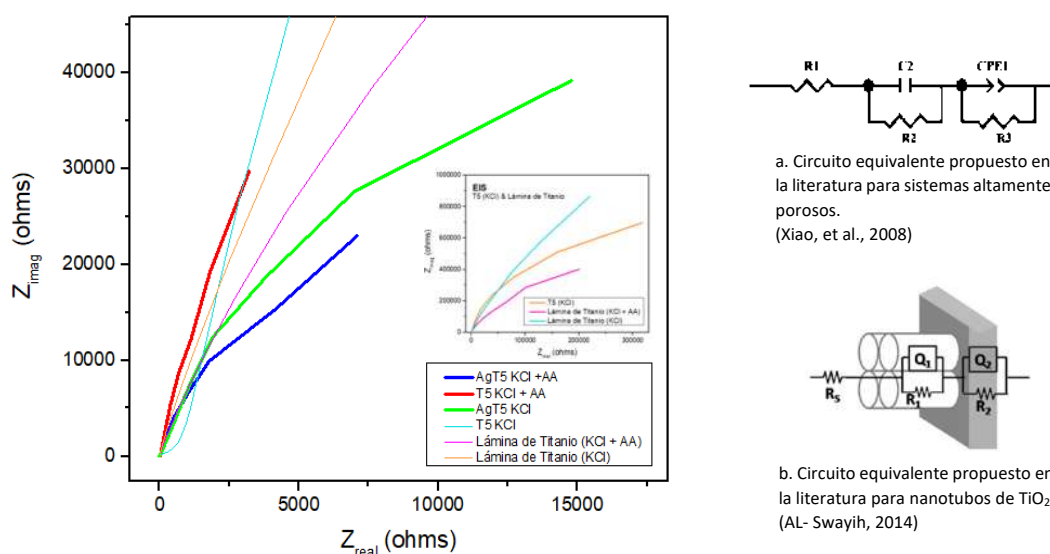


Figura 54. Espectro de Impedancia electroquímica. Comparativo entre Lámina de Titanio metálico, TiNTs (T5) y Ag-TiNTs (AgT5) en electrolito KCl (1 M) con presencia o ausencia de Ácido Ascórbico (5 Mm). A la derechas se muestra un circuito eléctrico equivalente generalmente propuesto en la literatura para sistemas altamente porosos.

Las línea espectral del AgT5 está ligeramente más curvada que T5 pudiendo sugerir que la transferencia de masa es más lenta, esta característica podría deberse a diferencias en el arreglo de la celda electroquímica como la distancia entre electrodos ya que la técnica es muy sensible, por otra parte aunque ambos electrodos carecen del semicírculo se observa para el electrodo AgT5 en zona de baja frecuencia un comportamiento ligeramente más lineal que T5, entre más recta se registre el comportamiento en zona de baja frecuencia se asocia con mejor conductividad (Appadurai, et al., 2019).

Los espectros EIS obtenidos son característicos de sistemas altamente porosos como lo nanotubos, en las figuras 55^a y 55b se muestran los modelos de circuitos eléctricos equivalentes que suelen describir el comportamiento de este tipo de sistemas, donde se tiene una capa porosa que favorece la transferencia electrónica electrodo-electrolito y una capa compacta de TiO₂. En ambos modelos reportados por P. Xiao, et al (2008) y Al-Swayih (2014) se propone un modelo de tipo $R_s(R_1Q_1(R_2(Q_2)))$ donde R_s corresponde a la resistencia de solución, R_1 la resistencia y Q_1 la capacitancia de la capa porosa mientras que R_2 es la resistencia y Q_2 la capacitancia de la capa eléctrica. La razón de usar elementos de fase (“ Q_1 ”-“ C_2 ” y “ Q_2 ”-“ CPE_1 ”) para representar la capacitancia en lugar de un elemento propio de capacitancia es debido a que la porosidad aleja al sistema de un capacitor ideal.

Por último, el electrodo AgT5 se evaluó en función de la velocidad de barrido por voltametría cíclica (Figura 56) con la finalidad de evidenciar el comportamiento a distintas velocidades y seleccionar la velocidad con la que se evaluará su funcionamiento como sensor de ácido ascórbico, en los voltamogramas se observa que las máximas intensidades de pico mantienen una buena relación lineal sin embargo se presenta corrimiento de los picos hacia potenciales menores consistente con la conclusión de las primeras pruebas sobre la irreversibilidad del sistema, sin embargo los corrimientos no son tan marcados como para indicar un aumento en la cinética de reacción significativa por lo que para continuar con la evaluación del electrodo se realizara a una velocidad de 100 mV/s que no difiere en gran medida de velocidades menores y aunque el sobre potencial en el que se registra su máxima intensidad en mayor se cree conveniente esta velocidad que por definición entrega una mayor intensidad de corriente y pueda favorecer la detección de señal en soluciones de menor concentración.

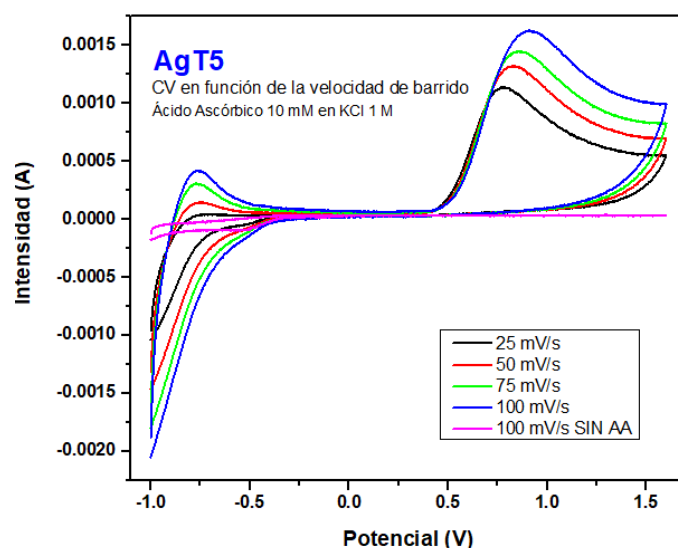


Figura 55. Voltamograma cíclico en función de la velocidad de barrido de la muestra nanotubos dopados (AgT5) en electrolito KCl (1 M) + Ácido Ascórbico (10 mM).

8.4 Validación de la respuesta electrocatalítica de la muestra AgT5 como sensor electroquímico de Ácido Ascórbico.

Perfil de concentraciones: Sensibilidad, LD y LC.

La figura 57 muestra el conjunto de voltamogramas obtenidos en el electrodo AgT5 para un rango de concentraciones desde 0 hasta 11mM con la finalidad de obtener un perfil de concentraciones a partir del cual se realizó el ajuste lineal.

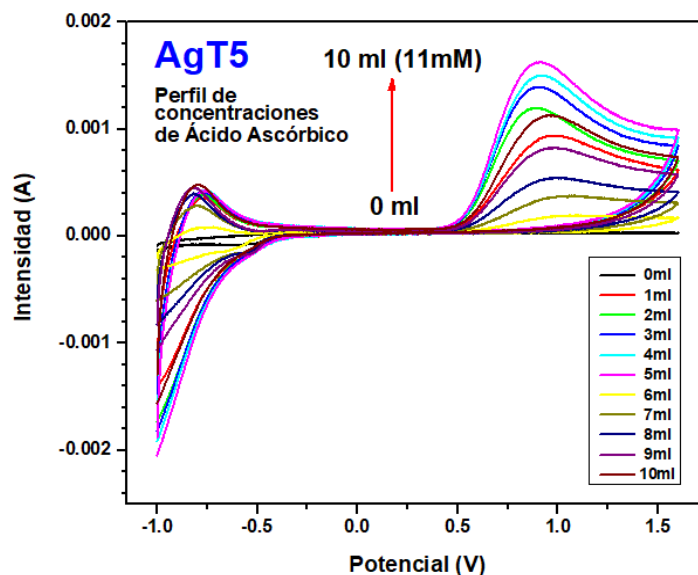


Figura 56. Voltamograma cíclico: Perfil de concentraciones de Ácido Ascórbico en el electrodo AgT5

A partir de la ecuación de la recta derivada del ajuste lineal (Figura 58) se obtuvo la sensibilidad del sistema con un valor de $1.4815 \times 10^{-4} \text{ A/mM/cm}^2$, se calculó un límite de detección (LD) igual a $213 \mu\text{M}$ y un límite de cuantificación (Lq) de $231 \mu\text{M}$.

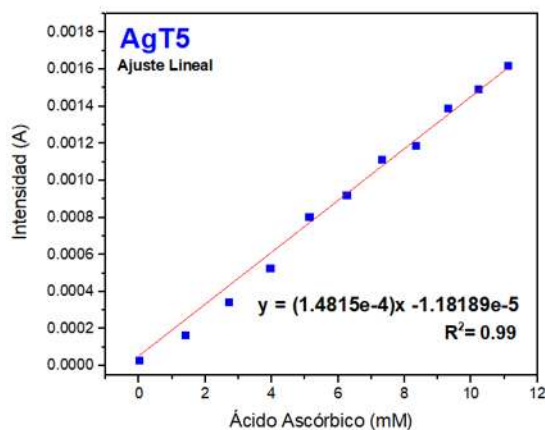


Figura 57. Ajuste lineal del perfil de concentraciones de Ácido Ascórbico en el electrodo AgT5.

Repetibilidad

Se realizaron 10 ciclos consecutivos de barrido por VC con un electrodo AgT5 los resultados se muestran gráficamente en el voltamograma de la figura 59, se observa un decrecimiento en la intensidad de señal conforme se incrementa el número de ciclos, este decrecimiento comienza a estabilizarse en el ciclo 3 y a partir del ciclo 5 al 10 la intensidad de señal se mantiene, este comportamiento se atribuye al rápido agotamiento de las especies oxidables en la superficie del electrodo llegando a un punto donde como se sugirió en las pruebas EIS el sistema se condiciona por el proceso de difusión del analito desde el seno de la solución hasta la superficie del electrodo. La desviación estándar de la intensidad máxima de picos es de 0.0001576 A.

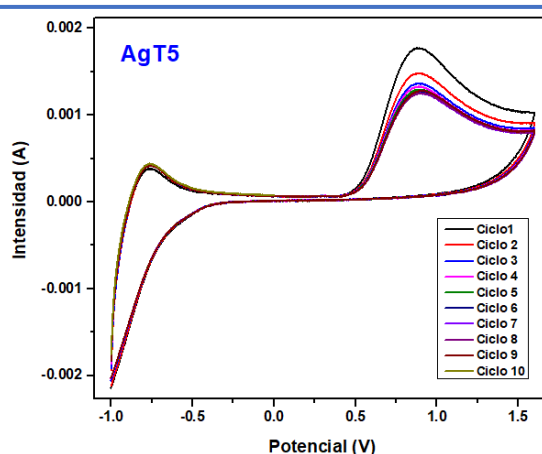


Figura 58. Evaluación de estabilidad del electrodo AgT5 a 10 ciclos de barrido VC.

Reproducibilidad

Se evaluó la respuesta de 3 electrodos distintos para una concentración 10 mM de AA en KCl (1 M) por VC en rango de -1 a 1.6 V y velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} , los resultados se contrastan en la figura 60 y se calculó una desviación estándar de 0.000042 A.

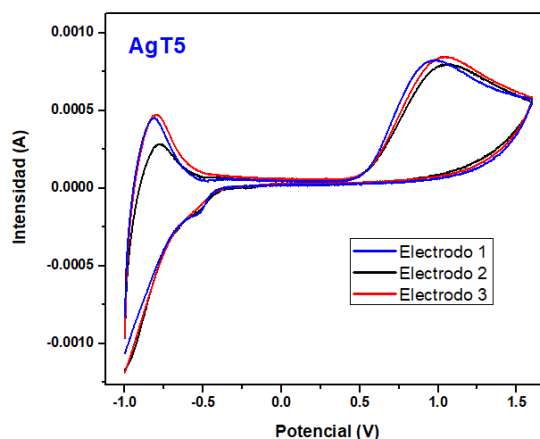


Figura 59. Comparación de la respuesta de tres diferentes electrodos con una muestra de AA (10mM) en KCl (1M).

Estabilidad: $f(t)$

Se realizaron medición a los 10, 15 y 20 días posteriores a la medición inicial realizada inmediatamente después de la síntesis, los resultados se muestran en la figura 61. Se observa el decrecimiento de la intensidad de corriente desde el día uno (electrodo recién sintetizado) hasta el día 20 con una disminución del 13% respecto a la intensidad inicial además presenta un corrimiento de pico a la izquierda hacia menor potencial.

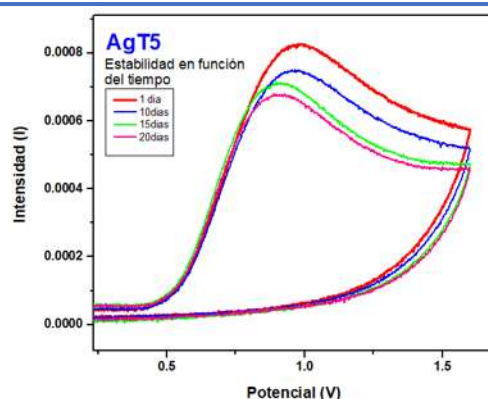


Figura 60. Evaluación de estabilidad del electrodo AgT5 a los 10, 15 y 20 días posteriores a la síntesis.

Este decrecimiento de señal podría estar relacionado a la irreversibilidad del sistema por la formación de óxidos hidratados en la superficie. Por otra parte los voltamogramas obtenidos para un perfil de concentración de 0-4 ml añadidos de AA (50mM) en KCl (1M) registrados también a los 10, 15 y 20 días (*Figura 62*) no muestran cambios significativos en cuanto a la correlación lineal entre cada concentración.

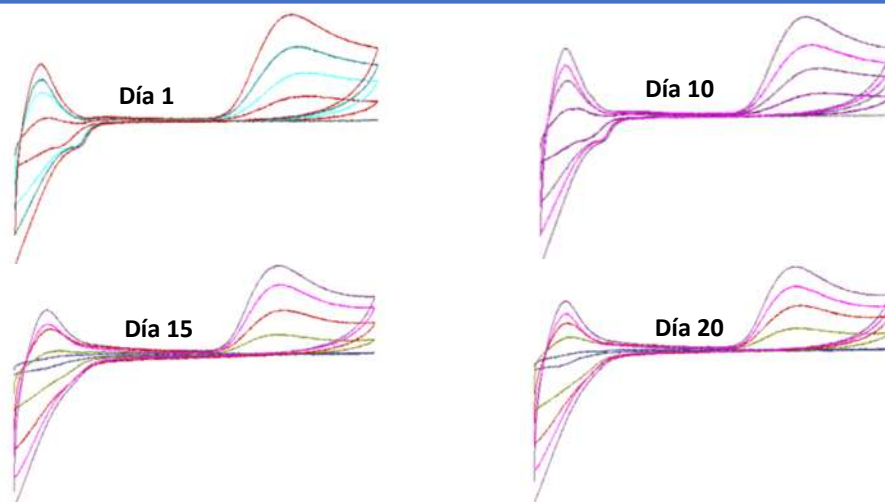


Figura 61. Voltamogramas del electrodo AgT5 a los 10, 15 y 20 días posteriores a la síntesis cada uno con un perfil de concentración de 0 → 4 ml de AA (50mM) en KCl (1M).

Esto podría sugerir que una vez que se deja de polarizar la celda el electrodo no se reestablece en un 100% y que el enjuague con abundante agua posterior a su uso no es suficiente para eliminar residuos que pudiera quedar absorbidos en la superficie. Resultaría importante evaluar la viabilidad de un pulido electroquímico previo a cada medición sin llegar a un auto dopaje con efecto crómico.

Selectividad

Para investigar si la presencia de glucosa (GLU) afecta la medición de AA se realizaron barridos de VC con las condiciones bajo las cuales se han evaluado el resto de las características de funcionamiento del sensor (Ventana de potencial de -1 a 1.6 V y velocidad de 100mVs^{-1}), los voltamogramas obtenidos se comparan en la figura 63. Se presenta una primer medición (línea roja) que corresponde la respuesta con AA (10 mM) en KCl (1M) a la cual se le añadió 1 ml de AA (5mM) y registro un aumento de intensidad de corriente (línea azul) seguido de la adición de 1ml de GLU (10Mm, considerando que generalmente se encuentra en mayor concentración que el AA) su voltamograma no registra algún pico diferente al obtenido para AA y contrario a aumentar la intensidad de corriente de este pico muestra una disminución que supondría que el sistema no detecta alguna señal proveniente de la glucosa.

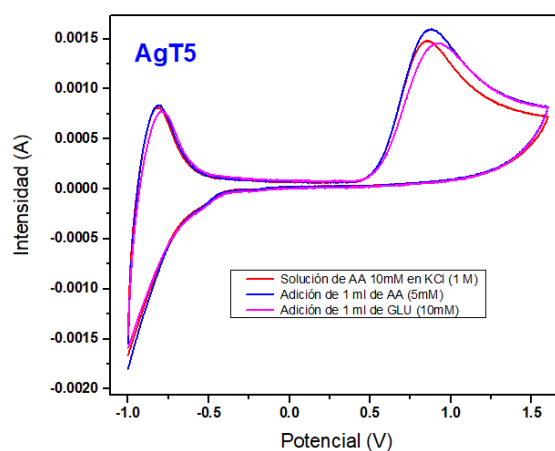


Figura 62. Voltamogramas obtenidos de la respuesta del electrodo AgT5 con Ácido Ascórbico (10mM) y Glucosa (10mM)

9 CONCLUSIONES

Se desarrolló un sensor electroquímico de ácido ascórbico basado en nanotubos de TiO_2 dopados con plata (1% wt) que cumplió con lo planteado en la hipótesis, con sensibilidad de $1.4815 \times 10^{-4} \text{ A/mM/cm}^2$ y límites de detección y cuantificación de $213 \mu\text{M}$ y $231 \mu\text{M}$ respectivamente, mostrando bajas desviaciones estándar en los análisis de repetibilidad y reproducibilidad sin embargo perdió un 13% de estabilidad a los 20 días una medida menor que los reportados para biosensores pero por encima de electrodos no enzimáticos reportados como desarrollado por Pei y colaboradores basado en nanotubos de TiO_2 dopados con Au el cual perdió solo el 3% a los 30 días. Además el electrodo no registró señal alguna con presencia de glucosa en la ventana de potencial y bajo las condiciones en las que se evaluó para el ácido ascórbico por lo que se presume selectividad respecto de este compuesto. Los parámetros de operación del sensor se establecieron para la técnica de voltametría cíclica con barrido positivo en una ventana de potencial de -1 V a 1.6 V y velocidad de barrido de 100 mVs^{-1} . La máxima intensidad de pico de oxidación se registró en 0.92 V , parámetro base para el resto de las mediciones de intensidad de corriente, también es la base para futuros análisis por una técnica de cronoamperometría.

Considerando los resultados obtenidos se hace notar la necesidad de incrementar el porcentaje de Plata durante la síntesis con la finalidad de incrementar el % de dopaje y poder realizar una adecuada evaluación sobre su efecto en las propiedades funcionales de los nanotubos de TiO_2 . Por otra parte se requiere encontrar una técnica correcta de corte para análisis SEM transversal que no comprometa las características de la capa de nanotubos y permita medir correctamente la longitud y el espesor de capa compacta de TiO_2 . En términos del desempeño del sensor se recomienda evaluar el pulido electroquímico previo a realizar el análisis para eliminar compuestos remanentes de análisis previos que puedan disminuir la sensibilidad del electrodo en los primeros ciclos de barrido con esto mejor la estabilidad respecto del tiempo. El electrodo demostró un comportamiento electroquímico favorable para su aplicación en el sector bebidas por lo que se recomienda evaluar la selectividad con un mayor número de compuestos interferentes que están presentes generalmente en bebidas adicionadas así como realizar las pruebas con muestras farmacéuticas y alimenticias comerciales de ácido ascórbico y su respectiva comparación con un método tradicional.

10 REFERENCIAS

- Absalan, Y., Gholizadeh, M., Butusov, L., Bratchikova, I., Kopylov, V., & Kovalchukova, O. (2020). Titania nanotubes (TNTs) prepared through the complex compound of gallic acid with titanium; examining photocatalytic degradation of the obtained TNTs. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2020.02.023
- Alonso-Lomillo, A., Domínguez-Renedo, O., Saldaña-Botín, A., & Arcos-Martínez, M. J. (2017). Determination of ascorbic acid in serum samples by screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles. *Talanta*, 174, 733–737. doi:10.1016/j.talanta.2017.07.015
- Bastías M, J. M., & Cepero B, Y. (2016). La vitamina C como eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos. *Revista chilena de nutrición*, 43(1), 81-86. doi: 10.4067/S0717-75182016000100012
- Bavykin, D., & Walsh, F. C. (2010). *Titanate and Titania Nanotubes. Synthesis, Properties and Applications*. (Vol. 12). RSC Nanoscience & Nanotechnology.
- Bhadra, C., Davidson, D. J., & Raja, D. H. (2020). Fabrication of titanium oxide nanotubes by varying the anodization time. *Materials Today: Proceedings*. doi:0.1016/j.matpr.2020.01.455
- Bhajantri, N. K., Arumugam, V. K., Chokkareddy, R., & Redhi, G. G. (2016). Ionic liquid based high performance electrochemical sensor for ascorbic acid in various foods and pharmaceuticals. *Journal of Molecular Liquids*, 222, 370-376. doi:10.1016/j.molliq.2016.07.061
- Brett, C., & Oliveira, A. M. (1994). *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*. New York: Oxford University Press.
- Brunetti, B. (2016). Recent Advances in Electroanalysis of Vitamins. *Electroanalysis*, 28, 1-14. doi:0.1002/elan.201600097
- Cano, J., Buonasera, K., & Pezzotti, G. (2014). Transduction methods used on biosensors: amperometry and fluorescence. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*(72).
- Chavhan, P., Reddy, V., & Kim, C. (2012). Nanostructured Titanium Oxide Platform for application to Ascorbic Acid Detection. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(2012), 5420-5428.
- De Faria, L. V., Pedrosa, T., Marques, D., Moreira, F., Moura, M., Arromba, R., . . . Camargo, R. (2020). Direct analysis of ascorbic acid in food beverage samples by flow injection analysis using reduced graphene oxide sensor. *Food Chemistry*, 319(2020). doi:10.1016/j.foodchem.2020.126509.
- Duzmen, S., Baytak, A., & Aslanoglu, M. (2020). A novel voltammetric platform composed of poly(aminopyrazine), ZrO₂ and CNTs for a rapid, sensitive and selective determination of ascorbic acid in pharmaceuticals and food samples. *Materials Chemistry and Physics*, 252. doi:10.1016/J.MATCHEMPHYS.2020.123170
- Endo, R., Siriwardena, H. D., Kondo, A., Yamamoto, C., & Shimomura, M. (2018). Structural and chemical analysis of TiO₂ nanotube surface for dye-sensitized solar cells. *Applied Surface Science*, 439(2018), 954-962. doi:10.1016/j.apsusc.2018.01.124
- Esmailnejada, A., Mahmoudib, P., Zamaniana, A., & Mozafaria, M. (2019). Synthesis of titanium oxide nanotubes and their decoration by MnO nanoparticles for biomedical applications. *Ceramics International*, 45(2019), 19275–19282. doi:10.1016/j.ceramint.2019.06.177

González, L. G., Palmeros, C., González, M. T., Pérez, M. d., & Gutiérrez, M. (2016). Factores Dietéticos y nutricionales de prevención de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de salud pública y nutrición*, *15*(1), 27-37.

González, M. J., & Miranda-Massari, J. R. (2014). *New Insights on Vitamin C and Cáncer*. (Springer, Ed.) doi:10.1007/978-1-4939-1890-4

Gruczynska, E., Przybylski, R., & Aladedunye, F. (2014). Performance of structured lipids incorporating selected phenolic and ascorbic acid. *Food Chemistry*, *173*(2015), 778-783. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2014.10.122

Gaugliani, W. C., Ruwer, T. L., Caldeira, L. E. N., Wermuth, T. B., Venturini, J., & Bergmann, C. P. (2021). Single-step synthesis of Fe-TiO₂ nanotube arrays with improved light harvesting properties for application as photoactive electrodes. *Materials Science and Engineering: B*, *263*, 114896. doi:10.1016/j.mseb.2020.114896

Hayt, W. H., & Buck, J. A. (2006). *Teoría Electromagnética* (Sexta edición.). McGraw-Hill Interamericana.

Hoyer, P. (1996). Formation of a Titanium Dioxide Nanotube Array. *Langmuir*, *12*(6), 1411-1413. doi:10.1021/la9507803

Jiménez, C., & León, D. (2008). Biosensores: aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae, revista de la facultad de Química y Farmacéutica*, *16*(1), 144-154.

Kasuga, T., Hiramatu, M., Hoson, A., Sekino, T., & Niihara, K. (1999). Titania Nanotubes Prepared by Chemical Processing. *Advanced Materials*, *11*(15), 1307-1311. doi:10.1002/(SICI)1521-4095(199910)

Khaliq, N., Rasheed, M., Cha, G., Khan, M., Karim, S., Schmuki, P., & Ali, G. (2019). Development of Non-Enzymatic Cholesterol Bio-Sensor based on TiO₂ Nanotubes Decorated with Cu₂O Nanoparticles. *Sensors and Actuators: B. Chemical*. doi:10.1016/j.snb.2019.127200

Kmentova, H., Kment, S., Wang, L., Pausova, S., Vaclavu, T., Kuzel, R., . . . Krysa, J. &. (2016). Photoelectrochemical and structural properties of TiO₂ nanotubes and nanorods grown on FTO substrate: Comparative study between electrochemical anodization and hydrothermal method used for the nanostructures fabrication. *Catalysis Today*. doi:10.1016/j.cattod.2016.10.022

Liang, Z., & Zhang, X. (2018). Zn-ZnO@TiO₂ nanocomposite: a direct electrode for nonenzymatic biosensors. *Journal of Materials Science*, *53*, 7138-7149.

Liu, M., Wen, Y., Xu, J., He, H., Li, D., Yue, R., & Liu, G. (2011). An Amperometric Biosensor Based on Ascorbate Oxidase Immobilized in Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/Multi-Walled Carbon Nanotubes Composite Films for the Determination of L-Ascorbic Acid. *Analytical Sciences*, *27*, 447- 487.

Lopez, E. C. R., Ocon, J. D., & Perez, J. V. D. (2019). Synthesis of Silver-Doped Titanium Dioxide Nanotubes by Single-Step Anodization for Enhanced Photodegradation of Acid Orange 52. *Materials Science Forum*, *950*, 149–153. doi:10.4028/www.scientific.net/ms

- Manescu, V., Paltanea, G., Popovici, D., & Jiga, G. (2016). Electrical Characterization of TiO₂ Nanotubes Synthesized Through Electrochemical Anodizing Method. *American Institute of Physics*. doi:10.1063/1.4949714
- Martínez, J., & Astiasarán, I. (2000). *Alimentos: Composición y Propiedades*. España: McGRAW-HILL IBEROAMERICANA DE ESPAÑA, S. A. U.
- McMurry, J. (2012). *Organic Chemistry (Octava edición edición)*. CENGAGE Learning.
- Mehmeti, E., Hajrizi, A., Arbnesi, T., Žagar, K., Samphao, A., & Kalcher, K. (2016). Determination of Ascorbic Acid Based on Heterogeneous Carbon Sensors Modified with Carbon Nanotubes and Gold Nanoparticles. *RJPBCS*, 7(1), 140-151.
- Mendoza, C., Flores, C., Melendez, C., Marquez, Y., & Matheus, N. (2019). Efecto protector de la vitamina C sobre el estrés oxidativo y daño al ADN en ratas con diabetes mellitus. *Revista Veterinaria*, 30(1), 12-16.
- Mercante, L., Scagion, V., Migliorini, F., Mattoso, L., & Correa, D. (2017). Electrospinning-based (bio)sensors for food and agricultural applications: A review. *Trends in Analytical Chemistry*, 91(2017), 91-103. doi:10.1016/j.trac.2017.04.004
- Misriyani, & Kunarti, E.S. (2020). Synthesis and Photoelectrochemical Activity of TiO₂ Nanotube Based Free Standing Membrane. *Asian Journal of Chemistry*. 32. 2739-2742. 10.14233/ajchem.2020.22764.
- Nah, Y.-C., Paramasivam, I., & Schmuki, P. (2010). Doped TiO₂ and TiO₂ Nanotubes: Synthesis and Applications. *ChemPhysChem*, 11, 2698 – 2713. doi:10.1002/cphc.201000276
- Oliveira, W. F., Arruda, I. R., Silva, G. M., & Machado, G. (2017). Functionalization of titanium dioxide nanotubes with biomolecules for biomedical applications. *Materials Science & Engineering C*, 81(2017), 597-606. doi:10.1016/j.msec.2017.08.017
- OMS. (24 de Mayo de 2018). *Las 10 principales causas de defunción*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Ortiz-Martínez, V. M., Salar-García, M. J., Ait Ali Yahia, S., Hernández-Fernández, F. J., & Pérez de los Ríos, A. (2015). Aplicación de nanotubos de Ti/TiO₂ en pilas de combustible microbianas. *Anuario de Jóvenes Investigadores*, 8, 30-32.
- Pei, L., Wei, T., Lin, N., & Cai, Z. (2016). Analysis of Ascorbic Acid by Electrochemical Detection. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 52(4), 398-402.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Serban, A. I., & Fafaneata, C. (2014). Métodos electroquímicos para la determinación del ácido ascórbico. *Electrochimica Acta*, 121(2014), 443-460. doi:10.1016/j.electacta.2013.12.127
- Reyes, J. (2020). Breve reseña histórica de la microscopía electrónica en México y el mundo. *Mundo Nano*, 13(25), 79-100. doi:https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69610 | 13(25), 79-100, julio–diciembre 2020

- Roguskaa, A., Pisareka, M., Belcarzb, A., Marconc, L., Holdynskia, M., & Andrzejczukd, J.-C. M. (2016). Improvement of the bio-functional properties of TiO₂nanotubes. *Applied Surface Science*, 388, 775-785. doi:10.1016/j.msec.2020.111051
- Romero-Arcos, M., Garnica-Romo, M. G., & Martínez-Flores, H. E. (2016). Electrochemical Study and Characterization of an Amperometric Biosensor Based on the Immobilization of Laccase in a Nanostructure of TiO₂ Synthesized by the Sol-Gel Method. *Materials*, 9(543).
- Sales, D., Marques, T., Ghosh, A., Gusmao, S., Vasconcelos, T., Luz-Lima, C., . . . Viana, B. (2020). Synthesis of silver-cerium titanate nanotubes and their surface properties and antibacterial applications. *Materials Science & Engineering C*, 115. doi:10.1016/j.msec.2020.111051
- Satheesh Babu, T. G., Suneesh, P. V., Ramachandran, R., & Nair, B. (2010). Gold Nanoparticles Modified Titania Nanotube Arrays for Amperometric Determination of Ascorbic Acid. *Analytical Letters*, 43(18), 2809-2822. doi:10.1080/00032711003725615
- Scremin, J., Melo, E., Salamanca-Neto, C., Cury, P., & Romão, E. (2018). Amperometric determination of ascorbic acid with a glassy carbon electrode modified with TiO₂-gold nanoparticles integrated into carbon nanotubes. *Microchimica Acta*. doi:10.1007/s00604-018-2785-7
- Sebek, M., Peppel, T., Lund, H., Medic, I., Springer, A., Mazierski, P., ... Steinfeldt, N. (2021). Thermal annealing of ordered TiO₂ nanotube arrays with water vapor-assisted crystallization under a continuous gas flow for superior photocatalytic performance. *Chemical Engineering Journal*, 425, 130619. doi:10.1016/j.cej.2021.130619
- Sekino, T. (2010). Synthesis and Applications of Titanium Oxide Nanotubes. En K. Tsuyoshi, *Inorganic and metallic Nanotubular Materials* (Vol. 117, págs. 17-32). Topics and Applied Physics. doi:10.1007/978-3-642-03622-4_2
- Serra, H. M., & Cafaro, T. A. (2007). Ácido ascórbico: desde su química hasta su crucial función protectora en ojo. *Bioquímica Clínica Latinoamerica*, 41(4), 525-532.
- Shalinia, A., Paulraj, P., Pandian, K., Anbalagan, G., & Jaisankar, V. (2019). Single pot synthesis, characterization of PPy@C composites modified electrode for the electrocatalytic determination of ascorbic acid in commercial fruit samples. *Surfaces and Interfaces*, 17. doi:10.1016/j.surfin.2019.100386
- Skoog, D., West, D., Holler, F., & Crouch, S. (2015). *Fundamentos de Química Analítica* (Novena Edición ed.). México: Cengage Learning Editores S. A. de C. V.
- Takahashi, M. (2018). Oxide (TiO₂) Nanotubes Obtained Through Sol-Gel Method. En L. Klein, M. Aparicio, & A. Jitianu (Edits.), *Handbook of Sol-Gel Science and Technology* (Vol. 1). Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-32101-1
- Varvara, M., Bozzo, G., Celano, G., Disanto, C., Pagliarone, C. N., & Celano, G. V. (2016). *The use of ascorbic acid as food additive: technical-legal issues* (Vol. 5). Italian Journal of Food Safety. doi:10.4081/ijfs.2016.4313
- Vasquez-García, S., Garcia-Rueda, A., Flores-Ramirez, N., Rico-Cerda, L., Domratcheva-Lvova, L., & García-Gonzalez, L. (2018). Synthesis and characterization of TiO₂ nanotubes doped with Fe via in situ Anodization. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 15814 –15820. doi:10.1007/s10854-018-9339-y

- Villagrán, M., Muñoz, M., Díaz, F., Troncoso, C., Celis-Morales, C., & Mardones, L. (2019). *La vitamina C en salud y enfermedad: una perspectiva actual* (Vol. 46). Revista Chilena de nutrición. doi:10.4067/S0717-75182019000600800
- Wade, L. G. (2011). *Química Orgánica* (Séptima edición ed., Vol. 2). México: Pearson Education.
- Wang, Y., Chen, J., Zhou, C., Ling, Z., Kong, Y., Long, H., & Zhong, S. (2014). A novel self-cleaning, non-enzymatic glucose sensor working under a very low applied potential based on a Pt nanoparticle-decorated TiO₂ nanotube array electrode. *Electrochimica Acta*, *115*, 269-276. doi:10.1016/j.electacta.2013.09.173
- Wu, B., Zhou, M., Zhang, X., Fan, Z., Wang, K., Ma, P., ... Su, M. (2021). UV photoelectric properties of aligned TiO₂ nanotubes with different wall thickness. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, *114*, 467. doi:10.1016/j.physe.2020.114467
- Wu, J.-W., Chen, C.-H., Lin, C.-J., Kumar, K., Lu, Y.-R., Liou, S., ... Dong, C.-L. &.-L. (2020). Improved photocatalytic efficacy of TiO₂ open nanotube arrays: A view by XAS. *Applied Surface Science*, *527*(2020), 146844. doi:10.1016/j.apsusc.2020.146844
- Zaragoza, P. I. (2018). *Degradación de contaminante emergentes mediante un proceso fotocatalítico empleando nanotubos de TiO₂* (Tesis de maestría). UNAM, México.
- Zhu, H., Li, L., Zhou, W., Shao, Z., & Chen, X. (2016). Advances in non-enzymatic glucose sensors based. *Journal of Materials Chemistry B*, *4*, 7333-7349. doi:10.1039/c6tb02037b
- Zhu, S., Xie, A., Wei, B., Tao, X., Zhang, J., Peng, W., ... Luo, S. (2020). Construction and application of a nonenzymatic ascorbic acid sensor based on a NiO_{1.0}/polyaniline_{3.0} hybrid. *New J. Chem.*(44), 9288-9297. doi:10.1039/d0nj00696c