

EN ELECTROQUIMICA



"SÍNTESIS DE NPs-Cu PARA LA MODIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE ELECTRODOS APLICADOS EN LA OXIDACIÓN DE COLESTEROL."

TESIS PRESENTADA POR:

I.Q. ISAÍAS MURILLO BORBONIO

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN ELECTROQUÍMICA

NOVIEMBRE, 2018

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en

Electroquímica

REALIZADO POR:

I.Q. Isaías Murillo Borbonio

DIRIGIDA POR

Dr. Luis Gerardo Arriaga Hurtado

CO-DIRIGIDA POR

Dra. Mayra Polett Gurrola

SINODALES

Dr. Walter Noé Velázquez Arjona. Presidente	Firma
Dra. Beatriz Liliana España Sánchez. Secretario	Firma
Dr. Sergio Miguel Durón Torres Vocal	Firma
De. Abraham Ulises Chávez Ramírez Suplente	Firma
•	

El uso de enzimas ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías que las sustituyan estos sistemas abióticos, donde se utilizan metales de bajo costo y con gran rendimiento. Las variaciones que puede tener este compuesto dependen de sus características físicas y químicas.

Para este estudio, se llevó a cabo la optimización de la síntesis de nanopartículas de Cu (NPs-Cu), debido a su efecto oxidante con una variedad de compuestos orgánicos (L-Sisteina, Glucosa, Glifosato, Colesterol). De esta forma, se procedió a optimizar el método convencional por poliol, donde, fue posible reducir hasta en un 98.8%, modificando los parámetros de mayor impacto, como: agitación, temperatura, tiempo de adición de la sal precursora y el tiempo total de síntesis.

A través de dispersión dinámica de luz (DLS, por su nombre en inglés), se dio seguimiento al tamaño de partícula después de cada modificación realizada a la síntesis original. Por otro lado, al obtener el menor tamaño posible con las modificaciones realizadas, se procedió a caracterizar el material mediante técnicas que aportaran información de importancia como la morfología, composición, estados de oxidación y la distribución del tamaño de partícula, así como el promedio de este.

Además, se observó el comportamiento electroquímico del electrodo modificado con NPs-Cu en medio básico y en presencia de colesterol (Chol) mediante Voltametría Cíclica y Curvas de polarización. Con ello, se obtuvo que las adiciones de Chol aumentan la corriente anódica del electrodo, dicho fenómeno es posible asociarlo al acomplejamiento del material. Conjuntamente, el estudio de las curvas de polarización demostró una lenta cinética del material. La caracterización física de la superficie mostró que, en ausencia de Chol, el Triton X-100 forma vesículas que podrían disminuir la velocidad de la reacción.

Sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que el sistema abiótico de Cu tiene mejores resultados en cuanto a densidad de potencia se refiere con respecto a otros electrodos modificados con enzimas.

i

The use of enzymes has led to the development of new technologies to replace these abiotic systems, where low-cost and high-performance metals are used. The variations that this compound can have depend on its physical and chemical characteristics.

For this study, the optimization of Cu nanoparticle synthesis (NPs-Cu) was carried out, due to its oxidative effect with a variety of organic compounds (L-Cysteine, Glucose, Glyphosate, Cholesterol). In this way, we proceeded to optimize the conventional method by polyol, where it was possible to reduce up to 98.8%, modifying the parameters of greatest impact, such as: agitation, temperature, time of addition of the precursor salt and the total time of synthesis.

Through dynamic light scattering (DLS), the particle size was tracked after each modification made to the original synthesis. On the other hand, by obtaining the smallest possible size with the modifications made, we proceeded to characterize the material through techniques that provide important information such as morphology, composition, oxidation states and particle size distribution, as well as the average East.

In addition, the electrochemical behavior of the electrode modified with NPs-Cu in basic medium and in the presence of cholesterol (Chol) was observed by Cyclic Voltammetry and Polarization Curves. With this, it was obtained that the additions of Chol increase the anodic current of the electrode, this phenomenon is possible to associate it with the complexation of the material. Together, the study of the polarization curves showed a slow kinetics of the material. The physical characterization of the surface showed that, in the absence of Chol, Triton X-100 forms vesicles that could slow down the reaction.

However, the results obtained show that the Cu abiotic system has better results in terms of power density compared to other electrodes modified with enzymes.



Este trabajo fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ), bajo la dirección

> Dr. Luis Gerardo Arriaga Hurtado Dra. Mayra Polett Gurrola

A Mi Madres:

Paula Borbonio Ruiz

A Mis Hermanas:

Mariela Murillo Borbonio y Maricela Murillo Borbonio

A Mi Abuela:

Adela Ruiz Velazquez

Sin una familia, el hombre solo está en el mundo y tiembla de frio.

Gracias Familia.



AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ), por permitirme seguir creciendo profesionalmente.

Externo mi gratitud al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) por el apoyo financiero recibido durante mi estancia como estudiante a través de la beca de maestría.

Al Laboratorio Nacional de Micro y Nano Fluídica (**LABMyN**), por su atención, apoyo en relación a este trabajo de maestría, así como, la oportunidad de laborar en sus instalaciones y al **Ing. Aldo** por amenizar las horas con sus charlas.

Al **Dr. Walter Noé Arjona Velázquez**, la **Dra. Beatriz Liliana España Sánchez** y al **Dr. Sergio Miguel Durón Torres** por sus aportaciones científicas en este trabajo.

A **Moronga** por ser más que amiga, casi hermana, en esta etapa de mi vida y a **La Charo** por retarme a saber más, lo que me motiva cada día.

A **Fabs** la cual me apoyo incondicional durante la etapa más oscura en este periodo, por aguantarme, quererme y por qué siempre seguiremos siendo hermanos. Tope, tope, tope...;Pum!

A mis compañeros e integrantes del laboratorio C: La Richy y el Dr. Euth entre otros; porque de alguna u otra forma modificaron mi percepción y muchos de los conceptos que tiene la vida.

A la **Dra. Mayra Polett Gurrola (Po)** por seguir siendo la última de zacatecas a través del tiempo, pero más por ayudarme a ver lo que yo ya había perdido de vista.

Al **Don Luis,** por demostrarme a mí y a otras personas, que el error solo estaba en la forma en la que se es dirigido, orientado o apoyado. Dándome una oportunidad de colaborar dentro de **LABMyN**, formar parte de **SEQE** y ser su estudiante.

A **Riko**, porque con buena compañía las cosas han resultado, resultan y resultaran más fáciles. Por ser como una atalaya fuerte, la cual, no se derrumbó cuando yo ya me sentía vencido. Por ayudarme a cargar mi peso y darme la oportunidad de compartir el tuyo, y sobre todo por alentarme día a día a ser yo.

Por ultimo a **Dios** y a todas las personas involucradas en este proyecto.

۷

ÍNDICE

R E S U M E Ni
A B S T R A C Tii
IntroducciónII
JustificaciónV
HipótesisV
Objetivo GeneralV
Objetivos específicosVI
CAPÍTULO 1. Fundamentos Generales de Electrocatalizadores Empleados para la Oxidación de Colesterol (Chol)2
1.1 Introducción2
1.2 Colesterol como fuente de combustible alterna2
1.2.1 Proceso de Oxidación de Colesterol (Chol)3
1.2.2 Electrodos alternativos para la Oxidación de Colesterol
1.3 Aplicación de MSN para la oxidación de Chol8
1.4 Métodos de Sintesis de NPs10
1.5 Métodos para la modificación de electrodos11
1.5.1. Electrodos de pasta de carbono (CPE)12
1.5.2. Recubrimientos poliméricos
1.5.3. Tintas
CAPÍTULO 2. Síntesis, Optimización y Caracterización Fisicoquímica de NPs-Cu.
2.1 Introducción
2.2 Elección del metodo de sintesis de NPS-Cu
2.2.1 Metodologia experimental
2.2.1.1 Sintesis de Nps-Cu
2.3 Techicas para la caracterización fisicoquímica de materiales
2.3.1 Difusion Dinamica de Luz (Dynamic Light Scattering, DLS)
2.3.2 Diffaccion de Rayos-X (X-Ray Diffraction, XRD)
2.3.3 Microscopia electronica de barrido (Scaning Electron Microscopy, SEM) y Espectrometría por dispersión de energías de Rayos-X (X-Ray Energy Dispersive Spectrometry, EDS)
2.3.4 Espectroscopía fotoelectrónica de Rayos-X (X-Ray photoelectron spectroscopy, XPS)
2.3.5 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (High-Resolution transmission electron microscopy, HR TEM)
2.4 Resultados y Discusión23
2.4.1 Difracción de rayos – X para NPs-Cu23

2.4.2 Optimización del tamaño de NPs-Cu	24
2.4.2.1 Efecto de la velocidad de agitación (VA) en la síntesis de NPs-Cu	24
2.4.2.2 Efecto de la temperatura (T) en la síntesis de NPS de Cu	
2.4.2.3 Determinación del tiempo de adición de la sal precursora (tad)	27
2.4.2.4 Efecto del periodo total de síntesis de NPs-Cu	
2.4.3 Caracterización Fisicoquímica de las NPs-Cu optimizadas	30
2.4.3.1 Análisis morfológico y composicional por microscopio electró transmisición (TEM) y espectroscopia de dispersión energética de (EDS)	onico de Rayos-X 30
2.4.3.2 Estudio estructural del material sintetizado por espect fotoelectrónica de Rayos-X (X-Ray photoelectron spectroscopy, XPS)	roscopía 32
2.4.3.3 Análisis por Microscopía electrónica de transmisión de alta resolu TEM, por sus siglas en inglés)	ción (HR 33
2.5 Conclusiones	
CAPÍTULO 3. Caracterización y Evaluación Electroquímica de NPs-Cu Oxidación de Colesterol (Chol)	para la 37
3.1 Introducción	
3.2 Elaboración de tintas catalíticas	
3.2.1 Metodología experimental	
3.2.1.1 Preparación de la tinta catalítica	
3.2.1.2 Preparación los electrodos	39
3.2.1.3 Evaluación de electrodos como sensor electroquímico	39
3.2.1.4 Evaluación de electrodos en celda completa	40
3.3 Resultados y discusión	41
3.3.1 Respuesta y selección de una tinta catalítica para el sistema	41
3.3.2 Respuesta electroquímica ante la presencia del Chol	47
3.3.3. Evaluación de los electrodos en celda microfluídica	47
3.4 Conclusiones	50
CONCLUSIONES GENERALES	52
PERSPECTIVAS	53
BIBLIOGRAFÍA	54

INTRODUCCIÓN GENERAL Y JUSTIFICACIÓN

Introducción

La búsqueda de nuevas fuentes de energía ha sido un foco importante en la última década, encontrando la plausibilidad de sistemas electroquímicos de energía debido a que superan con facilidad la eficiencia de aquellos que utilizan el principio de Carnot ^[1,2]. El acoplamiento electroquímico se lleva a cabo en dispositivos como las Microceldas de Combustible (µCC), que oportunamente son compatibles con electrodos orgánicos, microbiológicos, enzimáticos e inorgánicos, siendo de esta forma aplicables en la biomedicina como fuente de alimentación de biosensores e incluso como un sistema analítico para el sensado utilizando microchips ^[3].

Las µCC basan su funcionamiento en la compactación del combustible y oxidante en un microflujo laminar, sin necesidad de una barrera física, permitiendo un excelente transporte iónico, donde dos paredes opuestas constituyen el ánodo y cátodo ^[4]. Por una parte, el líquido del canal oxidante puede ser oxígeno disuelto o peróxido de hidrógeno (H₂O₂), por otro lado, se encuentra el combustible, donde hay amplios estudios sobre metanol (Me-OH), ácido fórmico, hidrógeno disuelto, etc ^[5, 6]. No obstante, es posible incorporar flujos corporales, debido a la concentración de compuestos biológicos en ellos; como la Glucosa, L-cysteina, Lacasa o Colesterol, los cuales funcionan como un excelente combustible para estos dispositivos^[7, 8].

En este sentido, uno de los principales problemas en estos dispositivos, radica en los materiales de construcción de los electrodos y el flujo que atraviesa los mismos, por lo que, es importante realizar análisis individuales tanto catódicos como anódicos, ya que, de esta forma es posible mejorar y aumentar su eficiencia. Para el caso particular del colesterol, actualmente las investigaciones están centradas en el desarrollo de sensores autosuficientes, ya que éstos utilizan la corriente generada por la oxidación correspondiente, así reduciendo el uso de baterías de ion-litio o zinc-carbón ^[9].

Específicamente, cuando el colesterol (Chol) se utiliza como combustible, se hace uso de la enzima colesterol oxidasa (ChOx) para catalizar la reacción de oxidación, sin embargo, esta enzima tiende a generar resistencia a la transferencia de masa, aumentando la perdida de actividad ^[10]. Por lo que, se ha planteado la sustitución de esta enzima por catalizadores abióticos, como Pt, Pd, Ir, Rh, Os y Ru, ya que éstos inhiben el envenenamiento generado por la oxidación de las moléculas orgánicas utilizadas como combustible, además de la posibilidad de obtener altas áreas superficiales y mayor corriente generada^[11]. No obstante, una de las principales desventajas de estos

II

materiales es su costo elevado, por lo que la disminución de las cargas catalíticas es una importante contribución para enfrentar estos problemas^[12]. De esta manera, existe la posibilidad de generar electrocatalizadores mediante prometedores procesos de síntesis ayudando a aumentar la corriente generada y disminuyendo la cantidad de catalizador usada, sin embargo, para esto se deben tomar en cuenta tres características principales:

- Inhibir el envenenamiento de estos materiales, lo que implica que no sea afectada la composición del catalizador durante la reacción electroquímica ^[13].
- Con respecto al costo, este puede ser disminuido mediante diferentes procesos como aleaciones, dopaje, mezcla, incluso la sustitución de estos metales nobles (MN), disminuyendo la cantidad del mismo, como en una estructura Core-Shell [14].
- 3. Con la modificación del proceso de síntesis del catalizador, es posible obtener una disminución en el tamaño de nanopartícula (NPs) y geometrías diferentes, de esta manera, generando un aumento en el área superficial, así, aumentando la sensibilidad del catalizador, con lo que es posible tener el mismo rendimiento con menor cantidad de catalizador^[4].

Hasta la fecha, se han desarrollado diferentes electrocatalizadores con diversas nanoestructuras como platos, tubos, alambres y cubos con tamaños de partícula de entre 1nm a 10 nm, usando principalmente Ag, ya que, es significativamente más económica que los otros metales^[15]. No obstante, otro material que tiene un alto potencial de ser usado es el Cu, ya que al igual que la Ag, este también es capaz de mejorar el precio y además es un excelente conductor. En estudios recientes, se ha demostrado que el Cu es un material con gran potencial para ser usado como sensor, puesto que, es altamente selectivo a la oxidación de diferentes moléculas orgánicas como hidrocarburos, glucosa, ácido ascórbico, L-cysteina, ácido úrico y dopamina^[15].

En relación con lo anterior, se ha realizado un amplio estudio para la oxidación de glucosa utilizando el Cu como catalizador, por lo que se considera factible utilizar el mismo catalizador para la oxidación de Chol. En este sentido, presente el trabajo de investigación se centró en la optimización de la síntesis de NPs-Cu para su uso como electrocatalizador en la oxidación de Chol. En esta tesis se presentan, tres capítulos. En el primer capítulo se plantea el estado del arte de los fundamentos generales para la sustitución de materiales utilizados en la oxidación de Chol, desarrollando la importancia del uso del Cu como electrocatalizador. En el segundo capítulo se muestra la

optimización de la síntesis de NPs-Cu, así como la caracterización fisicoquímica. Finalmente, en el tercer capítulo se describe la evaluación electroquímica del material empleando diferentes tintas catalíticas hasta obtener los mejores resultados en el sistema, ya sea con una finalidad de desarrollar un sensor o como fuente de energía.

Justificación

La cantidad de corriente generada por la oxidación electroquímica de colesterol es en gran medida determinada por el electrocatalizador enzimático empleado, comúnmente la Colesterol Oxidasa (ChOx). Sin embargo, dicha enzima, además de tener un alto precio en el mercado cuenta con difíciles y costosos métodos de inmovilización, haciendo de este un catalizador enzimático poco factible para la oxidación de esta molécula orgánica. En este sentido, el uso de electrocatalizadores abióticos como Pt o Pd, entre otros, es cada vez más plausible debido a su alta actividad catalítica. No obstante, estos pueden ser envenenados fácilmente cuando el colesterol es oxidado; añadido a esto, al igual que la ChOx, su precio en el mercado aún sigue siendo elevado. Por esta razón, surge la necesidad de buscar electrocatalizadores alternativos, como el cobre; que además de ser de bajo precio en el mercado, cuente con buenas propiedades como alta selectividad, actividad catalítica y tamaños de partículas pequeños (≈ 5 -10 nm), generadas éstas a través de la optimización del método de síntesis de las NPs, haciendo del cobre un potencial electrocatalizador abiótico para la oxidación de colesterol.

Hipótesis

La modificación de parámetros con mayor efecto (agitación, temperatura, tiempo de adición y tiempo total de síntesis), del método de síntesis ayudará a disminuir el tamaño de partícula de Cu, y así, aumentar su actividad catalítica en para la oxidación de colesterol en comparación con otros materiales abióticos de bajo costo.

Objetivo General

Sintetizar nanopartículas de cobre mediante el método poliol; para aumentar la sensibilidad en la oxidación de colesterol, mediante la disminución del tamaño de partícula (≈ 5 – 10 nm) y así, aumentar su actividad catalítica.

Objetivos específicos

- 1. Sintetizar NPs-Cu mediante la modificación del método poliol.
- Optimizar el método de síntesis de las NPs-Cu para disminuir el tamaño de partícula.
- Caracterizar fisicoquímicamente los materiales sintetizados por medio de técnicas como: Microscopía Electrónica de Barrido, Espectroscopia de rayos X de Energía Dispersiva, Difracción de Rayos-X, Espectroscopia fotoelectrónica de Rayos-X y Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución.
- 4. Preparación y modificación de tintas catalíticas a base del material sintetizado.
- 5. Evaluar electroquímicamente las NPs-Cu síntetizadas y empleadas en la optimización de las tintas catalíticas mediante Voltamperometría cíclica (VC).

CAPÍTULO 1

Fundamentos Generales de Electrocatalizadores Empleados para la Oxidación de Colesterol (Chol). CAPÍTULO 1. Fundamentos Generales de Electrocatalizadores Empleados para la Oxidación de Colesterol (Chol).

1.1 Introducción

El uso de µCC tiene un fuerte impacto, debido a sus diseños compactos y la economía en la elaboración de sus electrodos. Además, es posible emplear diferentes fuentes de combustible, tales como Metanol, Ácido Fórmico y, en otros casos, moléculas biológicas; donde el uso es aplicable en sensores autosustentable ^[16]. En este sentido, las moléculas de mayor estudio por su impacto en la salud y abundancia en el cuerpo humano son la Glucosa y el Coleterol, siendo este último el foco del estudio de esta investigación.

1.2 Colesterol como fuente de combustible alterna

El colest-5-en-3β-ol (Chol) es un lípido importante en la sangre, ya que es un integrante primordial de las membranas celulares, células cerebrales y nerviosas y de la bilis, contribuyendo a la absorción de grasas y vitaminas liposolubles para el organismo, además, permite la síntesis de vitamina D, así como de estrógenos, testosterona y cortisol. El colesterol fue aislado por primera vez en 1769, pero no fue, sino hasta 1930 el establecimiento de su estructura (**Fig. 1.1**), mediante Difracción de Rayos-X (DRX)^[17].



Fig. 1. 1 Estructura de Colesterol^{[18].}

La estructura conformada por 4 carbociclos y sustituyentes alifáticos es superior al grupo polar hidroxilo, lo que explica la baja solubilidad en agua (0.095mg/L a 30°C) ^[18]. El proceso para obtener energía del colesterol es mediante su oxidación, que se lleva a cabo principalmente con la enzima Colesterol Oxidasa (ChOx) y del cual se habla a continuación.

1.2.1 Proceso de Oxidación de Colesterol (Chol)

La reacción por la que se lleva a cabo la oxidación de colesterol se muestra en la **Ecuación 1**.1, donde se presenta a la ChOx como un agente catalizador de la reacción^[19].

Colesterol + $O_2 \xrightarrow{Ch0x} Colest - 4 - en - 3 - ona + H_2O_2$ $E = 0.85 V vs ENH^{[20]}$ Ecuación 1. La ChOx es una enzima que funciona para catalizar la reacción de oxidación de colesterol, sin embargo, a diferencia de los electrocatalizadores inorgánicos, las enzimas requieren de un proceso llamado "*Inmovilización Enzimática*", que se refiere a un confinamiento físico localizado en un cierto espacio o región definida, lo que mantiene la actividad catalítica de las enzimas y beneficia el poder ser usadas repetida y continuamente. Dependiendo de la forma, material, tipo de interacción y naturaleza de los reactivos, los métodos de inmovilización pueden clasificarse químicos o físicos. Dentro de los químicos se encuentran la unión covalente, adsorción iónica y reticulación; mientras que en los procesos físicos se encuentran el atrapamiento y encapsulado, **Fig.** 1.2. Las uniones físicas son generalmente débiles para mantener a la enzima fijada al soporte y puede ser fácilmente removible. Mientras que la inmovilización por fuerzas iónicas y covalentes son más fuertes, manteniendo unida la enzima a un soporte con una mayor estabilidad.



Fig. 1. 2 Métodos de inmovilización de enzimática^[21].

Aun y cuando existen diferentes métodos de inmovilización de enzimas, hasta la fecha, ninguno cumple por completo con las características requeridas para considerar que la enzima obtenga buenos resultados cuando es empleada como catalizador, considerando que los electrodos enzimáticos deben cumplir con las siguientes propiedades:

- a) Una preparación sencilla para reducir tiempo y costo utilizados al inmovilizarse.
- b) Fuerte unión Enzima-Superficie, evitando la lixiviación de la enzima y aumentando el tiempo de vida del electrodo.
- c) Alta actividad enzimática con la que se aumenta la capacidad catalítica y con ello, el rendimiento del electrodo.
- d) Posibilidad de regeneración del soporte con el cual es posible sustituir el medio continuamente, si este se ve contaminado, lixiviado o desnaturalizado.
- e) Un bajo costo, lo que depende directamente de la dificultad de la inmovilización.
- f) Alta estabilidad adquiriendo mayor rigidez y haciéndose más resistente a la desactivación térmica o química.
- g) Alta resistencia a la contaminación ya sea por protección frente a las proteasas, evitando la agregación intermolecular o bien, disminuyendo la alteración del microentorno.

Dichas características están recopiladas en la **Tabla 1.1**, resaltando en rojo los datos que tienen los resultados con mayor efectividad en la inmovilización ^[10].

Método	Encapsulación	Atrapamiento	Reticulado	Adsorción	Unión covalente
Preparación	Intermedia	Difícil	Intermedia	Sencilla	Difícil
Fuerza de la Unión	Débil	Media	Debil-Media	Media	Fuerte
Actividad Enzimática	Media-Alta	Baja	Baja	Media-Alta	Alta
Regeneración del soporte	Posible	Imposible	Imposible	Posible	Difícil
Costo	Medio-Alto	Medio	Medio	Bajo	Alto
Estabilidad	Media	Alta	Alta	Baja	Alta
Resistencia a la contaminación	Sí	Sí	Sí	No	No

A pesar de lograr una inmovilización con éxito, es probable que el proceso genere resistencia a la transferencia de masa y origine perdida en la actividad catalítica del material, este hecho es debido a que el soporte reacciona con los aminoácidos del centro activo, originando un cambio estructural que da lugar a una forma inactiva, causando la desnaturalización o desactivación de la enzima, este proceso se observa en la **Fig. 1.3**

^[22]. Pese a ello, la ChOx sigue siendo una enzima muy utilizada para la oxidación de colesterol, esto se debe, a que el proceso de oxidación es beneficiado por la electrolisis del agua, la cual tienen un potencial muy cercano al del Chol, E = 0.85V vs ENH (en medio neutro), no obstante, ya que el medio se electroliza, la concentración del mismo disminuye, originando el agotamiento de la fuente de oxígeno (el agua) ^[20]. En este sentido, se buscan sistemas alternativos, como el uso de electrodos mixtos o abióticos, donde, el proceso de oxidación de Chol utilice un potencial menor, separando así, ambas reacciones.



Fig. 1. 3 Proceso de la perdida de actividad de una enzima por la reacción con el sustrato.

Por otro lado, para que el proceso de oxidación de Chol se lleve a cabo, principalmente son utilizados los sistemas mixtos, donde la enzima ChOx se ve modificada para mejorar las características (**Tabla 1.1**), través de métodos de inmovilización covalente y adsorción física sobre metales de transición. Sin embargo, el *pH* debe mantenerse neutro debido a que la enzima se desnaturaliza en medios ácido o básicos de manera que es recomendable el uso de electrodos abióticos para esta reacción ^[23].

1.2.2 Electrodos alternativos para la Oxidación de Colesterol.

Específicamente, los catalizadores abióticos son aquellos que no contienen sustancias orgánicas o biológicas (enzimas, células, proteínas) en su estructura, por lo tanto, son completamente inorgánicos. Estos son generalmente metales nobles (MN) (Pt, Pd, Ir, Rh, Os y Ru), los cuales se emplean debido a alta actividad electrocatalítica y baja reactividad, como en las reacciones de evolución de hidrogeno (HER), deshidrogenación, isomerización, ciclización, deshidratación, deshalogenación y principalmente oxidación electroquímica ^[11-13]. Aunado a esto, una característica primordial de los electrocatalizadores está enfocada en obtener sistemas con altas áreas superficiales y pequeños tamaños de partícula (inferiores a los 100 nm), garantizando así un aumento de los sitios activos y por ende un mayor rendimiento.

De acuerdo con lo descrito anteriormente, en la síntesis de electrocatalizadores es un requerimiento primordial obtener materiales que tengan la habilidad de inhibir el envenenamiento causado por la oxidación de las moléculas orgánicas, obtenerlos a un bajo costo en el mercado y finalmente, conseguir altas áreas superficiales.

Con respecto a la **resistencia al envenenamiento**, significa no afectar la composición del catalizador durante la reacción electroquímica, en otras palabras, cuando se tiene un reactivo A y B, el catalizador reacciona con uno o ambos beneficiando la reacción, no obstante, al finalizar, se genera un producto dejando de intervenir en la misma y regresando a su estado original, por lo tanto, a diferencia de A y B, la concentración del catalizador no disminuye como en las **Ecuaciónes 1.2**. Este punto se destaca debido a que el envenenamiento es un proceso no deseado, es decir, cuando el catalizador se ve afectado por A o B y no regresa a su forma original^[24].

$$A + \blacksquare \rightarrow A \blacksquare$$
$$A \blacksquare + B \rightarrow AB \blacksquare$$
$$AB \blacksquare \rightarrow C \blacksquare$$
$$C \blacksquare \rightarrow C + \blacksquare$$

Ecuación 1.2.

Donde A y B son reactivos, C es el producto y ■ el catalizador. Como se observa en la **Ecuación 1.2**, el catalizador reacciona desde el inicio, para posteriormente generarse al final de la misma, por lo que en la reacción global no se representa el catalizador, sino, como un símbolo que no interviene en la reacción original, tal, como la **Ecuación 1.3**.

$$A + B \rightarrow C$$
 Ecuación 1. 3.

El bajo costo se obtiene disminuyendo o sustituyendo los MN, que, para el caso del Chol, se desarrollan nuevos materiales donde los MN se encuentren en menor proporción (disminuyendo el costo del catalizador), usando con frecuencia Au, Mn, Ni y Co, debido a que, con ellos se mantienen las características electrocatalíticas de los MN, tal es el caso de las NPs Core-Shell, donde, el material catalizador es una coraza que rodea un núcleo de un material de menor costo, de esta forma se logra disminuir la cantidad de dicho material, esta estructura es representada en la **Fig. 1.4**^[25].

6



Fig. 1. 4 Estructura Core-Shell Cd-Se|Cd-S.

Sin embargo, el Au, a pesar de no pertenecer a este grupo, tiene un costo elevado en relación con otros metales utilizados para dicha reacción, recalcando que tiene un precio mayor al de algunos MN, **Tabla 1.2**.

Elemento	Costo USD por Kg	
Rh	46 516	
Pt	38 290	
Au	30 645	
Ro	25 028	
Ir	13 584	
Os	12 700	
Pd	8 438	
Cu	6.32	

Por otro lado, el **área superficial** es donde un sólido interactúa con el medio que lo rodea, dependiendo de la geometría y tamaño de partícula del electrocatalizador, esto se debe a que a medida que disminuye, el área superficial por unidad de masa aumenta, obteniendo valores de corriente mayores a las convencionales. Dicha área corresponde a la rugosidad del exterior de la partícula y a su interior poroso^[4]. Tal como el ejemplo de la **Fig. 1.5**, donde a pesar de que las dos partículas tienen el mismo tamaño e incluso

área geométrica, la cantidad de corriente que generan es diferente. Esto se debe a que la **Fig. 1.5a)** tiene una mayor área superficial asociada a la mayor cantidad de poros con un diámetro menor al de **Fig. 1.5b)**, que tiene menor cantidad y por lo tanto menor área

superficial. Con dicho factor también aumenta la sensibilidad del electrocatalizador, con lo que es posible tener el mismo rendimiento con menor cantidad de material.



Fig. 1.5 Comparación de 2 estructuras según su área superficial a) La porosidad de esta muestra es mayor, aumentando la actividad catalítica y b) Disminuye el área superficial y con ello la cantidad de corriente generada.

Sin embargo, aunque los MN son buenos catalizadores y dependiendo del método de síntesis es posible obtener tamaños inferiores a los 10nm, siguen teniendo costos elevados, por lo que, se han hecho sustituciones por materiales de menores costos como los Metales Semi Nobles (MSN) (Ag, Cu y Hg), no obstante, la Ag es descartado debido a su precio alto.

1.3 Aplicación de MSN para la oxidación de Chol

Los MSN son aquellos que al exponerse a atmosferas corrosivas sufren leves ataques químicos, por lo que se consideran poco reactivos y buenos sustitutos de los MN. Por ello, se han desarrollado electrocatalizadores a base de estos materiales utilizando nanoestructuras (platos, tubos, alambres y cubos, **Fig.1.6**.) entre 1 nm y 10 nm lo que perjudica el área superficial y con ello su efecto electrocatalítico^[26].



Fig. 1. 6 Diferentes estructuras de Nanoparticulas a) Nano Rosas^[15], b) Nano Esferas^[27], c) Nano Cubos^[28] y d) Nano Tubos[29].

La Ag y el Cu son los más utilizados, principalmente por la facilidad que representa adquirir estos metales en el mercado. No obstante, la Ag sigue teniendo un precio elevando ante el Cu, por lo que esta investigación da prioridad a el uso de este material, pues el Cu es un metal de transición y se caracteriza por ser uno de los mejores conductores eléctricos. Debido a esta propiedad, además de su ductilidad y maleabilidad se ha convertido en el material más utilizado en la fabricación de redes eléctricas^[24].

Además, gracias a investigaciones realizadas por otros investigadores, se determinó la selectividad que tiene ante otras moléculas orgánicas en un sensor para Chol. A través del análisis por cronoamperometría utilizando el potencial de oxidación del Chol, donde se agregó Ácido ascórbico (AA), Dopamina (DA), Ácido úrico (UA), L-cysteina (L-Cys) y Glucosa (GO), que son especies presentes en muestras fisiológicas. Sin embargo, en la **Fig. 1.7**. se observa un cambio de corriente inicial atribuido a la adición de Chol (CT), por otro lado, se demuestra que la interrupción por las especies interferentes se evita por completo^[15].



Fig. 1. 7 Respuesta amperométrica de la adición de Chol y sus interferentes en pH = 7 $^{[15]}$.

De esta forma, es posible considerar el Cu como un buen electrocatalizador, debido a su bajo costo en el mercado y su selectividad a la oxidación de moléculas biológicas como el Chol, sin embargo, se considera la modificación y optimización de la síntesis de Cu, así como, estudiar el efecto que tiene la reducción del tamaño y el cambio de la morfología de la partícula y con ello aumentar la sensibilidad del electrocatalizador.

1.4 Métodos de Sintesis de NPs

Debido a que existen diferentes métodos para la síntesis de NPs, es posible modificar su tamaño, los métodos más populares son atrición, pirolisis, síntesis hidrotérmica y reducción química tradicional. No obstante, la técnica más utilizada en ciencia de los materiales e ingeniería cerámica es Sol-gel.

De forma general, el método emplea la formación de un sol seguida de un gel. Utilizando dispersiones coloidales o precursores inorgánicos como precursor para la fabricación de Óxidos metálicos, empezando por una solución química que actúa como precursor de una red integrada de partículas discretas o redes poliméricas cuya longitud promedio es más grande que un micrómetro, inicialmente se lleva a cabo una hidrolisis de un alcóxido métalico mediante la adición de agua obteniéndose especies M-OH altamente reactivas (donde se forma el sol), posteriormente, se condensa mediante alcoxolación, oxolación y olación (formando el gel), para finalizar con el añejamiento y secado de los geles a temperatura ambiente y tener un tratamiento térmico como se muestra en la **Fig. 1.8**.^[30].



Fig. 1. 8 Procedimiento del método Sol-Gel.

Sin embargo, se busca obtener el material en su estado metálico, por lo que no sería posible emplear esta técnica. Por tal motivo, se plantea el uso de la síntesis propuesta por colaboradores, en la cual se hace un Core-Shell de Cu@Pd, donde, se trunca la síntesis hasta la preparación de los Core de Cu, con lo que es posible obtener la partícula en su forma metálica e incorporarla a electrodos para evaluarlas en sistemas electroquímicos^[31].

La incorporación de materiales a un electrodo se lleva a cabo mediante la modificación de dicho electrodo, siendo posible mediante diferentes técnicas, que, a diferencia de la inmovilización enzimática, logra un mejor rendimiento y actividad del electrodo, el método empleado se selecciona dependiendo del uso, ya sea para preconcentración, eliminación de interferencias y electrocatálisis.

1.5 Métodos para la modificación de electrodos

Debido a que el catalizador modifica la superficie, se debe tomar en cuenta que la capa del modificador debe permitir la comunicación electroquímica entre el material del electrodo y la disolución que contiene el analito, de esta manera, si la modificación se lleva de forma adecuada, esta podrá reducir y eliminar los sobrepotenciales, incluso, desplazar el potencial a un valor donde exista la selectividad a dicha reacción. Por lo que, se han realizado diversas investigaciones acerca de electrodos modificados química o físicamente^[32].

Dados los métodos existentes, se ha optado por representar los más comunes en la **Tabla 1.3**., citando algunos ejemplos y aplicaciones analíticas de los mismos.

Técnica	Método	Técnica	
	Silanización		
Fijacion Covalente	Unión directa		
	Electroadsorción		
Adsorción	Adsorción directo no osposífico		
	Ausorcion directa no especifica		
	Polímero previamente formado		
Recubrimientos poliméricos		Por métodos no electroquímicos	
	Monómero	Polimerización electroquímica	
		Polimerización fotoquímica	

Dada la gran cantidad de modificaciones existentes y de diseños experimentales a continuación se describen los más comunes.

1.5.1. Electrodos de pasta de carbono (CPE).

Debido a que el desarrollo de estos electrodos inició desde los años 50's, han sido los más empleados con fines analíticos cuantitativos debido a su sencillez, versatilidad y facilidad de construcción. Esta modificación consiste en una mezcla de grafito conductor, con un diámetro de partícula entre 0.01 y 0.02 mm, siendo aglutinado con un líquido volátil e insoluble en la disolución y libre de impurezas electroactivas (Silicona, Nujol, Bromoformo, Bromonaftaleno, etc.)^[33].

Este procedimiento es adaptado, para la evaluación electroquímica de metales, donde el electrocatalizador es macerado hasta realizar un polvo fino y agregado al grafito, hasta homogeneizar, finalmente, se agrega lentamente el aglutinante. Esta pasta es colocada en un tubo de poliestireno y compactada con un embolo. El contacto eléctrico de la pasta se realiza con un alambre de Pt o Cu, una representación de este electrodo se muestra en la **Fig. 1.9**^[34].



Fig. 1. 9 Electrodo de TiO₂ pasta de carbono (TiO₂-CPE) ^[34].

A pesar de ser el método más utilizado, la principal desventaja es que la transferencia electrónica disminuye con los agentes aglutinantes, por lo que se debe tener una relación optima entre polvo de grafito y líquido. Tal es el caso de los recubrimientos poliméricos, que, debido a su naturaleza de multicapas, proporcionan una zona de reacción tridimensional, lo que ocasiona un aumento del flujo de masa, produciendo un incremento en la sensibilidad.

1.5.2. Recubrimientos poliméricos.

Aunque los materiales poliméricos se depositan por enlaces covalentes o adsorción física, la electropolimerización tiene mayores ventajas como una síntesis simple, limpia y eficiente, gracias a que la electroquímica permite controlar la velocidad y extensión del proceso^[35].

En las reacciones de polimerización electroiniciada se contiene un gran volumen de disolución formada por un disolvente, una sal y un monómero. La celda contiene un electrodo de trabajo y un contraelectrodo, donde el potencial se mantiene constante en el electrodo de trabajo^[36], además existen factores que afectan la electropolimerización como:

- a) Potencial
- b) Monómero
- c) Electrolito
- d) Temperatura
- e) pH

f) Tiempo de polimerización

los cuales se representan en la Fig. 1.10.



Fig. 1. 10 Esquema de una celda electroquímica para la electropolimerización.

Sin embargo, la mayor parte del desarrollo científico está dedicado a un grupo específico de materiales, limitando su uso. Lo que plantea continuar con diferentes métodos para la modificación de electrodos, como el uso de tintas, con las que se obtienen superficies de alta precisión y bajo costo.

1.5.3. Tintas.

El desarrollo de tintas ha llevado su aplicación a diferentes ramas de la ciencia e incluso de la ingeniería, como se muestra en la **Fig. 1.11.** donde se destaca la variabilidad de este tipo de modificación. Observando que, su aplicación tiene una gama de aplicaciones que abarca desde la electrónica con circuitos impresos, pasando por la paquetería con etiquetas inteligentes, hasta procesos catalíticos^[37].



Fig. 1. 11 Aplicaciones de las tintas modificadoras de electrodos [38].

Para el uso en catálisis, las tintas se preparan utilizando un soporte (generalmente carbón Vulcan), con el que se dispersa el catalizador, en un medio generalmente acuoso u alcohólico, tal es el caso de las tintas a base de Nafion™. Donde, con las proporciones adecuadas, se pueden conseguir una tinta con un mayor rendimiento y actividad catalítica.

Anteriormente, se ha descrito la actividad de las µCC y la importancia del uso de combustibles alternos para su funcionamiento, en donde ha sido planteado que; es la síntesis e incorporación de electrocatalizadores en el sistema, un punto importante de estudio, pues de ello dependerá la selectividad, eficiencia y sensibilidad al combustible deseado. En este sentido, la ChOx es ampliamente utilizada debido a su excelente selectividad y respuesta catalítica a la oxidación de Chol y con ello obtener energía, con la posibilidad de desarrollar sensores o µCC, siempre y cuando esta tenga un excelente método de inmovilización^[39]. Sin embargo, otra alternativa utilizada como catalizador son los MN, que son material que por su alta actividad catalítica y baja reactividad se han incorporado a estos sistemas, no obstante, su precio es alto, por lo que las cantidades incorporadas a estos sistemas son muy controladas^[40]. Por otro lado, implementar un material de bajo costo y que tenga la posibilidad de asemejar el comportamiento de dichos metales, sería una excelente opción al incorporarlo en un electrodo, planteando así, la síntesis de NPs-Cu un metal de transición que ofrece excelentes propiedades conductivas, selectividad a la oxidación de Chol y bajo costo.

CAPÍTULO 2

Síntesis, Optimización y Caracterización Fisicoquímica de NPs-Cu.

CAPÍTULO 2. Síntesis, Optimización y Caracterización Fisicoquímica de NPs-Cu.

2.1 Introducción

Para las NPs-Cu, es posible mejorar las propiedades con la modificación de los parámetros que tienen mayor impacto en la síntesis de nanomateriales, por ejemplo, un cambio en la temperatura disminuye el tamaño de partícula e incluso modifica los parámetros de red^[41]. La sensibilidad y actividad catalítica disminuyen si no se obtiene un tamaño entre los 5 y 10 nm (en el caso de los sistemas abióticos), lo que genera tener un mayor gasto en la cantidad de combustible y por ende de electrocatalizador.

Como se discutió anteriormente, al ser el tamaño de gran importancia, es que se sigue investigando sobre métodos alternativos para sintetizar NPs-Cu. En este sentido, a pesar de existir diferentes técnicas (hidrotérmica, pirolisis o Sol-Gel, apartado 1.4), en su mayoría son implementadas para la síntesis de óxidos metálicos. Sin embargo, no son foco de este estudio, buscando así un método por síntesis química, como el utilizado por Maya *et al.* donde se realizan estructuras Core-Shell (Cu@Pd), optimizarlo para obtener el tamaño de partícula deseado y finalmente caracterizarlo fisicoquímicamente, de la forma en que se describe en este capítulo.

2.2 Elección del método de síntesis de NPs-Cu

En esta sección se describe la síntesis de NPs-Cu mediante la reducción de sales de sulfato de cobre (CuSO₄) y la modificación del mismo para reducir el tamaño de partícula para aumentar la sensibilidad y reducir el costo del catalizador.

2.2.1 Metodología experimental

Las NPs-Cu se obtuvieron utilizando como precursores y reactivos, CuSO₄ (J. T. Baker \geq 98.5%), Etilenglicol (J. T. Baker \geq 98.5%), Ácido ascórbico (Macron \geq 99%), Polivinilpirrolidona (PVP, wt =360,000), Acetona (J.T.Baker \geq 98.5%) y agua desionizada (18 M Ω cm).

2.2.1.1 Síntesis de Nps-Cu

Las NPs-Cu fueron realizadas a partir de la síntesis química de Core-Shell Cu@Pd reportado por Maya *et al.*^[31], utilizando 0.1 g de polyvinilpirrolidona, como surfactante y 0.66 g de ácido ascórbico, como agente reductor. Estos precursores son colocados en un matraz balón que contiene 10 mL de etilenglicol, como medio de reacción, el cual es

calentado hasta $T = 80^{\circ}$ C, después se agrega a la CuSO₄, y es mantenido en agitación durante t = 30 min para la formación del core, observado este hecho mediante el cambio de coloración de la solución (**Fig. 2.1**) posteriormente, es adicionada el precursor de Pd.



Fig. 2. 1 Cambio de coloración al generar los Core de Cu en el proceso de Síntesis.

El método de síntesis tiene un papel importante sobre las características que puede adquirir el material. Por esta razón, es importante una adecuada selección del método de preparación, de acuerdo con la aplicación y la forma del material que se desea obtener, por lo que, fueron modificados diferentes parámetros para disminuir el tamaño de la partícula, los cuales se representan en la **Fig. 2.2**.



Fig. 2. 2 Procesos modificados en la síntesis de Maya et al.

2.3 Técnicas para la caracterización fisicoquímica de materiales

A continuación, se describen brevemente las técnicas utilizadas para la caracterización del material de interés.

2.3.1 Difusión Dinámica de Luz (Dynamic Light Scattering, DLS)

Como prueba preliminar de tamaño de las NPs-Cu se utilizó DLS, ya que, al ser una prueba rápida permite conocer las dimensiones de la partícula en el menor tiempo posible. Esta técnica consiste en medir el movimiento Browniano y lo relacionarlo con el tamaño de partícula, esto se debe a que, a mayor sea la partícula menor será el movimiento Browniano y viceversa. El movimiento Browniano es el desplazamiento aleatorio de las partículas, debido al ataque de las moléculas del disolvente que las rodea^[42], por lo que el diámetro medido será el diámetro hidrodinámico como se muestra en la **Fig. 2.3**.



Fig. 2. 3 Representación gráfica del diámetro hidrodinámico.

Y es posible representarlo con la Ecuación 2.1.

$$d(H) = \frac{kT}{3\mu D}$$
 Ecuación 2. 1.

Siendo d(H) = diámetro hidrodinámico de la particula, k = constante de Boltzman, T = temperatura absoluta, μ = Viscosidad y D = Coeficiente de difusión.

Particularmente, se utilizó un Zeta Sizer Nano Series Nano-ZS90, que mide la difusión en un ángulo de 173.

2.3.2 Difracción de Rayos-X (X-Ray Diffraction, XRD)

Por otro lado, fueron realizadas análisis por DRX con el objetivo de conocer la estructura del material. La Difracción de rayos-X es un método capaz de suministrar información cualitativa y cuantitativa sobre compuestos cristalinos presentes en sólidos, basándose en que cada sustancia cristalina presenta un diagrama de difracción único.

La técnica corresponde a la Ecuación de Bragg, describiendo que existen condiciones que interfieren con el haz que forma el ángulo θ , como la longitud de onda (λ) emitida por la fuente, así como, la distancia interplanar del cristal (d), tomando en cuenta su orden de difracción (n)^[43]. Por lo que el ángulo de incidencia satisface la **Ecuación 2.2**.

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$
 Ecuación 2. 2

Es posible representar esquemáticamente la **Ecuación 2.2**, con la **Fig. 2.4** de donde se determina que es necesario que el espacio entre las capas de átomos sea el mismo que la longitud de onda de la radiación y que los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de manera regular ^[44].



Fig. 2. 4 Interacción entre Rayos-X y la estructura cristalina de un material.

Para el uso de esta técnica se emplea un Difractómetro de rayos-X, para el material se utilizó uno de la marca Bruker (modelo PW3710) con radiación CuK α_1 (λ = 1.541 Å) en el intervalo de 30° < 20 < 80 °.

Una técnica complementaria para el estudio de la morfología de las Nps sintetizadas fue mediante Microscopia electrónica de barrido, además, con el aditamento de la Espectrometría por dispersión de energía de Rayos-X, se puede obtener la composición, haciéndolas una buena técnica para la caracterizar un nuevo material.

2.3.3 Microscopia electrónica de barrido (Scaning Electron Microscopy, SEM) y Espectrometría por dispersión de energías de Rayos-X (X-Ray Energy Dispersive Spectrometry, EDS)

Ya sea para el examen o análisis de microestructuras, la versatilidad del equipo proporciona información morfológica y topográfica de su superficie, debido a la alta resolución y la apariencia tridimensional de la misma, obteniendo imágenes estereoscópicas, para ello, se realiza un barrido de electrones acelerados que viajan a través del cañón y el detector mide la cantidad de electrones enviados obteniendo una intensidad diferente dependiendo la zona de la muestra, de esta forma, es capaz de mostrar figuras tridimensionales que se proyectan en una imagen digital. En la **Fig. 2.5** se muestra de forma general el esquema de una SEM, donde se utiliza un cañón de electrones y un sistema para su focalización, utilizando un detector de los mismo para la resolución de imágenes^[45].


Fig. 2. 5 Esquema de un microscopio electrónico de barrido.

Por otra parte, la incorporación de un detector de Si(Li) abre la posibilidad de realizar análisis cualitativo y cuantitativa de los elementos presentes en la muestra por medio de espectroscopia de dispersión energética de rayos X, la que se hace con un bombardeo electrónico^[46].

Para realizar pruebas con las que se aprecia la morfología de las estructuras presentadas se utilizó un microscopio JEOL, modelo JSM-6060 LV, mientras que, el mapeo superficial se realizó con espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS, detector BrukerXFlash 6110) con un voltaje de aceleración de 20 keV.

2.3.4 Espectroscopía fotoelectrónica de Rayos-X (X-Ray photoelectron spectroscopy, XPS)

Este procedimiento se lleva a cabo mediante la incidencia de un fotón de energía (hv) sobre los átomos que se encuentran en la superficie de la muestra, provocando la emisión de electrones con una energía de ligadura^[47] (**Fig. 2.6**).



Fig. 2. 6 Un fotón suministra su energía a un electrón de un nivel eléctrico interior, y este es emitido.

Debido a que, cada elemento tiene una energía cinética que corresponde a diferentes enlaces que a su vez corresponden a un nivel energético, se deduce que con

la **Ecuación 2.3.** se determinará la energía de ligadura del material (valor que corresponde de forma específica a cada electrón) y con ello cualificarlo^[48].

İ

$$E_B = hv - E_k - W$$
 Ecuación 2. 3.

De tal forma que, *E*_B, es la energía de ligadura en término del elemento y nivel atómico, *hv*, es la energía de los fotones, *E*_k, la energía cinética del fotoelectrón emitido y *W* la función trabajo del espectrómetro^[49].

La caracterización por esta técnica se realizó por duplicado, con la finalidad de tener un margen de error +/- 0.1, el equipo es un Monocromatic Magics Thermo Scientifics, modelo K-Alpha+ Surface analysis, haciendo un análisis a v = 1 scan/min en t = 20,5 s y *CAE* = 20.

2.3.5 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (High-Resolution transmission electron microscopy, HR TEM)

La microscopia electrónica de transmisión sirve para estudiar materiales con dimensiones en el rango nanométrico o incluso sub-micrómetro. La iluminación de estos equipos proviene de un cañón de electrones emitidos por filamentos de W. Los electrones son acelerados aplicando potenciales negativos y focalizándose mediante lentes condensadores sobre una muestra delgada y transparente a los electrones, teniendo una estructura como se muestra en la **Fig. 2.7**^[50].



Fig. 2. 7 Esquema convencional de un TEM.

Los análisis realizados por HR TEM son capaces de ampliar hasta 500,000 veces y tienen la capacidad de ampliar hasta unas fracciones de nm. Lo que permite caracterizar estructuralmente, no solo morfológicamente, sino también cristalográficamente^[51].

Utilizando un HR TEM JEOL-2100, con una fuente de electrones termiónica con filamento de LaB₆, Cámara CCD digital marca Gatán, modelo SC200, a 80 keV, se calculó la distancia interplanar y con ello los parámetros de red de la estructura cristalina.

2.4 Resultados y Discusión

Debido a que se efectuaron modificaciones en la síntesis de NPs-Cu, se realizó la caracterización fisicoquímica del material, a fin de conocer tamaño, morfología, estructura cristalina, distancia interplanar, parámetros de red (*a*, *b*, *c*), planos preferenciales, así como, el estado de oxidación del mismo.

2.4.1 Difracción de rayos – X para NPs-Cu

A partir de la síntesis reportada por Maya *et al.* y realizada en este trabajo, se obtuvieron las NPs-Cu, lo cual se corroboró mediante un análisis de DRX, que se presenta en la **Fig. 2.8**.



Fig. 2. 8 Difractograma resultante de la síntesis inicial de NPs-Cu.

La **Fig. 2.8**, muestra los patrones de difracción de las NPs-Cu sintetizadas, observando los picos característicos asociados a los planos cristalográficos (1 1 1), (2 0 0) y (2 2 0) correspondientes a la presencia de Cu (PDF # 04-0836). Asimismo, se exhiben los planos (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) y (3 1 1) relacionados con el Cu₂O (PDF # 05-

0667), el cual se forma naturalmente. De acuerdo a la ecuación Debye-Scherrer, existe una relación entre el tamaño de partícula y el ancho de pico medio, **Ecuación 2.4.**

$$\boldsymbol{D} = \frac{ky}{\beta\cos\theta}$$
 Ecuación 2. 4

Donde λ es la longitud de onda de la radiación de rayos-X (0.154 nm para Cu K α), θ es el ángulo de Bragg, $\mathbf{k} = 0.94$ y β = FWHM el ancho de pico medio. De esta forma, es posible decir que, el tamaño de partícula es inversamente proporcional al parámetro β . En este sentido, a partir de los picos observados la **Fig. 2.8**., y la **Ecuación 2.4** fueron calculados los tamaños de cristal, 25 nm y 75 nm para Cu y Cu₂O, respectivamente. Complementario a los resultados de DRX, fue realizado un estudio a través de la técnica DLS, obteniendo un tamaño de partícula de 525 nm. Como es de esperarse, el tamaño de cristal no corresponde al tamaño de partícula; esto es debido, a que una partícula es un conjunto de cristales aglomerados.

Ya que los valores obtenidos por ambas técnicas no se encuentran dentro del rango de tamaño de partícula óptimo para su aplicación como electrocatalizador ($\approx 5 - 10$ nm). Por lo que, se procedió a la optimización del tamaño de partícula mediante la modificación los parámetros de mayor interés en el proceso de síntesis química de NPs-Cu.

2.4.2 Optimización del tamaño de NPs-Cu

Con el objetivo de disminuir el tamaño de partícula de los materiales sintetizados y para disminuir tiempo de análisis, fueron realizados estudios, únicamente por la técnica DDL, en función de la variación de los parámetros deseados, hasta obtener un tamaño dentro del rango óptimo de un electrocatalizador.

2.4.2.1 Efecto de la velocidad de agitación (VA) en la síntesis de NPs-Cu

Debido a la búsqueda del control de la morfología y tamaño de las NPs-Cu, se han hecho diferentes estudios sobre el efecto de la V_A para el crecimiento de nanomateriales. En la **Fig. 2.9**, se muestra el efecto de la V_A , durante la síntesis de NPs-Cu a $T = 40^{\circ}$ C, $t_{ad} = 5$ min y $t_{TS} = 30$ min, en un rango de 100 a 350 RPM con intervalos de 50 RPM.



Fig. 2. 9 Optimización del tamaño de NPs-Cu por la modificación de la Agitación.

A través de esta **Fig. 2.9**, es posible observar que el tamaño de partícula tiene una disminución considerable desde 693 nm a 100 RPM hasta 401 nm a 350 RPM, lo que corresponde a la reducción 42% del tamaño. Esta disminución del tamaño es posible asociarla con los fenómenos estudiados por Amirjani, A. *et al.* ya que mencionan que V_A será inversamente proporcional al tamaño de la partícula, debido a que, con el aumento de la V_A la solución presentará un efecto de homogeneización, reduciendo la concentración de iones en la solución, por lo que, una V_A mayor conducirá a condiciones más favorables para la nucleación y crecimiento de nanopartículas, incluso, debido al aumento de este valor, existe la combinación de tensión y energía de deformación, haciendo posible la formación de surcos sobre las NPs, resultando en un aumentando del área superficial^[52], **Fig. 2.10**.



Fig. 2. 10 Efectos del aumento de la V_A en la matriz de síntesis.

Aún y cuando se obtuvo una considerable reducción en el tamaño de partícula, este valor no es considerado dentro del rango esperado para su aplicación como electrocatalizador, por lo que, se procedió a modificar un segundo parámetro (T).

Dado que la temperatura también se considera como una variable importante en el proceso de síntesis y habiendo obtenido el mejor valor de la variación de agitación, se decidió cambiar la temperatura en un rango de T = 20 - 80 °C en intervalos de 10 °C.

2.4.2.2 Efecto de la temperatura (T) en la síntesis de NPS de Cu.

Debido a que, la temperatura (*T*) afecta directamente la capacidad de hidrolisis del catión de interés, es posible mencionar que ésta tendrá un fuerte efecto en la formación y crecimiento de nanopartículas^[53], por lo que, fue realizada una segunda modificación al proceso de síntesis de NPs-Cu, manteniendo V_A = 350 RPM, t_{ad} = 5 min y t_{TS} = 30 min. La **Fig. 2.11**, representa los resultados del proceso de síntesis modificando la temperatura, en intervalos de 10°C desde T = 20° - 80°C.



Fig. 2. 11 Modificación del tamaño de partícula modificando la temperatura de proceso.

En el gráfico anterior, es posible observar que el tamaño disminuye en promedio 50 nm por cada intervalo con forme aumenta la temperatura del proceso, teniendo un cambio considerable de 538 nm a T = 20 °C hasta 276 nm a T = 70 °C. Sin embargo, a T = 80°C se presentó un cambio drástico en el tamaño de partícula (156 nm), el cual, es posible asociar, a que la deprotonación de la sal precursora (CuSO₄) necesita una mayor cantidad de energía para alcanzar un tamaño menor de partícula^[53]. No obstante, este proceso es limitado a bajas temperaturas (T), ya que si el ácido ascórbico es sometido a T > 80°C por un tiempo prolongado, sufrirá entonces su descomposición^[54]. Por lo que, el tamaño menor de partícula fue de 120 nm a T = 80°C, a pesar de, dicho tamaño es superior al rango óptimo para un electrocatalizador, por ello, se procedió a una tercera modificación de la síntesis, que consiste en el efecto del tiempo de estabilidad del sistema, ante el tamaño de partícula sintetizado.

2.4.2.3 Determinación del tiempo de adición de la sal precursora (tad)

De acuerdo con *Toshima, N. et al.* es posible modificar el tamaño de una partícula con el cambio de t_{ad} , debido a la estabilidad que puede proporcionar al sistema cuando la *T* y V_A se mantienen constantes^[55]. Una vez determinadas la V_A y *T* óptimas para la síntesis de NPs-Cu, se prosiguió a establecer el t_{ad} de la sal precursora.



Fig. 2. 12 Nivel de segmentación del PVP y su efecto en la síntesis de NPs-Cu.

La **Fig. 2.12**, muestra un cambio significativo (142 nm) entre $t_{ad} = 0$ min y $t_{ad} = 10$ min, atribuido a que el PVP (Polivinilpirrolidona, utilizado con frecuencia como agente estabilizador) necesita cierto periodo para segmentarse totalmente en la solución (en este caso t = 10 min). Este proceso es de suma importancia debido al excelente efecto estérico que proporciona el PVP, así, evitando la aglomeración y la precipitación de partículas^[56]. Paralelo a este fenómeno, el AA (ácido ascórbico) trabaja como agente reductor, evitando la oxidación de las NPs por su efecto antioxidante, así como la agregación de iones reducidos durante la síntesis. En este sentido, una buena fragmentación de PVP y el efecto antioxidante de AA, constituyen un sistema eficaz para la reducción de Cu²⁺ a Cu^{0[57]}.

En contra parte, la segmentación total del PVP evita obtener cambios considerables entre t_{ad} = 20 min (62nm) y t_{ad} = 60 min (49 nm), ya que, esta modificación solo representa el 2 % en el tamaño de partícula. En base al análisis de los datos de la **Fig. 2.12,** se consideró $t_{ad} = \bar{t}_{ad}$ (30 min) como valor óptimo, a pesar de, este valor continúa siendo superior al tamaño óptimo para un electrocatalizador, por lo que se procedió a la variación del tiempo total de síntesis de las NPS-Cu.

2.4.2.4 Efecto del periodo total de síntesis de NPs-Cu

Manteniendo $V_{A=}$ 350 RPM, T = 70 °C y $t_{ad} = 30$ min, se llevó a cabo el proceso a diferentes periodos totales de síntesis, en intervalos de 12 h entre cada toma de muestra, **Fig. 2.13**.



Fig. 2. 13 Tiempo de síntesis y tamaño de partícula correspondiente.

De acuerdo con la **Fig. 2.13**, el tiempo de síntesis óptimo fue de trs= 32 h, ya que, solo hay 1 nm de cambio entre este valor y el próximo de trs= 16 h. Este hecho, puede ser asociado al proceso de nucleación de las partículas, al cual se lleva a cabo en dos etapas: la primera que sigue un rápido crecimiento, en donde dos o más núcleos se unen para formar una partícula de mayor tamaño y posteriormente, estas llegan hasta su punto de maduración, también llamada maduración de Ostwald; donde es imposible observar cambios en el tamaño de partícula^[58]. De esta manera, es posible considerar que trs = 32 h es el óptimo en donde la partícula deja de tener cambios considerables, obteniendo un tamaño de partícula de 8 nm, el cual se encuentra dentro del rango para actuar como un buen electrocatalizador.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el proceso de síntesis óptimo para obtener las NPs-Cu con dimensiones entre los 5 y 10 nm fue logrado con las modificaciones realizadas al método de Maya *et al.* y representadas en la **Fig. 2.14**.



Fig. 2. 14 Proceso de optimización de la síntesis de NPs-Cu de Maya et al.

El proceso optimizado se describe a continuación:

En un matraz balón con una cantidad específica de Etilenglicol (J. T. Baker \geq 99.9%) se llevó hasta T = 80 °C con un $V_A = 350$ RPM. Posteriormente, fueron agregados a la solución 6.6 g de Ácido ascórbico (Macron) y 1 g de Polivinilpirrolidona (PVP, wt = 360,000), manteniendo la agitación durante t = 30 min. Seguido, fue adicionado 1 g de la sal precursora (CuSO₄, J. T. Baker \geq 98.5%). Después, la mezcla se mantuvo en agitación por t = 36 h para finalmente, retirarla y realizar un primer lavado con acetona, continuando con agua desionizada hasta observar un precipitado de color café. Posteriormente se llevó a cabo un proceso de secado por t = 6 h a T = 60 °C.

Después del proceso de secado, las muestras fueron almacenadas y se procedió a realizar la caracterización fisicoquímica, con el objetivo de obtener sus propiedades morfológicas y composicionales.

2.4.3 Caracterización Fisicoquímica de las NPs-Cu optimizadas

En esta sección se presentan los resultados de las NPs-Cu caracterizadas fisicoquímicamente.

2.4.3.1 Análisis morfológico y composicional por microscopio electrónico de transmisición (TEM) y espectroscopia de dispersión energética de Rayos-X (EDS).

En la **Fig. 2.15.** se muestra un análisis morfológico de Nanopartículas de Cobre (NPs-Cu) mediante microscopia electrónica de barrido, además de un mapeo a través de espectroscopia de dispersión energética de Rayos-X.



Fig. 2. 15 Análisis TEM de NPs-Cu.

A partir de estas micrografías, se encontró un diámetro de partícula entre 4 y 10 nm, con una estructura globular. A partir de la **Fig. 2.15**, fue realizado un análisis más detallado, permitiendo la estimación de diámetros promedio de las partículas primarias, **Fig. 2.16**; encontrando que, el valor predominante de las partículas es entre 5 y 6 nm, lo que equivale al 68% de las partículas analizadas. De esta manera, se obtuvo el valor promedio (5.8 \approx 6 nm), el cual es cercano al obtenido por DLS.



Fig. 2. 16 Histograma de distribución de tamaños de NPs-Cu.

Por otro lado, el análisis por EDS (**Fig. 2.17**) muestra que el Cu está distribuido de manera uniforme en él material, además de pequeñas cantidades de Oxígeno, lo que se puede atribuir a que las semiesferas están constituidas por Cu y Cu₂O.



Fig. 2. 17 EDS-SEM de NPs-Cu.

Además, se observa la presencia de C, atribuido al PVP residual del proceso de síntesis. Para constatar los enlaces moleculares del Cobre y la existencia de posibles óxidos, se realizaron pruebas por espectroscopía fotoelectrónica de Rayos-X y de esta forma corroborar los resultados obtenidos por EDS.

2.4.3.2 Estudio estructural del material sintetizado por espectroscopía fotoelectrónica de Rayos-X (X-Ray photoelectron spectroscopy, XPS)

El XPS es una técnica poderosa que indica los enlaces y estados de oxidación de un material, debido a que cada elemento tiene una huella única ante esta prueba. En la **Fig. 2.18**, se muestra el espectro característico de energía de enlace del Cu⁰ y Cu⁺⁺, que fue obtenido de la síntesis de NPs-Cu con la modificación del método.



Fig. 2. 18 Espectroscopia fotoeléctrica de Rayos X del Cu.

La señal Cu **2p**_{3/2}, corresponde a la presencia de Cu⁰ y Cu⁺⁺, por un lado, la señal del 3^{er} barrido (934.8 eV), corresponde al estado de oxidación Cu⁺⁺, atribuidos a la señal de oxígeno presente en el mapeo por EDS. Por otro lado, el 1^{er} barrido (933 eV), es la respuesta del Cu⁰, calculando entonces que, del total de NPs-Cu, el 21% son óxidos y el 79% se encuentra en su estado metálico, el cual es necesario para la electrocatálisis de la reacción.

2.4.3.3 Análisis por Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR TEM, por sus siglas en inglés)

Como se explicó en el apartado 2.3.5 cuando la técnica TEM es acoplada a un tipo específico de lentes es posible realizar un análisis de alta resolución. Con ella y utilizando DigitalMicrograph como auxiliar, se determinaron las distancias interplanares de las partículas y su distribución, como se muestra en la Fig. 2.19.



Fig. 2. 19 Cuantificación de la distancia interplanar utilizando Digital Micrograph sobre imágenes de HR TEM.

A partir de estas micrografías se observan semiesferas, de la misma forma que las observadas por SEM. Asimismo, fueron calculadas las distancias interplanares, las cual se presentan en la Tabla 2.1.

			Parámetro de Red	Parámetro de Red	Distancia	Distancia
Material	20	Plano	$(a^* = b^* = c^*)$	$(\mathbf{a} = \mathbf{b} = \mathbf{c})$	interplanar	interplanar
			(Å)	(Å)	(d *) (Å)	(d) (Å)
Cu	43.317	[1 1 1]			2.087	1.997
	50.449	[2 0 0]	3.61	3.44	1.807	1.806
	74.126	[2 2 0]			1.278	1.156
Cu ₂ O	36.441	[1 1 1]			2.463	2.478
	42.329	[2 0 0]	4.26	4.34	2.133	2.2
	52.488	[2 2 0]			1.508	1.539

Como se puede observar en la Tabla 2.1, existe una aproximación entre los valores teóricos (*) y los obtenidos con las NPs-Cu sintetizadas, contemplando un error no superior al 9%, por lo que, es posible considerar que el material no es modificado estructuralmente.

2.5 Conclusiones

Utilizando como base el método químico de Maya *et al.* se sintetizaron NPs-Cu, sin embargo, el tamaño de partícula no fue el adecuado para un electrocatalizador, por lo que se procedió a la modificación de dicho proceso, disminuyendo el tamaño de partícula en un 98.8%, cambiando parámetros como Agitación, Temperatura, tiempo de adición de la sal precursora y el tiempo total de síntesis, obteniendo un tamaño de 6 nm, el cual se puede considerar óptimo para utilizarse como catalizador. En la **Fig. 2.20** se muestra un resumen de impacto que tiene cada uno de los parámetros modificados sobre el tamaño de partícula en la síntesis del material. En ella es posible apreciar que de estos factores el que tienen mayor impacto en esta síntesis es la Temperatura, ya que, si esta es modificada, mejora la síntesis con la disminución del 70% en el tamaño de partícula. Todas estas mejoras hacen que las NPs-Cu sintetizadas sean potenciales candidatas que utilizar como electrocatalizadores.



Fig. 2. 20 Disminución de tamaño de partícula con el cambio de cada factor en la síntesis. De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas realizadas, se encontró por SEM una distribución homogénea del catalizador en la matriz, también se observó que la formación de óxidos se ve benefician debido a una posible interacción con el aíre en el proceso de secado, ya que el Cu de forma natural realiza un proceso de pasivación en su superficie y así conservar un centro metálico activo. Sin embargo, gracias al 34

procedimiento se reducen la cantidad de óxidos posiblemente generados. Por otro lado, también presenta un cambio en las distancias interplanares de hasta el 9 % y 3% para el Cu y Cu₂O, respectivamente, en comparación a los valores teóricos obtenidos por XRD, por lo tanto, se considera una modificación estructural en el electrocatalizador lo que posibilita un beneficio en la actividad catalítica y/o la sensibilidad del material, de esta forma, es recomendable realizar caracterizaciones electroquímicas del material, con la finalidad de observar la respuesta del mismo al agregar el combustible (Chol) y con la información proporcionada definir los alcances de dicho material, ya sea en el ámbito energético o en el área de la salud como sensor.

CAPÍTULO 3

Caracterización y Evaluación Electroquímica de NPs-Cu para la Oxidación de Colesterol (Chol). CAPÍTULO 3. Caracterización y Evaluación Electroquímica de NPs-Cu para la Oxidación de Colesterol (Chol).

3.1 Introducción

Recientemente, se han generado diferentes investigaciones sobre el desarrollo de nuevos materiales y las funciones que estos cumplirán, ya sea para la purificación de efluentes^[59], descontaminación de materiales radioactivos^[60], generación de energía o sensores^[61]. El avance de la ciencia e ingeniería de los materiales permite, que el mismo material tenga una dualidad funcional, por ejemplo, usarse en la generación de energía, específicamente en µCC, así como, la generación de gases con valor agregado^[62].

Con respecto a dicha dualidad, los materiales utilizados para las μ CC buscan que la reacción de oxidación del combustible no solo se utilice para la generación de energía, sino, sea funcional para realizar un sensor amperométrico del mismo^[63]. Por ejemplo, *Sekretaryova et al.* desarrollaron una Self-power con electrodos enzimáticos, los cuales son posibles de utilizar como sensor o generadores de energía si tienen una buena incorporación al sistema^[64]. Sin embargo, estos estudios de materiales bifuncionales se han centrado en sistemas enzimáticos que tienden a ser costosos en el mercado, debido a los métodos de inmovilización y el precio de las enzimas. Por lo que, se han estudiado materiales abióticos accesibles y de esta forma desplazar los sistemas convencionales, como Pt^[65]. No obstante, el desarrollo de dicho material se enfrenta con algunas limitantes como: la incorporación a los electrodos de la celda, la funcionalidad que pueda tener en una μ CC y si el mismo material tiene un Límite de detección (LDD), el Limite de cuantificación (LDC) y la sensibilidad (*S*) óptimos para el flujo de combustible, así como el rango de operación y de la misma forma, un costo menor.

Es por ello, que con la finalidad de determinar la bifuncionalidad de las NPs-Cu sintetizadas, fueron evaluadas diferentes tintas catalíticas, de esta forma, fue posible observar la respuesta electroquímica del Cu en diferentes medios (neutro y básico), así como el efecto de su incorporación en diferentes electrodos, para posteriormente evaluarlos como un sensor de Chol y determinar sus parámetros de operación (LDD, LDC y **S**); y por otro lado, someter estos electrodos a pruebas de descarga para establecer si dicho material tiene la capacidad de incorporarse en una μ CC para la generación de energía.

3.2 Elaboración de tintas catalíticas

En este apartado se describe el desarrollo de tintas catalíticas (TC) para el uso de las NPs-Cu que se sintetizaron y caracterizaron en el Cap. 2, así como su evaluación como sensor electroquímico y en una µCC.

3.2.1 Metodología experimental

3.2.1.1 Preparación de la tinta catalítica

La literatura menciona que, la mejor forma de realizar una tinta catalítica para la evaluación de un catalizador, es preparando una solución de alcohol isopropílico que contiene 9 % en volumen de Nafion[®] y 2% en peso de catalizador ^[66]. Sin embargo, para este estudio no fue posible debido que el Cu sufre de una oxidación con la presencia de Nafion[®], por lo que se optó, por usar una tinta a base de Quitosanos (CTs) de bajo peso molecular **Fig. 3.1**.

El proceso comienza dispersando 4.5 mg de NPs-Cu en 0.1mL de agua. Por otra parte, se realizó una solución de Ac. Acético (AcA) y agua en relación 1:100 (V/V) la cual contiene 3% en peso de CTs, finalmente se toma una relación 3:5 suspensión-solución y se incorporan al electrodo, dejando secar por t = 3h ^[67].



Fig. 3. 1 Esquema para la elaboración de tintas a base de quitosanos de bajo peso molecular.

Es importante mencionar que, concentraciones altas de CTs pueden aumentar la resistividad del sistema, lo que conlleva a disminuir la conductividad del mismo^[68], en este sentido, se procedió a modificar la concentración de CTs en la matriz y de la misma forma, observar el efecto de la concentración de AcA en el sistema. Así, se prepararon una variedad de tintas catalíticas, las cuales contienen diferentes concentraciones en peso de CTs (1%, 2% y 0.5%), dispersos en soluciones volumétricas de AcA y agua, en relaciones correspondientes a 5:100, 10:100 y 15:100 (V/V), dichas tintas contienen una carga constante de catalizador de 10 mg/ml, **Tabla 3.1**.

Carga Catalítica = mg/ml	[CTs] = % p/p	$[\mathbf{A}\mathbf{A}] = \% \ \mathbf{v}/\mathbf{v}$	Rotulo
		5	1a
	1	10	1b
		15	1c
_		5	2a
10	2	10	2b
		15	2c
		5	3a
	0.5	10	3b
		15	3c

3.2.1.2 Preparación los electrodos

Para la evaluación de las NPs en tinta como un sensor electroquímico, dicha tinta fue depositada en electrodos de carbón vítreo (CV), utilizando una carga sobre la superficie del electrodo de 0.7 mg cm⁻². Por otro lado, para la Microcelda de combustible se realizó el mismo procedimiento para el ánodo; mientras que para el cátodo se utilizó una solución acuosa de catalizador (Pt al 20%/C) con una solución alcohólica de Nafion[®] al 5% utilizando una carga de 1 mg cm⁻² depositándose en el electrodo con el método propuesto por *Clicchio et al.* (Spray method)^[69].

3.2.1.3 Evaluación de electrodos como sensor electroquímico

La evaluación electroquímica se llevó a cabo, utilizando un arreglo de tres electrodos en una celda convencional de vidrio como se muestra en la **Fig. 3.2**, donde el electrodo de trabajo (WE) es el electrodo modificado con las NPs-Cu, como contra electrodo (CE) un alambre de Pt y como electrodo de referencia un electrodo de Ag|AgCl (E = 0.205). La solución electrolítica fue buffer de fosfatos pH = 7, preparado con KH₂PO₄ (J.T. Baker > 99.3%), KHPO₄ (J.T. Baker > 99.4%), y Agua desionizada (18 MΩcm). Como combustible Colesterol (SIGMA > 99%) y Triton[®] X-100 (Hycel)^[70].



Fig. 3. 2 Celda convencional en un arreglo de 3 electrodos.

Utilizando un Potenciostato/Galvanostato Marca: Biologic VSP-0363, se obtuvieron voltamperometrias cíclicas a una velocidad de barrido v = 20 mV/s en una ventana de potencial de E = -1.5 V a 1.5 V, a diferentes concentraciones de Chol.

3.2.1.4 Evaluación de electrodos en celda completa

Finalmente, se acoplaron los dos electrodos a la celda utilizada por *R.A. Escalona-Villalpando et al.* [71] la cual se muestra en la **Fig. 3.3**.

La celda fue montada de la siguiente manera, en el compartimiento catódico fueron empleados los electrodos elaborados a base de Pt y fue alimentado con un caudal ($\mathbf{Q} = 3 \text{ ml/h}$) de H₂SO₄ 0.5M, por otro lado, el ánodo utiliza como combustible Chol en una solución de NaOH 0.1M con el mismo caudal que el cátodo, sin embargo, para este compartimiento fueron utilizaron los electrodos modificados con las NPs-Cu. Una vez ensamblada, se realizó un muestreo del **OCP** por $\mathbf{t} = 45 \text{ min y de la misma forma, se llevaron a cabo curvas de descarga desde el potencial de estabilización hasta <math>\mathbf{E} = 0 \text{ V}$, determinando así, el Voltaje proporcionado por la celda completa y su potencia.



Fig. 3. 3 Esquema de la celda utilizada por R.A. Escalona-Villalpando *et al.* (2018)[71], con las entradas utilizadas en este estudio.

3.3 Resultados y discusión

El análisis de resultados que se presenta a continuación describe el comportamiento de las NPs-Cu sintetizadas en media celda de la **Fig, 3.2** y en la μ CC de la **Fig. 3.3**, como un sensor de Chol o un catalizador para un sistema de generación de energía respectivamente.

3.3.1 Respuesta y selección de una tinta catalítica para el sistema

La **Fig. 3.4**, muestra el voltamperograma cíclico obtenido de la tinta convencional de CTs, sin embargo, no es posible observar el perfil electroquímico del cobre en medio neutro.



Fig. 3. 4 VC de la tinta catalítica de CTs|NPs-Cu, pH = 7 y v = 20 mV/s, sin observar respuesta electroquímica del Cu.

El comportamiento de la tinta catalítica se puede atribuir a la saturación de CTs, debido a que este polímero es no conductor, es posible que aumente la resistencia de la tinta y disminuya el contacto eléctrico entre cada NPs-Cu[72], por lo que, se procedió a mejorar la tinta hasta obtener proporciones CTs – AcA con una mejor respuesta, **Tabla 3.1**.

Las VC se clasificaron en 1 (a, b, c), 2 (a, b, c) y 3 (a, b, c), donde el número representa la clasificación según la concentración de CTs y la letra la clasificación según la concentración de 10 mg/ml de catalizador.



Fig. 3. 5 VC de las tintas preparadas según la clasificación de la Tabla 3.1 a pH = 7 y v = 20 mV/s.

La Fig. 3.5 presenta las curvas voltemperométricas de las tintas catalíticas realizadas. En la Fig. 3.5-1 se muestra el resultado de las tintas 1a, 1b y 1c. Observando que, la 1b muestra un proceso de oxidación electroquímico, el cual se puede atribuir a que la concentración de AcA ha protonado de manera óptima la cadena de CTs. Por otro lado, en la Fig. 3.5-2 no se observan reacciones relacionadas con los procesos electroquímicos del Cu, este comportamiento puede deberse a que la cantidad de AcA no ha sido la suficiente para protonar adecuadamente las cadenas de CTs de la tinta. Sin embargo, la Fig. 3.5-3 demuestra que las tintas 3a y 3b presentan una mejor

respuesta electroquímica, en comparación a las series 1 y 2, además de una respuesta electroquímica semejante a la del Cu cuando la concentración es del 15%, correspondiente a la tinta 3c.

Este comportamiento fue explicado en los estudios realizados por Gümüşoĝlu *et al.* (2011)[73], los cuales mencionan que se puede lograr una mejor conductividad tratando la tintas con una proporción adecuada de un agente ácido (pH < 7) – CTs, debido a una mejor protonación, sin embargo, si la protonación es excesiva, los CTs funcionarán como un agente quelante, atrapando las NPs-Cu, lo que anularía de igual forma la respuesta electroquímica.

Finalmente, en la **Fig. 3.5–4**, se comparan las mejores tintas de cada serie (1b, 2c, 3c), observando que, la 3c presenta una serie de procesos electroquímicos que pueden atribuirse a las NPs-Cu, por lo que, se modificó el tratamiento previo al depósito de la tinta en los electrodos, mediante un sonicado por periodos mayores, logrando así una mejora en la dispersión del catalizador. De esta forma, se procedió a realizar nuevamente curvas voltamperométricas, obteniendo el resultado presentado en la **Fig. 3.6**.



Fig. 3. 6 Análisis electroquímico del Cu a) VC de las NPs-Cu en medio neutro (pH = 7) b) Diagrama de Pourbaix de Cu.

En la **Fig. 3.6a**, se muestra que, al tener una mejor dispersión de la tinta, es posible observar la respuesta electroquímica de las NPs-Cu de la tinta 3c. Sin embargo, a pesar de presentar un proceso de oxidación y su respectiva reducción, dicho diagrama no corresponde con la respuesta electroquímica esperada. Basándose en el diagrama de Pourbaix de Cu, es posible considerar que en pH = 7 se tienen que observar dos estados

de oxidación (**Fig. 3.6b**), sin embargo, en su lugar existen dos ondas capacitivas las cuales es posible atribuir a la primera oxidación (E = -0.3V) y segunda reducción (E = -0.6V) de las NPs-Cu.

Al observar detalladamente el diagrama de Pourbaix de Cu (**Fig. 3.6b**), cuando el $pH \approx 7$, es posible que exista de un punto triple, en otras palabras, en estas condiciones coexisten tres especies diferentes Cu₂O, Cu(OH)₂ y Cu⁺⁺. En esta fase, la existencia de un punto triple puede interferir con la respuesta electroquímica esperada, y es por ello que se procedió a trabajar en pH = 14, donde es posible observar dos estados de oxidación (Cu⁺ y Cu⁺⁺) sin interferencia como se presentó en el trabajo de Oh *et al.* (2006)[74].

Se procedió a realizar un estudio voltamperométrico a pH = 14 y añadiendo a la tinta catalítica Carbón Vulcan X-32, con la finalidad de mejorar el contacto eléctrico entre las partículas de la tinta catalítica (**Fig. 3.7a**).



Fig. 3. 7 a) Tintas catalíticas CTs|CV|NPs-Cu, b) VC de NPs-Cu, pH = 14 y v = 20 mV/s c) Desprendimiento de tintas catalíticas, presentando coloración característica de los óxidos de Cu.

En la **Fig. 3**.7b se muestra el proceso de oxidación correspondiente a $Cu^0 \rightarrow Cu^+$ y el segundo paso de reducción $Cu^+ \rightarrow Cu^0$, teniendo así cuatro reacciones electroquímicas a diferencia del uso de los electrodos en medio neutro, donde solo se observan dos. Sin embargo, las tintas catalíticas se desprendían del sustrato al realizar los estudios con Chol. Esto se debe a, que el CV es una especie de carbón no grafítico, lo cual lo hace impermeable a los gases, y dichos gases pueden acumularse en la superficie del electrodo causando el desprendimiento de la tinta. Además, dicha acumulación pudo beneficiar la oxidación del material, por lo que las tintas presentaban una coloración azul característica de los óxidos de cobre, como se muestra en la **Fig. 3.7c**.

De acuerdo con lo anterior, se realizó la modificación del sustrato cambiando el CV por papel Toray (EC-TP1-060T). Debido a las tendencias actuales de investigación en electrodos de bajo costo y menor volumen, características en las que el papel Toray (PT) es superior al CV. Además, el PT se ha vuelto una opción muy atractiva para esta investigación, ya que su alta versatilidad permite su fácil acoplamiento en dispositivos microfluídicos. Adicionalmente, el PT está compuesto principalmente de una red tridimensional porosa de fibras (**Fig. 3.8**), lo que aumenta el área superficial, mejorando el transporte de masa y densidad de corriente, facilitando así la modificación de la superficie. Aunado a esto, su excelente adsorción química podría mejorar la calidad de la tinta y de esta manera[75], evitar el desprendimiento de la misma en el proceso de adición del Chol.



Fig. 3. 8 Micrografía 3D de los electrodos de Papel Toray.

Por tal motivo, se procedió a la preparación de diferentes electrodos de PT, en los cuales se aisló un A = 0.25 cm² que fungió como área geométrica. De esta manera, se procedió a depositar la tinta y finalmente se calculó la carga catalítica de cada uno de los electrodos, como se muestra en la **Fig. 3.9**.



Aislamiento del área de contacto

Rotulación y cálculo de la carga catalítica de los electrodos.







Deposito de tintas de NPs-Cu



Fig. 3. 9 Procedimiento de la modificación de los electrodos de PT.

Tomando tres electrodos de forma aleatoria, se hicieron pruebas de adiciones de colesterol, y en este caso no se presentó desprendimiento o coloración. Por ende, se procedió a realizar una microscopía óptica ocular de los mismos, para observar la distribución de la tinta sobre las fibras, y con apoyo de Photoshop CS6 analizar el área recubierta de los electrodos.



Fig. 3. 10 Micrografía a) Distribución de la tinta catalítica antes de su uso, b) tinta catalítica después de su uso al adicionar Chol.

En la **Fig. 3.10** se muestra la dispersión de la tinta sobre el PT, en donde es posible observar un recubrimiento parcial del 70% de la superficie total del electrodo (**Fig. 3.10a**). Después de las adiciones, dicho recubrimiento disminuyo hasta el 56% de la superficie (**Fig. 3.10b**), indicando un desprendimiento del 20% total de la tinta, siendo este valor inferior al presentado con el CV (90%), y de esta manera, se procedió a continuar con el proceso de evaluación de las NPs-Cu utilizando este tipo de electrodos.

3.3.2 Respuesta electroquímica ante la presencia del Chol

Procediendo la experimentación con los electrodos de papel Toray modificados con NPs-Cu, fueron realizadas adiciones de 0.1 mM y 0.5mM en un electrolito básico (pH = 14), obteniendo las respuestas en la **Fig. 3.11.**





De acuerdo con la **Fig. 3.11**, fue posible obtener el potencial de inicio y término de los picos de oxidación (E = -0.07 mV) y reducción (E = -0.04 mV) de Cu.

De manera similar a Coutinho et al., es posible observar un incremento en la corriente anódica, debido a la adición del combustible (Colesterol), lo cual se relaciona con el posible acomplejamiento de Cu (II) con la molécula formando especies solubles. Este fenómeno es reportado para aminoácidos y otros agentes quelantes como S y O^[76].

Debido a un valor de s \approx 2.41 mA M⁻¹ mg⁻², se podría considerar que son necesarias bajas concentraciones de Cu depositadas en los electrodos para obtener una respuesta electroquímica con muy poca concentración de Chol.

Por lo que, se procedió a realizar pruebas en una μ CC, utilizando electrodos modificados de Cu y Chol como fuente de combustible.

3.3.3. Evaluación de los electrodos en celda microfluídica

El experimento fue realizado en una celda microfluidica con los electrodos evaluados anteriormente, evaluando un flujo de 3 mL h⁻¹, para ambos electrolitos,

utilizando bombas de inyección. Fueron realizadas tres pruebas diferentes (OCP, descarga, impedancia) y por triplicado, graficando las correspondientes al promedio.



Fig. 3. 12 Curvas de descarga a diferentes concentraciones.

En la Fig. **3.12**, indica la dependencia de la corriente (*j*) y la potencia (*W*), producida por la carga de catalizador. Obteniendo una densidad de corriente máxima de 327 μ A/cm² y una densidad de potencia máxima de 48 μ W/cm² para una concentración de 0.2mM de Chol. A pesar de los resultados obtenidos, es posible considerar el uso de electrodos abióticos en un sistema donde el combustible es Chol, ya que al ser comparado con los enzimáticos, la potencia generada es superior a las celdas convencionales, las cuales utilizan electrodos de ChOx y la $W = 11 \,\mu$ W/cm² con [Chol] = 0.5 mM en un sistema saturado de aire^[64], mientras que, en este estudio, los electrodos abióticos de NPs-Cu generaron una potencia de hasta el 436% superior a la celda de Sekretaryova *et al.* (2014), disminuyendo la concentración de Chol en un 60% y sin necesidad de la saturación de aire.

Aunado a esto, se observa que la curva de polarización no presenta un comportamiento convencional con respecto a otros estudios^{[77][78]}, donde se encuentran definidas 3 regiones correspondientes a la perdida por activación, caída óhmica y perdidas por transferencia de masa. Sin embargo, son similares a las curvas obtenidas en los estudios de Hidalgo *et al.*^[79] que exhibe una repentina caída óhmica después de una corta transferencia de masa. Esto se puede atribuir a dos razones. El sistema que se utilizó para el registro de datos podría estar aportando una pequeña cantidad de

corriente, que, tal vez sea lo suficientemente grande como para llevar al sistema más allá de la región de activación. Por otra parte, la reducción del potencial se puede deber a la lenta cinética de la reacción. Es posible que esto suceda, debido a la obstrucción de la superficie por la retención de micelas en el lado anódico y/o la formación de moléculas de agua en el cátodo, lo que impide la óptima distribución de los reactivos en la superficie de los electrodos^[80].

En la **Fig. 3.13** se muestran tres micrografías (SEM) con la finalidad de observar el efecto micelar del Triton[®] en la superficie de los electrodos antes y después del uso en la μ CC, al igual de la superficie de los electrodos no modificados después de utilizarse como blanco en la μ CC.



Fig. 3. 13 a) Electrodo modificado con Nps-Cu sin utilizarse en la μCC, b) Electrodo modificado con NPs-Cu después de utilizarse en la μCC, c) Electrodo sin modificarse utilizado en μFC.

En la **Fig. 3.13a**, es posible observar la superficie modificada de los electrodos de papel Toray antes de haber sido utilizada en la µFC. Seguido, la **Fig. 3.13b**, se presenta el electrodo una vez utilizado, donde se exponen granulaciones que no pertenecen a la

tinta y que es posible atribuir al aumento de concentración del Triton X-100. Finalmente, en la **Fig. 3.13c**, se aprecia un electrodo sin modificarse con la tinta catalítica, pero que fue utilizado en la celda de combustible, en este caso, sobre su superficie, existe la presencia de vesículas sumamente definidas, lo que puede explicar el comportamiento observado en la curva de polarización al agregar Chol.

3.4 Conclusiones

No fue posible modificar electrodos de CV con las NPs-Cu, debido a la falta de adherencia de este, por lo que se procedió a modificar la matriz por PT, con el que se obtuvieron mejores resultados sin alteraciones en la composición del material. Durante la evaluación electroquímica se observó un amento en la corriente anódica debido a la adición de Chol a la celda.

Por otro lado, el uso de estos electrodos tiene una respuesta superior a los electrodos enzimáticos, por lo que, es posible considerar la sustitución de la ChOx en celdas de combustible por NPs-Cu, teniendo como resultado electrodos más económicos y con un alto rendimiento para la generación de energía.

CONCLUSIONES GENERALES Y PERPECTIVAS

CONCLUSIONES GENERALES

Fue posible mejorar el tamaño de las NPs-Cu mediante la modificación de los parámetros del método Poliol. Dando seguimiento al tamaño mediante DLS se cuantifico la reducción del tamaño de partícula hasta en un 98.8%.

Además, la caracterización físicoquímica permitió corroborar la reducción a través de micrografías proporcionadas por TEM, con las que conjuntamente, se determinó el tamaño promedio de partícula, donde, alrededor del 70% de ellas se encuentra por debajo de los 8 nm. Aunado a esto, el EDS y XPS, demostraron la estabilidad de estas NPs, debidos a la deficiente presencia de oxígeno en la matriz analizada, alcanzado hasta el 79% de las NPs-Cu en estado metálico.

Fue posible incorporar dichas NPs-Cu a electrodos de papel Toray, utilizando una tinta a base de Quitosano de baja densidad. Debido a la excelente capacidad de protonación después de un tratamiento ácido con ácido acético del Quitosano. Además, la estructura fibrosa de los electrodos de papel Toray, aumentan el área de geométrica y por lo tanto la cantidad de sitios activos para la reacción.

La evaluación electroquímica presentó, a través de VC, un amentó en la corriente anódica, lo que es posible atribuir a la formación de complejos de Cu-Chol, por el efecto quelante que proporciona el oxígeno presente en este (Chol).

Además, las curvas de polarización revelan una cinética lenta en la reacción de oxidación de Chol, lo que se podría atribuir a la presencia del Tritos X-100 como surfactante.

Sin embargo, la densidad de potencia fue superior a la reportada con enzimas convencionales para la oxidación de Chol (ChOx).

PERSPECTIVAS

De acuerdo con los resultados y conclusiones abordados en este trabajo de maestría, sería conveniente mejorar y profundizar algunas áreas de la investigación realizada, tales como:

- Por el lado de la interacción Cu-Chol, es necesario realizar un estudio profundo que pueda brindar mayor información de las interacciones moleculares entre el Chol y las NPs-Cu incorporados al electrodo modificado, para lo que es necesario ampliar la caracterización con técnicas como: Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) y resonancia magnética nuclear en solidos (RMN), para conocer si existe algún cambio de oxidación el los grupos funcionales del Chol o iones presentes en las nanopartículas y de esta forma proponer su mecanismo de reacción.
- Por el lado de la evaluación como sensor, es necesario realizar un aumento en las adiciones de Chol, hasta llevar a saturación el electrodo y de esta forma determinar un rango de operación de dichas partículas, así mismo, la evaluación cronoamperométrica con interferentes biológicos, con la finalidad de observar la respuesta del material ante la presencia de otras moléculas presentes en la sangre y proceder a la evaluación con muestras sanguíneas.
- Realizar evaluaciones con otras moléculas no biológicas como ácido fórmico, metanol, etc.
- Realizar evaluaciones en modo celda de combustible utilizando los compuestos ya mencionados como fuente de energía y comparar los resultados con el de otros autores.
- Evaluar el acoplamiento de los dos sistemas con la posibilidad de diseñar, construir e implementar una Self-Powered que utilice estos electrodos.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] F. Kellner, "Allocating greenhouse gas emissions to shipments in road freight transportation: Suggestions for a global carbon accounting standard," *Energy Policy*, vol. 98, pp. 565–575, 2016.
- [2] V. Ramani, "Fuel Cells," *Electrochem. Soc. Interface*, pp. 41–44, 2006.
- [3] A. Wisitsoraat, P. Sritongkham, C. Karuwan, D. Phokharatkul, T. Maturos, and A. Tuantranont, "Fast cholesterol detection using flow injection microfluidic device with functionalized carbon nanotubes based electrochemical sensor," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 4, pp. 1514–1520, 2010.
- [4] X. Chen, Y. Wang, J. Zhou, W. Yan, X. Li, and J. J. Zhu, "Electrochemical impedance immunosensor based on three-dimensionally ordered macroporous gold film," *Anal. Chem.*, vol. 80, no. 6, pp. 2133–2140, 2008.
- [5] T. Marimuthu, M. R. Mahmoudian, S. Mohamad, and Y. Alias, "Synthesis and characterization of non-enzymatic hydrogen peroxide sensor of polypyrrole coated cobalt nanocomposites," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 202, pp. 1037–1043, 2014.
- [6] S. Cinti, F. Arduini, D. Moscone, G. Palleschi, L. Gonzalez-Macia, and A. J. Killard, "Cholesterol biosensor based on inkjet-printed Prussian blue nanoparticle-modified screen-printed electrodes," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 221, pp. 187–190, 2015.
- [7] A. Y. Khan, S. B. Noronha, and R. Bandyopadhyaya, "Superior performance of a carbon-paste electrode based glucose biosensor containing glucose oxidase enzyme in mesoporous silica powder," *Adv. Powder Technol.*, vol. 27, no. 1, pp. 85–92, 2016.
- [8] K. O. Iwu, A. Lombardo, R. Sanz, S. Scirè, and S. Mirabella, "Facile synthesis of Ni nanofoam for flexible and low-cost non-enzymatic glucose sensing," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 224, pp. 764–771, 2016.
- [9] A. N. Kozitsina, A. V. Okhokhonin, and A. I. Matern, "Amperometric detection of cholesterol using cobalt (II) chloride as an electrocatalyst in aprotic media," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 772, pp. 89–95, 2016.
- [10] DR. MIGUEL ARROYO, "Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones," *Ars Pharm.*, pp. 1–17, 1998.
- [11] L. K. Kurihara, G. M. Chow, and P. E. Schoen, "Nanocrystalline metallic powders and films produced by the polyol method," *Nanostructured Mater.*, vol. 5, no. 6, pp. 607–613, 1995.
- [12] Y. Mizukoshi, K. Okitsu, Y. Maeda, T. A. Yamamoto, R. Oshima, and Y. Nagata, "Sonochemical preparation of bimetallic nanoparticles of gold/palladium in aqueous solution," *J. Phys. Chem. B*, vol. 101, no. 36, pp. 7033–7037, 1997.
- [13] M. Mart??n *et al.*, "Cholesterol biosensing with a polydopamine-modified nanostructured platinum electrode prepared by oblique angle physical vacuum deposition," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 240, pp. 37–45, 2017.
- [14] "Distribuidora Gimpsa," 2016. [Online]. Available: http://www.gimpsa.com.mx/.

- [15] R. Ji, L. Wang, G. Wang, and X. Zhang, "Synthesize Thickness Copper (I) Sulfide nanoplates on Copper Rod and It's Application as Nonenzymatic Cholesterol Sensor," *Electrochim. Acta*, vol. 130, pp. 239–244, 2014.
- [16] A. B. Bose, S. Gopu, and W. Li, "Enhancement of proton exchange membrane fuel cells performance at elevated temperatures and lower humidities by incorporating immobilized phosphotungstic acid in electrodes," *J. Power Sources*, vol. 263, pp. 217–222, 2014.
- [17] J. W. Morzycki, "Recent advances in cholesterol chemistry," *Steroids*, vol. 83, pp. 62–79, 2014.
- [18] A. I. Mayor, "Trabajo Fin de Máster Diseño, construcción y puesta a punto de un sensor de colesterol," 2015.
- [19] C. C. Allain, L. S. Poon, C. S. G. Chan, W. Richmond, and P. C. Fu, "Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol," *Clin. Chem.*, vol. 20, no. 4, pp. 470– 475, 1974.
- [20] K. V. Derina, E. I. Korotkova, E. V. Dorozhko, O. a. Voronova, and D. a. Vishenkova, "Voltammetric Sensor for Total Cholesterol Determination," *Procedia Chem.*, vol. 10, no. 3822, pp. 513–518, 2014.
- [21] J. Sánchez-Ramírez *et al.*, "Inmovilización de enzimas lignocelulolíticas en nanopartículas magnéticas," *Quim. Nova*, vol. 37, no. 3, pp. 504–512, 2014.
- [22] B. Wang, L. Shangguan, S. Wang, L. Zhang, W. Zhang, and F. Liu, "Preparation and application of immobilized enzymatic reactors for consecutive digestion with two enzymes," *J. Chromatogr. A*, vol. 1477, pp. 22–29, 2016.
- [23] V. Aggarwal, J. Malik, A. Prashant, P. K. Jaiwal, and C. S. Pundir, "Amperometric determination of serum total cholesterol with nanoparticles of cholesterol esterase and cholesterol oxidase," *Anal. Biochem.*, vol. 500, pp. 6–11, 2016.
- [24] M. M. Gonzales, "Caracterizacion De Catalizadores De Cobre Utilizados En La Reaccion De Reduccion Catalitica Selectiva De Oxidos De Nitrogeno Utilizando Tecnicas De Resonancia Magnetica," 2011.
- [25] X. Guo et al., "Synthesis of Cobalt–Glycerate hierarchical structure and their conversion into hierarchical CoP nanospheres for the hydrogen evolution reaction," *Int. J. Hydrogen Energy*, pp. 1–9, 2017.
- [26] J. H. Hodak, A. Henglein, and G. V. Hartland, "Photophysics of Nanometer Sized Metal Particles: Electron-Phonon Coupling and Coherent Excitation of Breathing Vibrational Modes," *J. Phys. Chem. B*, vol. 104, pp. 9954–9965, 2000.
- [27] F. Laatar, M. Hassen, C. Amri, F. Laatar, A. Smida, and H. Ezzaouia, "Fabrication of CdSe nanocrystals using porous anodic alumina and their optical properties," *J. Lumin.*, vol. 178, pp. 13–21, 2016.
- [28] A. M. Abd-Elnaiem, A. M. Mebed, W. J. Stępniowski, and T. Czujko, "Characterization of arrangement and geometry of porous anodic alumina formed by one-step anodization of Al-1 wt% Si thin films," *Surf. Coatings Technol.*, vol. 307, pp. 359–365, 2016.
- [29] T. Fukutsuka, K. Koyamada, S. Maruyama, K. Miyazaki, and T. Abe, "Ion Transport

in Organic Electrolyte Solution through the Pore Channels of Anodic Nanoporous Alumina Membranes," *Electrochim. Acta*, vol. 199, pp. 380–387, 2015.

- [30] A. M. Youssef, A. M. El-nahrawy, and A. B. Abou, "Sol-gel synthesis and characterizations of hybrid chitosan-PEG/calcium silicate nanocomposite modified with ZnO-NPs and (E102) for optical and antibacterial applications," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 97, pp. 561–567, 2017.
- [31] J. Maya-Cornejo *et al.*, "Copper-palladium core-shell as an anode in a multi-fuel membraneless nanofluidic fuel cell: toward a new era of small energy conversion devices," *Chem. Commun.*, vol. 51, no. 13, pp. 2536–2539, 2015.
- [32] "Desarrollo de electrodos modificados quimica y bioquimicamente para la determinacion de compuestos organicos de interes toxicologico," 1995.
- [33] Y. Zheng *et al.*, "Detection of dopamine at graphene-ZIF-8 nanocomposite modi fi ed electrode," *Chinese Chem. Lett.*, vol. 28, no. 7, pp. 1473–1478, 2017.
- [34] "UTILIZACIÓN DE ELECTRODOS DE PASTA DE CARBONO PARA LA EVALUACIÓN FOTOELECTROQUÍMICA DE MATERIALES SEMICONDUCTORES : TiO 2 EN SOLUCIONES CIANURADAS Use of carbon paste electrodes for the photoelectrochemical evaluation of semiconductor materials : TiO 2 in," no. 36, pp. 701–706, 2007.
- [35] A. Isa, P. Cordoves, C. Abe, I. Balbin, T. Ii, and C. Pércio, "Estudio de la electropolimerización de polipirrol en presencia de un ácido quiral Study of Polypyrrole Electropolymerization in the Presence of a Chiral Acid Resumen Introducción Junto con el reto en los últimos años de la Química analítica para desarroll," vol. 29, no. 1, pp. 39–54, 2017.
- [36] A. Electroquimicas, "Polimeros conductores: sintesis, propiedades y aplicaciones electroquimicas," vol. 4, no. 4, pp. 1–32, 2003.
- [37] S. Takahashi *et al.*, "Electrochimica Acta Observation of ionomer in catalyst ink of polymer electrolyte fuel cell using cryogenic transmission electron microscopy," *Electrochim. Acta*, vol. 224, pp. 178–185, 2017.
- [38] B. G. Pollet and J. T. E. Goh, "Electrochimica Acta The importance of ultrasonic parameters in the preparation of fuel cell catalyst inks," *Electrochim. Acta*, vol. 128, pp. 292–303, 2014.
- [39] N. Agnihotri, A. D. Chowdhury, and A. De, "Non-enzymatic electrochemical detection of cholesterol using ??-cyclodextrin functionalized graphene," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 63, pp. 212–217, 2015.
- [40] S. Tang, Q. Zhao, and Y. Tu, "A sensitive electrochemiluminescent cholesterol biosensor based on Au/hollowed-TiO2 nano-composite pre-functionalized electrode," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 237, pp. 416–422, 2016.
- [41] J. Ding, Y. Zhu, N. Yuan, and G. Ding, "Reduction of nanoparticle deposition during fabrication of porous anodic alumina," *Thin Solid Films*, vol. 520, no. 13, pp. 4321– 4325, 2012.
- [42] H. Xia *et al.*, "Journal of Colloid and Interface Science Study of colloidal particle Brownian aggregation by low-coherence fiber optic dynamic light scattering," *J.*
Colloid Interface Sci., vol. 376, no. 1, pp. 322–326, 2012.

- [43] A. U. Elinwa and M. Umar, "X-ray diffraction and microstructure studies of gum Arabic-cement concrete," *Constr. Build. Mater.*, vol. 156, pp. 632–638, 2017.
- [44] Universidad Nacional de la Plata, "Técnicas de Caracterización. Conceptos Generales. Capítulo IV," *Sedici*, pp. 1–21, 2012.
- [45] S. Hémery, P. Nizou, and P. Villechaise, "Materials Science & Engineering A In situ SEM investigation of slip transfer in Ti-6AI-4V: E ff ect of applied stress," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 709, no. August 2017, pp. 277–284, 2018.
- [46] S. Zhang, W. Zeng, Q. Zhao, L. Ge, and M. Zhang, "Materials Science & Engineering A In situ SEM study of tensile deformation of a near- β titanium alloy," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 708, no. September, pp. 574–581, 2017.
- [47] S. J. Gerber and E. Erasmus, "Electronic effects of metal hexacyanoferrates : An XPS and FTIR study," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 203, pp. 73–81, 2018.
- [48] D. J. Morgan, "Imaging XPS for Industrial Applications," *J. Electron Spectros. Relat. Phenomena*, 2017.
- [49] A. B. Pavolotsky, O. I. Lubenchenko, and D. A. Ivanov, "XPS study of multilayer multicomponent films," *Appl. Surf. Sci.*, 2017.
- [50] A. L. Narayanan and M. Dhamodaran, "HR-TEM and FT-Raman dataset of the caffeine interacted Phe – Phe peptide nanotube for possible sensing applications," *Data Br.*, vol. 16, pp. 1051–1055, 2018.
- [51] H. Du, "A nonlinear filtering algorithm for denoisin HR(S)TEM micrographs," Ultramicroscopy, vol. 151, pp. 62–67, 2015.
- [52] A. Amirjani, D. H. Fatmehsari, and P. Marashi, "Interactive effect of agitation rate and oxidative etching on growth mechanisms of silver nanowires during polyol process," *J. Exp. Nanosci.*, vol. 10, no. 18, pp. 1387–1400, 2015.
- [53] B. D. Bishoyi, R. K. Sabat, J. Sahu, and S. K. Sahoo, "Materials Science & Engineering A E ff ect of temperature on microstructure and texture evolution during uniaxial tension of commercially pure titanium," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 703, no. July, pp. 399–412, 2017.
- [54] C. Ja, "Degradación del ácido ascórbico durante el secado convectivo de papaya Maradol (Carica papaya).," vol. 2, no. Fao 2010, pp. 251–259, 2012.
- [55] N. Toshima and T. Yonezawa, "Bimetallic nanoparticles—novel materials for chemical and physical applications," *New J. Chem.*, vol. 22, no. 11, pp. 1179–1201, 1998.
- [56] J. Ryu, H.-S. Kim, and H. T. Hahn, "Reactive Sintering of Copper Nanoparticles Using Intense Pulsed Light for Printed Electronics," *J. Electron. Mater.*, vol. 40, no. 1, pp. 42–50, 2011.
- [57] M. Sampath, R. Vijayan, E. Tamilarasu, A. Tamilselvan, and B. Sengottuvelan, "Green synthesis of novel jasmine bud-shaped copper nanoparticles," *J. Nanotechnol.*, vol. 2014, 2014.

- [58] G. Urbina-villalba, "El fenómeno de maduración de ostwald. predicciones de las simulaciones de estabilidad de emulsiones sobre la evolución del radio cúbico promedio de una dispersión," vol. 3, no. 2, pp. 1–21, 2014.
- [59] R. Chen et al., "Electrochimica Acta Selective removal of cesium ions from wastewater using copper hexacyanoferrate nanofilms in an electrochemical system," *Electrochim. Acta*, vol. 87, pp. 119–125, 2013.
- [60] K. Shakir, M. Sohsah, and M. Soliman, "Removal of cesium from aqueous solutions and radioactive waste simulants by coprecipitate flotation," vol. 54, pp. 373–381, 2007.
- [61] G. Slaughter and T. Kulkarni, "Biosensors and Bioelectronics A self-powered glucose biosensing system," vol. 78, pp. 45–50, 2016.
- [62] C. Yao *et al.*, "Effects of Bi doping on the microstructure, electrical and electrochemical properties of La2-xBixCu0.5Mn1.5O6 (x=0, 0.1 and 0.2) perovskites as novel cathodes for solid oxide fuel cells," *Electrochim. Acta*, vol. 229, pp. 429–437, 2017.
- [63] J. C. Vidal, J. Espuelas, and J. R. Castillo, "Amperometric cholesterol biosensor based on in situ reconstituted cholesterol oxidase on an immobilized monolayer of flavin adenine dinucleotide cofactor," *Anal. Biochem.*, vol. 333, no. 1, pp. 88–98, 2004.
- [64] A. N. Sekretaryova, V. Beni, M. Eriksson, A. A. Karyakin, A. P. F. Turner, and M. Y. Vagin, "Cholesterol Self-Powered Biosensor," no. i, 2014.
- [65] J. Yang, H. Lee, M. Cho, J. Nam, and Y. Lee, "Nonenzymatic cholesterol sensor based on spontaneous deposition of platinum nanoparticles on layer-by-layer assembled CNT thin film," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 171–172, pp. 374– 379, 2012.
- [66] E. Ortiz-Ortega *et al.*, "Pd Nanostructures with High Tolerance to CO Poisoning in the Formic Acid Electrooxidation Reaction," *Procedia Chem.*, vol. 12, no. 442, pp. 9–18, 2014.
- [67] Y. Li, H. Bai, Q. Liu, J. Bao, M. Han, and Z. Dai, "A nonenzymatic cholesterol sensor constructed by using porous tubular silver nanoparticles," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, no. 10, pp. 2356–2360, 2010.
- [68] D. Wei, W. Sun, W. Qian, Y. Ye, and X. Ma, "The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity," *Carbohydr. Res.*, vol. 344, no. 17, pp. 2375–2382, 2009.
- [69] I. Colicchio, F. Wen, H. Keul, U. Simon, and M. Moeller, "Sulfonated poly(ether ether ketone)-silica membranes doped with phosphotungstic acid. Morphology and proton conductivity," *J. Memb. Sci.*, vol. 326, no. 1, pp. 45–57, 2009.
- [70] A. K. Giri, C. Charan, S. C. Ghosh, V. K. Shahi, and A. B. Panda, "Phase and composition selective superior cholesterol sensing performance of ZnO@ZnS nano-heterostructure and ZnS nanotubes," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 229, pp. 14–24, 2016.
- [71] R. A. Escalona-Villalpando et al., "Evaluation of hybrid and enzymatic nanofluidic

fuel cells using 3D carbon structures," Int. J. Hydrogen Energy, pp. 4–9, 2018.

- [72] V. Trujillo and B. Padilla, "Preparación Y Caracterización Fisicoquímica Y Estructural De Un Gel Conductor a Base De Quitosano," p. 54, 2012.
- [73] T. Gümüşoĝlu, G. A. Ari, and H. Deligöz, "Investigation of salt addition and acid treatment effects on the transport properties of ionically cross-linked polyelectrolyte complex membranes based on chitosan and polyacrylic acid," *J. Memb. Sci.*, vol. 376, no. 1–2, pp. 25–34, 2011.
- [74] Y.-J. Oh, G.-S. Park, and C.-H. Chung, "Planarization of Copper Layer for Damascene Interconnection by Electrochemical Polishing in Alkali-Based Solution," J. Electrochem. Soc., vol. 153, no. 7, p. G617, 2006.
- [75] E. Nú, M. T. Fern, M. C. Blanco-I, and A. C. García, "Optimization and characterization of nanostructured paper-based electrodes," vol. 265, pp. 717–725, 2018.
- [76] C. F. B. Coutinho, M. O. Silva, S. A. S. Machado, and L. H. Mazo, "Influence of glyphosate on the copper dissolution in phosphate buffer," vol. 253, pp. 3270–3275, 2007.
- [77] N. Samsudeen, T. K. Radhakrishnan, and M. Matheswaran, "Bioelectricity production from microbial fuel cell using mixed bacterial culture isolated from distillery wastewater," *Bioresour. Technol.*, vol. 195, pp. 242–247, 2015.
- [78] S. S. Shy, S. C. Hsieh, and H. Y. Chang, "A pressurized ammonia-fueled anodesupported solid oxide fuel cell: Power performance and electrochemical impedance measurements," *J. Power Sources*, vol. 396, no. April, pp. 80–87, 2018.
- [79] D. Hidalgo, A. Sacco, S. Hernández, and T. Tommasi, "Electrochemical and impedance characterization of Microbial Fuel Cells based on 2D and 3D anodic electrodes working with seawater microorganisms under continuous operation," *Bioresour. Technol.*, vol. 195, pp. 139–146, 2015.
- [80] R. Goenka, S. Mukherji, and P. C. Ghosh, "Characterization of electrochemical behaviour of Escherichia coli MTCC 1610 in a microbial fuel cell," *Bioresour. Technol. Reports*, vol. 3, no. May, pp. 67–74, 2018.