



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Síntesis y Caracterización de Ácido Piridindicarboxamida
bis-Borónico para Elaborar un Electrodo Modificado
Sensible a Moléculas de Interés Biológico**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

GONZALO BARRITA CRUZ

ASESORA

Dra. en C. GABRIELA ROA MORALES

COASESOR

Dr. en C. ALEJANDRO DORAZCO GONZÁLEZ



“Nunca dejes que nadie te diga que no puedes hacer algo.

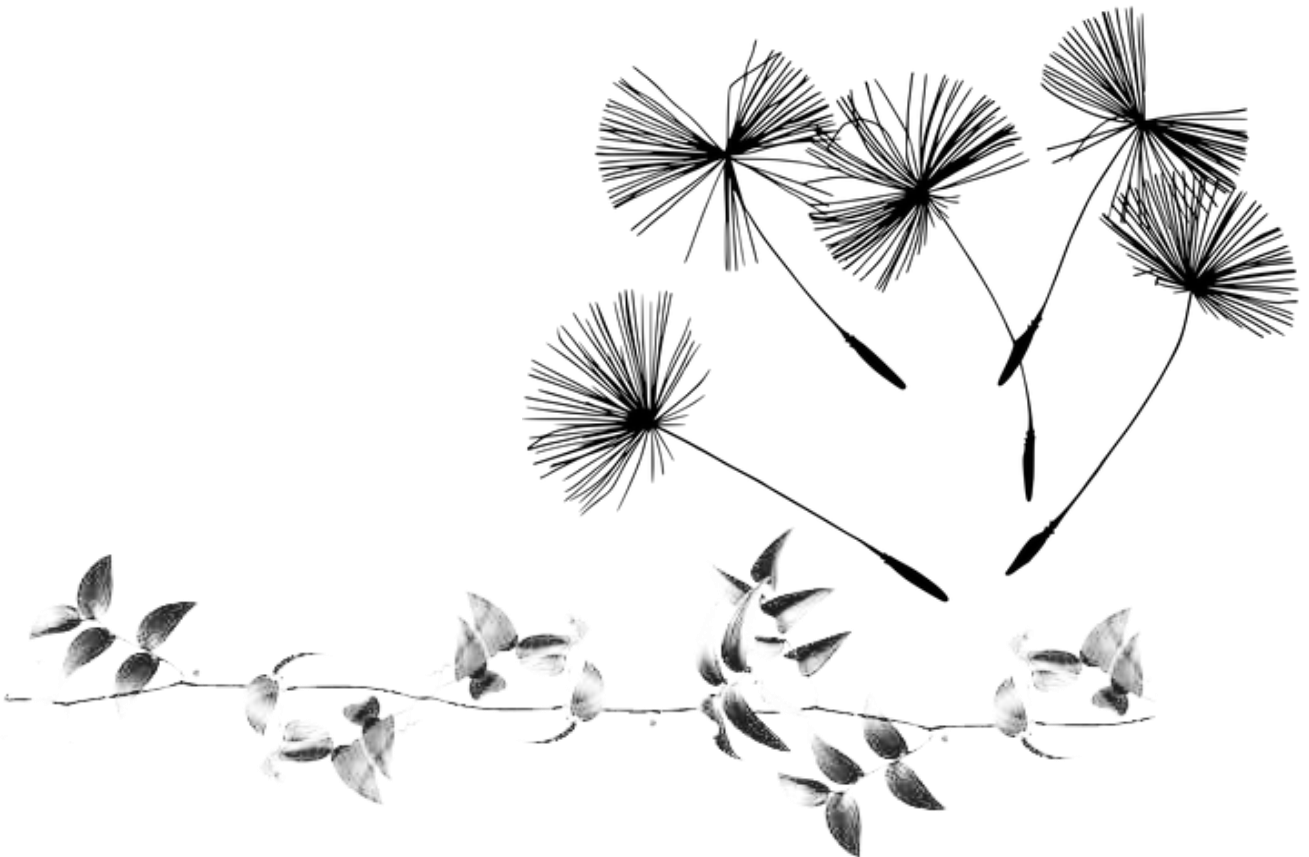
Ni siquiera yo

¿Vale?

Si tienes un sueño, tienes que protegerlo.

**Las personas que no son capaces de hacer algo te dirán que tú
tampoco puedes.**

Si quieres algo ve por ello y punto”.



AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Gabriela Roa Morales** por asesorarme para la realización de este trabajo y durante la estancia en su laboratorio, por compartirme sus conocimientos, habilidades y experiencias.

Al **Dr. Alejandro Dorazco González** por concederme la oportunidad de ser partícipe en parte de su trabajo de investigación.

A la **M. en C. María de las Nieves Zavala Segovia** por su agradable disposición en la obtención de espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

Al **Dr. Diego Martínez Otero** por su apoyo en los estudios de difracción de Rayos X.

A **DGAPA-UNAM** por la beca otorgada para la investigación realizada, gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave de registro **PAPIIT-IA203717**, correspondiente a los meses de Agosto-Octubre.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis, fruto de mi arduo esfuerzo y tiempo, a mis padres, que siempre me llenaron de amor, y apoyaron incondicionalmente en la parte moral como económica durante toda mi formación como profesional.

A mis hermanos que siempre tuvieron una manera de concentrarme en lo que es importante.

A todos mis buenos amigos que conocí durante el transcurso de esta etapa de mi vida.

CONTENIDO GENERAL

	Página
i Introducción	14
I Marco Teórico	16
1.1 Electroquímica	16
1.1.1 Instrumentación básica	16
1.1.1.1 Electrodo de Pasta de Carbono	17
1.1.2 Doble capa eléctrica	17
1.1.3 Reversibilidad	18
1.1.4 Técnicas electroanalíticas	18
1.1.4.1 Voltamperometría Cíclica (CV)	20
1.1.4.1.1 Ecuaciones básicas en CV	21
1.1.4.2 Voltamperometría Diferencial de Pulso (DPV)	23
1.1.4.2.1 Ecuaciones básicas en (DPV)	24
1.1.4.3 Cronoamperometría (CPE)	24
1.1.4.3.1 Ecuaciones básicas en CPE	25
1.2 Dioles	25
1.2.1 Azúcares	26
1.2.1.1 Clasificación	26
1.2.1.2 Estructura cíclica	26
1.2.1.3 Mutorrotación	27
1.2.2 Catecolaminas	27
1.3 Ácidos Borónicos	28
1.3.1 Estructura	28
1.3.2 Propiedades físicas	28
1.3.3 Carácter ácido	29
II Antecedentes	30

2.1 Interacciones tipo éster en ácidos borónicos	30
2.2 Equilibrio ácido borónico-diol en agua	31
2.3 Ácidos borónicos como sensores biológicos	32
2.3.1 Receptores a base de ácidos borónicos	33
2.4 Sensores electroquímicos	34
2.4.1 Detección de azúcares	34
2.4.2 Determinación de catecol y catecolaminas	36
ii Hipótesis	39
iii Objetivos	39
a) Objetivo General	39
b) Objetivos Específicos	39
iv Justificación	40
III Desarrollo Experimental	41
3.1 Instrumentación General	41
3.1.1 Reactivos	41
3.1.1.1 Síntesis	41
3.1.1.2 Disoluciones	42
3.1.1.3 Electrodo de Pasta de Carbono (EPC)	42
3.1.2 Equipo	42
3.2 Síntesis y caracterización	42
3.2.1 Síntesis de PdCaBA	43
3.2.2 Síntesis de dPpdCa	43
3.3 Elaboración de EPC y EPCM	44
3.3.1 EPC	44
3.3.2 Electrodo de Pasta de Carbono Modificados (EPCM) al 2.5%	44
3.3.2.1 EPCM con PdCaBA	44
3.3.2.2 EPCM con dPpdCa	44

3.4 Caracterización de EPC y EPMC por VC	44
3.5 Determinación de dioles por DPV	45
3.6 Calculo del número de electrones	45
IV Análisis y discusión de resultados	46
4.1 Síntesis	46
4.1.1 Caracterización de PdCaBA	46
4.1.2 Caracterización de dPpdCa	48
4.2 Caracterización de EPC y EPCM por VC	49
4.2.1 Caracterización de D-Glucosa	50
4.2.2 Caracterización de D-Fructosa	51
4.2.3 Caracterización de catecol y catecolaminas	52
4.2.3.1 Catecol	52
4.2.3.2 Catecolaminas	56
4.3 Determinación	60
4.3.1 Límites de detección y cuantificación	64
4.4 Número de electrones	65
4.4.1 Aplicación de la ecuación de Randles-Sevcik	65
4.4.2 Aplicación de la ecuación de Cottrell	67
4.4.3 Aplicación de DPV	69
4.4.4 Relación entre Randles-Sevcik y Cottrell	71
V Conclusiones	72
VI Referencias	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.1 Representación esquemática de la doble capa eléctrica del modelo de Bockris, Devanathan y Muller	17
Figura 1-1.2 Programa de perturbación para voltamperometría de barrido triangular a n ciclos	21
Figura 1-1.3. Magnitudes de un voltamperograma cíclico de acuerdo al convenio planteado por la IUPAC	21
Figura 1-1.4 Programa de perturbación aplicado en DPV	23
Figura 1-1.5 Señales obtenidas por DPV para cuatro analitos electroactivos	23
Figura 1-1.6 Programa de perturbación del pulso cronoamperométrico	25
Figura 1-2.1 Formación de ciclos en el caso de D-Glucosa y D-Fructosa	27
Figura 1-2.2 Mutorrotación de D-Glucosa	27
Figura 2-1.1 Formación de esteres reversibles	31
Figura 2-1.3 Equilibrio de formación de esteres borónicos en agua a pH alto y neutro	31
Figura 2-1.2 Equilibrios de PBA en medio acuoso	32
Figura 2-1.4 Equilibrios del ácido ferrocenilborónico	35
Figura 2-1.5 Ácido borónico usado como sensor electroquímico para D-Glucosa	36
Figura 2-1.6 Estructura de hidrogel con terminaciones de PBA sensibles a D-Glucosa	36
Figura 2-1.7 Reacción general entre un ácido borónico y catecol	38
Figura 3-1 Diagrama de bloques de metodología empleada	41
Figura 3-2.1 Ruta general de síntesis de PdCaBA y dPpdCa	43
Figura 4-1.1 Espectro IR de PdCaBA y sus señales características	46
Figura 4-1.2 Espectro RMN de PdCaBA y la interpretación de sus señales	47
Figura 4-1.3 Perspectivas de PdCaBA	47
Figura 4-1.4 Espectro RMN de dPpdCa y la interpretación de sus señales	48
Figura 4-1.5 Perspectivas de dPpdCa	49
Figura 4-2.1 VC de EPCM con PdCaBA, dPpdCa y EPC	49
Figura 4-2.2 VC de EPCM con PdCaBA, para D-Glucosa	50

Figura 4-2.3 VC de EPCM con PdCaBA, para D-Fructosa	51
Figura 4-2.4 VC de EPCM con PdCaBA, D-Glucosa y Fructosa	52
Figura 4-2.5 VC de EPC, para catecol	53
Figura 4-2.6 VC de EPCM con dPpdCa, para catecol	54
Figura 4-2.7 VC de EPCM con PdCaBA, para catecol	55
Figura 4-2.8 VC de EPC, dPpdCa y PdCaBA	56
Figura 4-2.9 VC de EPCM con PdCaBA, para Dopamina	57
Figura 4-2.10 VC de EPCM con PdCaBA, para Epinefrina	58
Figura 4-2.11 VC de EPCM con PdCaBA, para DOPA	59
Figura 4-3.1 PDV de D-Glucosa	61
Figura 4-3.1.1 Relación de intensidad de corriente en función de la concentración de D-Glucosa para el segundo proceso de oxidación	61
Figura 4-3.2 PDV de catecol	62
Figura 4-3.3 PDV de Dopamina	62
Figura 4-3.4 PDV de Epinefrina	63
Figura 4-3.5 PDV de DOPA	64
Figura 4-4.1 VC de EPC con PdCaBA, diferentes velocidades de barrido manteniendo 150ppm de catecol a pH7	66
Figura 4-4.1.1 Relación $i_{pa}=f(v^{0.5})$ correspondiente a la figura 4.4.1	66
Figura 4-4.1.1.1 Relación $\ln(i_{pa})=f(\ln(v))$ correspondiente a la figura 4-4.1.1	67
Figura 4-4.2 Familia de cronoamperogramas de EPCM con PdCaBA en 1500ppm de catecol pH 7 para diferentes potenciales	68
Figura 4-4.2.1 Curvas de corriente en función de potencial para diferentes tiempos mostrados	68
Figura 4-4.3 Curva $E=f(\log(i/(i_{Lim}-i)))$ para un tiempo de muestreo de 5s	69
Figura 4-4.4 VDP de EPCM con PdCaBA en presencia de 150ppm de catecol a pH 7, para las diferentes amplitudes de pulso	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1.1 Propiedades de las Técnicas de Potencial Controlado	19
Tabla 4-3.1 Límites de detección y cuantificación en ppm y mM para los diferentes analitos estudiados	65
Tabla 4-4.1 Cálculo de número de electrones, n , para diferentes tiempos de muestreo a partir de las curvas $E = f(\text{Log}(i/i_{\text{Lim}}-i))$	69
Tabla 4-4.2 Número de electrones obtenidos y amplitud de onda media a partir de la ecuación 1.14	70

ABREVIATURAS

A	Área superficial del electrodo
AC	Corriente alterna
C	Concentración de la especie electroactiva
CPE	Cronoamperometría
CV	Voltamperometría Cíclica
D	Coefficiente de difusión
DC	Corriente continúa
DME	Electrodo de gota de mercurio
DP	Pulso Diferencial
dPpdCa	N, N'-difenilpiridina-2,6-dicarboxamida
DPV	Voltamperometría Diferencial de Pulso
E°'	Potencial normal condicional
E_{1/2}	Potencial de media onda
EA	Electrodo auxiliar
E_p	Potencial de pico
E_{p/2}	Potencial de medio pico
E_p^a	Potencial de pico anódico
E_p^c	Potencial de pico catódico
EPC	Electrodo de pasta de carbono
EPCM	Electrodo de pasta de carbono modificado
ER	Electrodo de referencia
ET	Electrodo de trabajo
FcBA	Ácido ferrocenilborónico
HDME	Electrodo de gota de mercurio colgante
i_p	Intensidad de corriente de pico
i_p^a	Intensidad de corriente de pico catódico

i_p^c	Intensidad de corriente de pico anódico
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LD	Límite de detección
MFE	Electrodo de película de mercurio
n	Número de electrones
NP	Pulso normal
PBA	Ácido fenilborónico
PdCaBA	Ácido Piridindicarboxamida bis-Borónico
R	Constante de los gases ideales
SW	Onda cuadrada
T	Temperatura
t	Tiempo
v	Velocidad de barrido de potencial
$W_{1/2}$	Amplitud de media onda
ΔE	Amplitud de pulso

I INTRODUCCIÓN

A diferencia del reconocimiento basado en las interacciones de enlaces de hidrógeno entre los sacáridos y sus receptores naturales (proteínas) en el cuerpo, los principales anfitriones artificiales para el reconocimiento y detección de sacáridos y neurotransmisores son moléculas pequeñas que se caracterizan por el uso de aniones y sus receptores donantes de enlace-H, sin embargo, durante mucho tiempo se ha limitado su estudio a medios no acuosos, lo que implica la búsqueda de receptores capaces de funcionar en el agua y en sistemas biológicamente compatibles.

El diseño y la preparación de sensores efectivos para aminoácidos, ácidos nucleicos e hidratos de carbono es de primordial interés ya que desempeña un papel importante en los procesos biológicos, por ejemplo, la tecnología más utilizada para la determinación de glucosa en sangre es un método basado en enzimas, que requiere un muestreo frecuente de sangre además de no ser un método de monitoreo continuo, de ahí la necesidad de desarrollar sensores que en solución acuosa sean estables a un pH fisiológico y de bajos costos.

En la búsqueda del diseño y síntesis de sensores con capacidad de imitar a los sistemas biológicos se han estudiado los ácidos borónicos debido a que se caracterizan por ser moléculas que reaccionan con 1,2- o 1,3-dioles reversiblemente, presentes en las moléculas de interés biológico, para formar ésteres cíclicos de cinco o seis miembros, respectivamente, a través de dos enlaces covalentes (Hall, 2005). Dichas moléculas se pueden usar para diversas aplicaciones, como los agentes de derivación para la detección cromatográfica de dioles y, en particular, en el importante problema de salud mundial del control de glucosa en sangre para pacientes con diabetes, de ahí que a química de los sacáridos sea de suma importancia para una gran cantidad de funciones biológicas dentro de la naturaleza. Al proporcionar el bloque de construcción para procesos que van desde la producción de energía metabólica hasta el reconocimiento de tejidos, los sacáridos son el foco de un vasto cuerpo de investigación dirigido a comprender e imitar su función y función específica a nivel celular.

La electroquímica desempeña un papel clave en una amplia gama de áreas de investigación y aplicación, incluida la exploración de nuevos compuestos orgánicos e inorgánicos, sistemas bioquímicos y biológicos, corrosión, aplicaciones energéticas que involucran celdas de combustible y células solares, e investigaciones a nanoescala (Zoski, 2006). Las técnicas electroquímicas como la voltamperometría y el uso de los electrodos de pasta de carbono constituyen una herramienta útil para obtener resultados de caracterización reproducibles. Los sensores electroquímicos son especialmente apropiados para abordar de un modo económico, rápido y fiable muchos de los problemas analíticos que demandan la sociedad. Emplean mecanismos químicos para el reconocimiento de especies particulares, y dan a mostrar sus grandes ventajas como las medidas electroquímicas.

Pueden llevarse a cabo en volúmenes pequeños de muestra con relativa facilidad, esto hace que estos dispositivos sean adecuados para la monitorización en vivo.

Este trabajo se centra en la determinación de algunas moléculas de interés biológico que contienen un grupo diol dentro de su estructura como es el caso de algunos de los azúcares más representativos y el catecol como representante de la determinación de catecolaminas, así como de alguna de ellas para corroborar su eficacia, siendo el catecol en el que se centre la mayoría de los estudios electroquímicos, y el resto solo enfocándose a la respuesta del electrodo para su uso como método de análisis.

I MARCO TEÓRICO

1.1 Electroquímica

Se refieren a la interacción entre la electricidad y la química, es decir, las mediciones de cantidades eléctricas, como la corriente, el potencial o la carga, y su relación con los parámetros químicos. Este uso de mediciones eléctricas para fines analíticos ha encontrado una amplia gama de aplicaciones, que incluyen monitoreo ambiental, control de calidad industrial y análisis biomédico. (Wang, 2001)

La electroquímica analítica puede definirse como el estudio de los procesos de reacción que ocurren en la interface conductor–disolución, generados espontáneamente o por medio de una perturbación externa, con el objetivo de resolver un problema de tipo químico. Los procesos de reacción son el conjunto de eventos que ocurren antes, durante y después de imponer una perturbación del tipo eléctrico. De todos los procesos de reacción, el principal es la reacción electroquímica y la magnitud de su respuesta dependerá de los demás eventos que la acompañen. Éstos transcurren durante la imposición de la perturbación y dependen del tiempo y la manera en que ésta se mantiene. Al cesar la perturbación se alcanza un nuevo estado de equilibrio. De acuerdo al tipo de perturbación que se imponga será el tipo de respuesta que se manifestará y de ella dependerá el tipo de información que se obtendrá para caracterizar a las moléculas, las reacciones al electrodo, la cantidad de analito y la forma en que acontece dicha transformación. Si se impone una diferencia de potencial se obtendrá una corriente de electrólisis; en cambio, si se impone una corriente constante la respuesta se manifestará por medio de un cambio de potencial en la interface conductor – disolución (Gomez Biedma, Soria , & Vivo, 2002).

1.1.1 Instrumentación básica

En un sistema electroquímico se forma un arreglo de dos interfaces conductor sólido – disolución. Las reacciones electroquímicas redox de cada semicelda se llevan a cabo en las inmediateces de cada electrodo.

En estos sistemas electroquímicos se utilizan tres electrodos para controlar y monitorear una reacción electroquímica:

Electrodo de trabajo (ET): Sirve para la caracterización de las reacciones electroquímicas de interés. Sobre este electrodo se realiza la imposición de potencial o corriente.

Electrodo auxiliar (EA): Sirve para cerrar el circuito eléctrico de la celda. Sobre este electrodo acontece el proceso electroquímico contrario al que pasa sobre el ET.

Electrodo de referencia (ER): Sirve para fijar la variación de los parámetros que se utilizan para caracterizar las reacciones electroquímicas como producto de la medición del

potencial que se genera en el electrodo de trabajo. En consecuencia, su composición debe ser constante y conocida. El potencial del electrodo de referencia es fijo, por lo que cualquier cambio en la celda es atribuible al electrodo de trabajo (Skoog, Holler, & Nieman, 2001).

1.1.1.1 Electrodo de Pasta de Carbono

En particular, los electrodos de pasta de carbono (EPC), son usados como ET por su fácil preparación y bajos costos, además de que su superficie es fácilmente renovable y no presenta problemas al modificarse. El empleo de los EPC, ha dado buenos resultados en la cuantificación de distintos fármacos, como neurotransmisores (Corona, Alarcón, & et. al., 2007).

1.1.2 Doble Capa eléctrica

Cuando se aplica una diferencia de potencial entre los electrodos hay una polarización de éstos, donde se acumula carga en su superficie y al existir una influencia de un campo eléctrico, los iones de carga contraria a la del electrodo polarizado son atraídos hacia éste y los iones con carga del mismo signo son repelidos, entonces se forma una capa de iones junto a la superficie del electrodo. Esta interface se comporta como un capacitor. En la Figura 1-1.1 se esquematiza este comportamiento.

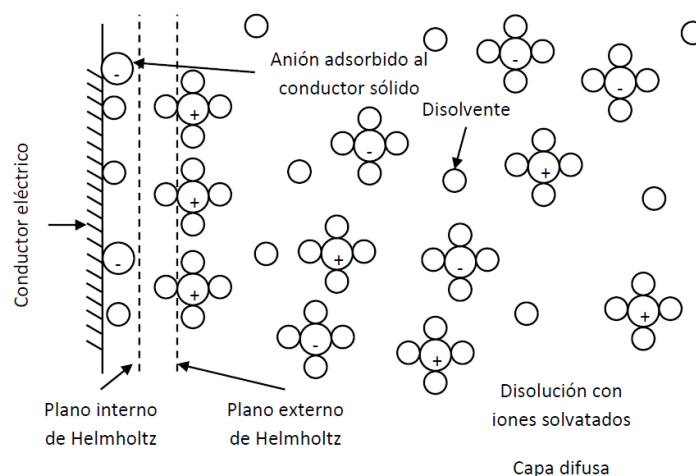


Figura 1-1.1 Representación esquemática de la doble capa eléctrica del modelo de Bockris, Devanathan y Muller.

Las especies iónicas pueden aproximarse a una distancia x del conductor sólido, a esta distancia se le llama plano externo de Helmholtz. Se forma una capa de iones frente a la superficie polarizado del electrodo y este sistema toma el nombre de “doble capa eléctrica”. Los iones pueden estar separados entre sí por medio de moléculas de solvatación. El modelo

de la doble capa de Helmholtz (cuyo primer trabajo data de 1850), supone la rigidez de los iones en la doble capa, mientras que Gouy (1910) y Chapman (1913) propusieron su modelo de la capa difusa, en donde los iones son considerados cargas puntuales y tienen una movilidad debido a la temperatura (movimiento térmico). Los iones van del seno de la disolución a la superficie del electrodo, los cuales son simultáneamente atraídos y rechazados en la superficie. El modelo de Stern involucra a los dos modelos, dando rigidez en la movilidad de los iones en la doble capa y dispersión en el seno de la disolución, supone que los iones pueden llegar a una distancia x del conductor sólido llamado “plano de máxima aproximación” la cual está determinada por el radio de hidratación de los iones, por lo que se forman dos regiones, la capa compacta de Helmholtz y la capa difusa. Graham introduce el concepto de plano interno de máxima aproximación hasta el que pueden llegar los iones adsorbidos. Esta distancia es menor a la de la capa de cationes los cuales se encuentran en el plano externo de Helmholtz, separados del conductor sólido por las moléculas de disolvente que solvatan a los iones.

El modelo de Bockris, Devanathan y Muller involucra los dipolos del disolvente y los iones adsorbidos. En este modelo, los cationes están separados del conductor sólido por varias capas de disolvente, no solamente por las moléculas de solvatación (Castellan, 1998).

1.1.3 Reversibilidad e irreversibilidad

La reversibilidad termodinámica es aquel cambio que puede invertirse por medio de una modificación infinitesimal de signo contrario. Si el sistema no regresa a su estado original entonces se habla de un proceso irreversible. Este concepto también se aplica al caso de una reacción electroquímica, que se ve reflejada en la forma de las curvas $i-E$, puesto que la forma ideal se encuentra en el caso reversible, las especies intercambian los electrones rápidamente, el comportamiento cinético está gobernado por movimiento de los iones hacia el electrodo y no aparecen parámetros cinéticos de la reacción de transferencia de carga al electrodo en el paso determinante de la reacción. Cuando el control cinético depende del proceso de transferencia de carga se dice que el proceso es irreversible y no se podrá regresar a las condiciones anteriores al invertir el sentido de la perturbación. Sin embargo, un proceso puede parecer reversible o irreversible dependiendo de qué tan rápido se puedan detectar los procesos, se haga la perturbación y se restablezca el equilibrio (Wang, 2001).

1.1.4 Técnicas electroquímicas

Los métodos electroquímicos son una clase de técnicas en química analítica, que estudian un analito mediante la medida del potencial eléctrico (volts) y/o la corriente eléctrica (amperes) en una celda electroquímica, que contiene el analito. Estos métodos se pueden

dividir en varias categorías dependiendo de qué aspectos de la célula son controlados y cuáles se miden. Las tres principales categorías son: potenciometría (se miden la diferencia de potenciales en el electrodo), coulombimetría (se mide la corriente de las celdas con el tiempo), y voltamperometría (se mide la corriente de las celdas mientras se altera activamente el potencial de las celdas).

De acuerdo al tipo de perturbación que se imponga será el tipo de respuesta que se manifestará y de ella dependerá el tipo de información que se obtendrá para caracterizar a las moléculas, las reacciones al electrodo, la cantidad de analito y la forma en que acontece dicha transformación. Si se impone una diferencia de potencial se obtendrá una corriente de electrólisis; en cambio, si se impone una corriente constante la respuesta se manifestará por medio de un cambio de potencial en la interface conductor – disolución.

Las técnicas de potencial controlado tratan el estudio de los procesos de transferencia de carga en la interfaz electrodo-solución, y se basan en situaciones dinámicas (sin corriente cero). Aquí, el potencial del electrodo se está utilizando para derivar una reacción de transferencia de electrones y se mide la corriente resultante. El papel del potencial es análogo al de la longitud de onda en las mediciones ópticas. Dicho parámetro controlable se puede ver como "presión de electrones", que obliga a las especies químicas a ganar o perder un electrón (reducción u oxidación, respectivamente). En consecuencia, la corriente resultante refleja la velocidad a la que los electrones se mueven a través de la interfaz electrodo-solución. Las técnicas potencioestáticas pueden medir cualquier especie química que sea electroactiva, en otras palabras, que puede reducirse u oxidarse. El conocimiento de la reactividad del grupo funcional en un compuesto dado puede usarse para predecir su electroactividad. Los compuestos no electroactivos también pueden detectarse en relación con procedimientos indirectos o de derivación.

Las ventajas de las técnicas de potencial controlado incluyen una alta sensibilidad, selectividad hacia especies electroactivas, un amplio rango lineal, instrumentación portátil y de bajo costo, capacidad de especiación y una amplia gama de electrodos que permiten ensayos de entornos inusuales. Varias propiedades de estas técnicas se resumen en la Tabla 1-1.1 (Wang, 2001).

Tabla 1-1.1 Propiedades de las Técnicas de Potencial Controlado

Técnica	ET	LD (M)	Velocidad/ciclo (min)	Respuesta
Polarografía DC	DME	10 ⁻⁵	3	Onda
Polarografía NP	DME	5x10 ⁻⁷	3	Onda
Polarografía DP	DME	10 ⁻⁸	3	Pico
Voltamperometría DP	Sólido	5x10 ⁻⁷	3	Pico
Polarografía SW	DME	10 ⁻⁸	0.1	Pico

Polarografía AC	DME	5x10 ⁻⁷	1	Pico
Cronoamperometría	Estacionario	10 ⁻⁵	0.1	Transitoria
Voltamperometría Cíclica	Estacionario	10 ⁻⁵	0.1-2	Pico
Voltamperometría de desmontaje	HDME, MFE	10 ⁻¹⁰	3	Pico
Voltamperometría de desmontaje por adsorción	HDME	10 ⁻¹⁰	2-5	Pico
Voltamperometría de desmontaje por adsorción	Sólido	10 ⁻⁹	4-5	Pico
Voltamperometría de desmontaje catalítico por adsorción	HDME	10 ⁻¹²	2-5	Pico

1.1.4.1 Voltamperometría Cíclica (CV)

La CV es la técnica más utilizada para adquirir información cualitativa sobre reacciones electroquímicas. El poder de la CV resulta de su capacidad para proporcionar rápidamente información considerable sobre la termodinámica de los procesos redox, sobre la cinética de las reacciones de transferencia de electrones heterogéneas y sobre las reacciones químicas acopladas o los procesos de adsorción. La CV es a menudo el primer experimento realizado en un estudio electroanalítico. En particular, ofrece una ubicación rápida de los potenciales redox de las especies electroactivas y una evaluación conveniente del efecto de los medios sobre el proceso redox.

Consiste en explorar linealmente el potencial de un electrodo de trabajo estacionario (en una solución no agitada) utilizando una forma de onda de potencial triangular Figura 1-1.2 dependiendo de la información buscada, se pueden utilizar ciclos únicos o múltiples. Durante el barrido potencial, el potencióstato mide la corriente resultante del potencial aplicado. La gráfica resultante de corriente versus potencial se denomina voltamperograma cíclico. (Wang, 2001)

El ciclo suele darse varias veces, y los potenciales en los que acontece el cambio de la dirección de barrido reciben el nombre de potenciales de inversión ($E\lambda$). Los intervalos de potencial se escogen teniendo en cuenta los valores en los que se produce la oxidación o la reducción controladas por difusión de uno o varios analitos. Un voltamperograma cíclico se obtiene al graficar la corriente leída al potencial asociado, en una curva del tiempo $E = (i)$. En la Figura 1-1.3 se muestra un ejemplo de voltamperograma donde se señalan las magnitudes físicas de este patrón de respuesta, en el ejemplo, una electro oxidación. (Fogg & Wang, 1999).

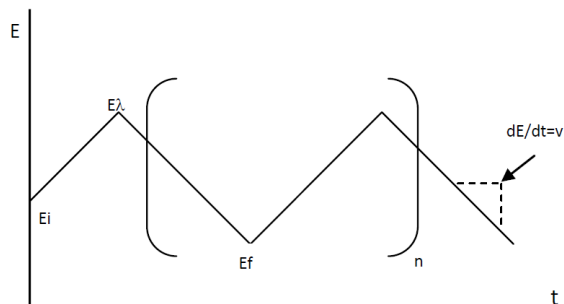


Figura 1-1.2 Programa de perturbación para voltamperometría de barrido triangular a n ciclos

Esta técnica permite electrolizar una especie e invertir el potencial para comprobar la formación de su par redox, de esta forma es posible dilucidar mecanismos de reacción. Al variar la velocidad de barrido se puede estudiar la cinética de las reacciones o bien, detectar la aparición de especies intermedias en procesos redox. Si se analiza una muestra con dos o más analitos presentes, su comportamiento es particular, por lo que el voltamperograma resultante no es necesariamente la suma de los voltamperogramas individuales de cada analito.

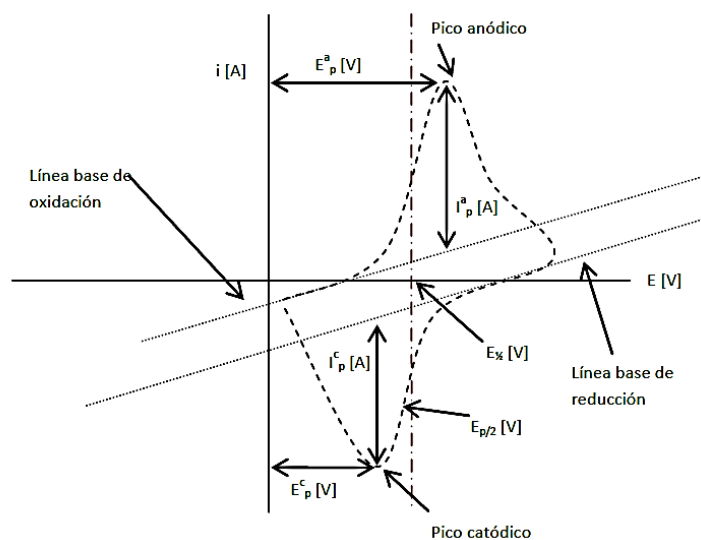


Figura 1-1.3. Magnitudes de un voltamperograma cíclico de acuerdo al convenio planteado por la IUPAC.

1.1.4.1.1 Ecuaciones básicas en CV.

La ecuación de Randles–Sevcik (ecuación 1.1) establece una proporcionalidad entre el perfil de la corriente obtenida del barrido del primer ciclo y la intensidad de corriente, concentración y velocidad de barrido:

$$i_p = 0.4463 \left(\frac{F^3}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} C v^{\frac{1}{2}} \quad \text{Ecuación 1.1}$$

Donde:

i_p = intensidad de corriente de pico (A)

F = constante de Faraday

R = constante de los gases ideales (J/mol K)

n = número de electrones transferidos

A = área superficial del electrodo (cm^2)

D = coeficiente de difusión de la especie electroactiva (cm^2/s)

C = concentración de la especie electroactiva (mol/cm^3)

v = velocidad de barrido (V/s)

Para un sistema reversible la gráfica de $i_p = f(v^{1/2})$ presenta el perfil de una línea recta, cuya pendiente permite extraer información analítica importante, como el número de electrones intercambiados o el valor del coeficiente de difusión de la especie electroactiva. Cuanto más rápida es la velocidad de barrido, mayor es la intensidad de corriente de pico, mientras el sistema continúe siendo reversible; sin embargo, si la especie electroactiva se está adsorbiendo en las inmediaciones del electrodo, la intensidad de corriente de pico es directamente proporcional a la velocidad de barrido en lugar de su raíz cuadrada. (Gosser, 1993)

Un criterio temprano para identificar la reversibilidad de un sistema consiste en realizar el cociente de las señales de corriente anódica y catódica para diversas concentraciones o diversas velocidades de barrido. Debe cumplirse que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$ para una electroreducción y $\frac{i_p^c}{i_p^a} = 1$ para una electrooxidación, donde la corriente debida a la especie que se genera al electrodo se coloca en el numerador del cociente.

El potencial de media onda ($E_{1/2}$) se aproxima al valor del potencial normal condicional ($E^{0'}$) para un sistema reversible, de acuerdo a la siguiente relación:

$$E^{0'} \cong E_{1/2} = \frac{E_p^c + E_p^a}{2} \quad \text{Ecuación 1.11}$$

Los sistemas reversibles que son lo suficientemente rápidos como para mantener las concentraciones de reactivo y producto en la superficie del electrodo muestran un comportamiento típico, pues el potencial donde se manifiestan los picos anódico y catódico presentan una diferencia constante (Harris, 2001):

$$\Delta E = E_p^a - E_p^c = \frac{2.22RT}{nF} = \frac{57mV}{n} \quad \text{Ecuación 1.12}$$

1.1.4.2 Voltamperometría Diferencial de Pulso (DPV)

La DPV es una técnica extremadamente útil para medir niveles de trazas de especies orgánicas e inorgánicas. Como se muestra en la figura 1-1.4 los impulsos de magnitud fija superpuestos en una rampa de potencial lineal se aplican al electrodo de trabajo justo antes del final de la caída.

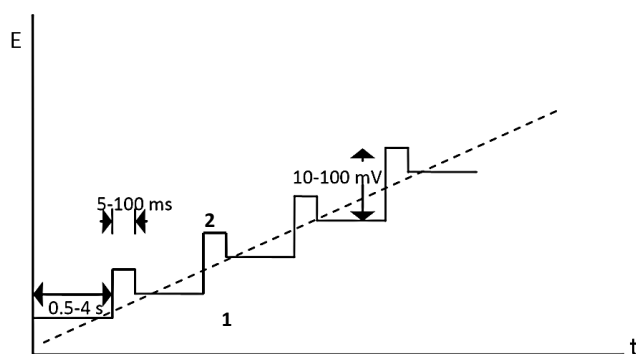


Figura 1-1.4 Programa de perturbación aplicado en DPV

La corriente se muestra dos veces, justo antes de la aplicación del pulso (en 1) y nuevamente al final de la vida del pulso (después de ~ 40 ms, en 2, cuando la corriente de carga ha disminuido). La primera corriente se resta instrumentalmente de la segunda, y esta diferencia de corriente $[\Delta i = i(t_2) - i(t_1)]$ se representa frente al potencial aplicado. El voltamperograma de pulso diferencial resultante es un gráfico $\Delta i = f(E)$, que consta de picos de corriente, cuya altura es directamente proporcional a la concentración de los analitos correspondientes como se muestra en la figura 1-1.5.



Figura 1-1.5 Señales obtenidas por DPV para cuatro analitos electroactivos.

1.1.4.2.1 Ecuaciones básicas en DPV

La expresión teórica de la diferencia de corrientes considerando que el potencial base impuesto a diferentes tiempos $E + \Delta E$, donde ΔE es la altura de pulso es:

$$|\delta i| = \frac{nFAD^{\frac{1}{2}}C}{\sqrt{\pi\Delta t}} \left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad \text{Ecuación 1.13}$$

Donde:

$$\sigma = e^{\frac{nF(\Delta E)}{RT}}$$

El valor máximo del cociente $(1-\sigma) / (1+\sigma)$, obtenido para grandes amplitudes de pulso, es la unidad (Macfarlane, Zhou, & Newman, 2004).

La respuesta en forma de pico de las mediciones de pulso diferencial resulta en una resolución mejorada entre dos especies con potenciales redox similares. En diversas situaciones, pueden medirse picos separados por 50 mV. Dicha cuantificación depende no solo de los potenciales de pico correspondientes, sino también de los anchos del pico. El ancho del pico (a media altura) está relacionado con la estequiometría electrónica:

$$W_{1/2} = \frac{3.52RT}{nF} \quad \text{Ecuación 1.14}$$

E_p se utiliza para identificar a los analitos y $W_{1/2}$, se relaciona con el número de electrones intercambiados.

Aunque está ecuación no funciona para los sistemas irreversibles, que tienden a ensanchar sus picos, perdiendo sensibilidad y resolución; sin embargo, ésta técnica nos permite realizar la cuantificación de analitos en órdenes de magnitud menores a los que permitirían otras técnicas electroanalíticas (Wang, 2001).

1.1.4.3 Cronoamperometría (CPE)

Se usa a menudo para medir el coeficiente de difusión de las especies electroactivas o el área de superficie del electrodo de trabajo. Las aplicaciones analíticas se basan en la pulsación del potencial del electrodo de trabajo repetitivamente en intervalos de tiempo fijos. También se puede aplicar al estudio de los mecanismos de los procesos de electrodos.

CPE implica el paso del potencial del electrodo de trabajo a partir de un valor en el que no se produce una reacción faradaica a un potencial en el que la concentración superficial de la especie electroactiva es efectivamente cero (Figura 1-1.6a). Se utiliza un electrodo de trabajo estacionario y una solución no agitada. Se monitorea la dependencia resultante en el tiempo actual. Como el transporte de masa en estas condiciones se realiza únicamente por difusión, la curva de tiempo actual refleja el cambio en el gradiente de concentración

en la vecindad de la superficie. Esto implica una expansión gradual de la capa de difusión asociada con el agotamiento del reactivo y, por lo tanto, una pendiente reducida del perfil de concentración a medida que avanza el tiempo (Figura 1-1.6b). En consecuencia, la corriente (en un electrodo plano) decae con el tiempo (Figura 1-1.6c).

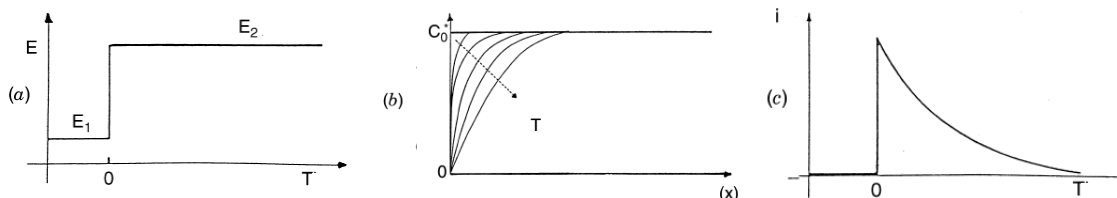


Figura 1-1.6 Programa de perturbación del pulso cronoamperométrico (a) forma de onda de tiempo potencial; (b) cambio de perfiles de concentración con el tiempo; (c) la respuesta de tiempo actual resultante.

1.1.4.3.1 Ecuaciones básicas en CPE

La medida de la respuesta de la perturbación puede describirse por medio de la ecuación de Cottrell para un electrodo de disco (Allen & Foulken, 2000).

$$i(t) = \frac{nFACD^{\frac{1}{2}}}{\pi^{\frac{1}{2}}t^{\frac{1}{2}}} = kt^{-\frac{1}{2}} \quad \text{Ecuación 1.15}$$

Este tipo de voltamperometría permite realizar un análisis interesante al aproximar la ecuación de Cottrell a un estado en que la concentración de la especie electroactiva al electrodo presenta un gradiente lineal de concentración, para una disolución que contiene sólo oxidante, el análisis voltamperométrico con muestreo cronoamperométrico en sentido catódico se ajusta a la siguiente expresión:

$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \log \frac{i}{i_{lim} - i} \quad \text{Ecuación 1.16}$$

Donde $i(t)$ representa la corriente muestreada en un tiempo t en pulso de potencial tal que la corriente no se encuentre limitada por difusión. Ambas ecuaciones reciben el nombre de ecuaciones de Heyrovský-Ilkovic para electro reducción y electro oxidación respectivamente.

1.2 Dioles.

Un diol o glicol es un compuesto químico que contiene dos grupos hidroxilo (-OH). Existen bastantes moléculas de interés biológico que contienen dentro de sus estructuras base un grupo diol como por ejemplo los azúcares y las catecolaminas.

1.2.1 Azúcares

Se denomina técnicamente azúcares a los glúcidos que generalmente tienen sabor dulce, como son los diferentes monosacáridos, disacáridos y polisacáridos, aunque a veces se usa incorrectamente para referirse a todos los carbohidratos.

1.2.1.1 Clasificación de los azúcares.

Los monosacáridos o azúcares sencillos son aldehídos o cetonas polihidroxilados. Las aldosas y las cetosas más sencillas son, respectivamente, el gliceraldehído y la dihidroxiacetona (Fig. 7.2). Los azúcares se clasifican también según el número de átomos de carbono que contienen. Por ejemplo, los azúcares más pequeños, denominados triosas, contienen tres átomos de carbono. Los azúcares de cuatro, cinco y seis átomos de carbono se llaman tetrasas, pentosas y hexosas, en tal orden. Los monosacáridos más abundantes en las células son las pentosas y las hexosas.

1.2.1.2 Estructura cíclica

Los azúcares que contienen cuatro o más carbonos se encuentran principalmente en formas cíclicas. La formación del anillo se produce en solución acuosa debido a que los grupos aldehído y cetona reaccionan de manera reversible con los grupos hidroxilo presentes en el azúcar para formar hemiacetales y hemicetales cíclicos, respectivamente. Sin embargo, cuando el grupo aldehído o cetona y el grupo funcional alcohol son parte de la misma molécula se produce una reacción de ciclación intramolecular que puede formar productos estables como lo son los de cinco o seis átomos. Al producirse la ciclación, el carbono carbonilo se transforma en un nuevo centro quiral. Este carbono se denomina átomo de carbono anomérico. Como se observa en la figura 1-2.1 debido a que las formas cíclicas de los azúcares de 6 miembros guardan una relación con el 4H-pirano, se les llamó piranosas; y a los azúcares de 5 miembros furanosas, por su relación con el furano.

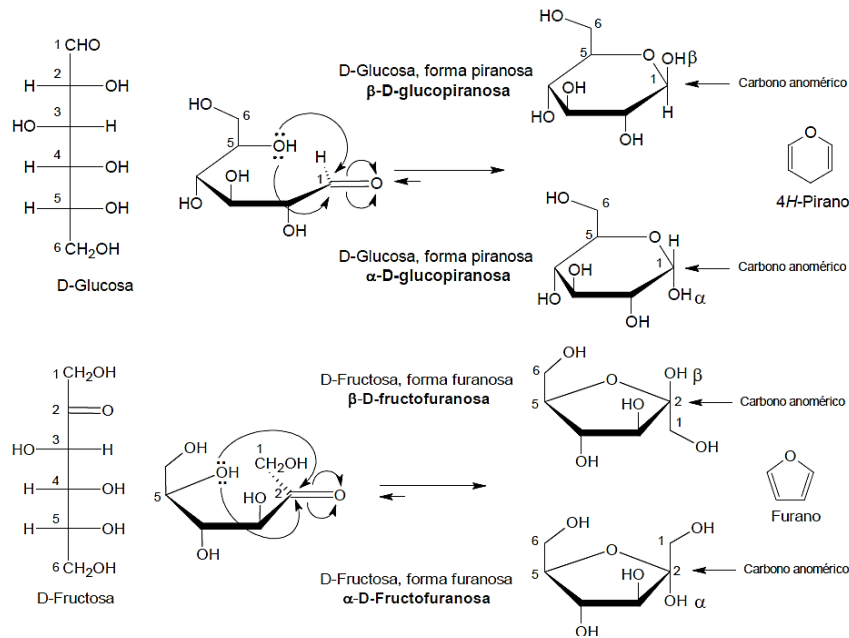


Figura 1-2.1 Formación de ciclos en el caso de D-Glucosa y D-Fructosa

1.2.1.3 Mutorrotación

Las formas α y β de los monosacáridos se interconvierten con facilidad cuando se disuelven en agua. Este proceso espontáneo, denominado mutorrotación, produce una mezcla en equilibrio de ambas estructuras. La proporción de cada forma varía con cada tipo de azúcar (McKee & McKee, 2014)

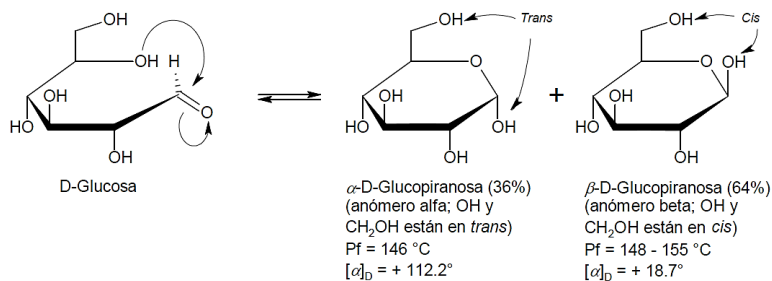


Figura 1-2.2 Mutorrotación de D-Glucosa

1.2.2 Catecolaminas

Las catecolaminas son neurotransmisores que se vierten al torrente sanguíneo. Son un grupo de sustancias que incluyen la adrenalina, la noradrenalina y la dopamina, las cuales son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina. Contienen un grupo catecol y un grupo amino.

Las catecolaminas pueden ser producidas en las glándulas suprarrenales, ejerciendo una función hormonal, o en las terminaciones nerviosas, por lo que se consideran neurotransmisores. El precursor de todos ellos es la tirosina, que se usa como fuente en las neuronas catecolaminérgicas (Vidal, 2006)

1.3 Ácidos Borónicos.

Un ácido borónico es un derivado alquilo o arilo sustituido del ácido bórico que contiene un enlace carbono-boro, perteneciente a la gran clase de organoboranos. Se caracterizan por su capacidad de formar complejos covalentes reversibles con azúcares, aminoácidos, ácidos hidroxámicos. Sus propiedades únicas como ácidos de Lewis orgánicos suaves y su perfil de reactividad mitigada, junto con su estabilidad y facilidad de manejo, hacen que los ácidos borónicos sean una clase particularmente atractiva de productos intermedios sintéticos. Además, debido a su baja toxicidad y su degradación final en el ácido bórico respetuoso con el medio ambiente, los ácidos borónicos pueden considerarse compuestos "verdes".

1.3.1 Estructura

Son compuestos orgánicos trivalentes que contienen boro que poseen un sustituyente alquilo o arilo y dos grupos hidroxilo para llenar las valencias restantes en el átomo de boro. Con solo seis electrones de valencia y la consiguiente deficiencia de dos electrones, el átomo de boro hibridado en sp^2 posee un orbital p vacío. Este orbital de baja energía es ortogonal a los tres sustituyentes, que están orientados en una geometría plana trigonal (Hall, 2005).

1.3.2 Propiedades físicas

La mayoría de los ácidos borónicos existen como sólidos cristalinos blancos que pueden manejarse en el aire sin precauciones especiales. A temperatura ambiente, los ácidos borónicos son químicamente estables y la mayoría de ellos se conservan durante mucho tiempo. Para minimizar la oxidación atmosférica y el auto oxidación deben de almacenarse bajo una atmosfera inerte, sin embargo, a menudo es mejor almacenar los ácidos borónicos en un estado ligeramente húmedo. Debido a su fácil deshidratación, los ácidos borónicos tienden a proporcionar puntos de fusión poco confiables (Snyder, Kuck, & Johnson, 1938)

1.3.3 Carácter Ácido.

En virtud de su valencia deficiente, los ácidos borónicos poseen un orbital p vacío. Esta característica les confiere propiedades únicas como ácidos de Lewis orgánicos suaves que pueden coordinar moléculas básicas. Al hacerlo, los aductos tetraédricos resultantes adquieren una configuración similar al carbono. Por lo tanto, a pesar de la presencia de dos grupos hidroxilo, el carácter ácido de la mayoría de los ácidos borónicos no es el de un ácido de Brønsted, sino generalmente el de un ácido de Lewis. Cuando se coordina con un ligando aniónico, aunque la carga negativa resultante se dibuja formalmente en el átomo de boro, de hecho se extiende sobre los tres heteroátomos (Hall, 2005).

II ANTECEDENTES

A diferencia del reconocimiento basado en las interacciones de enlaces de hidrógeno entre los sacáridos y sus receptores naturales (proteínas) en el cuerpo, los principales anfitriones artificiales para el reconocimiento y detección de sacáridos y neurotransmisores son moléculas pequeñas que se caracterizan por el uso de aniones y sus receptores donantes de enlace-H, sin embargo, durante mucho tiempo se ha limitado su estudio a medios no acuosos, lo que implica la búsqueda de receptores capaces de funcionar en el agua y en sistemas biológicamente compatibles.

El presente trabajo se centra en la determinación de algunas moléculas de interés biológico que contienen un grupo diol dentro de su estructura como es el caso de algunos de los azúcares más representativos y el catecol como representante de la determinación de catecolaminas, así como de alguna de ellas para corroborar su eficacia, siendo el catecol en el que se centre la mayoría de los estudios electroquímicos, y el resto solo enfocándose a la respuesta del electrodo para su uso como método de análisis.

La química de los sacáridos es de suma importancia para una gran cantidad de funciones biológicas dentro de la naturaleza. Al proporcionar el bloque de construcción para procesos que van desde la producción de energía metabólica hasta el reconocimiento de tejidos, los sacáridos son el foco de un vasto cuerpo de investigación dirigido a comprender e imitar su función específica a nivel celular (Hurtley, Service, & Szuromi, 2001).

Las catecolaminas juegan un papel fundamental en las respuestas al estrés. De esta forma, la liberación de estas sustancias aumenta cuando se experimenta estrés físico o emocional. Algunas de las funciones del sistema nervioso central que controlan son el movimiento, la cognición, las emociones, el aprendizaje y la memoria; e incluso a nivel células, estas sustancias modulan la actividad neuronal abriendo o cerrando canales iónicos según los receptores involucrados (Nicoll, Malenka, & Kauer, 1990).

En la búsqueda del diseño y síntesis de sensores con capacidad de imitar a los sistemas biológicos, ácidos borónicos han sido estudiados debido a que se caracterizan por ser moléculas que reaccionan con 1,2- o 1,3-dioles presentes en los sacáridos reversiblemente para formar ésteres cíclicos de cinco o seis miembros, respectivamente, a través de dos enlaces covalentes (Badugu & Lakowicz, 2005).

2.1 Interacciones tipo Ester en los ácidos borónicos

La comprensión de las interacciones intermoleculares entre los diferentes grupos funcionales constituye la base del reconocimiento molecular y es esencial para el diseño adecuado de los receptores con alta selectividad. Se sabe que los ácidos borónicos se unen a compuestos que contienen restos de diol con alta afinidad mediante la formación de

ésteres reversibles como se ilustra en la figura 2-1.1. Tal unión permite que los ácidos borónicos se utilicen como parte del reconocimiento para sacáridos, como transportadores de nucleótidos y carbohidratos y como ligandos de afinidad para la separación de carbohidratos y glicoproteínas. El proceso global es un equilibrio, y la reacción directa se ve favorecida cuando el producto de boronato es insoluble en el disolvente de reacción (Hall, 2005).

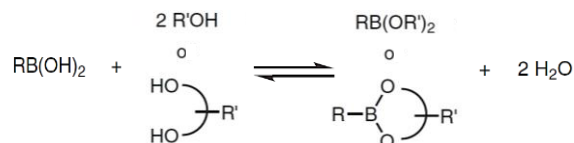


Figura 2-1.1 Formación de ésteres reversibles

La estabilidad del éster del boronato depende del pH y del disolvente, se ha reportado, que los ácidos borónicos son sensibles a pH neutro debido a la fuerza de unión dependiente del pH entre complejos en cuyo caso cualquier aumento o disminución de pH fuera del intervalo 7-8 da como resultado una disminución de la afinidad de unión y el cambio en el estado de ionización, ya que se ha demostrado que a pH altos los complejos pueden ionizarse de una forma trigonal a una forma tetraédrica (Springsteen & Wang, 2002).

2.2 Equilibrio ácido borónico-diol en agua

La formación reversible de ésteres borónicos por la interacción de los ácidos borónicos y los polioles en el agua se examinó por primera vez en el estudio seminal de Lorand y Edwards (Lorand & Edwards, 1959). Este trabajo siguió a un estudio igualmente importante sobre la elucidación de la estructura del ion borato. Al medir el equilibrio de complejación entre PBA y varios dioles modelo y monosacáridos utilizando el método de depresión del pH, se demostró que la formación de ésteres es más favorable en soluciones de pH alto donde el ion boronato existe en altas concentraciones (Figura 2-1.3).

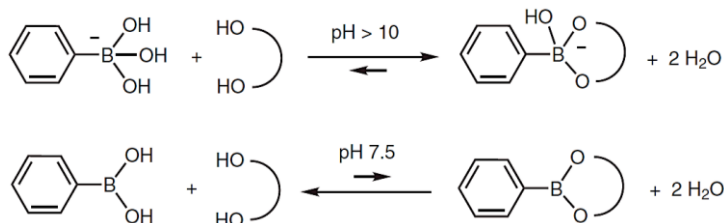


Figura 2-1.3 Equilibrio de formación de ésteres borónicos en agua a pH alto y neutro.

Pizer y sus colaboradores informaron una serie de investigaciones sobre los equilibrios y el mecanismo de complejación entre ácidos borónicos con dioles y otros ligandos en agua. El trabajo inicial de este grupo (Babcock & Pizer, 1980) y otros (Ferrier, 1978) mostró que las constantes de estabilidad de los complejos aumentan cuando el sustituyente arilo en el ácido borónico es pobre en electrones.

El interés en la interacción entre los ácidos borónicos y los cis-dioles se ha desarrollado enormemente debido a las aplicaciones en el desarrollo de receptores y sensores para dioles simples. La unión de carbohidratos a ácidos borónicos está sujeta al mismo requisito geométrico para una unidad de diol coplanar. En el agua, los receptores de ácido borónico se unen a la glucosa en forma de furanosa, que presenta un 1,2-diol coplanar muy favorable. Los derivados de catecol fluorescentes, como el colorante alizarina rojo S también forman aductos covalentes con ácidos borónicos en agua, y este equilibrio se ha utilizado recientemente como un ensayo competitivo basado en color y fluorescencia para la determinación tanto cualitativa como cuantitativa de la unión de sacáridos (Springsteen & Wang, 2002).

Los ésteres de catecol son otra clase de derivados populares, ya que son los productos directos de las reacciones de hidroborcación con catecolborano. Debido a la conjugación opuesta entre los oxígenos fenólicos y el anillo de benceno, estos derivados son más ácidos de Lewis y son muy sensibles a la hidrólisis. En la escisión hidrolítica de los ésteres de catecol borónico de las hidroborcaciones, a menudo es necesario controlar cuidadosamente el pH y amortiguar la acidez del catecol liberado (Beachell & Beistel, 1964).

2.3 Ácidos borónicos como sensores biológicos

Varias características de los ácidos borónicos las hacen adecuadas para aplicaciones biomédicas. El orbital p vacío del boro lo hace un ácido de Lewis y permite una fácil interconversión de la hibridación sp^2 a sp^3 en presencia de bases de Lewis. La mayoría de los ácidos borónicos descritos en la literatura contienen formas ácido fenilborónicos (PBA) ($-\text{Ph}-\text{B}(\text{OH})_2$). La adición de diversos sustituyentes en el anillo del fenilo permite emplearlo en un intervalo de pH fisiológicamente relevante.

Una de las características más relevantes es la capacidad de formar complejos covalentes reversibles con 1,2 o 1,3 dioles. En sistemas acuosos, los ácidos borónicos existen en equilibrio entre una forma trigonal neutra no disociada (1) y una forma tetraédrica aniónica disociada (2) (figura 2-1.2). En presencia de 1,2 o 1,3 dioles, los ésteres de borato cíclico formados por reacción del ácido borónico neutro con un diol generalmente se consideran hidrolíticamente inestables, por otro lado, la reacción de la forma aniónica del ácido borónico (2) con un diol conduce a ésteres de boronato estables (4). Por lo tanto, el efecto neto de la adición de dioles reactivos a los ácidos borónicos (1) en medios acuosos es un cambio en equilibrio a las formas aniónicas (2 y 4) (Lorand & Edwards, 1959).

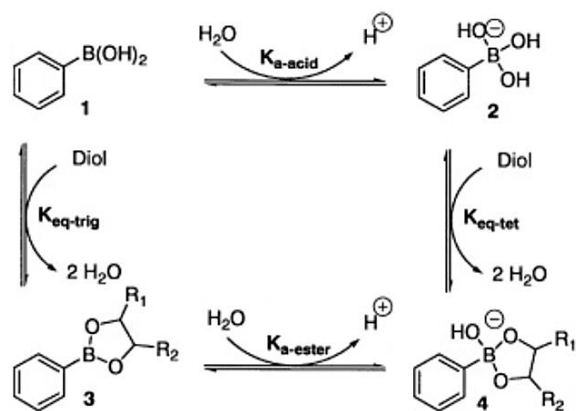


Figura 2-1.2 Equilibrios de PBA en medio acuoso

2.3.1 Receptores a base de ácidos borónicos

Los sacáridos y las especies moleculares relacionadas están involucradas en las vías metabólicas de los organismos vivos, por lo tanto, la detección de compuestos biológicamente importantes (D-glucosa, D-fructosa, D-galactosa, Catecolaminas, etc.) es un vial en diversos contextos medicinales e industriales. El reconocimiento de D-glucosa es de particular interés, ya que la descomposición del transporte de D-glucosa en humanos se ha correlacionado con varias enfermedades: glucosuria renal (Matteson, Stereodirected Synthesis with Organoboranes, 1995), fibrosis quística, diabetes y también cáncer humano (Abel, Wilkinson, & Stone, 1995). Existe evidencia clara de que el control estricto de los niveles de azúcar en la sangre en diabéticos reduce considerablemente el riesgo de complicaciones debilitantes a largo plazo asociadas con esta enfermedad autoinmune. Las aplicaciones industriales de la detección de sacáridos abarcan desde el monitoreo de los procesos de fermentación hasta el establecimiento de la pureza enantiomérica de las drogas sintéticas.

Los métodos actuales de detección enzimática de azúcares ofrecen especificidad para solo unos pocos sacáridos; Además, los sensores basados en enzimas son inestables en condiciones difíciles. Los sistemas sintéticos se han desarrollado utilizando interacciones de enlace de hidrógeno con el propósito de reconocimiento y unión de sacáridos. Sin embargo, en sistemas acuosos, los huéspedes neutros pueden estar fuertemente solvatados. Hasta el momento no se ha diseñado ningún receptor monomérico, con enlaces de hidrógeno, que pueda competir eficazmente con agua para obtener bajas concentraciones de sustratos de monosacáridos (Bradke, Hall, Carper, & Plopper, 2001).

El receptor de sacáridos basado en ácido borónico estable ofrece la posibilidad de crear sensores de sacáridos de diseño que pueden ser selectivos y sensibles para cualquier sacárido elegido. El reconocimiento de sacáridos por los ácidos borónicos ocupa un lugar único en la química supramolecular. La energía de interacción por pares es lo

suficientemente grande como para permitir el reconocimiento molecular de un solo punto, y la interacción primaria implica la formación reversible de un par de enlaces covalentes. A pesar de una larga historia, los primeros datos constantes de unión estructural y cuantitativa se informaron en la década de 1950, y la estructura de los complejos de ácido borónico-sacárido en solución acuosa continúa siendo discutida (Pareek, Rani, Kumar, & Sharma, 2013).

La formación de un complejo de sacárido a pH neutro es esencial si se van a desarrollar sensores prácticos basados en ácido borónico. Como pK_a' es 1-2 unidades más bajo que pK_a , el complejo de ácido borónico-sacárido solo existirá en cantidades significativas a pH neutro si el pK_a del ácido borónico es menor a 7. El pK_a de PBA se ha descrito como 8.8; por lo tanto, el ácido fenilborónico requiere condiciones acuosas básicas para formar complejos fuertes. Por lo tanto, para lograr una unión fuerte a pH neutro, se debe disminuir el pK_a del ácido borónico. Esto se puede lograr incorporando grupos de extracción de electrones en el resto aromático (Matteson & Adiel, 2016).

En 2017 Mayte Martínez y colaboradores propusieron un receptor bifuncional, utilizando una 2,6-piridindicarboxamida como un sitio de reconocimiento de aniones y como un andamio para la incorporación de grupos de ácido borónico para el reconocimiento de azúcar. Dicho compuesto resultó ser afín a catecol > fructosa > glucosa, la experimentación se realizó mediante titulaciones en RMN en un sistema 1:1 de agua:DMSO (Martínez, Martínez, & et. al., 2017).

2.4 Sensores electroquímicos

Las técnicas electroquímicas como la voltamperometría y el uso de los electrodos de pasta de carbono constituyen una herramienta útil para obtener resultados de caracterización reproducibles. Los sensores electroquímicos son especialmente apropiados para abordar de un modo económico, rápido y fiable muchos de los problemas analíticos que demandan la sociedad. Emplean mecanismos químicos para el reconocimiento de especies particulares, y dan a mostrar sus grandes ventajas como las medidas electroquímicas. Pueden llevarse a cabo en volúmenes pequeños de muestra con relativa facilidad, esto hace que estos dispositivos sean adecuados para la monitorización en vivo.

2.4.1 Detección de azúcares

La detección electroquímica de sacáridos por descomposición enzimática de sacáridos es la base de la mayoría de los biosensores comerciales de D-glucosa (Montañez, Ramos, Alegret, & Delgado, 2011). También es posible el desarrollo de receptores de sacáridos electroactivos a base de ácido borónico para D-glucosa. Sin embargo, el principal valor de

los sistemas sintéticos basados en ácido borónico es que podrían proporcionar selectividad para un rango de sacáridos distintos de la D-glucosa (Wilson & Hu, 2000).

El derivado del ácido ferrocenilborónico (FcBA) en la figura 2-1.4 se ha sintetizado y probado para la detección electroquímica quiral de monosacáridos (Ori & Shinkai, 1995). La mejor discriminación se observó para L-sorbitol y L-Iditol a pH 7.0 en una solución de tampón de fosfato 0.1 M.

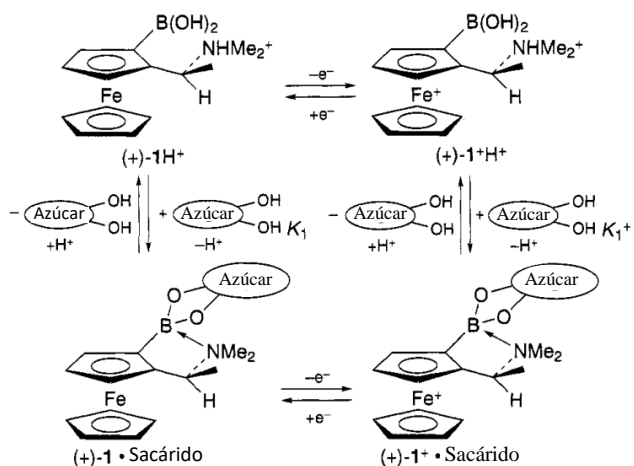


Figura 2-1.4 Equilibrios del ácido ferrocenilborónico.

El uso potencial de FcBA para la determinación electroquímica de un rango más amplio de azúcares fue investigado (Lacina & Skládal, 2011), se detectaron las formas libres y unidas del compuesto en el complejo de boronato mediante el uso de medidas voltaperométricas y amperométricas. De esta manera, se estudió la interacción de la formación de complejos con sacáridos como dioles modelo que dan un comportamiento voltamperométrico distinto. Además, en este estudio se utilizaron electrodos modificados con sorbitol y 1,6-hexanodiol para inmovilizar el compuesto a la superficie del electrodo a través de enlaces éster de boronato. Por lo tanto, los electrodos modificados con FcBA podrían ser útiles como sensores libres de reactivos para el reconocimiento de azúcares y compuestos relacionados (Li, Zhu, Marken, & James, 2015).

Arimori y colaboradores desarrollaron un sensor electroquímico, figura 2-1.5, para una determinación mejorada de D-Glucosa y D-Galactosa mediante un enlace mejorado que contiene dos unidades de ácido borónico, una unidad de ferroceno y una unidad de hexametileno la cual funciona como enlazador selectivo de D-Glucosa (Arimori, Ushiroda, Peter, Jenkins, & James, 2002).

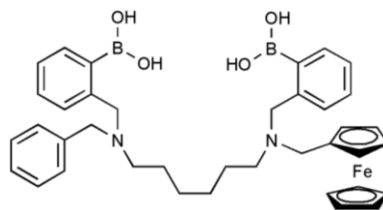


Figura 2-1.5 Ácido borónico usado como sensor electroquímico para D-Glucosa

Recientemente, Kajisa y Sakata construyeron un sensor de glucosa con alta sensibilidad y biocompatibilidad basado en un transistor de efecto de campo (FET) basado en semiconductores. La superficie del electrodo del dispositivo FET se recubrió con una capa delgada de un hidrogel preparado usando Metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y N-3-(dimetilamino) propilmetacrilamida (DMPMA) como esqueleto de polímero y ácido vinilfenilborónico (VPBA), figura 2-1.6 como un resto sensible a la glucosa. Al aumentar la concentración de glucosa, la señal del sensor cambió hacia la dirección negativa debido a la complejación de la glucosa con el resto de VPBA. La presencia de una placa de Oro en la superficie del electrodo disminuyó la señal de ruido derivada de la adsorción de proteínas como la albúmina (Shaarani, Yu, & et. al., 2018).

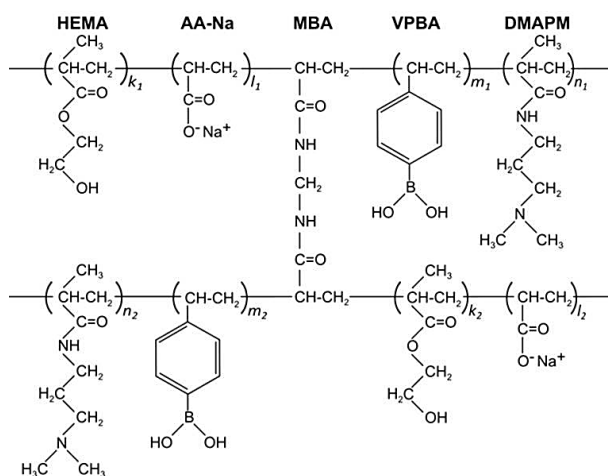


Figura 2-1.6 Estructura de hidrogel con terminaciones de PBA sensibles a D-Glucosa.

2.4.2 Detección de catecol y catecolaminas

La electroquímica proporciona medios muy interesantes y versátiles para el estudio de las reacciones químicas. La mayoría de las reacciones de electrodos orgánicos se caracterizan por la generación de un intermedio reactivo en el electrodo por transferencia de electrones y las reacciones subsiguientes típicas para esa especie. El objetivo principal de los estudios

electroquímicos es el esclarecimiento de la secuencia de transferencia de electrones y reacciones químicas que ocurren cerca de la superficie del electrodo. Entre los compuestos orgánicos, el catecol se puede oxidar fácilmente a la o-benzoquinona reactiva correspondiente principalmente debido a su bajo potencial de oxidación.

En las últimas décadas, se han invertido considerables esfuerzos en la determinación de compuestos fenólicos, el catecol es bien conocido en sistemas biológicos, a menudo como un centro reactivo de transferencia de electrones en la estructura de muchos compuestos naturales y moléculas biológicamente reactivas capaces de exhibir un comportamiento anti-oxidante y pro-oxidante (Yang, Chen, Ni, & et. al., 2010). El catecol tiene una gran importancia tanto en el análisis biológico como en el ambiental debido a su excelente actividad electroquímica y se puede utilizar para la caracterización de diferentes métodos analíticos. Se utiliza en una variedad de aplicaciones que incluyen fotografía, tintura, agroquímicos, caucho, antisépticos para la producción de plásticos, colorantes, galvanoplastia, tintas especiales, antioxidantes y estabilizadores de la luz, en síntesis orgánica, industria farmacéutica (Bukowska & Kowalska, 2004). Por lo tanto, la determinación de catecol es muy importante. Se han informado muchos métodos electroquímicos que utilizan diferentes electrodos modificados para la determinación de catecol (Yan, Wu, Guo, & Huang, 2015).

Las características de la reacción redox del anillo del catecol permiten estudiar esta sustancia adsorbida a circuito abierto, Esquenoni y colaboradores estudiaron el comportamiento de DOPAC como adsorbato y como reactivo electroquímico adsorbido sobre oro, obteniendo que este se adsorbe sobre oro en forma débil mediante uniones π entre el anillo y la superficie, esta unión cambia a una configuración paralela a perpendicular mediante uniones σ , dicha adsorción está controlada por la difusión (Esquenoni, Mengershausen, & Sustersic, 2007)

Pérez y colaboradores construyeron un biosensor amperométrico usando polifenol oxidasa en pasta de carbón para la determinación de compuestos fenólicos, mostrando una linealidad y límite de detección de 0.1mM con un pH óptimo de 6.7 en buffer de fosfatos a temperatura ambiente (Pérez, Agnes, & Felix, 2009).

El catecol se oxida en una solución acuosa con un buffer de fosfatos a benzoquinona, esta oxidación muestra propiedades de un proceso de dos protones dos electrones, siendo una reacción casi reversible, en un estudio en presencia de 4-bipiridina (Kasa & Solomon, 2016) se muestra una reacción irreversible, dicho estudio se realizó mediante VC en solución a pH 7 siendo este el más óptimo cuando el analito es solo el catecol.

En 2014 se presentó un trabajo ante la sociedad brasileña de química (Gorla & Tarley, 2014) en la que se analizaron electroquímicamente catecol, hidroquinona, guayacol, y 4-nitrofenol mediante VC con un electrodo de nanotubos de carbono y con la adición de un surfactante (bromuro de cetiltrimetilamonio) el cual ayudo a aumentar las señales analíticas

y el desplazamiento de potencial de oxidación dando como consecuencia una clara determinación simultánea de los mismos.

Ya con anterioridad se ha elucidado la posible interacción que ocurre entre PBA y catecol para la formación de los esteres borónicos correspondientes; en dicho estudio realizado por Pizer afirma que PBA es capaz de formar compuestos con catecol siguiendo la reacción general que se muestra en la figura 2-1.7.

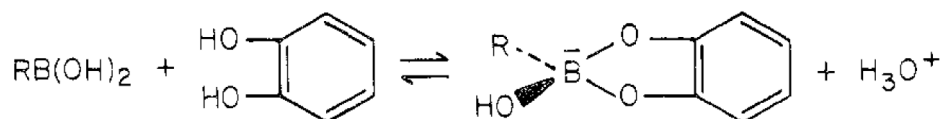


Figura 2-1.7 Reacción general entre un ácido borónico y catecol.

En dicho estudio se observaron las interacciones de PBA y ácido bórico con catecol y catecoles sustituidos para observar si existe la complejación entre los polioles y los ácidos de boro trigonales mediante el ion tetraédrico borato, para lo que concluyeron que no hay pruebas suficientes para demostrar que la forma tetraédrica es de hecho la especie más reactiva ya que obtuvieron los mismos resultados mediante expresiones matemáticas en la que se obtenían los mismos resultados para la forma trigonal que para la forma tetraédrica del ácido de boro (Pizer & Babcock, 1977).

En el 2000 se realizó un estudio similar al que se desarrolla en este proyecto para poder determinar dopamina electroquímicamente mediante el análisis de los esteres formados de PBA haciendo uso de CV y DPV (Strawbridge, Green, & Tucker, 2000), en este estudio se pudo llevar a cabo la determinación de dopamina en una matriz de fosfatos en un sistema metanol al 10% en agua, a pH fisiológico apoyándose de estudios previos con catecol, con la presencia de exceso de ácido ascórbico, como sería el caso de cualquier muestra humana, logrando discriminar este de la señal analítica otorgada por la dopamina.

Por todo lo anterior mencionado y como no se ha realizado ningún estudio de la modificación de electrodos de pasta de carbono con ácidos borónicos para el estudio de dioles biológicos en medio acuoso, que el presente trabajo de investigación recibe su importancia.

ii HIPÓTESIS

Al tener una respuesta electroquímica por medio de la caracterización es posible determinar y cuantificar algunos dioles biológicos mediante técnicas electroquímicas con el uso de electrodos de pasta de carbono modificados con ácido piridindicarboxamida bis-borónico

iii OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar los electrodos de pasta de carbono modificados con ácido piridindicarboxamida bis-borónico mediante técnicas electroquímicas, con el fin de obtener un electrodo sensible a moléculas de interés biológico.

Objetivos Específicos

- Sintetizar de ácido piridindicarboxamida bis-borónico.
- Caracterizar de ácido piridindicarboxamida bis-borónico.
- Elaborar, determinar y obtener las características de los electrodos modificados de pasta de carbono.
- Caracterizar el proceso electroquímico de azúcares y catecol con los electrodos modificados de pasta de carbono y encontrar las mejores condiciones de trabajo.
- Determinar y cuantificar los dioles.
- Determinar el posible número de electrones intercambiados para proponer un posible acoplamiento del ácido bis-borónico con los dioles.

iv JUSTIFICACIÓN

Los sensores químicos selectivos a analitos con interés biológico han atraído atención debido a sus propiedades fisicoquímicas ya que pueden experimentar cambios de fácil cuantificación. Por lo que se han estado buscando sensores químicos con la capacidad de proporcionar una respuesta a cambios de pH, concentración, potenciales aplicados, o alguna otra perturbación del medio para detección de aniones, monosacáridos y neurotransmisores. Actualmente el desarrollo de estos sensores es fundamentales en varios campos de la química debido a las potenciales aplicaciones de índole químico, clínico, bioquímico, ambiental, industrial, entre otras más. La cuantificación de analitos de interés biológico es un reto debido a que actualmente estos analitos son detectados y cuantificados de manera costosa y bajo protocolos exhaustivos de aplicación y a las condiciones complejas de pH y disolventes que los sistemas bioquímicos exigen. Existen estudios y síntesis reportados de sensores químicos selectivos con metodologías complejas y no compatibles a condiciones fisiológicas para moléculas de interés biológico importantes, sin embargo, muy pocas se desarrollan en medios acuoso a pH fisiológico y no han logrado desplazar a las técnicas de detección y cuantificación ya existentes.

Varios estudios han determinado a la fecha analitos de interés biológico y bioquímico de tipo neurotransmisor, azúcares y aniones mediante técnicas costosas por citar algunas la cromatografía líquida ultrarrápida/espectrometría de masas en tándem, espectrometría de masa en tándem de cromatografía líquida de alto rendimiento, cromatografía líquida-espectrometría de masas, espectrometría de masas de tiempo de vuelo con ionización por desorción láser asistida por matriz son algunas de las más usadas. Aunque son técnicas muy valoradas y de alta precisión son técnicas analíticas sumamente caras.

El presente trabajo de investigación está enmarcado por la electroanalítica, específicamente en el área de la voltamperometría. El objetivo, obtener un electrodo sensible a moléculas de interés biológico en medio acuoso a pH fisiológico.

III DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la figura 3-1 se describen las etapas principales para el desarrollo experimental de este proyecto de investigación, la cual fue clasificada en seis etapas principales y descrita a detalle en la parte posterior.

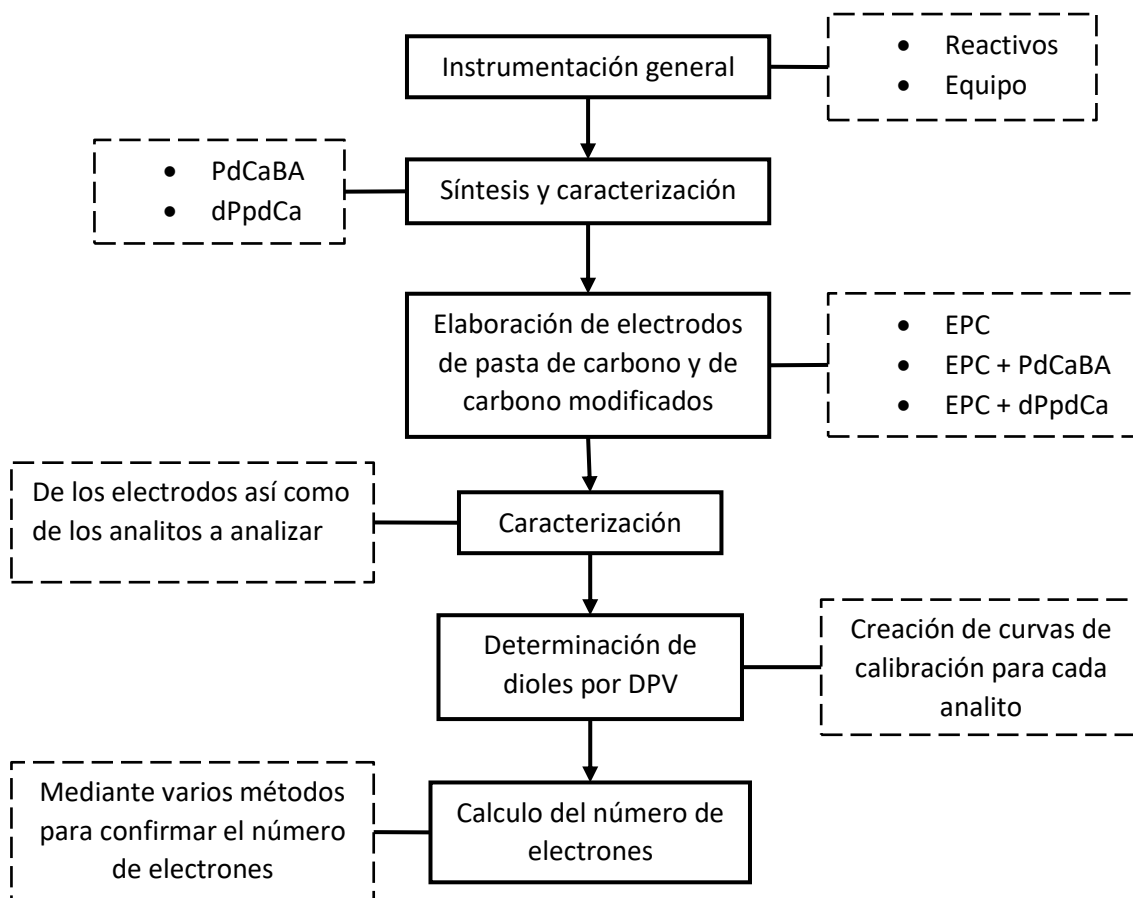


Figura 3-1 Diagrama de bloques de metodología empleada

3.1 Instrumentación General

3.1.1 Reactivos

3.1.1.1 Síntesis

Se utilizó dicloruro de 2,6-piridindicarbonilo (Sigma) ácido 3-aminofenilborónico éster de pinacol (Sigma), anilina (Sigma), tolueno seco (Sigma), bicarbonato de sodio (TeciQuim) y Metanol (TeciQuim).

3.1.1.2 Disoluciones

Todas las disoluciones utilizadas se prepararon con agua des-ionizada 18.3Ω. Se utilizó como electrolito soporte un buffer de fosfatos (Sigma) de concentración 0.1 M a pH 7 ajustado con hidróxido de Sodio (Fermont). D-Glucosa (Sigma), D-Fructosa (Sigma), catecol (Sigma), L-DOPA (Sigma), Dopamina (Sigma), Epinefrina (Sigma) se prepararon a una concentración de 5000ppm y 1000ppm, a partir de esta se realizaron las diluciones necesarias.

3.1.1.3 Electrodo de pasta de carbono (EPC)

Para la elaboración de la pasta se ocupa grafito (Alfa-Aesar) y aceite mineral (Fluka).

3.1.2 Equipo

Para la caracterización del compuesto sintetizado se utilizó Espectrometría Infrarrojo (IR) y Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Los espectros de IR se obtuvieron a través de un equipo Perkin-Elmer Attenuated Total Reflectance FT-Spectrometer (ATR), mostrando en el eje de las abscisas el número de onda (cm⁻¹) y el porcentaje de transmitancia en las ordenadas. Se realizaron estudios de RMN de ¹H usando un equipo Bruker Advanced de 300 MHz, utilizando TMS como referencia y empleando DMSO-d₆ como disolvente. En los espectros obtenidos los desplazamientos se expresan en ppm.

Para la caracterización de EPCM y determinación de los dioles se utilizó un potenciostato Epsilon (BAS) para los experimentos CV, DPV, CPE utilizando un sistema de electrodos. ET fue EPC y EPCM, ER de Ag/AgCl saturado y como EA se utilizó una barra de grafito.

3.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN

El esquema 3-2.1 muestra la ruta de síntesis de PdCaBA, así como de un análogo sin la presencia de ácido borónico N, N'-difenilpiridina-2,6-dicarboxamida (dPpdCa). La caracterización de PdCaBA fue realizada por RMN de ¹H, IR, y rayos X de Mono cristal. La caracterización del compuesto análogo se realizó por RMN ¹H y rayos X de Mono cristal.

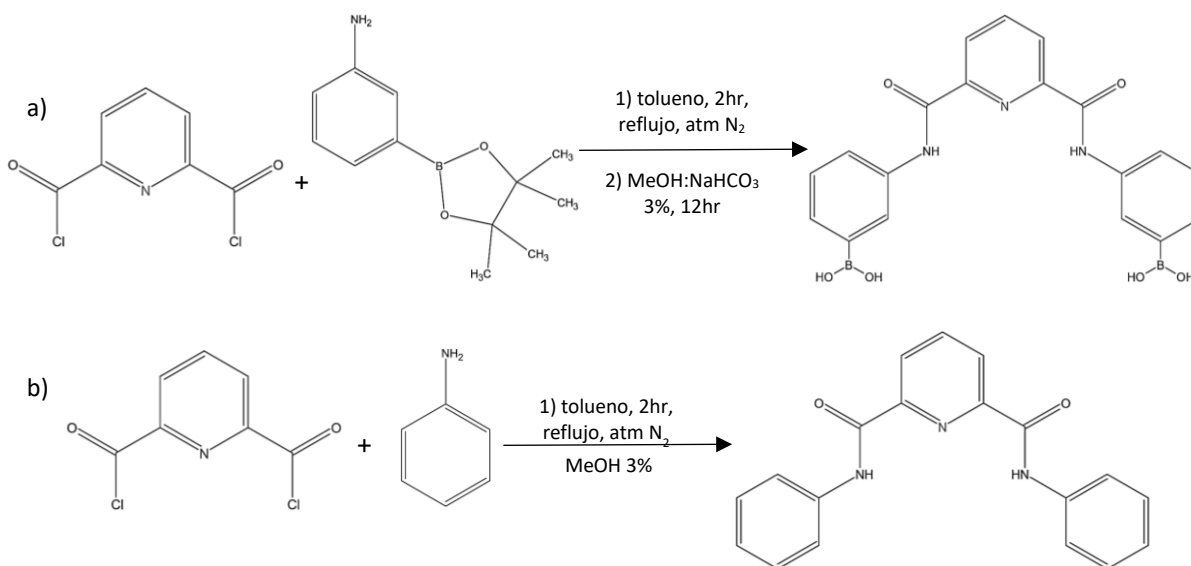


Figura 3-2.1 Ruta general de síntesis de a) PdCaBA y b) dPpdCa

3.2.1 Síntesis de PdCaBA

Se colocaron 50mg de 2,6-piridindicarbonilo (0.23mmol) y 110mg de ácido 3-aminofenilborónico éster de pinacol (0.48mmol), correspondiente a una relación estequiometría 1:2, un matraz de bola de 100mL el cual se conectó a un sistema de refrigeración para una reacción a reflujo, posteriormente el sistema se colocó al vacío y se llenó con una atmosfera de nitrógeno. Una vez en atmosfera de nitrógeno se le adiciono 30mL de tolueno seco y se llevó a agitación constante y calentamiento hasta observar reflujo, la reacción procedió durante 2 horas a reflujo y agitación constante. Terminada la reacción se obtuvo una suspensión blanca, se separó el precipitado por filtración y se coloca en el matraz de 100mL con 10mL de una solución al 3% de NaHCO₃ y 10mL de MeOH, esta solución se deja en agitación por 12 horas. Transcurrida la reacción se elimina el MeOH con ayuda de un rota vapor obteniendo nuevamente una suspensión blanca que es filtrada obteniendo una pasta blanca, esta pasta blanca se lleva a sequedad en el rota vapor y posteriormente con ayuda de vacío por 12 horas obteniéndose un polvo color blanco-beige, con un rendimiento del 90% para PdCaBA puro de acuerdo a su espectro de ¹H RMN.

3.2.2 Síntesis de dPpdCa

Se disolvieron 10mg de 2,6-piridindicarbonilo (47.5μmol) en 10mL de tolueno en un matraz bola de 50mL que se tapó y colocó en atmosfera de nitrógeno en un sistema de refrigeración para reflujo, se colocó con agitación constante y se le agregaron 9mg de anilina (95.6mmol) gota a gota, correspondiente a una relación estequiometría 1:2. Una vez terminada la reacción se llevó a reflujo por 3 horas con agitación constante. Terminada la reacción se

obtuvo una suspensión blanca que se separó por filtración y se neutralizó con una solución al 3% de NaHCO_3 , a continuación el producto obtenido fue llevado a sequedad mediante vacío obteniéndose un polvo color beige, con un rendimiento del 92% para dPpdCa puro de acuerdo a su espectro de ^1H RMN.

3.3 ELABORACIÓN DE EPC Y EPCM

3.3.1 EPC

Se mezclaron en partes iguales grafito y aceite mineral hasta la obtención de una pasta, esta pasta se depositó dentro de un tubo de 0.3mm de diámetro, al que posteriormente se le colocó en un extremo un cable de cobre.

3.3.2 Electrodo de Pasta de Carbono Modificado (EPCM) al 2.5%

3.3.2.1 EPCM con PdCaBA

Se pesaron 200mg de grafito y 5 mg de PdCaBA en un vaso de precipitado de 25mL, mezclándose perfectamente por aproximadamente 5 minutos intentando obtener una mezcla lo más homogénea posible, a continuación se agregaron 200mg de aceite mineral y se continuó mezclando hasta la obtención de una pasta, esta pasta se depositó dentro de un tubo de 0.3mm de diámetro, al que posteriormente se le colocó en un extremo un cable de cobre.

3.3.2.2 EPCM con dPpdCa

Se pesaron 200mg de grafito y 5 mg de dPpdCa en un vaso de precipitado de 25mL, mezclándose perfectamente por aproximadamente 5 minutos intentando obtener una mezcla lo más homogénea posible, a continuación se agregaron 200mg de aceite mineral y se continuó mezclando hasta la obtención de una pasta, esta pasta se depositó dentro de un tubo de 0.3mm de diámetro, al que posteriormente se le colocó en un extremo un cable de cobre.

3.4 Caracterización de EPC y EPMC por VC

Para la caracterización de todos los electrodos elaborados se utilizó VC en el potenciostato colocando como ET cada uno de los electrodos, dicha caracterización se llevó a cabo por medio de un blanco de fosfatos 0.1M a pH 7, se modificaron las barreras de potencial para poder observar una mayor ventada de potencial sin causar daño a los EPC y EPCM. Los

barridos de los ciclos se realizaron tanto en sentido catódico como anódico para observar posibles cambios por la modificación. De igual manera se caracterizaron los electrodos en presencia de cada analito para conocer los potenciales en los que da señales cada uno de ellos, a diferentes concentraciones para observar posibles cambios en la señal analítica.

3.5 Determinación de Dioles por DPV

Se utilizaron los potenciales de cada analito para hacer el estudio por DPV solo en los potenciales de potencial en los que se presentan los dioles, se llevaron a cabo en el potenciostato haciendo uso como ET solo del EPCM modificado con PdCaBA para cada uno de los dioles a diferentes concentraciones para posteriormente hacer las correspondientes curvas de cada analito.

3.6 Calculo del número de electrones

Se utilizaron tres técnicas electroquímicas empleando como ET el EPCM con PdCaBA, ER y EA se mantuvieron igual, como diol solo se utilizó el catecol a una concentración de 150pp. Como primera técnica se empleó CV manteniendo la concentración constante y modificando la velocidad de barrido, posteriormente se utilizó la ecuación de Randles-Sevcik (ecuación 1.1). Para el tratamiento de los datos.

Posteriormente se utilizó DPV manteniendo la concentración contante de catecol y modificando la amplitud del pulso, posteriormente se empleó la ecuación 1.14 para el tratamiento de los datos.

Por último se realizaron experimentos de CPE manteniendo la concentración contante y modificando el potencial de 200-800mV, realizando lecturas cada 10mV a una velocidad de barrido constante de 100mV/s, posteriormente se empleó la ecuación Cottrell (ecuación 1.15) para el tratamiento de los datos.

IV ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Síntesis.

4.1.1 Caracterización de PdCaBA

El producto se caracterizó por RMN H^1 e IR, así como de su obtención de estructura cristalina por difracción de rayos X de monocristal. En primer lugar el sólido obtenido se analizó por IR la cual mostro las señales esperadas para PdCaBA correspondientes a un pico en 3350cm^{-1} característica del enlace N-H, así como una señal en 1660cm^{-1} correspondiente a la tensión C=O, ambas señales proporcionan información de la formación de la amida, lo que nos indica que los productos reaccionaron como se esperaba, figura 4-1.1. De igual manera se puede observar una fuerte señal en 1340cm^{-1} atribuida al estiramiento B-O característico de un ácido borónico (Hall, 2005), una señal pequeña y un poco ancha cerca de 3450cm^{-1} que puede corresponder a la tensión O-H correspondiente al ácido borónico, entre $600-700\text{cm}^{-1}$ se puede apreciar dos señales casi guals correspondientes a flexión C-C y las cuales nos pueden proporcionar información respecto a una molécula simétrica, así como señales entre $600-700\text{cm}^{-1}$ que refieren a sustituciones en posiciones meta como es característico de la posición de los ácidos borónicos.

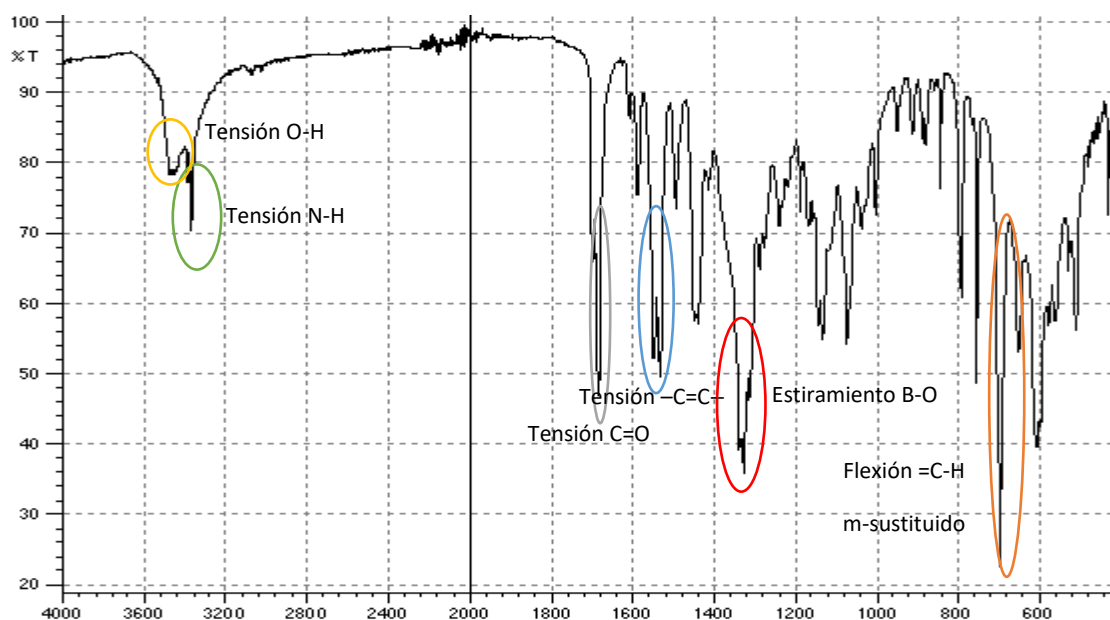


Figura 4-1.1 Espectro IR de PdCaBA y sus señales características.

Como consecuente se procedió con el estudio de RMN H^1 como se muestra en la figura 4-1.2, en el que se muestra la relación de cada una de sus señales con los hidrógenos correspondientes en la molécula, de las cuales cabe destacar la señal en 11ppm correspondiente a el enlace N-H de la amida que nos indica la formación de la molécula.

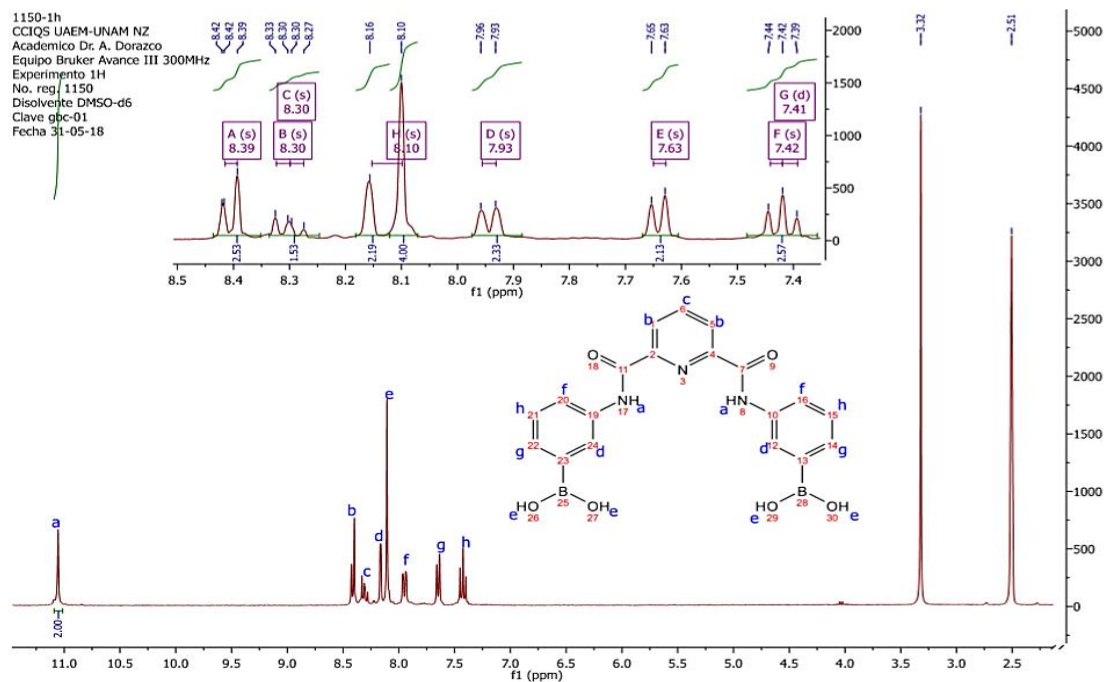


Figura 4-1.2 Espectro RMN de PdCaBA y la interpretación de sus señales.

En cuanto a la cristalografía se obtuvieron cristales adecuados para difracción de Rayos-X de monocristal de PdCaBA obtenidos directamente de una solución saturada con tolueno por evaporación lenta a temperatura ambiente. Obteniéndose las perspectivas moleculares de PdCaBA como se muestra en la figura 4-1.3.

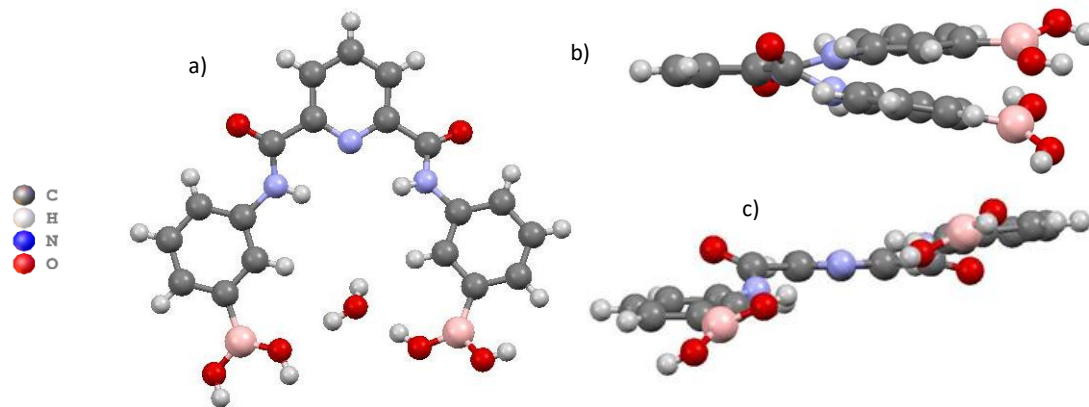


Figura 4-1.3 Perspectivas de PdCaBA.

La unidad asimétrica contiene una molécula de PdCaBA y una molécula de agua de cristalización en la cavidad formando enlaces de hidrógeno del tipo N-H --- O con los grupos amida convergentes a). Los grupos amida son prácticamente coplanares con el anillo central de piridina (b). Por otra parte, los grupos fenilo se encuentran distorsionados de la

planaridad (c), los grupos correspondientes al ácido borónico están distorsionados de la planaridad tanto del anillo de piridina como de los fenilos a los que se encuentran directamente unidos (b y c).

4.1.2 Caracterización de dPpdCa

El producto se caracterizó por RMN H^1 así como de su obtención de estructura cristalina por difracción de rayos X de monocristal. Como consecuente se procedió con el estudio de RMN H^1 como se muestra en la figura 4-1.4, en el que se muestra la relación de cada una de sus señales con los hidrógenos correspondientes en la molécula, de las cuales cabe destacar la señal en 11ppm correspondiente a el enlace N-H de la amida que nos indica la formación de la molécula.

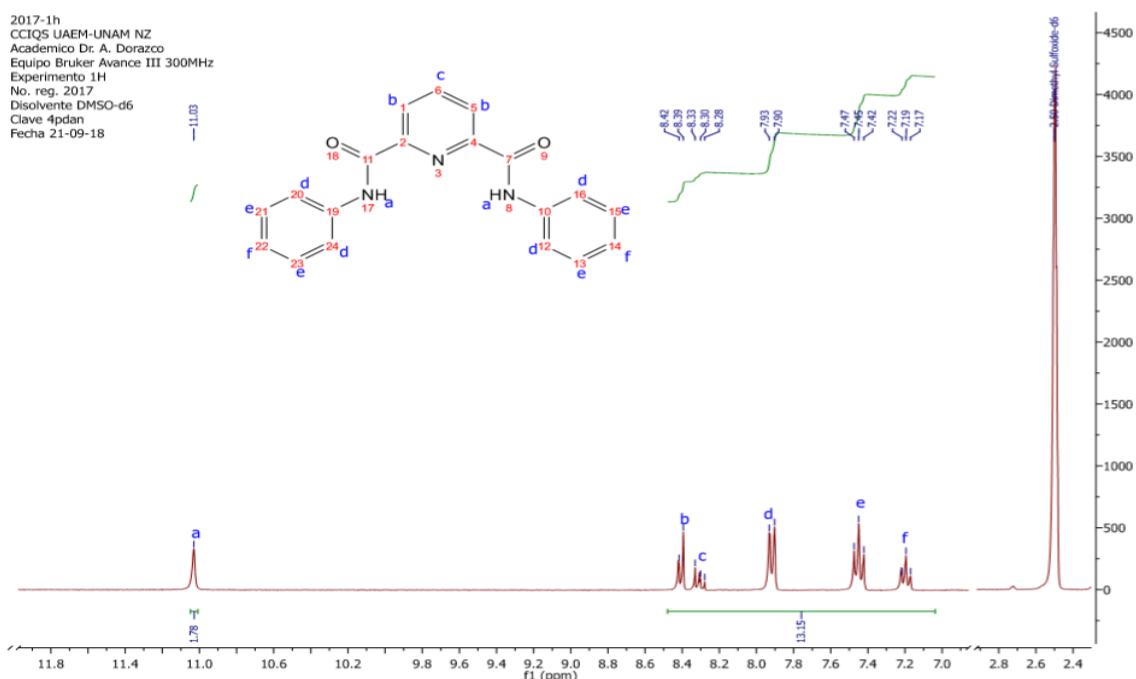


Figura 4-1.4 Espectro RMN de dPpdCa y la interpretación de sus señales.

En cuanto a la cristalografía se obtuvieron cristales adecuados para difracción de Rayos-X de monocristal de dPpdCa obtenidos directamente de una solución saturada con tolueno por evaporación lenta a temperatura ambiente. Obteniéndose las perspectivas moleculares de dPpdCa como se muestra en la figura 4-1.5.

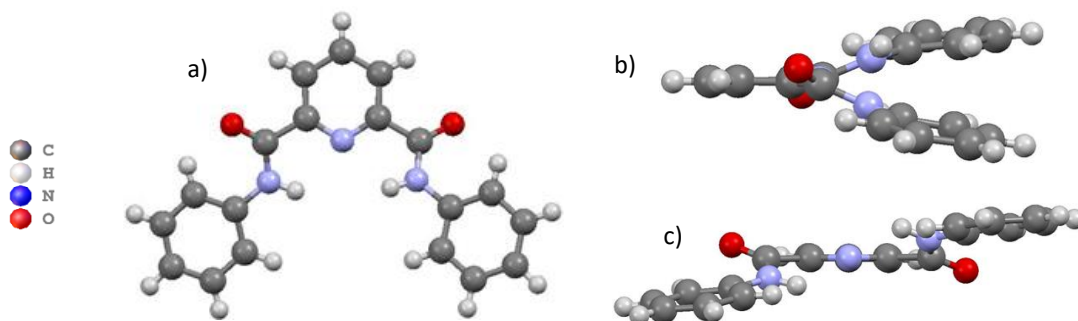


Figura 4-1.5 Perspectivas de dPpdCa.

La unidad asimétrica contiene una molécula de dPpdCa (a). Los grupos amida son prácticamente coplanares con el anillo central de piridina (b). Por otra parte, los grupos fenilo se encuentran distorsionados de la planaridad al mismo tiempo que guardan cierto grado de planaridad entre ellos (c).

4.2 Caracterización de EPC y EPCM por VC

En los voltamperogramas cíclicos que se muestran en la figura 4-2.1 se observan los procesos electroactivos del electrolito soporte para el caso del EPCM con PdCaBA (línea roja), EPCM con dPpdCa y sin modificar EPC (línea azul), para barridos de potencial en sentido catódico (a) como en sentido anódico (b) en electrolito soporte de fosfatos 0.1M a pH 7. Se observa que el electrolito soporte solo presenta el muro de reducción en el límite de potencial de -1.0V para el caso de EPC y para el caso de los EPCM aumenta ya que no se observa un muro de reducción. El mismo caso en el de oxidación, presentándose en el electrodo sin modificar de 1.85V.

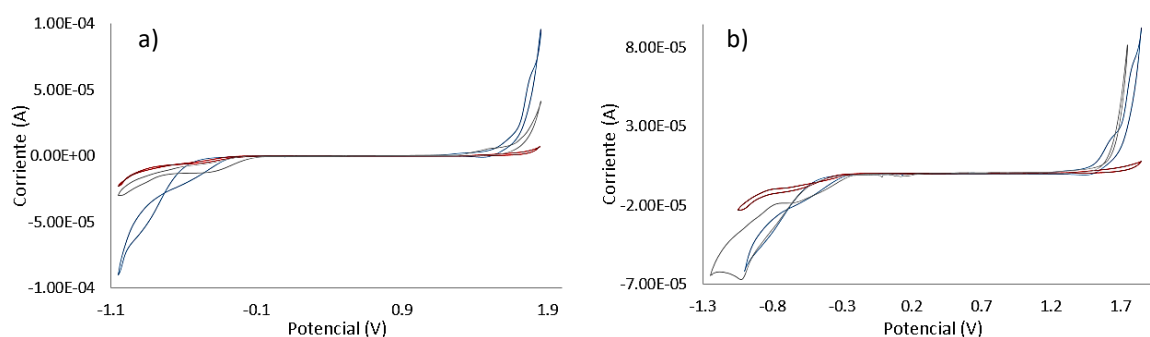


Figura 4-2.1 VC de EPCM con PdCaBA (rojo), EPCM con dPpdCa (gris) y EPC (azul). a) Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s. b) Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido catódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Se observa que los procesos son muy similares al ser iniciados en sentido catódico como en sentido anódico por lo que el resto de los experimentos se realizan en sentido catódico ya que es el área de interés del estudio.

4.2.1 Caracterización de D-Glucosa

En los voltamperogramas cíclicos de la figura 4-2.2 se muestran los procesos electroactivos del electrolito soporte con adiciones de D-Glucosa incrementando la concentración, con cada adición se puede observar un procesos de oxidación en el potencial de pico anódico (E_p^a) a 0.52V, de igual manera se puede distinguir en la mayoría de los casos dos procesos de reducción cercanos. Se puede apreciar un ligero desplazamiento de la señal debido a las continuas lecturas de las diferentes concentraciones establecidas, que van desde las 100ppm hasta 1600ppm.

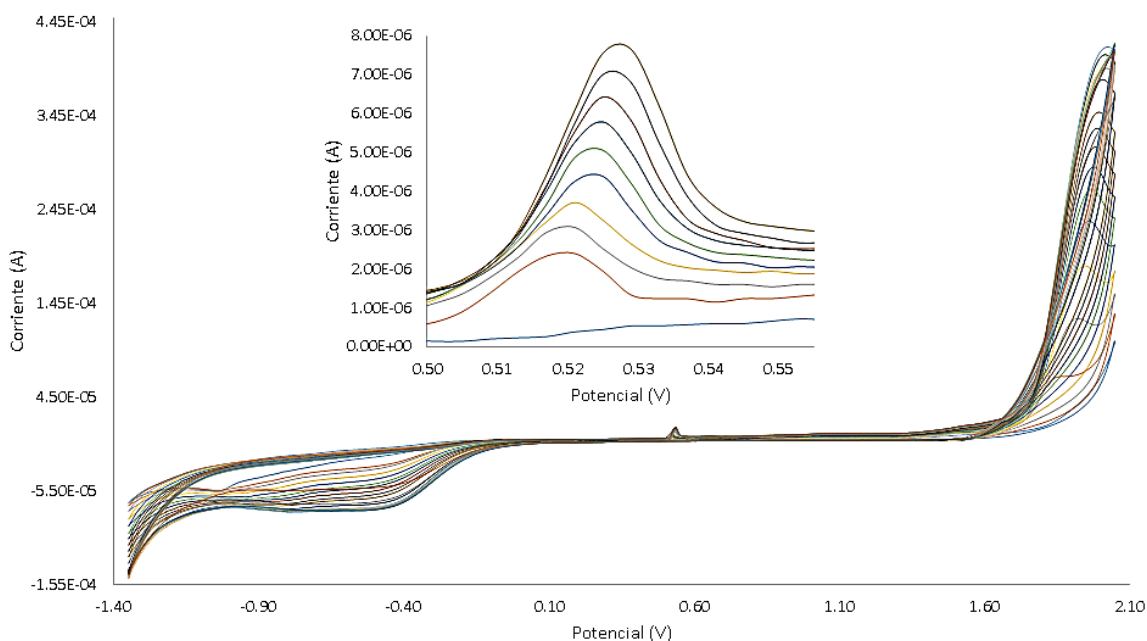


Figura 4-2.2 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de D-Glucosa aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. En la miniatura, el proceso de oxidación para una mejor apreciación. En los procesos de reducción; se puede observar que los procesos cambian de acuerdo a la concentración con la que se esté trabajando. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s

Para el caso de EPC y EPCM con dPpdCa los VC no mostraron respuesta a la presencia de D-Glucosa como en el caso de EPCM con PdCaBA.

4.2.2 Caracterización de D-Fructosa

En los voltamperogramas cíclicos de la figura 4-2.3 se muestran los procesos electroactivos del electrolito soporte con adiciones de D-Fructosa incrementando la concentración, con cada adición se puede observar E_p^a a 0.565V, de igual manera se puede distinguir en la mayoría de los casos dos procesos de reducción cercanos. Se puede apreciar un ligero desplazamiento de la señal debido a las continuas lecturas de las diferentes concentraciones establecidas, que van desde las 5ppm hasta 350ppm.

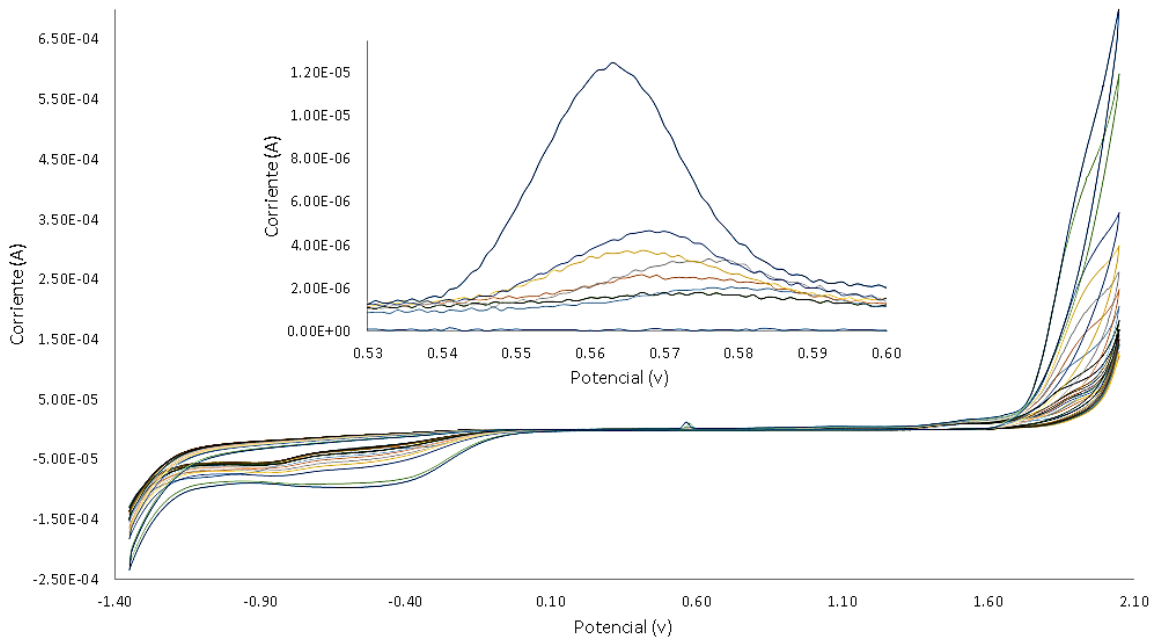


Figura 4-2.3 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de D-Fructosa aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. En la miniatura, el proceso de oxidación para una mejor apreciación. En los procesos de reducción; se puede observar que los procesos cambian de acuerdo a la concentración con la que se esté trabajando. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Para el caso de EPC y EPCM con dPpdCa los VC no mostraron respuesta a la presencia de D-Glucosa como en el caso de EPCM con PdCaBA.

En la figura 4-2.4 se aprecia la deferencia entre las señales de E_p^a para diferenciar entre D-Glucosa y D-Fructosa. En el voltamperograma se aprecia que la modificación con PdCaBA ayuda a la detección tanto de D-Glucosa como D-Fructosa siendo esta ultima la que tiene mayor afinidad, como se menciona en la literatura (Martínez, Martínez , & et. al., 2017), ya que se presenta una pico de oxidación más intenso.

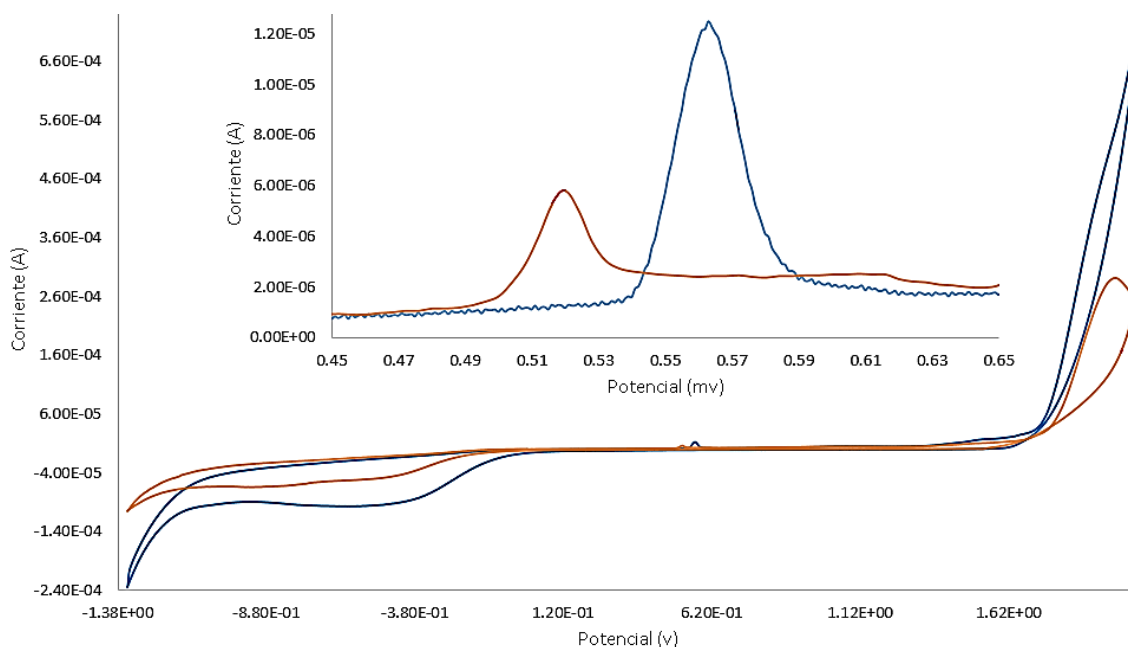


Figura 4-2.4 VC de EPCM con PdCaBA, D-Glucosa (rojo) y Fructosa (azul), ambos con concentraciones de 350ppm. En la miniatura, los proceso de oxidación para una mejor apreciación. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

4.2.3 Caracterización de catecol y catecolaminas

4.2.3.1 Catecol

En los voltamperogramas cíclicos de la figura 4-2.5, 4-2.6 y 4-2.7 se muestran los procesos electroactivos del electrolito soporte con adiciones de catecol en incrementos de concentración, para los casos de ET de EPC, EPCM con dPpdCa y EPCM con PdCaBA respectivamente. Se pueden apreciar un ligero desplazamiento de la señal debido a las continuas lecturas de las diferentes concentraciones establecidas, que van desde las 20ppm hasta 500ppm.

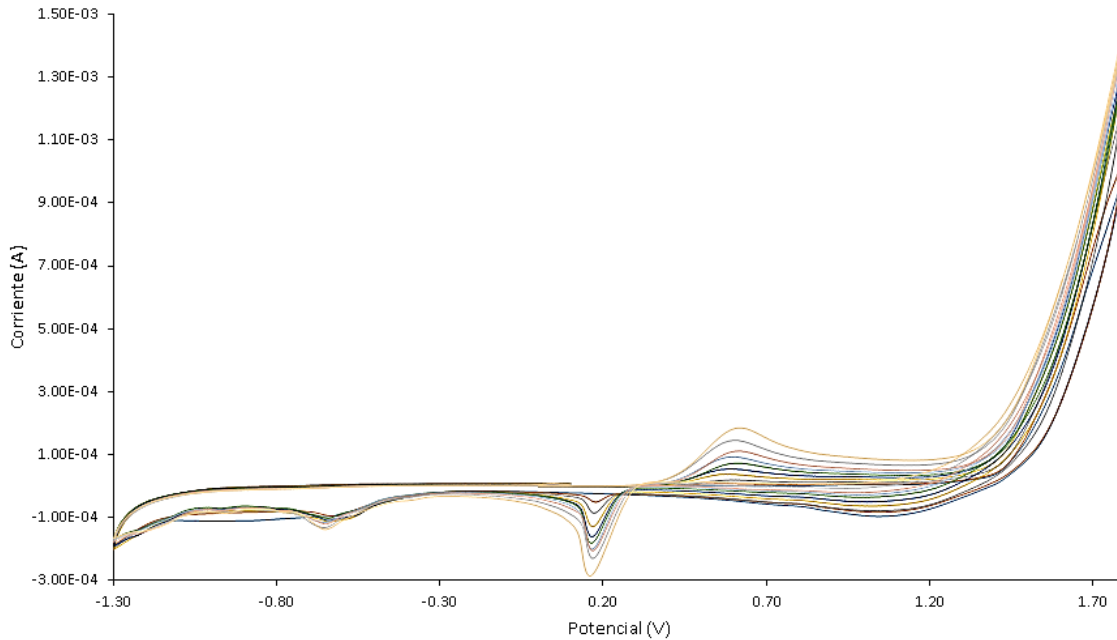


Figura 4-2.5 VC de EPC, resultado de las adiciones consecutivas de catecol aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPC (figura 4-2.5) se pueden apreciar fácilmente los aumentos de concentración de catecol en E_p^a a 0.62V, presentándose una señal algo ancha en comparación con la señal de reducción en E_p^c a 0.175V. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$620mV - 175mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$445mV = \frac{56mV}{n}$$

Este proceso se puede decir que es completamente irreversible ya que aunque no se conoce el número de electrones intercambiados, es casi ocho veces mayor la separación, en este caso 445mV, que la que se obtendría con un electrón intercambiado, 56mV.

En el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 0.48$, resultando que el proceso que se lleva a cabo con EPC es irreversible.

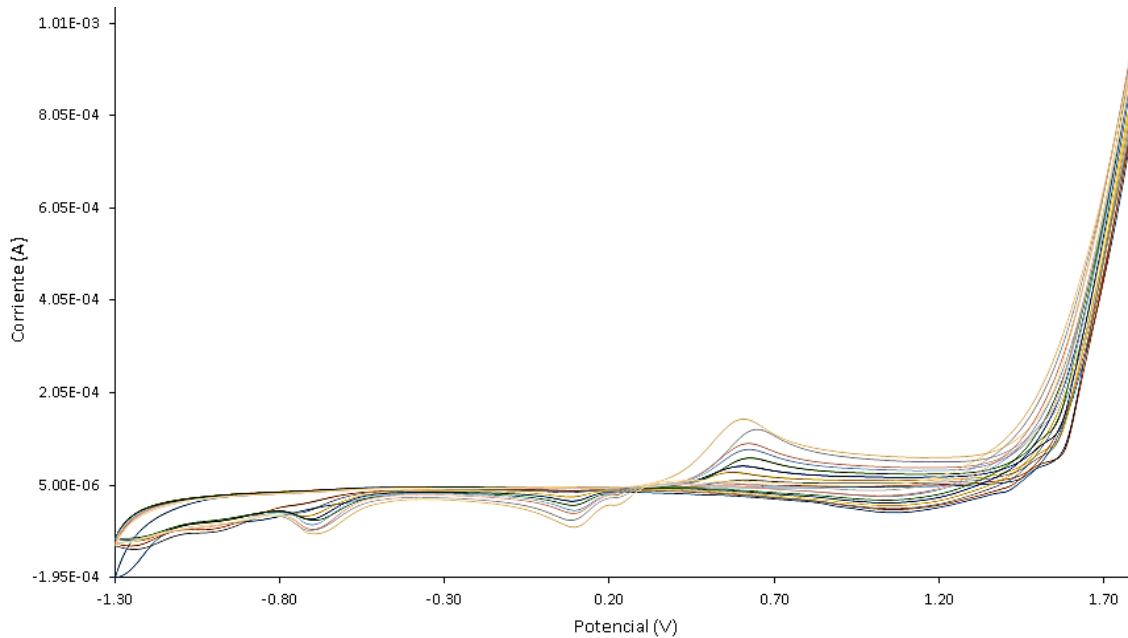


Figura 4-2.6 VC de EPCM con dPpdCa, resultado de las adiciones consecutivas de catecol aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPCM con dPpdCa (figura 4-2.6) se pueden apreciar fácilmente los aumentos de concentración de catecol en E_p^a a 0.6V, presentándose una señal algo ancha en comparación con el pico de reducción presente en E_p^c a 0.086V. Tomando en cuenta esto, las señales se aproximaron entre sí, desplazándose 0.02V E_p^a y 0.089V E_p^c en comparación con los resultados obtenidos con EPC. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$600mV - 86mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$514mV = \frac{56mV}{n}$$

En proceso se puede decir que se aleja aún más de la reversibilidad que con EPC, aumentando 69mV la separación entre los picos de oxidación y reducción, y que aunque no se conoce el número de electrones intercambiados, es nueve veces mayor la separación, en este caso 514mV, que la que se obtendría con un electrón intercambiado, 56mV. Aunado a esto es de fácil apreciación que el pico de reducción es menos intenso, y más ancho que con el uso de EPC, además que a concentraciones más altas es evidente la aparición de otra señal de reducción en 0.22V (siendo la primer señal del estudio) pero de menor intensidad que pico de 0.086mV (segundo pico).

En el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 5.31$ con el primer i_p^c y $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1.85$, resultando que ambos procesos que se llevan a cabo con EPCM con dPpdCa son irreversibles.

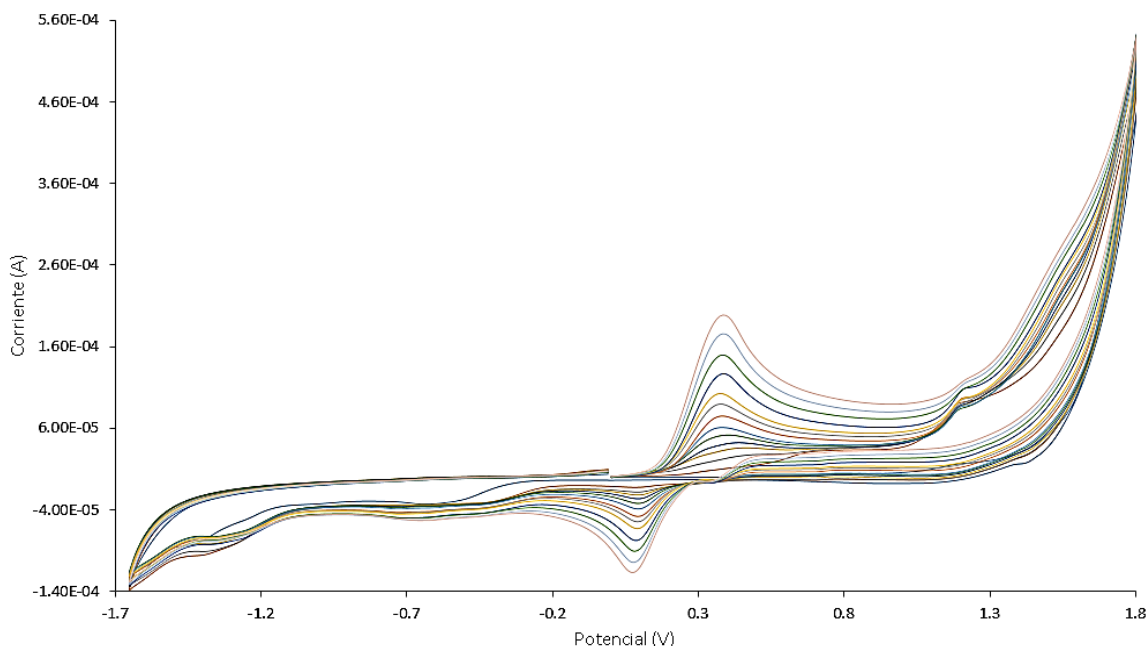


Figura 4-2.7 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de catecol aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPCM con PdCaBA (figura 4-2.7) se pueden apreciar fácilmente los aumentos de concentración de forma constante y sin grandes desplazamientos de catecol en E_p^a a 0.39V, y un pico de reducción presente en E_p^c a 0.1V que se desplaza conforme aumenta la concentración a 0.085V. Tomando en cuenta esto, las señales se aproximaron entre sí. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$390mV - 100mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$290mV = \frac{56mV}{n}$$

En este proceso las señales de oxidación y reducción se encuentran más cercanas teniendo un ΔE menor con lo que tiende a la reversibilidad en comparación con el EPC y EPCM con dPpdCa. Cabe señalar que se aprecian perturbaciones pequeñas en los voltamperogramas de menores concentraciones, en los que se pueden observar señales débiles tanto de

oxidación como reducción antes de las señales previamente mencionadas, por lo que con el EPCM con PdCaBA se pueden identificar dos procesos, uno de mayor intensidad que el otro, y que a concentraciones altas se pierde tras la señal de la reacción con mayor afinidad.

En el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con las señales más intensas y con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1.4$, resultando que el proceso que se lleva a cabo con el EPCM con PdCaBA tiende a la cuasirreversibilidad.

En la figura 4-2.8 se aprecia la comparación de los electrodos de EPC, EPCM con dPpdCa y EPCM con PdCaBA en presencia de catecol, en los cuales se aprecian las diferencias al usar cada uno de ellos.

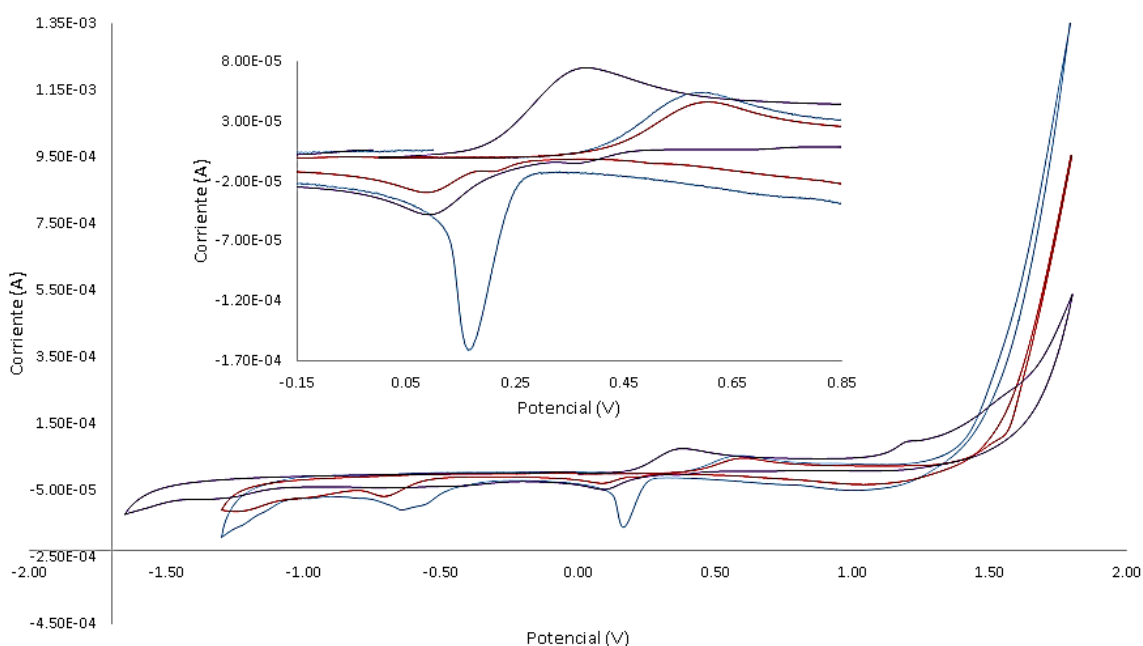


Figura 4-2.8 VC de EPC (azul), EPCM con dPpdCa (rojo) y EPCM con PdCaBA (morado), en presencia de catecol 150ppm. En la miniatura, los proceso de oxidación y reducción para una mejor apreciación. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

4.2.3.2 Catecolaminas

En las figuras 4-2.9, 4-2.10 y 4-2.11 se aprecian las caracterizaciones para Dopamina, Epinefrina y DOPA respectivamente. Las señales de oxidación se ven un poco desplazadas en algunos casos por las continuas adiciones de los analitos de concentraciones de 20ppm a 250ppm para el caso de Dopamina y Epinefrina, y para el caso de DOPA de 2ppm a 200ppm.

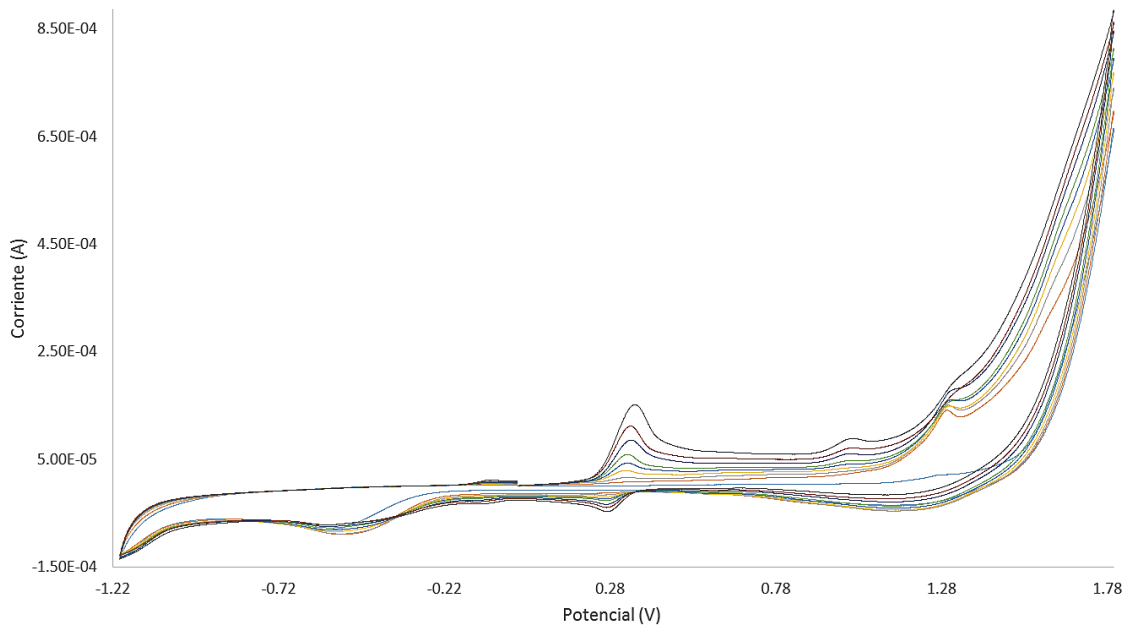


Figura 4-2.9 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de Dopamina aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPCM con PdCaBA (figura 4-2.9) se pueden apreciar fácilmente los aumentos de concentración de forma constante y con un ligero desplazamiento debido a las adiciones de Dopamina en E_p^a a 0.35V a 0.37V, y un pico de reducción presente en E_p^c a 0.28V que se parece mantenerse constante. Tomando en cuenta esto, las señales se aproximaron entre sí. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$360mV - 280mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$80mV = \frac{56mV}{n}$$

En este proceso las señales de oxidación y reducción se encuentran más cercanas teniendo un ΔE menor con lo que tiende a la reversibilidad en comparación con catecol pero en el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con las señales más intensas y con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 4.39$, por lo que la reducción es cuatro veces menor que la oxidación, resultando en un proceso cuasirreversible por lo que no toda la materia que se oxida se reduce.

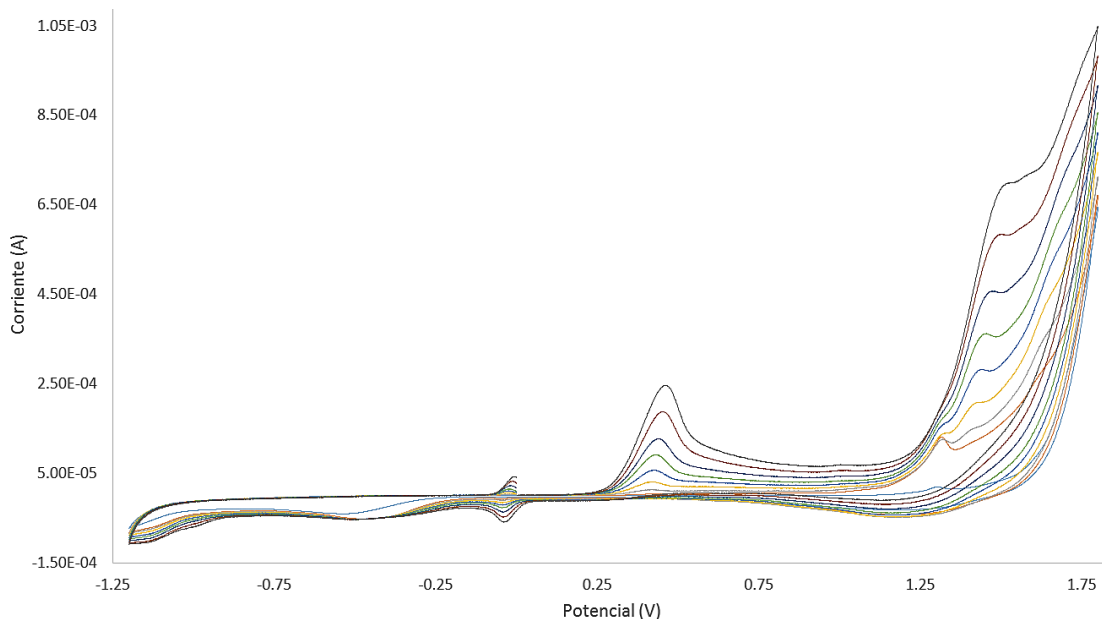


Figura 4-2.10 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de Epinefrina aumentando la concentración y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPCM con PdCaBA (figura 4-2.10) se pueden apreciar los aumentos de concentración de forma constante y con un ligero desplazamiento debido a las adiciones de Dopamina en E_p^a a 0.42V a 0.47V, y un pico de reducción presente en E_p^c a -0.04V que se parece mantenerse constante, esta señal de reducción parece corresponder al proceso de oxidación que ocurre justo antes de terminar el ciclo en E_p^a a -0.035V y que solo aparece después del barrido en dirección catódica también presentando un ligero desplazamiento hasta -0.02V. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$35mV - 20mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$15mV = \frac{56mV}{n}$$

En este proceso las señales de oxidación y reducción se encuentran más cercanas teniendo un ΔE menor, que si bien desconociendo el número de electrones resulta ser casi cuatro veces menor en el caso de que n fuera igual a un electrón, con lo que en este sentido resulta ser un proceso totalmente reversible, el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con las señales más intensas y con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1.3$, siendo para estas señales un proceso mucho más reversible aunque este proceso no es el que se cree corresponda totalmente a la formación de esteres

entre el diol de la epinefrina y los ácidos borónicos si no una unión diferente, probablemente entre el grupo hidroxilo correspondiente a la cadena unida al catecol y un hidroxilo del grupo catecol. Siendo la señal de 0.42V a 0.47V la correspondiente a la epinefrina y sin tener una señal aparente de reducción a este proceso resulta ser irreversible.

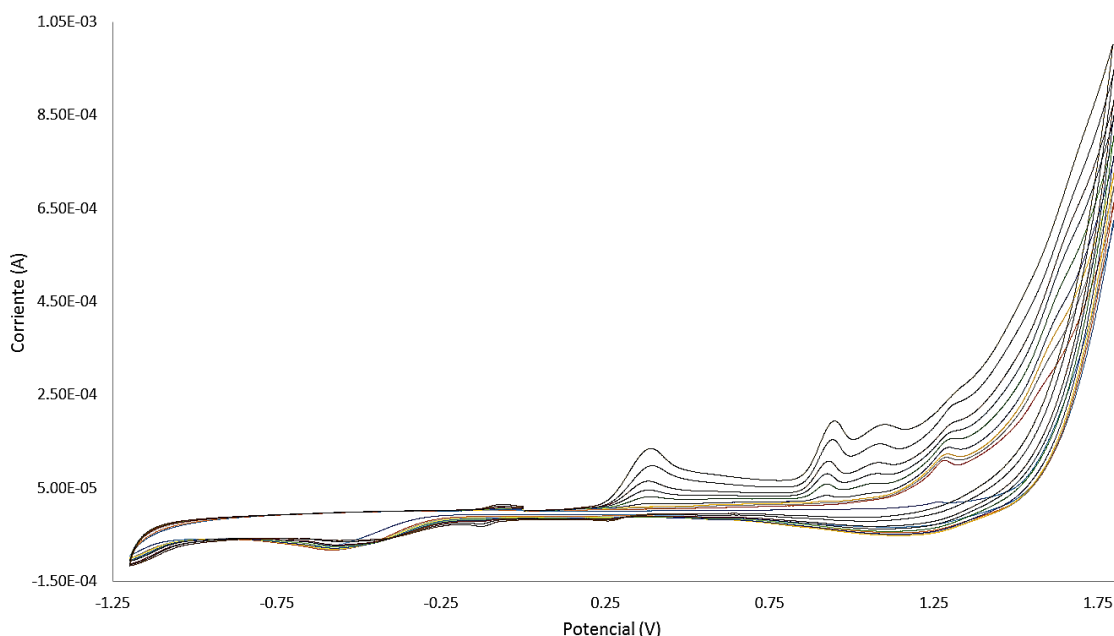


Figura 4-2.11 VC de EPCM con PdCaBA, resultado de las adiciones consecutivas de DOPA aumentando la concentración de 2ppm hasta 200ppm y dando como resultado una respuesta de incremento en los procesos de oxidación como en los de reducción. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico a una velocidad de barrido de 100 mV/s.

En la familia de voltamperogramas correspondientes a EPCM con PdCaBA (figura 4-2.1) se pueden apreciar los aumentos de concentración de forma constante y con un ligero desplazamiento debido a las adiciones de DOPA en E_p^a a 0.38V, y un pico de reducción presente en E_p^c a 0.26V que solo se aprecia en las concentraciones más altas del experimento y con una muy baja intensidad de corriente, De igual manera como ocurre en el caso de la epinefrina se aprecia un proceso de reducción en E_p^c a -0.13V con su respectiva oxidación en E_p^a a -0.06V justo antes de que termine el ciclo y el cual no aparece sin ocurrir antes la reducción. Tomando en cuenta estos dos potenciales se puede comprobar la reversibilidad de acuerdo a la ecuación 1.12 sustituyendo los valores de potencial de pico de oxidación como de reducción obtenemos:

$$130mV - 60mV = \frac{2.22RT}{n}$$

$$70mV = \frac{56mV}{n}$$

En este proceso las señales de oxidación y reducción aunque parece que están bastante cerca no cumplen con la ecuación anterior para un proceso reversible, el caso de un cálculo preliminar correspondiente a las intensidades de los picos de acuerdo con las señales más intensas y con la relación $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 1$, obtenemos que $\frac{i_p^a}{i_p^c} = 2.62$, siendo casi tres veces mayor el proceso de oxidación que el de reducción este proceso no es reversible.

4.3 Determinación.

En los siguientes voltamperogramas diferenciales de pulso (DPV) se muestran los resultados de diferentes concentraciones de D-Glucosa, catecol, Dopamina, Epinefrina y Dopa en la región de oxidación, en la que se pueden observar mejor los procesos de oxidación antes mencionados en sus respectivas caracterizaciones por CV.

En la figura 4-3.1 se presenta VDP para las lecturas de las diferentes concentraciones de D-Glucosa en la región de oxidación, en la que se pueden observar mejor los procesos de oxidación antes mencionados, la primer señal que se observa cerca de 0.50V es la correspondiente a D-Glucosa con su respectivo gráfico de intensidad de corriente en función de las concentraciones en la miniatura, a partir del cual se aprecia que dicho proceso de oxidación sigue una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de $0.9914 \pm 1.23E-07$. También es apreciable una señal grande cerca de 1.8V el cual, por la caracterización de los electrodos, pertenece a la modificación del EPCM con PdCaBA, en la figura 4-3.1.1 se observa el gráfico de intensidad de corriente en función de la concentración de D-Glucosa en el que se puede observar que sigue tres tendencias lineales de acuerdo a la concentración. Dichas tendencias se asocian a procesos relacionados con la modificación de la pasta de carbono con PdCaBA en los límites de la ventana de potencial, así como se puede observar en los CV realizados para la glucosa, las señales en el área de reducción entre los potenciales de -0.9 a -0.4V, los cuales también cambia su comportamiento dependiendo del rango de concentraciones del que se esté hablando.

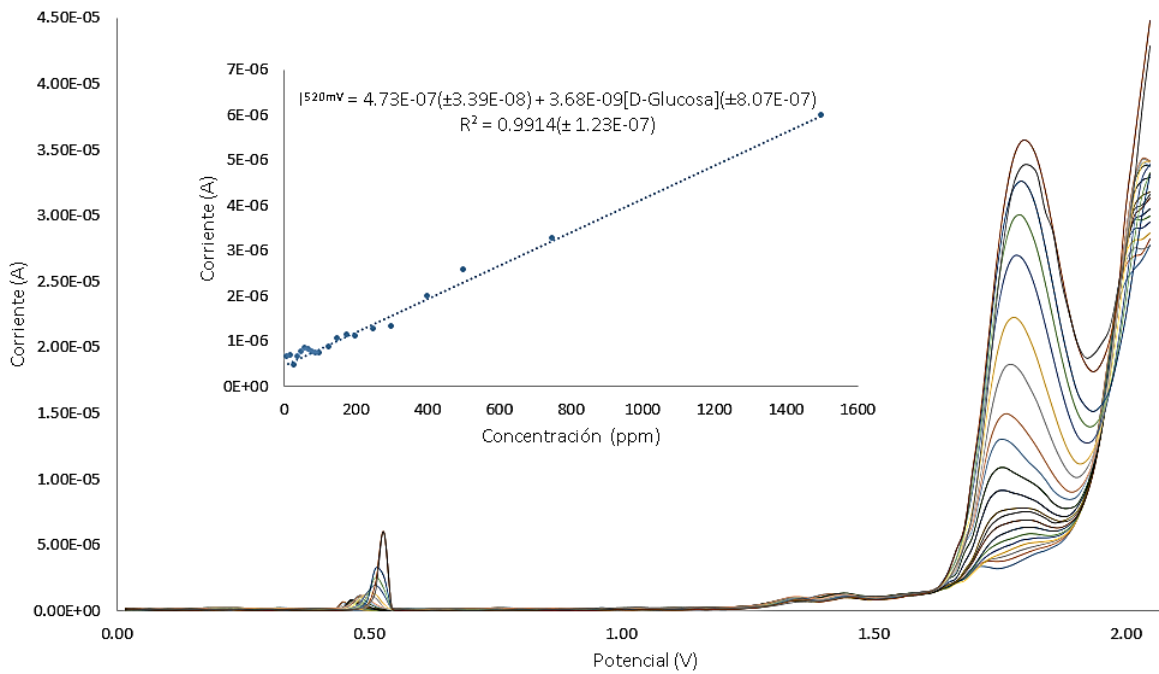


Figura 4-3.1 PDV de D-Glucosa, resultado de las adiciones consecutivas con concentraciones de 10 ppm a 1500 ppm. Los barridos fueron iniciados de Ei=0 V hacia sentido catódico hasta 2.05V.

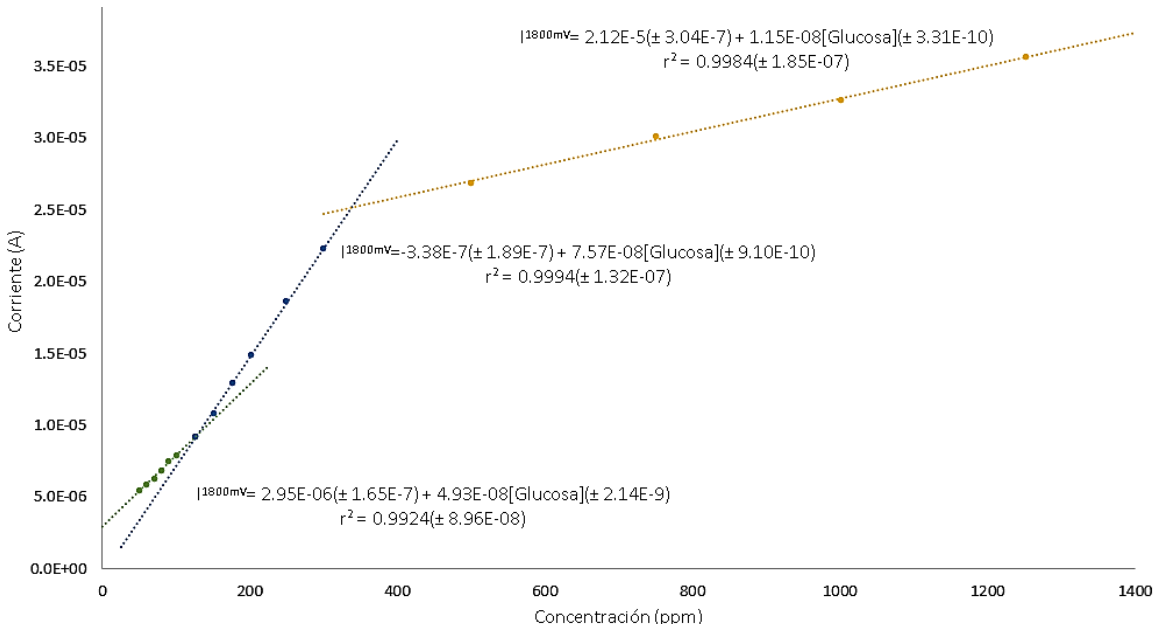


Figura 4-3.1.1 Relación de intensidad de corriente en función de la concentración de D-Glucosa al segundo proceso de oxidación.

En la figura 4-3.2 se presenta VDP para las lecturas de las diferentes concentraciones de catecol en la región de oxidación, la señal i_p^a que se observa en 0.516V es la correspondiente a catecol con su respectivo grafico de intensidad de corriente en función de las

concentraciones en la miniatura, a partir del cual se aprecia que dicho proceso de oxidación sigue una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de $0.9982 \pm 2.86E-07$.

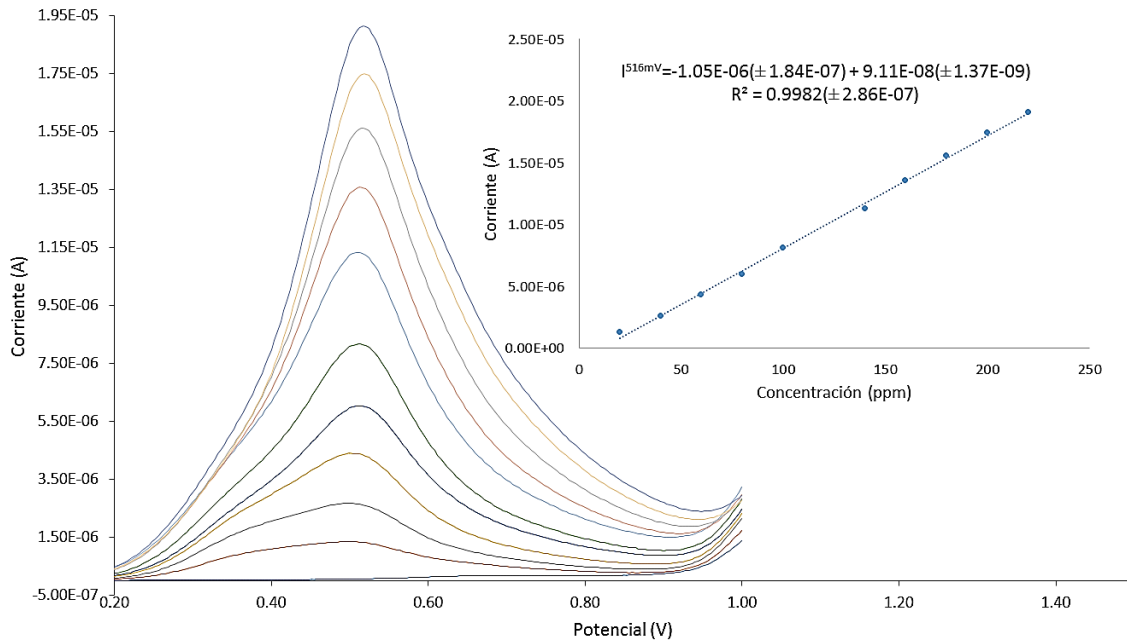


Figura 4-3.2 PDV de catecol, resultado de las adiciones consecutivas con concentraciones de 20ppm a 220ppm. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ V hacia sentido catódico hasta 1V.

En 0.35V se observa una perturbación a concentraciones de catecol bajas, la cual se va perdiendo a mayores concentraciones, dicha perturbación puede hacer referencia a un proceso a oxidación acoplado por alguno de los grupos hidroxilo del catecol.

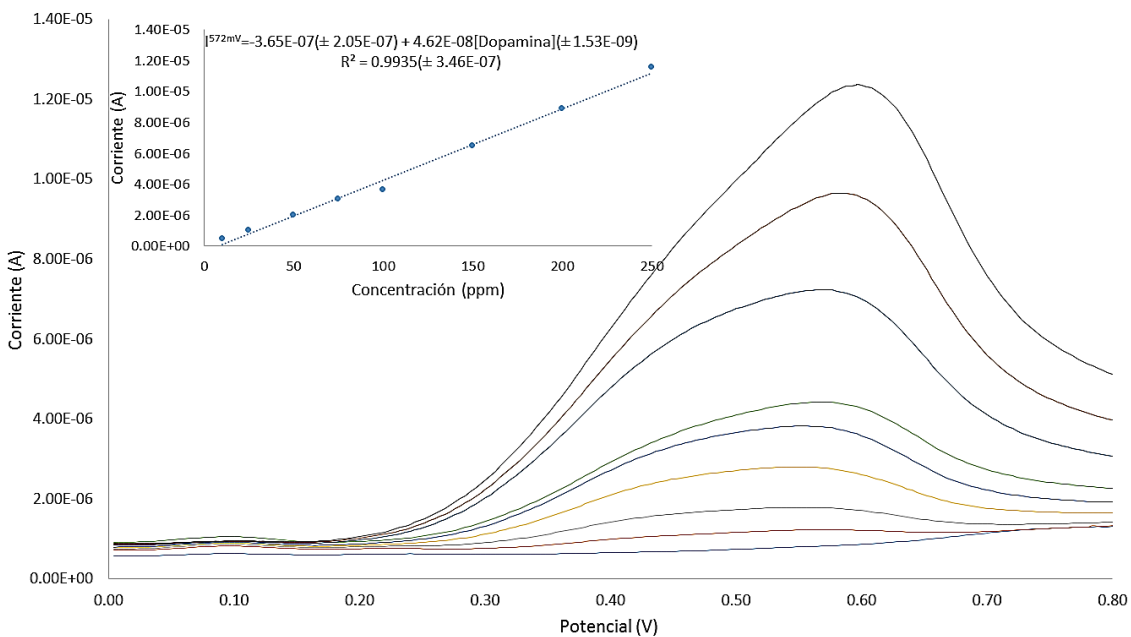


Figura 4-3.3 PDV de Dopamina, resultado de las adiciones consecutivas con concentraciones de 10ppm a 250ppm. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ V hacia sentido catódico hasta 0.8V

En la figura 4-3.3 se presenta VDP para las lecturas de las diferentes concentraciones de Dopamina en la región de oxidación, la señal i_p^a que se observa cerca de 0.572V es la correspondiente al analito en cuestión, en la miniatura se encuentra un gráfico de intensidad de corriente en función de las concentraciones a partir del cual se aprecia que dicho proceso de oxidación sigue una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de $0.9935 \pm 3.46E-07$. En 0.4V se observa una perturbación a concentraciones bajas de Dopamina, la cual se va perdiendo a mayores concentraciones, dicha perturbación puede hacer referencia a un proceso a oxidación acoplado por alguno de los grupos hidroxilo del analito.

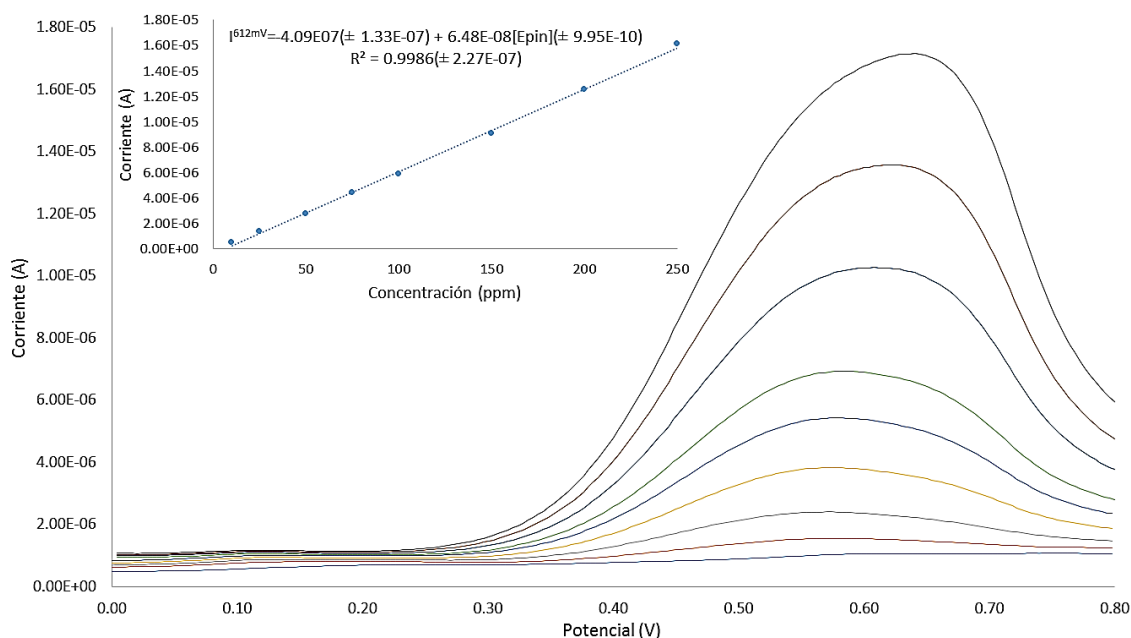


Figura 4-3.4 PDV de Epinefrina, resultado de las adiciones consecutivas con concentraciones de 10ppm a 250ppm. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ V hacia sentido catódico hasta 0.8V

En la figura 4-3.3 se presenta VDP para las lecturas de las diferentes concentraciones de Epinefrina en la región de oxidación, la señal i_p^a que se observa cerca de 0.612V es la correspondiente al analito en cuestión, en la miniatura se encuentra un gráfico de intensidad de corriente en función de las concentraciones a partir del cual se aprecia que dicho proceso de oxidación sigue una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de $0.9986 \pm 2.27E-07$. Los voltamperogramas por si solos son bastante anchos, como consecuencia en 0.52V se observa una perturbación a concentraciones bajas de Epinefrina, la cual se va perdiendo a mayores concentraciones (aunque en este caso no se logra definir del todo en las concentraciones ocupadas durante el experimento) dicha perturbación puede hacer referencia a un proceso a oxidación acoplado por alguno de los grupos hidroxilo del analito.

En la figura 4-3.4 se presenta VDP para las lecturas de diferentes concentraciones de DOPA desde 2ppm hasta 200ppm, esto para observar un límite de detección aprovechando la baja

solubilidad de esta catecolamina en medio acuoso. La señal de oxidación que se observa en i_p^a a 0.58V es la correspondiente al analito en cuestión, en la miniatura de la figura se encuentre el grafico de la relación entre intensidad de corriente en función de las concentraciones a partir del cual se aprecia que dicho proceso de oxidación sigue una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de $0.9968 \pm 1.94E-07$. Los voltamperogramas por si solos son bastante anchos, como consecuencia es hasta 0.5V se observa una mejor definición de la señal a concentraciones altas, mientras que a concentraciones bajas no se logra definir bien, esto puede ser de igual manera por un proceso de oxidación acoplado por alguno de los grupos hidroxilo del analito.

Cabe resaltar que aunque los VDP de las catecolaminas se realizaron con ventanas de potencial de -0.4V hasta 1.4V no se observaron perturbaciones importantes como es en el caso de DOPA en su CV que parecen existir señales cerca de 0.95V, así como en el caso de epinefrina y DOPA con sus señales aparentemente reversibles cerca de 0V.

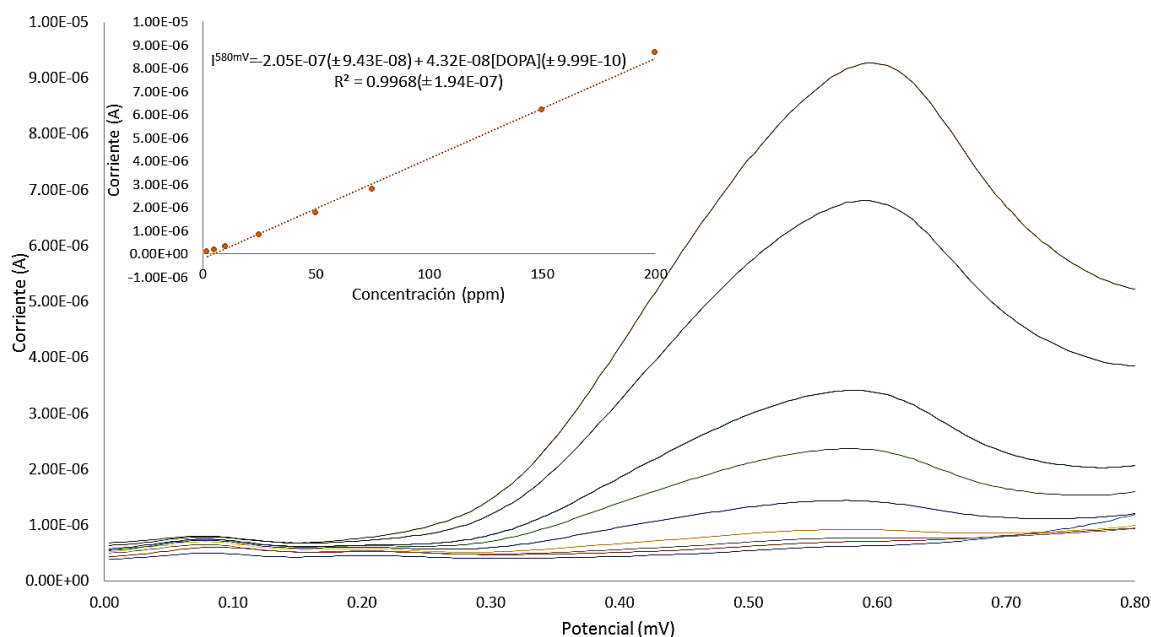


Figura 4-3.5 PDV de DOPA, resultado de las adiciones consecutivas con concentraciones de 2ppm a 200ppm. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ V hacia sentido catódico hasta 0.8V

4.3.1 Límites de detección y cuantificación

En la tabla 4-3.1 se aprecian los valores utilizados para la determinación de los límites de detección y cuantificación para cada uno de los analitos determinados.

Tabla 4-3.1 Límites de detección y cuantificación en ppm y mM para los diferentes analitos estudiados.

	Catecol	Dopa	Dopamina	Epinefrina	Glucosa	
Blanco	7.21335E-08	6.29087E-07	8.06869E-07	1.03816E-06	1.19298E-07	
Desv. Estd.	7.87259E-09	6.92549E-09	1.52526E-08	1.11571E-08	1.77663E-07	
Pendiente	9.10863E-08	4.31597E-08	4.62479E-08	6.48078E-08	3.68201E-09	
Intercepto	-1.0462E-06	-2.05276E-07	-3.64796E-07	-4.08903E-07	4.72743E-07	
LD	ppm	12.53706871	19.81337546	26.32387787	22.84506401	48.76271431
	mM	0.113973352	0.100478602	0.138809734	0.103997196	0.270663379
LC	ppm	13.14207842	20.93660826	28.63249315	24.05015656	386.5247237
	mM	0.11947344	0.106174797	0.150983406	0.109483118	2.145452507

Como se puede observar en la tabla el EPCM con PdCaBA tiene más afinidad a las catecolaminas que a la glucosa ya que tienen valores más pequeños tanto en LD como en LC en comparación. Tal como se tenía previsto debido al grupo aromático que contienen y por el hecho de tener dioles rígidos en cis, cosa que no ocurre en la glucosa debido a la mutrorrotación.

4.4 Numero de electrones

4.4.1 Aplicación de la ecuación de Randles-Sevcik

Al conocer los perfiles de CV para el catecol, se redujo la ventana de potencial en la cual aparecen tanto el pico de oxidación como el de reducción; en el CV es importante saber que limita la transferencia de carga. Para ello se lleva a cabo un estudio de CV para diferentes velocidades de barrido de potencial. En la figura 4-4.1 se presenta una familia de Voltamperogramas de CV a diferentes velocidades de barrido de potencial para catecol (pH 7) a 150ppm, las cuales van desde 10mV/s hasta 130mV/s, se puede observar que al aumentar la velocidad de barrido de potencial aumenta la corriente de pico y el potencial de pico se recorre a potenciales más positivos.

Al graficar la corriente de pico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial se observa que presenta una tendencia lineal (figura 4-4.1.1), la ecuación de la recta corresponde $i_p^a = 4.78E-06(\pm 7.14E-07) + 5.37E-05[As^{0.5}/mV^{0.5}](\pm 8.53E-08)$ con un coeficiente de correlación de $0.9876(\pm 6.08E-07)$, de acuerdo con la expresión de Randles-Sevcik (ecuación 1.1) la transferencia de carga está limitada por adsorción sobre la superficie del electrodo por su comportamiento lineal y su coeficiente de correlación alejado del origen.

Para corroborar que la transferencia de carga está controlada por adsorción se graficó $\ln(i_p^a)$ vs $\ln(v)$ (figura 4-4.1.1.1) con el criterio de que si la pendiente es igual a 0.5 es un proceso de difusión y si es diferente de 0.5 es de adsorción.

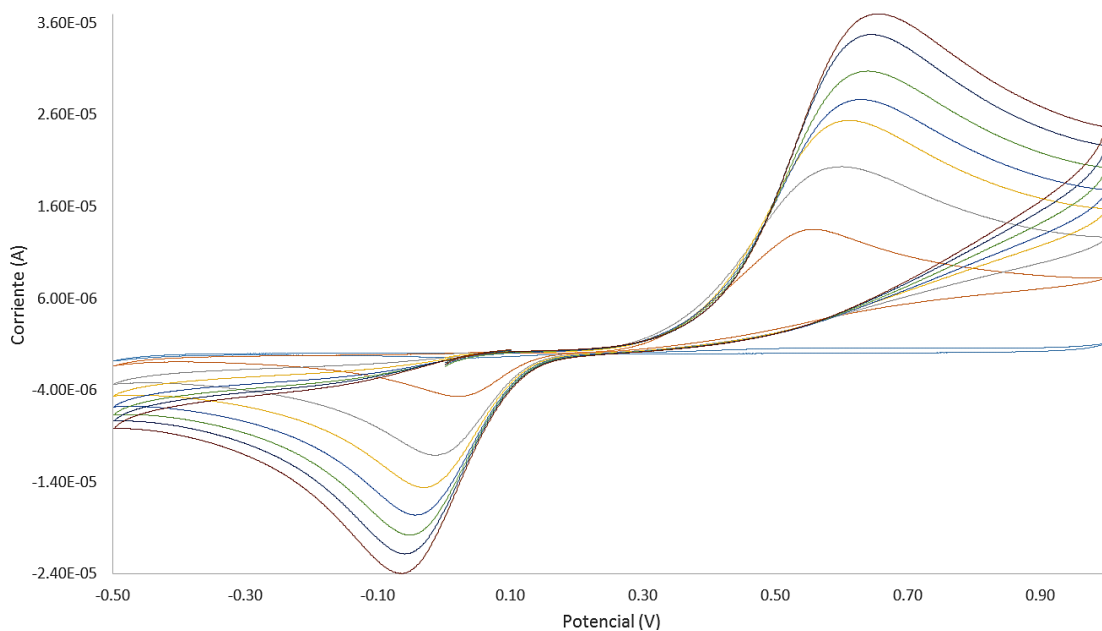


Figura 4-4.1 VC de EPC con PdCaBA, resultado de diferentes velocidades de barrido manteniendo 150ppm de catecol a pH7, dando como resultado aumentos en las señales de pico anódico como catódico. Los barridos fueron iniciados de $E_i=0$ hacia sentido anódico con una ventana de potencial reducida de -0.5V hasta 1V.

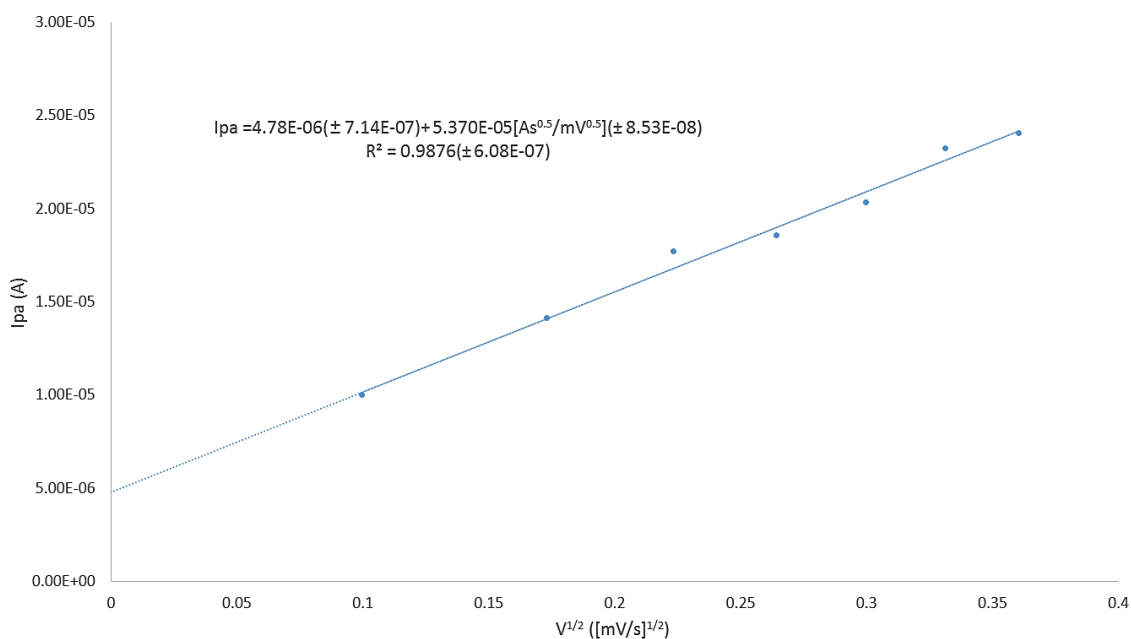


Figura 4-4.1.1 Relación $i_p^a = f(v^{0.5})$ correspondiente a la figura 4.4.1.

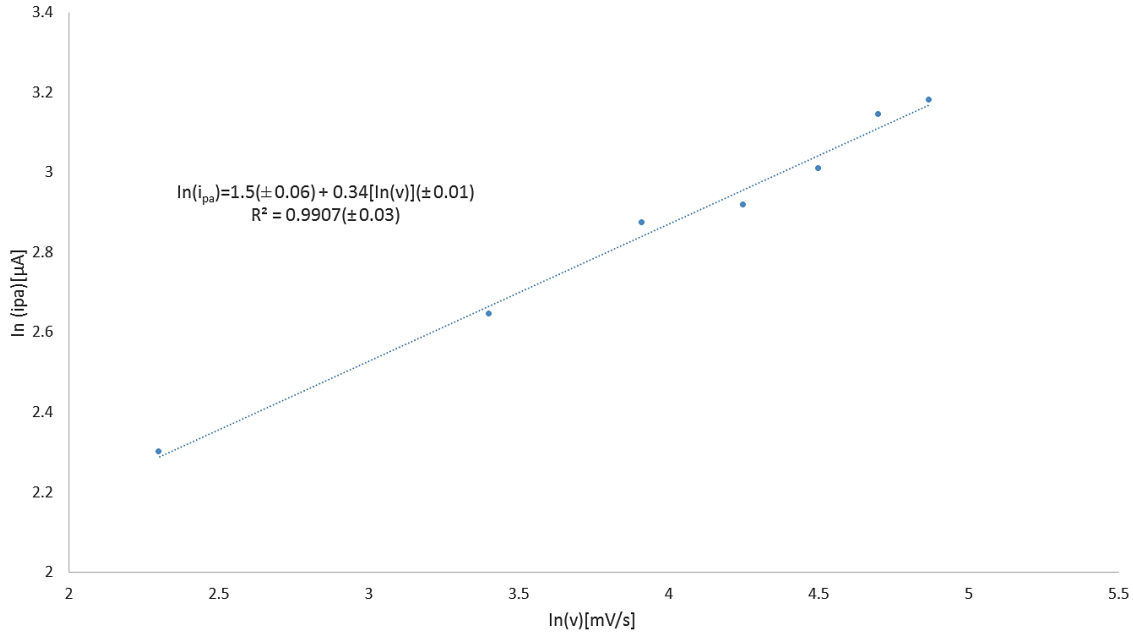


Figura 4-4.1.1.1 Relación $\ln(i_p^a) = f(\ln(v))$ correspondiente a la figura 4-4.1.1.

Como se puede observar la pendiente de la recta es 0.34 ± 0.01 que no se aproxima lo suficiente a 0.5 lo cual indica que la transferencia de carga está controlada por adsorción.

Como la gráfica $i_p = f(v^{1/2})$ presenta el perfil de una línea recta, de cuya pendiente se puede extraer información analítica importante, es posible determinar el número de electrones que participan en la reacción electroquímica en medio acuoso, para esto es necesario conocer el valor de uno de los parámetros. Una manera de conocer el número de electrones, sin conocer el valor del coeficiente de difusión, es mediante CPE.

4.4.2 Aplicación de la ecuación de Cottrell.

En la figura 4-4.2 se muestran los cronoamperogramas ($i = f(t)$) para diferentes potenciales impuestos, los cuales van de 0.2V a 0.8V y en su inserto el gráfico de $i = f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.51V conforme la ecuación 1.15. La ecuación de la recta corresponde a $i_p^a = 3E-06(\pm 4.57E-09) + 5E-06[s^{-0.5}](\pm 1.72E-08)$, con un coeficiente de correlación de $0.9945(\pm 4.32E-08)$.

A partir de la familia de cronoamperogramas de la figura 4-4.2 es posible construir curvas de $i = f(E)$ para diferentes tiempos de muestreo como se muestra en la figura 4-4.2.1.

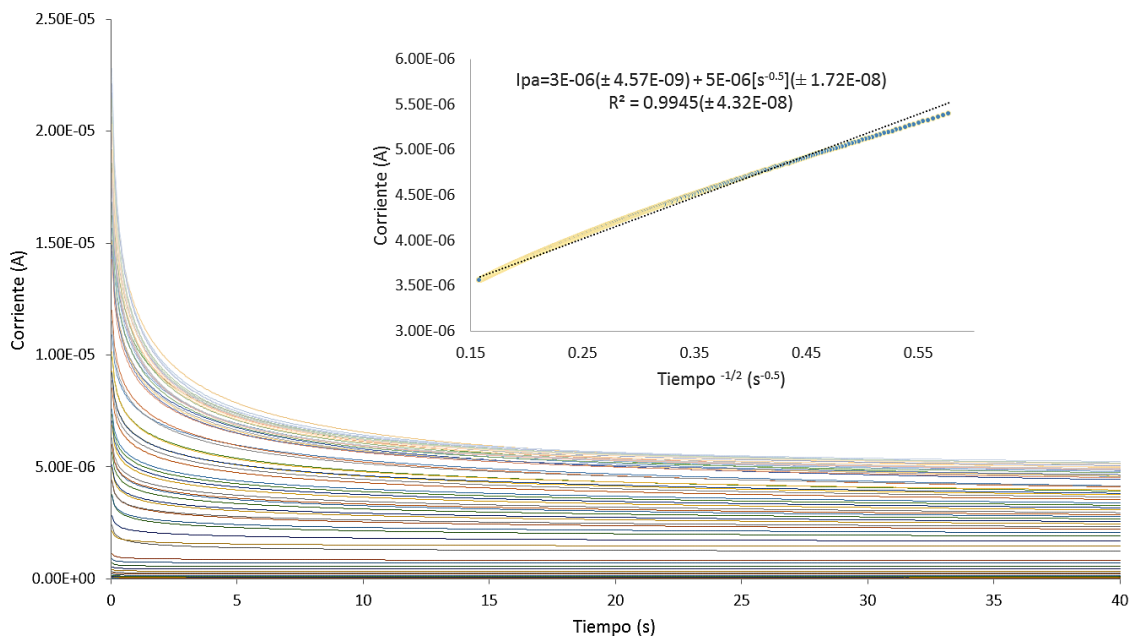


Figura 4-4.2 Familia de cronoamperogramas de EPCM con PdCaBA en 1500ppm de catecol pH 7 para diferentes potenciales que va de 0.2V a 0.8 V. En la miniatura se presenta el gráfico de $i = f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.51 V.

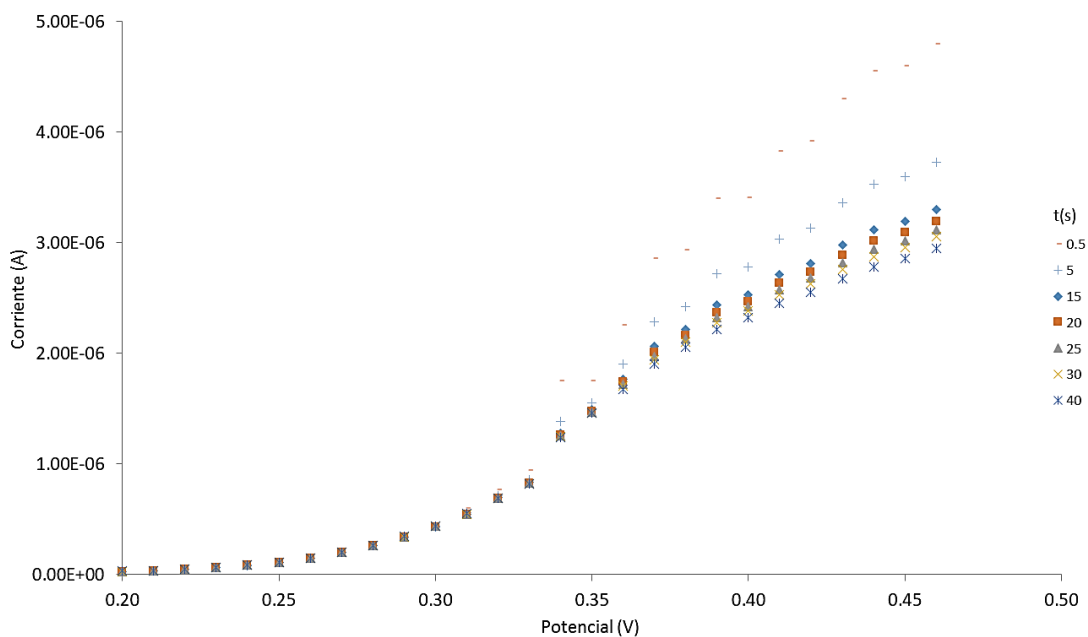


Figura 4-4.2.1 Curvas de corriente en función de potencial para diferentes tiempos mostrados en la figura obtenida a partir de la familia de cronoamperogramas de la figura 4-4.2.

De las curvas obtenidas en la figura 4-4.2.1 y usando la ecuación Heyrovsky-Ilkovic (ecuación 1.16) es posible construir el gráfico potencial en función de $\log(i/(i_l - i))$ para diferentes tiempos de muestra (Bard & Faulker, 2000).

En la figura 4-4.3 se muestra un ejemplo de los datos experimentales, los cuales son descritos por la ecuación 1.16 a un tiempo de muestreo de 5s, con el valor de la pendiente y el de la intersección al eje de la recta es posible determinar n. En la tabla 4-4.1 se muestran los valores calculados de n para distintos tiempos de muestreo, t.

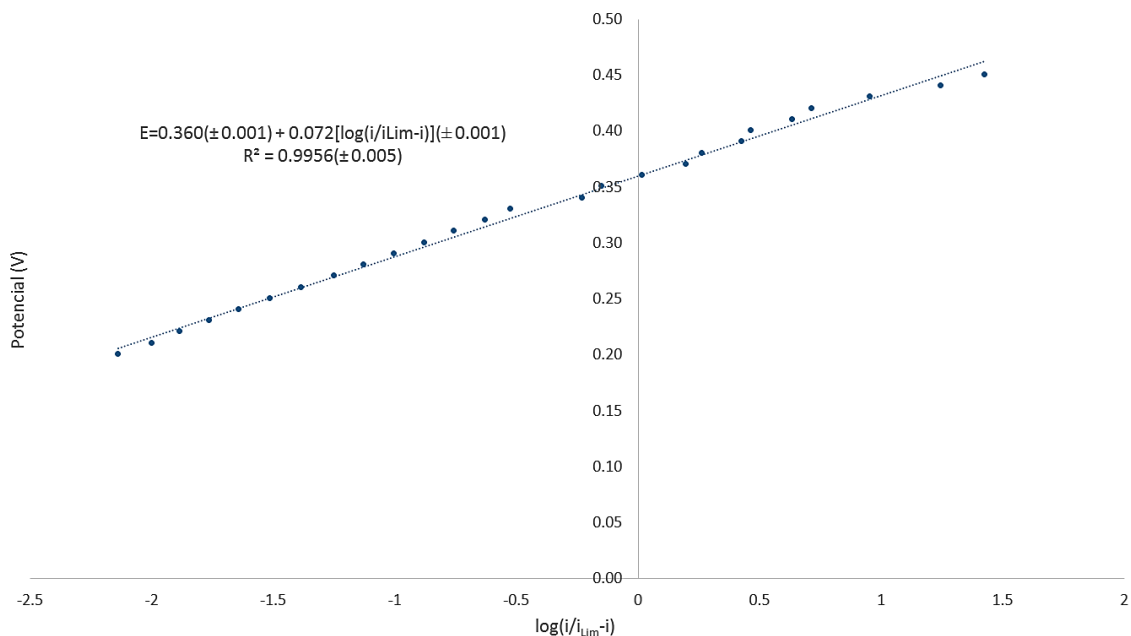


Figura 4-4.3 Curva $E = f\left(\log\left(\frac{i}{i_{Lim}-i}\right)\right)$ para un tiempo de muestreo de 5s.

Tabla 4-4.1 Calculo de número de electrones, n, para diferentes tiempos de muestreo a partir de las curvas $E = f(\text{Log}(i/i_{Lim}-i))$

Pendiente (V)	Tiempo (s)	n
0.071 (± 0.0012)	0.5	0.832 (± 0.0686)
0.072 (± 0.0010)	5	0.820 (± 0.0702)
0.073 (± 0.0009)	15	0.809 (± 0.0712)
0.073 (± 0.0009)	20	0.806 (± 0.0715)
0.074 (± 0.0009)	25	0.803 (± 0.0717)
0.074 (± 0.0008)	40	0.798 (± 0.0723)

Por lo tanto, los valores obtenidos fueron $n = 0.8113 \pm 0.0125$. Lo que estaría muy cerca de $n \approx 1$.

4.4.3 Aplicación de DPV

Con el fin de confirmar el valor de n, se utiliza la técnica VDP ya que de acuerdo con (Parry & Osteryoung, 1965) y (Brett & Brett, 1993) cuando ΔE se aproxima a cero se cumple la

ecuación 1.14, por lo tanto, el número de electrones se puede estimar usando la ecuación con $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$. En la figura 4-4.4 se muestra el VDP bajo condiciones estacionarias) para diferentes amplitudes de pulso, ΔE .

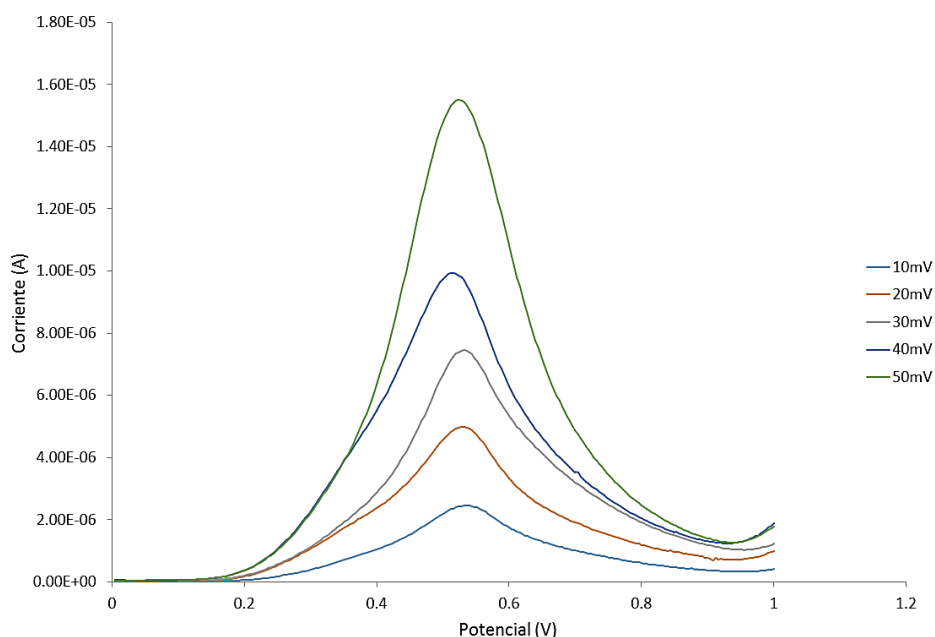


Figura 4-4.4 VDP de EPCM con PdCaBA en presencia de 150ppm de catecol a pH 7, para las diferentes amplitudes de pulso mostradas en la figura.

Para diferentes amplitudes de pulso, ΔE , se tienen diferentes alturas de pico medio, con estas alturas es posible calcular $W_{1/2}$, en la tabla 2 se puede observar el número de electrones, n , obtenido para las diferente amplitudes de pulso y $W_{1/2}$.

Tabla 4-4.2 Número de electrones obtenidos y amplitud de onda media a partir de la ecuación 1.14.

ΔE (V)	$W_{1/2}$ (V)	n
0.01	0.216 (\pm 0.003)	0.8233 (\pm 0.025)
0.02	0.212 (\pm 0.002)	0.8388 (\pm 0.029)
0.03	0.216 (\pm 0.003)	0.8233 (\pm 0.033)
0.04	0.220 (\pm 0.003)	0.8083 (\pm 0.042)
0.05	0.212 (\pm 0.002)	0.8388 (\pm 0.035)

Como se puede observan en la Tabla 4-4.2, el número de electrones transferidos se aproxima a $n \approx 1$ cuando ΔE tiende a cero, lo que está de acuerdo con el valor estimado en los experimentos de cronoamperometría para las curva de corriente-potencial.

4.4.4 Relación entre Randles-Sevcik y Cottrell

Otra manera de determinar el número de electrones que participan en la reacción es relacionando los dos métodos anteriores, igualando la ecuación 1.1 y 1.15 (Martínez M. , 2018). Por lo que haciendo el cociente de las dos ecuaciones obtenemos lo siguiente:

$$\frac{m_{\text{Randles-Sevcik}}}{m_{\text{Cottrell}}} = \frac{0.4463nFs \left[\frac{nF}{RT} \right]^{\frac{1}{2}} CD^{\frac{1}{2}}}{nFAC\pi^{-\frac{1}{2}}D^{\frac{1}{2}}}$$

Eliminando términos comunes obtenemos que:

$$\frac{m_{\text{Randles-Sevcik}}}{m_{\text{Cottrell}}} = 0.4463 \left[\frac{nF}{RT} \right]^{\frac{1}{2}} n^{\frac{1}{2}}$$

Despejando n, y sustituyendo las constantes para una temperatura de 20°C, obtenemos:

$$n = \left[\frac{m_{\text{Randles-Sevcik}}}{4.977m_{\text{Cottrell}}} \right]^2$$

Sustituyendo en la ecuación anterior las pendientes de las rectas obtenidas, tenemos que:

$$n = \left[\frac{5E - 05}{4.977(5E - 06)} \right]^2 = 4.03 \approx 4$$

El número resultante mediante la igualación de estos dos métodos es diferente al obtenido con los métodos por separado, esto muy probablemente a que en los métodos por separado solo se ve una parte del proceso y es la igualación de los métodos se ven todos los procesos acoplados como uno solo.

V CONCLUSIONES

Se sintetizó y estudió PdCaBA fácilmente y con un buen porcentaje de rendimiento para la elaboración de un EPCM con baja concentración del compuesto y mostrando una buena respuesta electroquímica, funcionando en una amplia ventana de potencial, suficiente para observar los picos característicos de oxidación, como de reducción en algunos casos, de D-Glucosa, L-DOPA, Dopamina y Epinefrina en medio acuoso de fosfatos a pH7.

Por medio del estudio de CV se determinó que el proceso de transferencia de carga está determinado por la adsorción, tomando esto en cuenta, a pesar de que el proceso de formación del éster diol-ácido borónico sea reversible, en la mayoría de los casos estudiados resultaron procesos de cuasirreversibilidad en el que no todo el analito oxidado se reduce.

Debido a la caracterización de los analitos con el EPCM con PdCaBA fue posible probar la determinación de dichos dioles biológicos, obteniendo sus límites de detección relativamente bajos, seguido de un orden de selectividad Catecol > L-DOPA > Epinefrina > Dopamina > Glucosa, con lo que dicho EPCM puede ser utilizado para la determinación de glucosa en sangre ya que debería de tener una concentración normal en sangre de 700-1000ppm, así como la determinación de catecolaminas en algunos fármacos, como por ejemplo el clorhidrato de dopamina que se vende en solución inyectable de 40000ppm.

Aunque durante la caracterización de los analitos fue fácil la apreciación de las señales analíticas para cada analito en cuestión, para los casos de las catecolaminas parece haber más de un proceso acoplado en la señal analítica, y esto se ve reflejado en la determinación del número de electrones intercambiados durante el proceso electroquímico, en que para los métodos individuales se obtienen resultados muy cercanos a un electrón intercambiado, y al momento de igualar dos métodos se obtiene un número de electrones cercano a cuatro electrones, que tiene sentido si se toma en cuenta que dos electrones son los que se intercambian entre un ácido borónico y un catecol (Pizer & Babcock, 1977); esto se puede deber a que al igualar los métodos se estudia en su totalidad todo el intervalo de potencial para la señal analítica y en el caso del estudio individual solo se estudia una parte de este, como en el caso de la aplicación de la ecuación de Cottrell en el que el estudio solo se enfoca hasta el potencial de media onda.

Con todo lo anterior mencionado fue posible la elaboración de EPCM con PdCaBA para la determinación de algunos dioles de interés biológicos, mostrando buenos resultados en cuanto a límites de detección en medio acuoso y a pH fisiológico.

VI REFERENCIAS

- Abel, E., Wilkinson, G., & Stone, F. (1995). *Comprehensive Organometallic Chemistry II* (Primera ed.). Pergamon.
- Allen, B., & Foulken, L. (2000). *Electrochemical methods Fundamentals and applications* (Segunda ed.). U.S.A: Wiley.
- Arimori, S., Ushiroda, S., Peter, L., Jenkins, A., & James, T. (2002). A modular electrochemical sensor for saccharides†. *Chemical Communications*, 20, 2358-2369.
- Babcock, L., & Pizer, R. (1980). Dynamics of boron acid complexation reactions. Formation of 1:1 boron acid-ligand complexes. *Inorganic Chemistry*, 19(1), 56-61.
- Badugu, R., & Lakowicz, J. (2005). Boronic acid fluorescent sensors for monosaccharide signaling based on the 6-methoxyquinolinium heterocyclic nucleus: progress toward noninvasive and continuous glucose monitoring. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(1), 113-119.
- Bard, A., & Faulker, L. (2000). *Electrochemical Methods and Applications*. New York: Wiley Interscience.
- Beachell, H., & Beistel, D. (1964). Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Phenylboronic Acids. *Inorganic Chemistry*, 3(7), 1028-1032.
- Bradke, T., Hall, C., Carper, S., & Plopper, G. (2001). Phenylboronic acid selectively inhibits human prostate and breast cancer cell migration and decreases viability. *Cell Adhesion & Migration*, 2(3), 153-160.
- Brett, C., & Brett, A. (1993). *Electrochemistry Principles, Methods and Applications*. Oxford: Oxford University Press.
- Bukowska, B., & Kowalska, S. (2004). Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicology Letters*, 152(1), 73-84.
- Castellan, W. (1998). *Fisicoquímica* (Segunda ed.). México: Pearson.
- Esquenoni, S., Mengershausen, A., & Sustersic, M. (2007). Estudio Electroquímico del Ácido 3,4Dihidroxifenilacético (DOPAC) Adsorbido sobre Oro. *Información Tecnológica*, 18(1), 3-8.
- Ferrier, R. (1978). Carbohydrate Boronates. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 35, 31-80.
- Fogg, A., & Wang, J. (1999). Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 71(5), 891-897.
- Gomez Biedma, S., Soria, E., & Vivo, M. (2002). Análisis Electroquímico. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 51(1), 18-27.
- Gorla, F., & Tarley, C. (2014). Determinação Simultânea de Hidroquinona, Catecol, Guaiacol e 4Nitrofenol Empregando Eletrodo de Nanotubo de Carbono e Surfactante. *Sociedade Brasileira de Química*.

- Gosser, D. (1993). *Cyclic voltammetry, Simulation and analysis of reaction mechanisms*. New York: VCH.
- Hall, D. (2005). *Boronic Acids*. Germany: Wiley-VCH.
- Harnly, J., Bhagwat, S., & Lin, L. (2007). Profiling methods for the determination of phenolic compounds in foods and dietary supplements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 47-61.
- Harris, D. (2001). *Análisis Químico Cuantitativo* (Segunda ed.). España: Reverté.
- Hurtley, S., Service, R., & Szuromi, P. (2001). Cinderella's Coach Is Ready. *Science*, 291(5512), 2337.
- Irons, R. (1985). Quinones as toxic metabolites of benzene. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 16(5), 673-678.
- Kasa, T., & Solomon, T. (2016). Cyclic Voltammetric and Electrochemical Simulation Studies on the Electro-Oxidation of Catechol in the Presence of 4, 4'-bipyridine. *American Journal of Physical Chemistry*, 5(3), 45-55.
- Lacina, K., & Skládal, P. (2011). Ferroceneboronic acid for the electrochemical probing of interactions involving sugars. *Electrochimica Acta*, 56(27), 10246-10252.
- Li, M., Zhu, W., Marken, F., & James, T. (2015). Electrochemical Sensing using Boronic Acids. *Chemical Communications*, 51(78), 14562-14573.
- Lorand, J., & Edwards, J. (1959). Poliol Complexes and Structure of the Benzeneboronate Ion. *Journal of Organic Chemistry*, 24(6), 769-774.
- Macfarlane, D., Zhou, Z., & Newman, P. (2004). Differential pulse voltammetry studies of heavy metal fluoride melts. *Journal of Applied Electrochemistry*, 34(2), 197-204.
- Martínez, M. (2018). Caracterización y cuantificación electroquímica de piroxicam sobre un electrodo de pasta de carbono. *Tesis para obtener el grado de: Maestro en Ciencias (Química)*, 19.
- Martínez, M., Martínez, D., & et. al. (2017). Anion and sugar recognition by 2,6-pyridinedicarboxamide bis-boronic acid derivatives. *Heterocyclic Communications*, 23(3), 171-180.
- Matteson, D. (1995). *Stereodirected Synthesis with Organoboranes*. Berlin: Springer.
- Matteson, D., & Adiel, C. (2016). *Boron Reagents in Synthesis* (Vol. 1236). American Chemical Society.
- McKee, T., & McKee, J. (2014). *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida* (Quinta ed.). México: McGRAW-HILL.
- Montañez, J., Ramos, E., Alegret, S., & Delgado, R. (2011). Biosensor de Glucosa basado en un Biocompósito disperso de Grafito-Epoxi-Platino-Glucosa Oxidasa. *Información Tecnológica*, 22(1), 29-40.

- Nicoll, R., Malenka, R., & Kauer, J. (1990). Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. *Physiological Reviews*, *70*, 513-565.
- Ori, A., & Shinkai, S. (1995). Electrochemical Detection of Saccharides by the Redox Cycle of a Chiral Ferrocenylboronic Acid Derivative: a Novel Method for Sugar Sensing. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, *17*, 1771-1772.
- Pareek, A., Rani, P., Kumar, N., & Sharma, P. (2013). Structure, properties and derivatives of boronic acid. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, *4*(3), 25-32.
- Parry, E., & Osteryoung, R. (1965). Evaluation of Analytical Pulse Polarography. *Analytical Chemistry*, *37*, 1634-1637.
- Pérez, M., Agnes, L., & Felix, F. (2009). Comportamiento electroquímico de un biosensor para la determinación de compuestos fenólicos usando la enzima polifenol oxidasa. *AFINIDAD*, 488-492.
- Pizer, R., & Babcock, L. (1977). Mechanism of the Complexation of Boron Acids with Catechol and Substituted Catechols. *Inorganic Chemistry*, *16*(7), 1677-1681.
- Shaarani, T., Yu, J., & et. al. (2018). Synthesis of hydrogels-bearing phenylboronic acid moieties and their applications in glucose sensing and insulin delivery. *Journal of Materials Chemistry*, 3831-3854.
- Skoog, D., Holler, F., & Nieman, C. (2001). *Análisis Instrumental* (Quinta ed.). España: McGraw Hill.
- Snyder, H., Kuck, J., & Johnson, J. (1938). Organoboron Compounds, and the Study of Reaction Mechanisms. Primary Aliphatic Boronic Acids. *Journal of the American Chemical Society*, *60*(1), 105-111.
- Springsteen, G., & Wang, B. (2002). A detailed examination of boronic acid-diol complexation. *Tetrahedron*, *58*, 5291-5300.
- Strawbridge, S., Green, S., & Tucker, J. (2000). Electrochemical detection of catechol and dopamine as their phenylboronate ester derivatives. *Chemical Communications*, 2393-2394.
- Vidal, J. (2006). *Psiconeuroinmunología*. Barcelona: Edicions Universitat Barcelona.
- Wang, J. (2001). *Analytical Electrochemistry*. New York: Wiley-VCH.
- Wilson, G., & Hu, Y. (2000). Enzyme-based biosensors for in vivo measurements. *Chemical Reviews*, *100*(7), 2693-2704.
- Yan, Y., Wu, L., Guo, Q., & Huang, S. (2015). A Novel Catechol Electrochemical Sensor Based on Cobalt Hexacyanoferrate/(CoHCF)/Au/SBA-15. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, *6*(6).
- Yang, K., Chen, X., Ni, J., & et. al. (2010). Palygorskite-expanded graphite electrodes for catalytic electro-oxidation of phenol. *Applied Clay Science*, *49*(1-2), 64-68.
- Zoski, C. (2006). *Handbook of Electrochemistry*. Texas: Elsevier Science.

