

DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO NO ENZIMÁTICO PARA LA DETECCIÓN DE GLUCOSA A BASE DE UN NANOCOMPOSITO DE NEGRO DE HUMO/POLIANILINA/NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Emilio Ochoa-Heras^a, Alejandro Vega-Ríos^b, Claudia A. Hernández-Escobar^b, Erasto Armando Zaragoza-Contreras^b, Claudia Ivone Piñon-Balderma^c

^a) Universidad Autónoma de Chihuahua UACH, Facultad de Ingeniería, Circuito Universitario S/N, Campus Uach II, 31125 Chihuahua, Chihuahua, México

^b) Centro de Investigación en Materiales Avanzados CIMAV. Av. Miguel de Cervantes Saavedra 120, Complejo Industrial Chihuahua, 31136 Chihuahua, Chihuahua, México.

Afiliación (Arial 8, centrado): ^a) Nombre del CPI o IES, dirección postal; ^b) Nombre del CPI o IES, dirección postal; ^c) Nombre del CPI o IES, dirección postal y correo electrónico del autor de correspondencia.

Resumen: Este estudio describe la síntesis de un nanocompuesto electroactivo compuesto de negro de humo (CB) y polianilina (PANI), obtenido mediante polimerización oxidativa in situ. Se utilizó el monómero P1 como precursor de la polianilina, el cual posee propiedades surfactantes que facilitan la formación de estructuras tipo núcleo-coraza. El nanocompuesto, combinado con nanopartículas de plata (AgNPs) como componente electrocatalítico, se utilizó para modificar la superficie de un electrodo de carbono vítreo (GCE) para la detección de glucosa. Las áreas electroactivas se determinaron utilizando la ecuación de Randles–Sevick. Los resultados indicaron que el nanocompuesto CB-PANI.1-1/AgNP exhibió una mayor área superficial electroactiva (0.3451 cm^2) en comparación con las AgNPs solas (0.0973 cm^2) o el compuesto CB-PANI.1-1 (0.2989 cm^2). La caracterización de CB-PANI.1-1/AgNP mediante voltametría cíclica en presencia de glucosa reveló un nuevo pico de oxidación con una corriente máxima cercana a 0.7 V , atribuida a la oxidación de glucosa a gluconolactona. Las pruebas de amperometría a este potencial demostraron una respuesta lineal con un R^2 de 0.999 en relación con la concentración del analito. El sensor de glucosa mostró un rango de detección lineal de 1 a 10 mM , una sensibilidad de $41 \mu\text{A mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ y un límite de detección (LOD) de $520 \mu\text{M}$.

Introducción

Los materiales de carbono han sido fundamentales en diversas áreas de la ciencia de materiales, y con el avance de la nanotecnología, formas como los nanotubos de carbono, el grafeno, los fullerenos y los nanodiamantes se han destacado en aplicaciones de almacenamiento y producción de energía, sensores y biosensores [1]. Sin embargo, el negro de humo (CB), un material de carbono tradicional y económico, ha quedado rezagado con la aparición de estos nuevos materiales, a pesar de su alta área superficial y excelente conductividad eléctrica. Sin embargo, quizás su propiedad más relevante sea su bajo costo con respecto a los nanotubos de carbono o el grafeno, por ejemplo [2].

El CB ha sido utilizado durante décadas en sensores electroquímicos, pero con la introducción de nanotubos y grafeno, su uso en esta área disminuyó. Recientemente, estudios han mostrado que el CB es igualmente eficaz para la modificación de electrodos en comparación con otras formas de carbono más avanzadas [3], y se ha empleado en la fabricación de pastas para electrodos en mediciones electroquímicas.

En el sector salud, tanto como en la producción alimenticia, la detección y cuantificación de glucosa es una medición crucial, en este sentido, los sensores electroquímicos presentan ventajas en términos de monitoreo en tiempo real y facilidad de uso. Por estas razones, diversos

materiales, incluidos las nanopartículas de metales, óxidos metálicos y polímeros conductores, han sido explorados para mejorar su rendimiento. Las nanopartículas de plata (AgNP), en particular, han demostrado eficacia en la respuesta electrocatalítica de la oxidación de glucosa [3].

A partir de estas premisas, en este estudio se modificó un electrodo de carbono vítreo (GCE) con un nanocompuesto núcleo-coraza de Ag/CB/PANI para la detección no enzimática de glucosa en medio básico. Se utilizó P1 (dodecil sulfato de anilinio) como monómero de PANI para maximizar la dispersión e interacción entre CB y PANI, aprovechando sus propiedades tensoactivas. La dispersión de CB en fase acuosa fue luego polimerizada sobre su superficie mediante polimerización oxidativa, y el nanocompuesto se complementó con nanopartículas de plata para la electrocatalización de glucosa.

Parte experimental.

Materiales. Se utilizó negro de humo (Vulkan XC 72R, Cabot, Billerica, MA, EE. UU.) tal cual se recibió. La anilina, el dodecil sulfato de sodio, el persulfato de amonio (APS), el ferrocianuro de potasio ($K_4[Fe(CN)_6]$), el ferricianuro de potasio ($K_3[Fe(CN)_6]$) y la glucosa fueron adquiridos de Aldrich Co. (Wyoming, IL, EE. UU.). El ácido sulfúrico fue proporcionado por J.T. Baker (Xalostoc, Estado de México, México).

Instrumentación. La morfología de los nanocompuestos núcleo-cortaza fue analizada mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM 7700, Hitachi, Chiyoda, Tokio, Japón) a 100 KV. La estructura del compuesto PANI-P1 y CB-PANI.1-1/AgNP se observó con un microscopio electrónico de emisión de campo (JSM-7401F, Jeol, Akishima, Tokio, Japón) con ultra alto vacío y resolución de 1 nm. Las nanopartículas de plata fueron analizadas con un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (JEM 2200FS, Jeol, Akishima, Tokio, Japón) equipado con un corrector de aberración esférica y operado a 200 kV. La caracterización de grupos funcionales se realizó con un espectrofotómetro FTIR de transformada de Fourier (GX-FTIR, Perkin Elmer, Waltham, MA, EE. UU.) usando la

técnica de reflectancia total atenuada (ATR), con un promedio de 30 escaneos y resolución de 40 cm^{-1} en el rango de 400 a 4000 cm^{-1} . Para la caracterización electroquímica, se empleó una celda de tres electrodos, con un GCE ($\varnothing = 3\text{ mm}$) como electrodo de trabajo, una lámina de platino (1 cm^2) como contraelectrodo y un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Las técnicas de voltametría cíclica (CV), espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) y voltametría de barrido lineal (LSV) se realizaron con un potenciostato (EmStat3 + blue, PalmSens, Houten, Países Bajos).

Síntesis del nanocompuesto. Nuestro grupo reportó anteriormente la síntesis del monómero P1 [4]. Brevemente, la sal de anilinio hidrociorada se obtuvo al reaccionar anilina con ácido clorhídrico en una proporción molar de 1:1, disolviendo la sal en agua. Posteriormente, se mezcló una solución acuosa de dodecil sulfato de sodio (SDS) en la misma proporción con la sal de anilinio, generando la precipitación del sulfato de anilinio debido a su baja solubilidad a temperatura ambiente. La purificación se realizó saturando la solución a $50\text{ }^\circ\text{C}$, permitiendo que se enfríe en condiciones de laboratorio y luego refrigerándola a $4\text{ }^\circ\text{C}$ durante 12 h. El sólido precipitado se recuperó por filtración y se secó al vacío a $60\text{ }^\circ\text{C}$. El monómero P1, con propiedades tensoactivas, fue utilizado para dispersar el negro de humo (CB) en fase acuosa. Una vez disperso el CB, se añadió persulfato de potasio como agente oxidante para polimerizar P1 mediante polimerización oxidativa y obtener PANI-P1.

Para la preparación de los compuestos núcleo-coraza, se colocaron 20 g de agua tridestilada en un recipiente de vidrio con P1, calentándolo en un baño de aceite a $40\text{ }^\circ\text{C}$ y manteniéndolo en agitación magnética durante 1 h. Luego, se añadió CB en diferentes proporciones en peso (1-1, 1-2 y 1-4, como se indica en la Tabla 1) y se dispersó en la solución acuosa por 1 h con agitación magnética, seguido de 15 min de sonicación. Posteriormente, se añadió una solución de APS (0.1586 g en 5 g de agua tridestilada) a la dispersión de CB para iniciar la polimerización oxidativa de P1, manteniendo la agitación por 4 h. La proporción en peso de APS a P1 fue de 1.25:1.

Tabla 1. Formulaciones de los compósitos sintetizados

Compósito	CB (g/mmol)	P1 (g/mmol)	APS ^{a)}
CB-PANI.1-1	0.2 (0.5563)	0.2 (0.5563)	0.16 (0.7)
CB-PANI. 1-2	0.1 (0.5563)	0.2 (0.5563)	0.16 (0.7)
CB-PANI. 1-4	0.05 (0.5563)	0.2 (0.5563)	0.16 (0.7)

a) = Persulfato de amonio (APS)

Síntesis de nanopartículas. Las nanopartículas de plata se sintetizaron mediante un método de reducción química previamente reportado [5]

Modificación del electrodo y análisis electroquímico. Primeramente, el electrodo de carbón vítreo (GCE) se pulió con una suspensión de alúmina y se lavó en agua desionizada e isopropanol, este procedimiento se repitió tres veces. Luego, se depositaron 10 μ L de una dispersión de CB-PANI (1-1, 1-2 o 1-4, según sea el caso) y se dejó secar. La voltametría cíclica (CV) se realizó en el GCE sin modificar y en los compuestos CB-PANI. Para el sistema de detección, se mezclaron suspensiones de CB-PANI.1-1 y AgNP (10 mM), de las cuales se depositaron 10 μ L en el GCE. Para la detección de glucosa, se utilizó el electrodo CB-PANI.1-1/AgNP. La prueba de amperometría se llevó a cabo aplicando un potencial de 0.7 V, mientras que la voltametría de barrido lineal evaluó el electrodo en un barrido de 0.4 a 1.0 V. Las concentraciones de glucosa entre 0 y 10 mM y se analizaron en una solución de NaOH 0.1 M como electrolito de soporte. La respuesta amperométrica en presencia de glucosa se obtuvo aplicando 0.7 V, estabilizando primero la corriente en blanco por 2 min y agregando la solución de glucosa para incrementar la concentración en 1 mM gradualmente con cada adición.

Resultados. La morfología de los compuestos se estudió por microscopía electrónica de transmisión (a, b y c) y barrido (d). Las imágenes muestran áreas claras y oscuras, donde las zonas claras corresponden a superficies de CB que no han sido completamente cubiertas con polianilina, mientras que las zonas oscuras representan superficies cubiertas. Las imágenes a alta magnificación revelan que, al aumentar el contenido de P1 en las polimerizaciones

iniciales, se incrementa el área de CB cubierta por la capa de PANI-P1, como se observa en las Figuras (1a, b y c). Además, estas imágenes muestran detalles de la estructura típica del CB en las áreas expuestas [6]. Este análisis sugiere que a mayor contenido de P1, mayor es el área de CB cubierta con polianilina, lo cual indica una estructura tipo núcleo-cáscara.

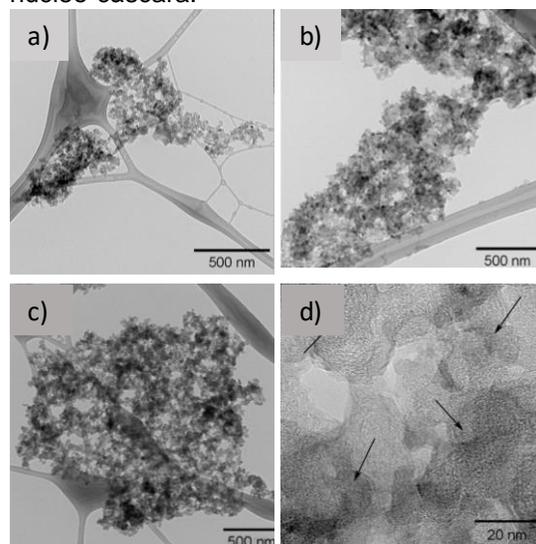


Figura 1. Imágenes de microscopía electrónica. (a) CB-PANI.1-1, (b) CB-PANI.1-2, (c) CB-PANI.1-4, (d) PANI-P1. 1-2 (Flechas negras señalan la coraza de PANI).

Caracterización electroquímica de los compósitos núcleo-coraza. La caracterización electroquímica de los compuestos núcleo-coraza se llevó a cabo mediante voltametría cíclica. La Figura 2 muestra los voltamogramas de los tres compuestos, con PANI-P1 y CB incluidos como referencias. Las mediciones se realizaron en una solución electrolítica de SDS con ácido sulfúrico a pH 2.5 para mantener el contraión dodecil sulfato, que es intrínseco al P1. Inicialmente, se observó que el CB no mostró ninguna respuesta electroquímica, lo que confirma su falta de electroactividad. En contraste, el voltamograma de PANI-P1 presentó picos de oxidación en la región anódica a 0.3 V y 0.85 V, correspondientes a las transiciones de leucoemeraldina a emeraldina y de emeraldina a pernigranilina, respectivamente. En la región catódica, se observaron picos de reducción a 0.15 V y 0.7 V, asociados con las transiciones de

de poligranilina a emeraldina y de emeraldina a leucoemeraldina, respectivamente.

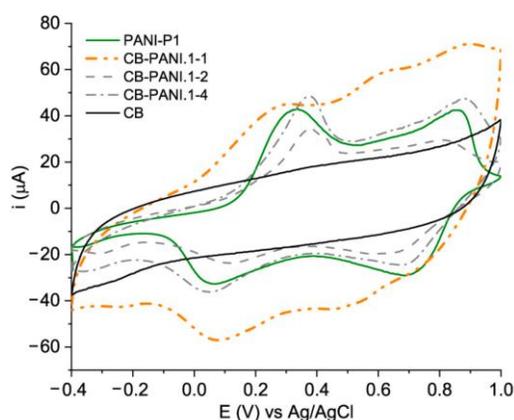


Figura 2. CV en 0.1 M SDS a pH de 2.5 y velocidad de barrido de 100 mV s⁻¹

Los tres compósitos núcleo-coraza (CB-PANI.1-1, CB-PANI.1-2 y CB-PANI.1-4), mostraron patrones de voltamogramas similares al de PANI-P1. Sin embargo, exhibieron una corriente no faradaica o capacitiva creciente a medida que aumentaba el contenido de CB. Se estimó que el contenido de CB en la superficie del electrodo era de 0.00008, 0.00004 y 0.00002 g para CB-PANI.1-1, CB-PANI.1-2 y CB-PANI.1-4, respectivamente. Cabe destacar que CB-PANI.1-1, el compuesto con el mayor contenido de CB, demostró la mayor electroactividad, evidenciada por los picos de corriente faradaica más grandes en su voltamograma. Esta mayor electroactividad se atribuyó a la mayor concentración de CB. La corriente no faradaica está relacionada con procesos capacitivos, como la carga y descarga de capacitores en la interfaz electrodo-electrolito, causada por la acumulación de carga en la interfaz eléctrica. En contraste, la corriente faradaica surge de reacciones redox que implican transferencia de electrones [7]. Por las razones antes mencionadas, se decidió seleccionar CB-PANI. 1-1 para la construcción del sensor electroquímico de glucosa.

Análisis de detección de glucosa y determinación del área electroactiva. El área electroactiva se refiere a la superficie del electrodo que está disponible para participar en reacciones electroquímicas, como la transferencia de electrones en procesos

redox. Este parámetro es crucial en estudios electroquímicos porque afecta directamente la corriente medida y, por ende, la sensibilidad y la eficiencia del sistema. Las áreas electroactivas de AgNP, CB-PANI.1-1 y CB-PANI.1-1/AgNP se determinaron mediante voltametría cíclica. El desempeño del electrodo se evaluó utilizando el sistema redox K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆], variando la velocidad de barrido entre 10 y 100 mV s⁻¹. Para calcular el área electroactiva de los electrodos modificados, se empleó la ecuación de Randles–Sevcik que se describe a continuación:

$$I_{pa} = 2.69 \times 10^5 n^3 A C D^{1/2} v^{1/2}$$

Donde, A es el área electroactiva (cm²), n es el número de electrones involucrados en la reacción redox ($n=1$ en el sistema ferrocianuro/ferricianuro), v es la velocidad de barrido (V s⁻¹), D es el coeficiente de difusión (6.7×10⁻⁶ cm² s⁻¹) y C es la concentración molar (mol cm⁻³) de la solución redox ferrocianuro/ferrocianuro. El área A se calculó a partir de la pendiente de la gráfica I_{pa} vs $v^{1/2}$. Las áreas electroactivas calculadas fueron 0.0973 cm² para AgNP, 0.2989 cm² para CB-PANI.1-1 y 0.3451 cm² para CB-PANI.1-1/AgNP. Estos resultados evidencian que CB-PANI.1-1/AgNP presenta la mayor área electroactiva, lo que indica una mayor densidad de sitios activos para la interacción con glucosa. Además, el mejor desempeño electroquímico de CB-PANI.1-1/AgNP puede atribuirse a la formación de una red de partículas interconectadas de CB, PANI y AgNP, generando una superficie rugosa y porosa que favorece la adsorción del analito. Este diseño nanoestructurado produce un efecto sinérgico que mejora la conductividad, la electroactividad y el área electroactiva, proporcionando múltiples sitios activos, lo que convierte a CB-PANI.1-1/AgNP en un material óptimo para la detección electroquímica de glucosa. El desempeño de CB-PANI.1-1/AgNP como sensor de glucosa y su capacidad para evaluar cuantitativamente su concentración fue analizado mediante amperometría con adiciones sucesivas e

Incrementos de 1 mM en la concentración del analito.

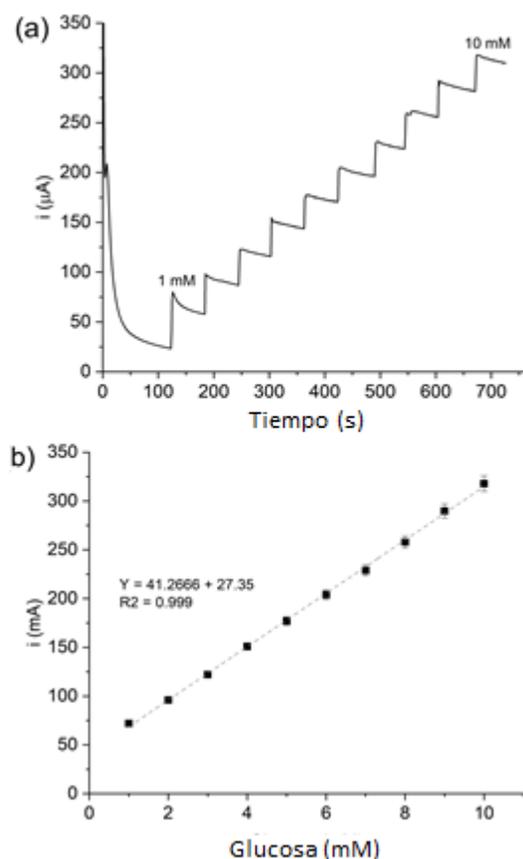
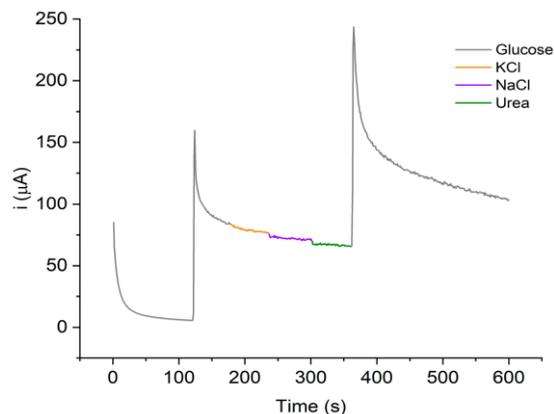


Figura 3. a) Detección vía amperometría mediante adiciones sucesivas de glucosa 1 mM y (b) curva de calibración i vs concentración de glucosa. Las mediciones se realizaron utilizando el compuesto CB-PANI.1-1/AgNP y NaOH 0,1 M como electrolito y un voltaje aplicado de 0.7 V.

El experimento se llevó a cabo a un potencial de 0.7 V bajo condiciones optimizadas (100 mV s^{-1}). La Figura 3a y b, muestran la gráfica de corriente $i(\mu\text{A})$ vs tiempo (s) y su curva de calibración correspondiente. Se observó que la corriente a 0.7 V es dependiente de la concentración de glucosa, mostrando una respuesta lineal con un valor de $R^2=0.999$ y una desviación estándar del 3%. Además, el compuesto CB-PANI.1-1/AgNP presentó un rango lineal de detección (LROD) entre 1 y 10 mM, con una sensibilidad de $41.26 \mu\text{A mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$. El límite de detección (LOD) calculado

fue de $520 \mu\text{M}$, utilizando la relación $LOD = 3.3 \times \sigma/S$, donde σ y S son la desviación estándar y la sensibilidad. Estos resultados destacan el potencial de CB-PANI.1-1/AgNP como un sensor de glucosa altamente sensible y confiable.

Prueba de interferentes La selectividad de CB-PANI.1-1/AgNP se evaluó analizando su respuesta frente a interferentes comunes presentes en sangre y fluidos biológicos, como cloruro de potasio (KCl), cloruro de sodio (NaCl) y urea. En la figura 4 la primera señal registrada aproximadamente a los 120 s, corresponde a una adición de glucosa (concentración 5 mM). Posteriormente, a los 60 segundos después, se añadió KCl al electrolito, sin que se detectaran cambios en la señal de corriente. Aproximadamente a los 240 y 300 segundos, se incorporaron NaCl y urea, respectivamente. En estos casos, la respuesta del material permaneció por debajo del 5% en comparación con la corriente registrada para el analito de interés. Los pequeños cambios en la corriente podrían atribuirse a: (a) un leve bloqueo de la superficie del electrodo modificado por los interferentes, seguido de su dilución en el electrolito, y (b) la ligera disminución de la concentración del analito debido a la adición del interferente. Finalmente, a los 360 segundos, se realizó una segunda adición de glucosa al electrolito, demostrando que la superficie del material seguía activa para su detección. Esto indica que la presencia de estos interferentes no afecta significativamente la respuesta del sensor en



la detección de glucosa.

Figura 4. Prueba de interferentes empleando glucosa (5 mM), cloruro de potasio (KCl 3.5 mM), cloruro de sodio (NaCl 135 mM), y urea (6 mM).

Conclusiones Se sintetizaron tres compuestos con morfología núcleo-coraza basados en negro de humo/polianilina, empleando el surfamero anfífilico P1. Este monómero, precursor de la polianilina, se empleó para facilitar la dispersión del nanomaterial de carbono en un medio acuoso. La caracterización electroquímica indicó que el mejor comportamiento electroquímico se obtuvo con una relación de 1:1 de P1 a negro de carbón, resultando en el compuesto CB-PANI.1-1.

Por otra parte, la incorporación de nanopartículas de plata como electrocatalizador permitió la detección de glucosa en un rango de 1 a 10 mM en medio alcalino. El compuesto demostró un excelente desempeño en la detección del analito, con una linealidad y reproducibilidad destacables. Cabe mencionar que, aunque las nanopartículas de plata son las responsables de la oxidación de la glucosa y, por ende, de la detección del analito, el compuesto núcleo-coraza mostró una mayor área electroactiva, lo que incrementó significativamente el número de sitios activos disponibles para llevar a cabo la reacción de oxidación.

Este estudio demuestra que el nanocompuesto de negro de carbón/polianilina es un excelente portador de nanopartículas de plata, ya que favorece su dispersión y, al mismo tiempo, genera una elevada área electroactiva, optimizando su desempeño como sensor.

Agradecimientos. Deseamos agradecer al CONAHCYT por la asignación de una plaza de Investigador del “Programa Investigadores por México” para el proyecto “Desarrollo de plataformas de sensores químicos para detección de creatinina” otorgado a Claudia Ivone Piñón-Balderrama (CVU 387600).

Referencias

1. Obreja, V.V.N. On the Performance of Supercapacitors with Electrodes Based on Carbon Nanotubes and Carbon Activated Material-A Review. *Physica E Low Dimens Syst Nanostruct* **2008**, *40*, 2596–2605, doi:10.1016/j.physe.2007.09.044.
2. Han, Z.; Li, H.; Xiao, J.; Song, H.; Li, B.; Cai, S.; Chen, Y.; Ma, Y.; Feng, X. Ultralow-Cost, Highly Sensitive, and Flexible Pressure Sensors Based on Carbon Black and Airlaid Paper for Wearable Electronics. *ACS Appl Mater Interfaces* **2019**, *11*, 33370–33379, doi:10.1021/acsami.9b12929.
3. Lo, T.W.B.; Aldous, L.; Compton, R.G. The Use of Nano-Carbon as an Alternative to Multi-Walled Carbon Nanotubes in Modified Electrodes for Adsorptive Stripping Voltammetry. *Sens Actuators B Chem* **2012**, *162*, 361–368, doi:10.1016/j.snb.2011.12.104.
4. Armando Zaragoza-Contreras, E.; Stockton-Leal, M.; Hernández-Escobar, C.A.; Hoshina, Y.; Guzmán-Lozano, J.F.; Kobayashi, T. Synthesis of Core-Shell Composites Using an Inverse Surfmer. *J Colloid Interface Sci* **2012**, *377*, 231–236, doi:10.1016/j.jcis.2012.03.047.
5. Silva-Holguín, P.N.; Reyes-López, S.Y. Synthesis of Hydroxyapatite-Ag Composite as Antimicrobial Agent. *Dose-Response* **2020**, *18*, doi:10.1177/1559325820951342.
6. Khodabakhshi, S.; Fulvio, P.F.; Andreoli, E. Carbon Black Reborn: Structure and Chemistry for Renewable Energy Harnessing. *Carbon N Y* **2020**, *162*, 604–649.
7. Yamada, H.; Yoshii, K.; Asahi, M.; Chiku, M.; Kitazumi, Y. Cyclic Voltammetry Part 1: Fundamentals†. *Electrochemistry* **2022**, *90*, doi:10.5796/ELECTROCHEMISTRY.22-66082.



Sociedad
Polimérica de
México A. C.



Universidad
Autónoma
de Coahuila