UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO BASADO EN PECTINA DE CÍTRICOS Y NANOTUBOS DE CARBONO

TESIS

Por:

HUMBERTO GARCÍA MARTÍNEZ

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo Coahuila México. Noviembre de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Desarrollo de un Sensor Electroquímico Basado en Pectina de Cítricos y Nanotubos de Carbono

TESIS

Por:

HUMBERTO GARCÍA MARTÍNEZ

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

APROBADA POR EL COMITÉ DE TESIS:

ECNavio

Ph.D. Efraín Castro Narro

Asesor principal

M.C. Oscar Noé Rebolloso

Padilla

Coasesor

Dr. José Sandoval Cortes

Dr. José Sandoval Cortes

Asesor externo

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo Coasesor

Buenavista, Saltillo Coahuila, México. Noviembre de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Desarrollo de un Sensor Electroquímico Basado en Pectina de Cítricos y Nanotubos de

Carbono

TESIS

Presentada por:

HUMBERTO GARCÍA MARTÍNEZ

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

APROBADA

M.C. Óscar Noé Rebolloso Padilla

Dr. José Sandoval Cortes

SCNano

Ph.D. Efraín Castro Narro

Vocal

Dr. José Sandoval Cortés

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo Vocal Suplente

Vocal

SHUERSIDAD AUTONOMA AGOT Ramiro Lopez Trujillo

dinador de la División de Ciencia Animal

coordinacion de ciencia Buenavista, Saltillo Coahuila, México. Noviembre de 2014

Agradecimientos

A mi Alma Terra Mater: Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" por permitir formarme en sus instalaciones como profesionista y como ser humano.

A mis maestros y asesores que contribuyeron a mi formación y crecimiento académico como en el ámbito personal.

A todo el personal docente y administrativo de los departamentos de Ciencia y Tecnología de Alimentos y del Departamento de Ciencias Básicas.

Un especial Agradecimiento a:

Ph. D. Efraín Castro Narro por la confianza y el apoyo incondicional en este proyecto, por su tiempo y paciencia para la realización del mismo, así como sus innumerables consejos y talento que desarrollaron este trabajo.

Dr. José Sandoval Cortes por abrir las puertas en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila por su paciencia, apoyo y el gran aporte en la realización de este trabajo. Muchas gracias.

Mc. Oscar Nóe Rebolloso Padilla por todo el Apoyo Brindado durante mi estancia en la Universidad, por sus enseñanzas, por su tiempo, por su consejos y por guiarme durante todo este tiempo, sinceramente; Gracias.

Dr. Heliodo de la Garza Toledo, por su tiempo y dedicación en la formación de jóvenes profesionistas así como la confianza depositada para la realización de este trabajo. Muchas gracias!

Lic. Víctor López González, por su apoyo en la Realización de este proyecto y por sus enseñanzas. Y por el impulso que brinda a sus alumnos.

Agradezco al personal y compañeros de laboratorio de lácteos María de Jesus Sánchez y Laura Aguirre, a la compañera Brenda Montes; a ellas por acompañarme durante mi estancia en el laboratorio.

A todos ustedes por ser compañeros, maestros, pero sobre todo por ser amigos, mis más sinceros agradecimientos.

A **Martha Alicia Cena González** y Familia, Gracias por formar parte de mi vida y por apoyarme todo este tiempo, gracias por impulsarme a seguir adelante y no detenerme, en especial a ti Martha que día a día me diste ánimo para seguir delante de todo corazón muchas gracias.

A mis amigos y compañeros de carrera:

Nayeli Robles Borda, Francisco Cortes Arganda, Fredy Enrique Balón Xopo, Yaradid Esmeralda López Cazares, Abel López Cazares Jesús Budar (Chuy), Humberto García Angel, Mayra González, Dolores García, Belén Azucena, Magali, Gísela, Teresa Castillo, Amira, Pedro Pascual, Bonifacio Antonio (Boni), Amalia Vásquez, Ventura Moreno, Leticia Pablo, Donaldo Juárez, Wendolyn, Aglael Castro, Antonio Mejía. Rosa María Cortes

A Santiago García Yañez por el apoyo brindado durante la carrera.

A todos y cada uno de ellos: Muchas Gracias!!!

Dedicatoria

A Genaro Martínez Aguilar (*†*) Por todo lo que un padre pudo enseñarle a un hijo por tu esfuerzo y por enseñarme el difícil y arduo camino de la vida. Gracias donde quiera que estés.

A Celino Yañez Cortés (*†*) por su apoyo en vida, gracias por ser amigo y padre de familia. El mundo es menos alegre sin ti.

A mis dos madres Teresa González Estrada y Teresa Martínez González a ellas debo gran parte de la culminación de la carrera ya que siempre fueron mi inspiración a pesar de estar lejos. Gracias de todo Corazón por su cariño, comprensión y apoyo incondicional, las quiero mucho.

A mis hermanos y hermanas: Israel, Manuel, Selene, Marisol, Yoselin, Fernando, y la más pequeña Brenda. A ustedes por todos esos momentos de hermandad por el trabajo unido por inspirarme a seguir. Los quiero mucho.

"Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano"

Isaac Newton

ÍNDICE

Agradecimi	ientosI
Dedicatoria	ıIII
ÍNDICE	1
Índice de F	iguras3
1 Resum	1EN:6
2 Introdu	ıcción7
3 Antece	edentes
3.1 Po	lisacáridos8
3.1.1	Quitosano
3.1.2	Almidón10
3.1.3	Pectina12
3.2 Se	nsores electroquímicos15
3.3 Na	notubos de carbono16
3.4 Se	nsores electroquímicos basados en polisacáridos y NTC
3.5 Ele	ectroquímica20
3.5.1	Reacciones de óxido-reducción20
3.5.2	Celdas electroquímicas
3.5.3	Cátodos y Ánodos21
3.5.4	Tipos de celdas electroquímicas21
3.5.5	Potenciometría
3.5.6	Ecuación de Nernst23
3.5.7	Electrodos24
3.5.8	Técnicas Voltamperométricas27

	3.5	5.9 Voltamperometría cíclica	28
	3.5	5.10 VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE PULSOS	29
	3.6	Ácido ascórbico	30
	3.7	Ácido úrico	31
	3.8	Dopamina	33
	3.9	Sensores electroquímicos basados en NTC para AA, AU y DPA	34
4	Ob	jetivos	35
	4.1	Objetivo general	35
	4.2	Objetivos particulares	36
5	Ма	iterial y reactivos	36
6	Me	etodología	36
	6.1	Preparación de solución amortiguadora de fosfatos.	37
	6.2	Preparación de los Electrodos	38
	6.3	Solución de Pectina	38
	6.4	Dispersión de Nanotubos de Carbono	38
	6.5	Modificación de los Electrodos de Carbón Vítreo	39
	6.6	Solución de Analitos	39
	6.7	Evaluación de la Respuesta Farádica de la Solución AA-AU-DPA	39
Re	esulta	ados y discusión	41
7	Co	nclusiones	55
8	Re	comendaciones	55
9	9 Bibliografía		
10 ANEXOS			
	10.1	Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Úrico (Au)	58
	10.2	Experimento correspondiente a la determinación de Dopamina (DPA)	61

10.3	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Úrico (AU) 63
10.4	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Úrico (AU) 65
10.5	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Ascorbico (AU)67
10.6	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Úrico (AU) 69
10.7	Experimento correspondiente	a la determinación	de Dopamina71
10.8	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Ascórbico 73
10.9	Experimento correspondiente	a la determinación	de Ácido Ascórbico 75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química del quitosano9
Figura 2: Estrucutura química de la Amilosa11
Figura 3: Estructura química de la Amilopectina11
Figura 4: Estructura química del ácido galacturónico y ácido galacturónico metoxilado13
Figura 5: De izquierda a derecha, esquema representativo de un nanotubo de carbono
de pared sencilla. A la derecha, esquema de un nanotubo de pared múltiple 17
Figura 6: Diagrama esquemático mostrando como una hoja hexagonal de grafeno es
enrollada para formar NTC con diferentes quiralidades (A: Forma de sillón, B: Forma
zig-zag y C: Forma quiral)17
Figura 7: Barrido del potencial del electrodo de trabajo en forma de onda triangular en
experimentos de voltamperometría cíclica
Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial
Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial de pulsos
Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial de pulsos
Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial de pulsos
Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial de pulsos

Figura 13: Voltamperograma diferencial de pulsos llevado a cabo en un electrodo de Figura 14: Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbón vítreo desnudo....... 43 Figura 15: Deconvolución del voltamperograma correspondiente a la solución de AA, Figura 16: Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbono vítreo modificado con Figura 17: Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbono vítreo modificado con Figura 18: Voltamperogramas correspondientes a la mezcla AA-DPA-AU sobrepuestos, de un electrodo de carbono vítreo sin modificar (electrodo desnudo) y de Figura 19: Disminución de la concentración de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC......47 Figura 20: Repetición 2 Disminución de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de Figura 21: Repetición 3 Disminución de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC 48 Figura 22: Curva de calibración correspondiente a Dopamina para los tres electrodos mostrados anteriormente. Obtenido a partir del software estadístico OriginPro 88..... 49 Figura 23: Gráfica que corresponde a la disminución de la concentración de AU y que corresponde a la repetición 1 para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado

Figura 24: Repetición 2 Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC. Mezcla AU-AA......50 Figura 25: Repetición 3 Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC. Mezcla AU-AA......51 Figura 26: Curva de calibración obtenida para AU obtenida con datos de las tres repeticiones mostradas anteriormente. Obtenida mediante el software estadístico Figura 27: Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de Figura 28: Curva de calibración correspondiente a la disminución de AU53 Figura 29: Voltamperogramas correspondientes a la disminución de AA desde 1mM

Índice de Tablas.

Tabla 1: Características de algunos almidones de la industria alimentaria	12
Tabla 2: Condiciones de la voltamperometría diferencial de pulsos.	39

1 RESUMEN:

La elaboración de sensores electroquímicos empleando películas de nanotubos de carbono, ha cobrado gran importancia durante estos últimos años. Para la elaboración de dichas películas típicamente se emplean polímeros sintéticos como agentes dispersantes, como ejemplo: el polimetimetacrilato.

En este trabajo se empleó la pectina de cítricos como agente dispersante y formador de película.

Se acondicionaron tres electrodos de carbón vítreo con la dispersión de nanotubos de carbono-pectina (NTC-PEC), elaborando la dispersión de la siguiente manera:

• Se diluyó 1mg de pectina de cítricos en 1mL de agua destilada

Una vez obtenida esta mezcla se le añadieron 20mg de Nanotubos de Carbono.
De la mezcla resultante se tomaron 20µL y se agregaron a los electrodos de carbón vítreo para llevar a cabo los experimentos para la determinación simultanea de tres analitos Ácido Ascórbico, Ácido Úrico y Dopamina a diferentes concentraciones; de 1mM, 0.8 mM, 0.6mM, 0.4mM y finalmente 0.2mM empleando la técnica de voltamperometría diferencial de pulsos.

Una vez realizados los experimentos, se obtuvieron curvas de calibración para las diferentes mezclas de analitos, mostrando en los resultados obtenidos una mayor linealidad para la determinación de ácido ascórbico obteniéndose en la curva de calibración una R2 de 0.96 para este analito.

Palabras clave: Pectina de cítricos, nanotubos de carbono, voltamperometría, sensor, electroquímica, ácido úrico, ácido ascórbico, dopamina.

2 INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha venido estudiando el uso de sensores electroquímicos en diferentes campos de la ciencia. Estos sensores representan una nueva forma de identificación y cuantificación de analitos, su alta especificidad y su rápida respuesta han permitido realizar estudios más completos en diferentes campos científicos, lo cual ha traído consigo datos más confiables y respuestas más rápidas ante un problema en específico ahorrando así, tiempo y consumo de recursos.

En el presente trabajo se pretende estudiar la respuesta farádica de un sensor electroquímico para determinar simultáneamente Ácido Úrico (AU), Ácido Ascórbico (AA) y Dopamina (DPA). Estos analitos son de mucha importancia tanto en el campo médico como en la industria alimentaria, ya que la determinación de estos, permite darle al paciente un tratamiento más adecuado a sus necesidades aunado a que los resultados de las pruebas que se le realizan al mismo, son más rápidos y confiables.

Respecto a la industria alimentaria, el uso de AA se ha venido diversificando, desde su uso como conservador hasta como aditivo en una gran gama de productos alimenticios principalmente en la elaboración de dulces y bebidas adicionadas con vitamina C. Es por ello que la adecuada cantidad de AA debe ser la que se ha establecido en el manual de producción, ya que la carencia o exceso de este puede alterar la calidad del producto trayendo consigo pérdidas económicas para la industria

3 ANTECEDENTES

3.1 Polisacáridos

La mayoría de los glúcidos naturales se encuentran en forma de polisacáridos, polímeros de medio a alto peso molecular. Los polisacáridos, denominados también glucanos, difieren entre sí en la naturaleza de sus unidades monoméricas repetitivas, en la longitud de cadenas, en los tipos de enlace que se forman entre las unidades y en su grado de ramificación. Los homopolisacáridos contienen un único tipo de monómero; los heteropolisacáridos contienen dos o más tipos diferentes de monómero. Algunos homopolisacáridos son formas de almacenamiento de monosacáridos que se usan como combustible biológico; el almidón y el glucógeno son homopolisacáridos de este tipo. Otros homopolisacáridos (como por ejemplo la celulosa y la quitina) actúan como elementos estructurales en las paredes celulares de las plantas y en el exoesqueleto de algunos animales.

Los heteropolisacáridos proporcionan soporte extracelular a organismos de todos los reinos. Por ejemplo, la capa rígida de la envoltura de la célula bacteriana (el peptidoglucano) está compuesta, en parte, por un heteropolisacárido formado por dos unidades alternantes de monosacáridos. En los tejidos animales, el espacio extracelular se encuentra ocupado por diversos tipos de heteropolisacáridos, que forman una matriz que mantiene unidas a las células individuales y proporcionan protección, forma y soporte a células, tejidos y órganos.

3.1.1 Quitosano

El quitosano es un polisacárido lineal, semicristalino compuesto de unidades de (1,4)-2-acetamida-2-desoxi- β -D-glucano (N-acetil D-glucosamina) y (1,4)-2-amino-2-desoxi- β -D-glucano (D-glucosamina). La estructura de este polímero se muestra en la fig. 1. Como tal, el quitosano no está extensivamente presente en el medio ambiente, sin embargo puede ser obtenido fácilmente de la deacetilación parcial de un polímero natural: la quitina. El grado de deacetilación (DD) del quitosano indica el número de grupos amino a lo largo de las cadenas. Para ser llamado quitosano, la quitina deacetilada debe contener al menos 60% de residuos de D-glucosamina (el cual corresponde a un grado de deacetilación de 60). La deacetilación de la quitina es inducida por hidrolisis química bajo severas condiciones alcalinas o por hidrolisis enzimática en presencia de enzimas particulares, una de las cuales es la quitina deacetilasa.



Figura 1: Estructura química del quitosano

Después de la celulosa, la quitina es el segundo biopolímero más abundante y es encontrado comúnmente en invertebrados, como crustáceos en el exoesqueleto de los insectos, pero también en la superficie de algunos hongos, en la pared celular de algas verdes y levaduras. A escala industrial, las dos principales fuentes de quitosano son crustáceos y micelios fúngicos, la fuente animal muestra sin embargo algunos inconvenientes tales como época estacionaria de suministros limitados y con una variabilidad de producto la cual puede llevar a características físico-químicas inconsistentes. Por otro lado el recurso fúngico ofrece la ventaja de un entorno de producción controlada durante todo el año en la que se asegura una mejor reproducibilidad del quitosano resultante, siendo notablemente relacionadas a la composición del sustrato de crecimiento las propiedades físicas del quitosano extraído. Además la fuente vegetal, es generalmente preferida de la de los crustáceos desde un punto de vista alergénico, el quitosano producido de esta fuente viene a ser más seguro para aplicaciones médicas y el cuidado de la salud. El quitosano extraído de hongos típicamente presenta una distribución más estrecha de masa molecular que el

quitosano producido a partir de productos del mar, e incluso puede diferir en términos de masa molecular, DD y distribución de grupos deacetilados. El DD del quitosano varía mucho entre 60 y 100% mientras que su peso molecular va de 300 a 1000 kDa dependiendo de la preparación y de la fuente. Los oligómeros de quitosano pueden ser preparados por degradación de quitosano usando enzimas especificas o reactivos como el peróxido de hidrogeno.[1]

3.1.2 Almidón

El almidón es básicamente un alimento de reserva en vegetales y proporciona entre el 70 y 80% de las calorías consumidas por los humanos en el mundo. El almidón y los derivados de su hidrolisis constituyen la mayoría de los carbohidratos digestibles en la dieta humana[2]. Después de la celulosa es quizá el polisacárido más importante y abundante desde el punto de vista comercial. Los almidones comerciales se obtienen principalmente de granos de cereales como el trigo, maíz, arroz y de algunos tubérculos como la papa[3].

La mayoría de los almidones que se encuentran en la naturaleza están en forma de gránulos semicristalinos que pueden variar tanto en tamaño, forma, y composición química.

Este polisacárido está formado por dos compuestos químicos, la Amilosa y la Amilopectina.

La a Amilosa es un polímero lineal sencillo de α-glucosa y en la mayoría de los almidones representa aproximadamente el 25% de del almidón total. Esta cadena lineal está unida por enlaces α(1→4) aunque existen moléculas que tienen unas pocas cadenas ramificadas conectadas por enlaces α-D-(1→6) en los puntos de ramificación donde se puede encontrar uno de estos enlaces cada 180 0 3320 unidades (aprox. 0.3-0.5% del total de amilosa). Estas ramificación están separados por largas distancias de manera que las

propiedades físicas de la amilosa son esencialmente las mismas que las de moléculas lineales.



Figura 2: Estrucutura química de la Amilosa

 A diferencia de la amilosa, la Amilopectina contiene ramificaciones que le dan una forma molecular parecida a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central por enlaces a-D-(1,6), localizadas cada 15 o 20 unidades lineales de glucosa. La Amilopectina existe en todos los almidones y forma alrededor del 75% de los almidones más comunes.



Figura 3: Estructura química de la Amilopectina

En algunos cereales como el arroz, maíz y sorgo existen variedades llamadas céreas, que están constituidas casi en su totalidad por Amilopectina; en otras se puede encontrar hasta 90% de Amilosa. La concentración relativa de estos dos polímeros está regida por factores genéticos comunes de cada cereal[2].

Características de algunos almidones de la industria alimentaria					
Tipo	Amilosa Amilopectina	Teperatura de gelatinización	Tamaño del granulo en		
	70	70	(C°)	micras	
Maíz	69-74	26-31	62-72	5-25	
Maíz rico en Amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25	
Papa	73-77	18-27	58-67	5-100	
Arroz	83	17	62-78	2-5	
Maíz Céreo	99-100	0-1	63-72	5-25	
Sorgo Céreo	99-100	0-1	67-74	5-25	
Trigo	76	24	58-64	11-41	

Tabla 1: Características de algunos almidones de la industria alimentaria

Debido a su importancia en la dieta humana, el almidón ha sido utilizado en la industria alimentaria como agente espesante en la elaboración de sopas y salsas así como estabilizador en la producción de alimentos para niños y también se ha utilizado en la elaboración de jarabes de glucosa, maltosa o fructosa por hidrolisis[4]

3.1.3 Pectina

La pectina (PEC) es un polisacárido que se encuentra naturalmente en la mayoría de las plantas terrestres, aunque comercial la pectina se extrae principalmente de la piel de cítricos y pulpa de manzana. Dos formas de pectina comercial están disponibles: pectina alto metil-esterificada HM (por su nombre en inglés: high methoxyl) y bajo metil-esterificada (LM, del inglés low methoxyl), y existen dos versiones de este último: una convencional y una forma amidada. La alto metil-esterificada forma geles de

pectina con alto contenido de sólidos solubles y sistemas ácidos, mientras que la pectina de forma bajo metil-esterificada forma geles de pectina en un pH más amplio y un mayor rango de solidos solubles, pero requiere la presencia de cationes divalentes para la gelificación. Como consecuencia, cada tipo tiene su función particular, sin embargo, las características atractivas generales incluyen la excelente liberación de sabor, buenas características de procesamiento y la estabilidad a pH bajo. Su principal función es tradicional y es actuar como un agente gelificante en alimentos pero, hoy en día, también sirve como un agente espesante y estabilizante. La aplicación de pectina es diversa y abarca los productos a base de frutas, productos lácteos, bebidas de leche acidificada y otras bebidas, confitería, productos de panadería, alimentos diversos y se extiende. Además, la pectina encuentra uso en la industria farmacéutica.

ESTRUCTURA QUÍMICA

Las pectinas están formadas fundamentalmente por largas cadenas de unidades ácido galacturónico, que puede encontrarse como tal ácido, con el grupo carboxilo libre, o bien con el carboxilo esterificado por metanol (metoxilado)



Figura 4: Estructura química del ácido galacturónico y ácido galacturónico metoxilado

USO EN INDUSTRIA ALIMENTARIA

En las preparaciones de fruta para yogur, LM pectina crea un gel suave, tixotrópico que es suficientemente firme para asegurar una distribución uniforme de la fruta, incluso en grandes contenedores, pero al mismo tiempo, permite que la preparación de la fruta pueda ser fácilmente agitada en el yogur. Además, la pectina puede reducir la migración del color de la fruta en la fase de yogur. La combinación de la pectina con otras gomas vegetales, tales como goma de algarroba, puede reducir aún más la migración del color y también contrarrestar la sinéresis. En las preparaciones para el yogur tipo fruta en el fondo, la pectina disminuye las velocidades de difusión de la materia de la fruta en la fase de yogur. Sin embargo, en este tipo de aplicación, es importante estar consciente de una posible migración de los iones de calcio desde el yogur en la fase de fruta, el cual puede rápidamente producir una capa de gel firme de fruta indeseable. El problema se puede superar mediante el uso de pectina reactiva baja en calcio y saturando la pectina en la preparación de la fruta con calcio. La aplicación de pectina en las preparaciones de frutas para yogurt es escasa ya que está limitado a los preparados con sólidos solubles por encima del 60% y un pH por debajo de 3,5, mientras que la pectina puede ser utilizada a través de los sólidos enteros y el rango de pH conocido en las preparaciones de fruta. En las preparaciones en donde el pH está en el rango de 3.6-4.0 es recomendada la pectina con reactividad media al calcio. Sin embargo, cuando el contenido de sólidos solubles está por debajo de 50%, la pectina con reactividad alta de calcio puede ser necesaria. La pectina no amidada puede ser usada en concentraciones más altas que la pectina amidada pero le da un mayor grado de tixotropía.

USO EN INDUSTRIA FARMACÉUTICA

La pectina se ha venido utilizando como absorbente intestinal desde hace muchos años. Además, se le han atribuido ciertos efectos beneficiosos para la prevención del cáncer, sobre todo el colorrectal. Recientemente un equipo de investigadores halló en estudios de laboratorio que ciertos componentes de la pectina se unen y, quizás, inhiben una proteína que facilitaría la diseminación del cáncer en el organismo. Al parecer, ciertos azúcares en la pectina se unen a la galectina 3, una proteína sobre la superficie de las células tumorales que favorece el crecimiento celular y se disemina en el organismo. Esa unión, a la vez, permitiría que la pectina inhiba la galectina 3 y, por lo tanto, retrase o incluso revierta la diseminación de las células tumorales [5].

Otro estudio también menciona a la pectina como uno de los componentes de un spray para disminuir el dolor del cáncer progresivo [6]

3.2 Sensores electroquímicos

Durante los últimos años el estudio de sensores electroquímicos ha llamado la atención de muchos investigadores. Se han realizado estudios en diferentes áreas como la farmacéutica, la agricultura o incluso la industria automotriz y sus aplicaciones se extienden hacia otras áreas. Una de las características que poseen estos sensores, es su versatilidad, que como se ha mencionado, se pueden crear sensores para diferentes campos de la ciencia.

Uno de estos sensores electroquímicos, fue el que desarrolló el equipo de Kan Xianwen, el cual está basado en polímeros de huella molecular. De acuerdo con su investigación este sensor posee una dinámica de reposición rápida y una excelente capacidad de reconocimiento de hemoglobina de bovinos. El sensor preparado también mostró una relación de dependencia en ciertas técnicas electroquímicas entre la concentración de hemoglobina y la corriente de pico de K₃[Fe(CN)₆] Ferricianuro de potasio.[7]

Otro de estos sensores electroquímicos, fue desarrollado por Xu Chen y colaboradores. Este sensor fue elaborado para la detección de acetaminofén, mejor conocido como paracetamol ya que este medicamento es ampliamente utilizado como analgésico y antipirético, su principal uso ha sido para reducir la fiebre y para disminuir el dolor, sin embargo; este medicamento produce la acumulación de metabolitos tóxicos los cuales pueden causar severa y algunas veces hepatoxicidad fatal y nefrotoxicidad. De ahí que el desarrollo de metodologías eficientes, simples altamente sensitivas para la determinación de este medicamento, es importante para el control de calidad de análisis (en formulaciones para la industria farmacéutica) y control médico (en fluidos biológicos como orina, sangre y plasma) [8].

Otro campo de aplicación de este tipo de sensores, es la industria alimentaria, ya que la determinación de ciertos compuestos ayuda a mantener el control de calidad de proceso e incluso la inocuidad de los alimentos.

Dentro de este rubro se menciona un sensor electroquímico para determinar colorantes peligrosos como el amarillo de quinolina basados en electrodos de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono. En dicho estudio se menciona que el amarillo de quinolina es un colorante sintético ampliamente usado en la industria alimentaria. Este compuesto (amarillo de quinolina), de acuerdo a recientes estudios se pone en evidencia que este agente químico es genotóxico, por lo cual es importante desarrollar un método fiable y sencillo para la detección de amarillo de quinolina en productos alimenticios. Una vez desarrollado el sensor, se probó en bebidas gasificadas (refrescos).[9]

3.3 Nanotubos de carbono.

A diferencia de otros materiales de carbono, tales como el grafito, diamante y fulereno, los nanotubos de carbono (NTC) son un material unidimensional de carbono. Estos se pueden prever como cilindros compuestos de planos de grafito enrollados con diámetros en escala nanométrica. El nanotubo cilíndrico usualmente tiene al menos un extremo tapado con un hemisferio de estructura de fulereno. Dependiendo del proceso de fabricación de los NTC, hay dos tipos de nanotubos de carbono: los de pared simple (SWCNTs de sus siglas en inglés) y los de pared múltiple (MWCNTs), un esquema de ambos tipos de nanotubos de carbono se muestra en la Figura 3. [10]



Figura 5: De izquierda a derecha, esquema representativo de un nanotubo de carbono de pared sencilla. A la derecha, esquema de un nanotubo de pared múltiple

Los SWCNTs consisten en una sola capa de grafeno enrollada en forma de cilindro, mientras que los MWCNTs consisten en dos o más capas concéntricas de láminas de grafeno en forma cilíndrica dispuestas coaxialmente alrededor de un núcleo central hueco con fuerzas de van der Waals entre las capas adyacentes. De acuerdo con el ángulo de enrollamiento de las hojas de grafeno los nanotubos tienen tres quiralidades: en forma de sillón, zig-zag y una quiral (Ver Figura 4).



Figura 6: Diagrama esquemático mostrando como una hoja hexagonal de grafeno es enrollada para formar NTC con diferentes quiralidades (A: Forma de sillón, B: Forma zig-zag y C: Forma quiral)

PROPIEDADES DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO.

Debido a su estructura y a las propiedades que poseen los NTC, estos materiales han encontrado grandes aplicaciones en muy amplias áreas de la ciencia y la tecnología de entre las cuales se incluye a la nanotecnología, electrónica, óptica, ciencia de los materiales e incluso arquitectura. En vista de las aplicaciones estructurales de los NTC, estas aplicaciones cubren un amplio rango de la industria tales como la de la ropa, equipo deportivo (raquetas de tenis más fuertes y ligeras), bicicletas, varios tipos de balones, chalecos antibalas (industria de la defensa) en la construcción confiere al concreto más resistencia, polietileno, creación de musculo sintético en el campo de la medicina y en el deporte; fibras de alta tensión , aplicación en la construcción de puentes, también en la fabricación de llantas para autos de carreras y algunas otras en sustancias para mitigar el fuego (en extintores).

En el campo electromagnético, la aplicaciones de los NTC están encaminadas a su uso en nanocables químicos, películas conductoras cepillos de motor eléctrico, imanes, ignición óptica, sus aplicaciones para producir filamentos de lámparas (como una alternativa para los filamentos de tungsteno), aplicaciones relacionadas a sus buenas propiedades de superconductividad (en pantallas, como las emisión de campo), aplicación en la industria de los transistores e incluso en una antena electromagnética.

Otras aplicaciones de los NTC van desde aplicaciones químicas incluyendo filtros para aire contaminado, contenedores biotecnológicos, almacenamiento de hidrogeno filtración de agua y aplicaciones mecánicas tales como su uso como osciladores rápidos, membrana de nanotubos, superficie pulida, actuadores de nanotubos, detector de infrarrojos de nanotubos, radio métrica estándar y hasta su aplicación como la radiación térmica para satélites espaciales .[11]

Vale la pena mencionar que la amplia gama de aplicaciones mencionadas de los NTC es debida a sus propiedades únicas como las mecánicas, térmicas, ópticas y eléctricas.

3.4 Sensores electroquímicos basados en polisacáridos y NTC

Como se ha mencionado anteriormente; el estudio de biosensores ha sido muy estudiado en los últimos años. Desde los sensores electroquímicos hasta aquellos más complejos que emplean una molécula biológica como los biosensores. Algunos de estos dispositivos, están basados en polímeros de origen natural como en el caso del quitosano que es un polímero usado comúnmente en el desarrollo e investigación de estos biosensores.

Existen múltiples desarrollos de este tipo de sensores. Uno de estos trabajos es el que llevó a cabo Tsai Yu-Chen y col. Quienes desarrollaron un biosensor para la determinación de lactato. En este trabajo se menciona que un material compuesto de nanotubos de pared múltiple y quitosano fue usado como matriz para el entrampamiento de lactato deshidrogenasa (LDH). En este trabajo se menciona que la enzima LDH fue inmovilizada homogéneamente dentro de dicho material. Este compuesto mostró su habilidad para incrementar las respuestas de corriente en los experimentos electroquímicos además de prevenir la contaminación de la superficie del electrodo también el biosensor propuesto retuvo el 65% de repuesta original después de 7 días. [12]

Otro trabajo relacionado a este tipo de sensores, es el realizado por Wang Yanyan y equipo, quienes utilizaron una dispersión de nanotubos de carbono de pared sencilla para la preparación de un biosensor de glucosa el cual fue elaborado con multicapas elaboradas con policloruro de dialildimetilamonio (PDDA) y nanotubos de carbono de pared sencilla, estas multicapas fueron empleadas junto con glucosa oxidasa (GOx) en un electrodo de platino por la técnica de auto-ensamblaje capa por capa. Las mediciones electroquímicas fueron usadas para estudiar las propiedades de los biosensores tales como velocidad de respuesta y sensibilidad de entre los biosensores desarrollados el que mostró un mejor desempeño fue el basado en siete capas de película formadas por la dispersión de nanotubos de carbono-PDDA-GOx. También el biosensor mostro buena supresión de interferencia y una estabilidad operativa de largo

plazo (7meses). Se menciona que este protocolo puede utilizarse para inmovilizar otras enzimas para construir una serie de biosensores.[13]

3.5 Electroquímica

Se define como electroquímica al conjunto de técnicas analíticas que usan la medición del potencial, carga o corriente para determinar la concentración de un analito o la reacción química de un analito. La electroquímica, es originada del estudio del movimiento de los electrones en una reacción de óxido-reducción.

3.5.1 Reacciones de óxido-reducción

Las reacciones de óxido-reducción son proceso en los que uno o más electrones se transfieren de una especie a otra (átomos, moléculas o iones).Como resultado de esa transferencia de electrones, cambian las cargas de los átomos de los diversos reactivos. Por ejemplo cuando el magnesio metálico reacciona con un ácido acuoso, un átomo de magnesio cede un electrón a cada uno de dos iones H⁺, a 2+, a la vez que forma un ion Mg²⁺y una molécula H₂. La carga del magnesio pasa de 0 a 2+, mientras que la carga de cada hidrógeno se modifica de 1+ a 0.[14]

 $Mg(s) + 2 HCI(ac) \rightarrow MgCI_2(ac) + H_2(g)$

3.5.2 Celdas electroquímicas.

Una celda electroquímica consiste en dos conductores denominados electrodos, cada uno sumergido en una solución electrolítica. Las soluciones en que se sumergen los dos electrodos son diferentes y deben de estar separadas para evitar la reacción directa entre los reactivos. La manera más común de evitar que se mezclen es insertando un puente salino en las soluciones. La conducción de electricidad desde una solución electrolítica hacia la otra ocurre por el desplazamiento de iones de la sustancia química por la cual esté conformado dicho puente.

3.5.3 Cátodos y Ánodos

En una celda electroquímica, el cátodo es el electrodo en el que se lleva a cabo una reacción de reducción. El ánodo es el electrodo en el que tiene lugar una oxidación. Estos son ejemplos de reacciones catódicas comunes.

Se puede hacer que estas reacciones se lleven a cabo aplicando el potencial adecuado a un electrodo inerte, como el platino.

Algunas reacciones anódicas comunes son:

 $Cu_{(s)} \begin{array}{c} \\ \Rightarrow \\ Cu^{2+} + 2e^{-} \end{array}$ $2Cl^{-} \begin{array}{c} \\ \Rightarrow \\ Cl_{2(g)} + 2e^{-} \end{array}$ $Fe^{2+} \begin{array}{c} \\ \Rightarrow \\ Fe^{3+} + e^{-} \end{array}$

La primera reacción requiere de un ánodo de cobre, pero las otras dos se pueden llevar a cabo en la superficie de un electrodo inerte de platino, que pude proporcionar o donar electrones.

3.5.4 Tipos de celdas electroquímicas.

Las celdas electroquímicas pueden ser galvánicas o electrolíticas. También se pueden clasificar como reversibles e irreversibles.

Las celdas galvánicas o voltaicas almacenan energía eléctrica. Por lo general las baterías se hacen con varias celdas de este tipo conectadas en serie para producir un voltaje mayor que el que puede producir una celda sencilla. Las reacciones en los dos electrodos de estas celdas tienden a ocurrir espontáneamente y producen un flujo de electrones desde el ánodo hacia el cátodo a través de un conductor externo. Las pilas galvánicas funcionan espontáneamente y la reacción neta que sucede durante la descarga se denomina reacción espontánea de la celda.

Contrario a una celda galvánica, para que una celda electrolítica funcione, necesita una fuente externa de energía eléctrica. Típicamente está constituida por un recipiente contenedor del electrolito y dos electrodos que funcionan, uno como ánodo y el otro como cátodo, los cuales permiten el paso de corriente eléctrica. Se utiliza con mayor frecuencia para descomponer los compuestos químicos, en un proceso llamado electrólisis, un ejemplo importante de esta es la descomposición del agua en hidrógeno.[15]

3.5.5 Potenciometría.

En química analítica, la potenciometría se basa en los métodos analíticos para medir el potencial de una celda electroquímica. La medición del potencial se determina bajo condiciones reversibles, en forma termodinámica, y esto implica que se debe dejar pasar el tiempo suficiente para llegar al equilibrio, extrayendo la mínima cantidad de intensidad, para no influir sobre el equilibrio que se establece entre la membrana del electrodo y la disolución muestra.

Para obtener mediciones analíticas válidas en potenciometría, uno de los electrodos deberá ser de potencial constante y que no sufra cambios entre uno y otro experimento. El electrodo que cumple esta condición se conoce como electrodo de referencia. Debido a la estabilidad del electrodo de referencia, cualquier cambio en el potencial del sistema se deberá a la contribución del otro electrodo, llamado electrodo indicador o de trabajo.

3.5.6 Ecuación de Nernst

El principio de Chatelier nos dice que, al aumentar la concentración de los reactivos, la ecuación se desplaza a la derecha, y al aumentar la concentración de los productos, la concentración se desplaza a la izquierda.[16]

La ecuación de Nernst se puede emplear para para determinar la fem (fuerza electromotriz) de una pila construida de electrodos no estándar o para calcular el potencial del electrodo de una media pila en la cual todas las especies no se hallan presentes a la actividad diferente a la unidad. También se usa en biología para estimar la diferencia de potencial a través de las membranas celulares biológicas, como las neuronas. Otra aplicación de la ecuación de Nernst es la medida de concentraciones[17]

A medida que los reactivos se consumen en una pila electroquímica funcionando el potencial de la pila disminuye hasta que finalmente llega a cero. Una batería "muerta" es aquella en la cual la reacción de la pila ha llegado al equilibrio. En el equilibrio una pila no genera diferencia de potencial a lo largo de sus electrodos y la reacción ya no puede generar trabajo.

Para la semirreación:

$$aA + ne^{-} - bB$$

La ecuación de Nernst da el potencial de la semicelda E

Ecuación de Nernst:

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{A_B^b}{A_A^a}$$

Donde E° = Potencial estándar de reducción (es decir $A_A = A_B = 1$)

R = Constante de los gases [8.314472 J/(K·mol) = 8.314472 (V·C)/(K·mol)]

T = Temperatura (K)

n = Número de electrones en la semirreación

 $F = \text{Constante} \text{ de Faraday} (9.64853415 \times 10^4 \text{ C/mol})$

 A_i = Actividad de la especie i

El logaritmo de la ecuación de Nernst es cociente de reacción, Q.

$$Q = \frac{A_B^b}{A_A^a}$$

Q tiene la misma forma que la constante de equilibrio, pero las concentraciones no son necesariamente las concentraciones de equilibrio. Ni los sólidos puros, ni los líquidos puros, ni los disolventes figuran en *Q*, porque sus actividades valen 1 (o son próximas 1). Las actividades de los solutos se expresan en molaridades, mientras que la de los gases se expresan en bares. Cuando todas las actividades son la unidad, *Q* = 1 y ln Q = 0. Por consiguiente, cuando todas las actividades son la unidad, *E* = E° . Convirtiendo el logaritmo natural en la ecuación de Nernst en logaritmo decimal e insertando T = 298.15 K (25.00 °C) resulta una expresión más útil de la ecuación de Nernst:

Ecuación de Nernst a 25 °C $E = E^{\circ} - \frac{0.05916 V}{n} \log Q$

El potencial varía, pues, en 59.16/n mV por cada diez veces de cambio en el valor de Q.[18]

3.5.7 Electrodos

Un electrodo es un conductor eléctrico utilizado para hacer contacto con una parte no metálica de un circuito, por ejemplo un semiconductor, un electrolito, el vacío, un gas (en una lámpara de neón), entre otros. Existen dos tipos de electrodos

Los electrodos de referencia.

Los electrodos indicadores.

Un electrodo de referencia es una semicelda con un potencial de electrodo conocido que permanece constante y que es independiente de la composición del analito o de otros iones contenidos en la solución que se analiza.

3.5.7.1 TIPOS DE ELECTRODO DE REFERENCIA

Un electrodo de referencia ideal es aquel que tiene un potencial que se conoce con exactitud, se mantiene constante y es completamente independiente a la composición de la solución del analito. Además, el electrodo debe ser resistente, fácil de usar y mantener un potencial constante al paso de la corriente.

Dentro de los tipos de electrodos de referencia más usados comúnmente en métodos potenciométricos son:

- ✤ Los calomelanos.
- Los de plata cloruro de plata.

Los electrodos de referencia calomelanos se componen de mercurio en contacto con una solución saturada de cloruro de mercurio (I) que contiene también una solución conocida de potasio. Las semiceldas de los calomelanos se pueden representar como sigue:

Donde x representa la concentración molar de cloruro de potasio en la disolución. El potencial de electrodo para esta semi-celda está determinado por la reacción:

$$Hg_2Cl_2(s) + 2e^{-} \leftrightarrows 2Hg(\ell) + 2Cl^{-}$$

y depende de la concentración de cloruro. Así esta cantidad debe de especificarse en la descripción del electrodo.

El electrodo de referencia más ampliamente comercializado consiste en un electrodo de plata sumergido en una disolución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata.

Ag | AgCl (sat), KCl (
$$\chi$$
 M) ||

El potencial del electrodo está determinado por la semirreación:

$$AgCI_{(s)} + e^{-} \leftrightarrows Ag_{(s)} + CI^{-}$$

Normalmente, este electrodo se prepara ya sea con una disolución saturada de cloruro de potasio o con una a concentración 3.5 M. Algunos modelos comerciales de este electrodo son semejantes en apariencia externa y en forma a los electrodos calomelanos.

Los electrodos de plata-cloruro de plata tienen la ventaja de que pueden utilizarse a temperaturas superiores a los 60 °C, mientras que los electrodos calomelanos no. Por otra parte los iones de mercurio reaccionan con menos componentes de la muestra que los iones de plata (que pueden por ejemplo reaccionar con las proteínas); tales reacciones pueden conducir a la obturación de la unión entre el electrodo y la disolución del analito.

3.5.7.2 ELECTRODOS INDICADORES

Respecto a los electrodos indicadores, estos tienen un potencial que cambia en forma predecible con las variaciones en la concentración del analito. Idealmente un electrodo indicador responde de forma rápida y reproducible a los cambios de actividad del ion

analito (o un grupo de iones). Aunque ningún electrodo indicador es totalmente específico en su respuesta, hay algunos que son marcadamente selectivos. Dos tipos de electrodos indicadores son ampliamente usados en métodos potenciométricos los metálicos y los de membrana.

Dentro del campo de los electrodos indicadores metálicos se pueden distinguir cuatro tipos de electrodo:

- Electrodos de primera clase.
- Electrodos de segunda clase.
- Electrodos de tercera clase.
- Electrodos indicadores redox.

Los electrodos metálicos de primera clase están en equilibrio directo con el catión que deriva del electrodo metálico. En este caso, interviene una única reacción.

Los electrodos de primera clase no son muy utilizados en el análisis potenciométrico por varias razones. En primer lugar no son muy selectivos y responden no solo a los cationes de su tipo, sino también a otros cationes más fácilmente reducibles.

3.5.8 Técnicas Voltamperométricas

La voltamperometría abarca un grupo de métodos electroanalíticos en los que la información sobre el analito se obtiene de la medida de la intensidad de corriente en función del potencial aplicado, en condiciones que favorezcan la polarización de un electrodo indicador o de trabajo. Comúnmente con el objetivo de aumentar la polarización, los electrodos de trabajo en voltamperometría son microelectrodos que tienen áreas superficiales como máximo de unos pocos milímetros cuadrados y en algunas aplicaciones unos pocos micrómetros o incluso menos. La volatamperometria se basa en la medida de la intensidad de corriente que se desarrolla en una celda electroquimica en condiciones de polarización total de concentración. Una de las

ventajas que oferce la voltamperometria es que tiene lugar un consumo minimo del analito mientras que con otras técnicas como la culombimetria prácticamente todo el analito pasa a otro estado. [19]

3.5.9 Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica o VC es una técnica electroquímica utilizada principalmente para determinar propiedades redox de compuestos y para estudiar mecanismos de reacciones redox. En un experimento de voltamperometría cíclica el potencial del electrodo de trabajo es una rampa en forma de onda triangular en función del tiempo. La corriente en el electrodo de trabajo se representa en función del voltaje aplicado para generar el voltamperograma cíclico.

En voltamperometría cíclica, el barrido del potencial del electrodo de trabajo se muestran en forma de onda triangular en función del tiempo como se aprecia en la Figura 7.



Figura 7: Barrido del potencial del electrodo de trabajo en forma de onda triangular en experimentos de voltamperometría cíclica.

La variación del potencial eléctrico con el tiempo se conoce como velocidad de barrido, pudiéndose expresar en unidades de (V/s). El potencial se mide entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo y la corriente se mide entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar. Estos datos se grafican como corriente (I) contra potencial (E). Como muestra la forma de onda, se obtiene un pico de corriente para cualquier analito que se puede reducir (u oxidar en función de la dirección del barrido) a través de la ventana de potencial escaneada. La corriente aumentará a medida que el potencial alcanza el potencial de reducción de la sustancia analizada, pero luego se cae como la concentración de la sustancia analizada que se agota cerca de la superficie del electrodo. Si el par redox es reversible entonces cuando el potencial aplicado se invierte, llegará a la posibilidad de que vuelva a oxidar el producto formado en la reacción de reducción ocurrida, y producir una corriente con polaridad opuesta a la producida durante el barrido inicial. Este pico de oxidación por lo general tiene una forma similar al pico de reducción. Como resultado, la información que se obtiene es sobre el potencial redox y la reacción electroquímica de los compuestos en estudio.

La utilidad de voltamperometría cíclica es altamente dependiente del analito de estudio. El analito debe ser un reductor u oxidante activo dentro de la ventana de potencial de experimentación. También es muy conveniente si el analito muestra una onda reversible. Una onda reversible es cuando un analito se reduce, por ejemplo, en una exploración hacia adelante y se re-oxida estableciendo un equilibrio rápido con el electrodo si se cambia la dirección de exploración.

3.5.10 VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE PULSOS.

En la técnica de voltamperometría diferencial de pulsos, se aplican pulsos de potencial de amplitud pequeña entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, midiendo la corriente justo antes de aplicar el pulso y casi al final del pulso. Dichos pulsos tienen una forma de onda como se muestra en la figura 8


Figura 8: Forma de onda en el barrido del potencial para voltamperometría diferencial de pulsos.

Posteriormente se grafican la diferencia entre las corrientes medidas contra la media de los potenciales aplicados en el pulso.

La Voltamperometría diferencial de pulsos presenta mejor sensibilidad que la voltamperometría de pulso normal.

3.6 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C, es un compuesto de bajo peso molecular con formula empírica C₆H₈O₆ muy soluble en agua pero insoluble en lípidos, fácilmente oxidable y poco termoestable.[20]

El ácido ascórbico se encuentra en frutas y vegetales frescos. El ácido ascórbico es un antioxidante y captador de radicales libres, y es considerado en este sentido más eficaz que la vitamina E o el beta-caroteno. La vitamina C es esencial para mantener la integridad del organismo, en especial para la reparación de los tejidos y la formación de colágeno, dado que el ser humano no puede sintetizar el ácido ascórbico, la carencia del mismo ocasiona una enfermedad carencial; el escorbuto. [21]



Figura 9: Estructura química del Ácido Ascórbico.

Además de su función como nutriente esencial el ácido ascórbico se emplea ampliamente como un ingrediente/aditivo alimentario debido a sus propiedades antioxidantes y reductoras. Inhibe eficazmente el oscurecimiento enzimático al reducir los productos orto-quinona. Otras funciones también son:

- Acción reductora en los acondicionadores de la masa para panificación.
- Protección de ciertos compuestos oxidables (por ejemplo: folatos) mediante efectos reductores y secuestro de radicales libres y de oxígeno.
- Inhibición de la formación de nitrosaminas en carnes curadas y
- Reducción de iones metálicos.[22]

3.7 Ácido úrico

El ácido úrico (AU) es el producto final de excreción del catabolismo de las purinas en los primates, aves y algunos otros animales. Un ser humano adulto sano excreta ácido úrico a un ritmo de unos 0.6g cada 24h; el producto excretado procede en parte de las purinas ingeridas y en parte del recambio de nucleótidos purínicos de los ácidos nucleicos. En la mayoría de mamíferos y en muchos otros vertebrados el ácido úrico se degrada posteriormente a alantoína por acción de la enzima urato oxidasa.



Figura 10: Estructura química del Ácido Úrico

La gota, erróneamente relacionada durante mucho tiempo con la "buena vida" es una enfermedad de las articulaciones debida a una concentración elevada de ácido úrico en la sangre y en los tejidos. Las articulaciones se inflaman, producen dolor y desarrollan artritis a causa de una deposición anormal de cristales de urato sódico. Los riñones también resultan afectados, porque el exceso de ácido úrico se deposita en los túbulos renales. La gota afecta principalmente a los individuos del sexo masculino. Su causa exacta es desconocida, pero a menudo implica una subexcreción de urato. En algunos casos podría existir una deficiencia genética de alguna enzima del metabolismo de las purinas.

La gota se trata eficazmente mediante una combinación de terapia nutricional y farmacológica. Deben suprimirse de la dieta los alimentos ricos en nucleótidos y ácidos nucleicos, tales como el hígado entre otros. Se consigue una mejoría importante de los síntomas con el fármaco alopurinol, un inhibidor de la xantina oxidasa, la enzima que cataliza la transformación de las purinas en ácido úrico. El alopurinol es un sustrato de la xantina oxidasa que convierte el alopurinol en oxipurinol (aloxantina). El oxipurinol inactiva la forma reducida de la enzima al permanecer fuertemente unido al sitio activo. Cuando la xantina oxidasa está inhibida, los productos de la excreción del metabolismo

de las purinas son la xantina y la hipoxantina, que son más hidrosolubles que el ácido úrico y tienen menor probabilidad de formar depósitos cristalinos [23].

3.8 Dopamina

La dopamina (DPA) con nomenclatura IUPAC 4-(2-aminoetil)-benceno-1,2-diol, estructura dada en la figura 7 es uno de los más importantes neurotransmisores de catecolaminas en el sistema nervioso central de los mamíferos. En el cerebro, la dopamina funciona como un neurotransmisor, que es un producto químico liberado por células nerviosas para enviar señales a otras células nerviosas, actuando así como un mensajero químico, razón por la que juega un papel clave en el funcionamiento de los sistemas renal, hormonal y cardiovascular. La dopamina es producida en varias áreas del cerebro incluyendo la substancia negra y el área tegmental ventral, las neuronas que contienen el neurotransmisor dopamina monoamina son así agrupados en el mesencéfalo en un área llamada la substancia negra y el cerebro humano usa cinco tipos de receptores de dopamina etiquetados el D1, D2, D3, D4 y D5.

Niveles anormales de dopamina están relacionados con desórdenes neurológicos tales como esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson. En la enfermedad de Parkinson una condición degenerativa relacionada con la edad que causa temblor y alteraciones motoras, las neuronas transmisoras de dopamina en el área de la substancia negra mueren, causando una pérdida de neuronas secretoras de dopamina en esta área. Como medicación intravenosa la dopamina actúa en el sistema nervioso simpático para producir efectos tales como incremento del ritmo cardiaco y presión sanguínea. La dopamina, sin embargo, no puede cruzar la barrera sangre-cerebro; por lo tanto cuando la dopamina se da como un medicamento no afecta directamente el sistema nervioso central. Sin embargo, la L-Dopamina puede cruzar la barrera sangre-cerebro fácilmente, y es en el cual el precursor de dopamina es dado a los pacientes con enfermedades tales como el mal de Parkinson para incrementar la cantidad de dopamina en los cerebros de estos pacientes. La esquizofrenia es frecuentemente asociada con niveles altos de actividad de dopamina en la corteza prefrontal.

La dopamina fue sintetizada por primera vez en 1910 por Goerge Barger y James Ewens en los laboratorios Wellcome en Londres Inglaterra. El nombre trivial de dopamina se originó desde su estructura, la cual consiste en una monoamina (NH₂) y una cadena lateral ligada a un núcleo de catecol que consiste en un benceno con dos grupos laterales hidroxilo. La dopamina es formada por la descarboxilación de 3,4dihidroxifenilalalina (L-Dopa), que es un precursor en la síntesis de Barger-Ewens de dopamina. La función de la dopamina como mensajero químico y como un neurotransmisor fue reconocida por vez primera en 1958 por Arvid Carlsson y Nils-Ake Hillarp en el Laboratorio para Farmacología Química del Instituto Nacional de Salud de Suecia.[24]



Figura 11: Estructura química de la dopamina

La DPA es una molécula electroquímicamente activa, por lo que puede ser determinada por medio de sensores y biosensores amperométricos [25]. Sin embargo, la determinación de la DPA se ve dificultada por la interferencia de AA y AU.[26] Estos analitos se encuentran en concentraciones dos o tres órdenes de magnitud mayores a la DPA en muestras fisiológicas y tienen potenciales de oxidación similares al de la DPA

3.9 Sensores electroquímicos basados en NTC para AA, AU y DPA

Dentro del campo de los sensores electroquímicos basados en NTC para determinación simultanea de analitos, encontramos un trabajo que fue llevado a cabo por Zülfikar Temoçin. En este trabajo se describe la modificación de un electrodo de

carbón vítreo en un medio básico por tratamiento electroquímico para la determinación simultanea de dopamina (DPA), ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (AU). La técnica utilizada para la determinación de dichos analitos fue la voltametría diferencial de pulsos. Las diferencias de potenciales para los analitos fueron lo suficientemente grandes como para determinar AA, DPA y AU individual y simultáneamente. El electrodo modificado fue usado para la determinación de los analitos en muestras reales. Esos resultados y los estudios de interferencia mostraron que el electrodo modificado pudo determinar de manera simultánea AA, DPA y AU.[27]

Otro trabajo que está relacionado con la determinación simultánea de analitos es que fue llevado a cabo por Umasankar Yogeswaran y col. Quienes utilizaron un nanocompuesto de nanotubos de pared múltiple con nafion, nano partículas de platino y una película con nano partículas de oro para la determinación simultánea de ácido ascórbico epinefrina y ácido úrico. De acuerdo con este trabajo un bimetal de partículas de platino y oro en nafion fueron incorporadas con nanotubos de pared múltiple funcionalizados. La película compuesta (f-MWCNTs-NF-PtAu) fue desarrollada por el método potenciostatico. La película compuesta, mostró actividad catalítica hacia la oxidación de la mezcla de compuestos bioquímicos y la medición simultanea del anión ascorbato, epinefrina y el anión urato en una solución buffer de pH 6.75 y se utilizaron dos técnicas electroquímicas (voltametría cíclica y voltametría diferencial de pulsos.) para medir las propiedades catalíticas por medio de la película compuesta en los electrodos modificados y se obtuvieron picos bien separados para los aniones ascorbato, epinefrina y urato.[28]

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Demostrar que la pectina puede ser utilizada en el campo de la electroquímica como agente dispersante de nanotubos de carbono de pared múltiple de grado industrial.

4.2 Objetivos particulares

Emplear la pectina como agente dispersante de nanotubos de carbono de pared múltiple grado industrial

Evaluar la dispersión de NTC-PEC con la técnica de Voltamperometría Diferencial de Pulsos en una celda electroquímica que contenga tres analitos de importancia (DPA, AA y AU) para su respectivo análisis.

Construir las curvas de calibración correspondientes a los analitos que fueron utilizados para esta investigación.

5 MATERIAL Y REACTIVOS

- Nanotubos de Carbono de pared múltiple de grado industrial (Chengdu Alpha Nano Technology Co., Ltd.)
- ✤ Alúmina de 0.3 µm (Struers A/S.)
- Ferricianuro de potasio K₃[Fe(CN)₆] (Favela Pro, S.A. de C.V.)
- Pectina de cítricos (PROQLIMS, S.A.)
- Electrodos de carbón vítreo con diámetros de 3 mm (BASi, Inc.)
- Ácido ascórbico, Ácido Úrico y Dopamina. (Sigma-Aldrich, Co.)
- Alúmina de 0.3 μm (Struers A/S.)
- ✤ Fosfato de Potasio monobásico KH₂PO₄ (Favela Pro, S.A. de C.V.)
- Fosfato de Potasio dibásico K₂HPO₄ (Favela Pro, S.A. de C.V.)

6 METODOLOGÍA

6.1 Preparación de solución amortiguadora de fosfatos.

Para los experimentos de esta investigación se empleó una solución amortiguadora de fosfatos a una concentración de 0.1M y a un pH de 7.4 para un volumen de 250mL. dicha solución fue preparada como sigue:

Cálculos

Ácido fosfórico (H₃PO₄)

pK 7.99

12.35

Peso molecular de

- Fosfato de Potasio monobásico KH₂PO₄ = 136.07 g. A⁻
- Fosfato de Potasio dibásico K₂HPO₄ = 174.17 g.

$$pH = pK + \log\frac{[A-]}{[HA]}$$

0.25L, $[K_2HPO_4] = 0.1M$, pH 7.4 7.4 = 7.2+log[0.1] – log [HA] 0.2 = log[0.1] – log [HA] -1.2= log [HA] HA = 0.0.630 M g = (M) (P.M.) (L) 0.25L g = (0.0630M) (136.07g) (0.25L) -g = 2.143g [KH₂PO₄] [A-] g = (0.1M) (174.17g) (0.25L) -g = 4.354g [K₂HPO₄]

En una balanza analítica se pesaron las siguientes cantidades de sales.

- Fosfato de Potasio monobásico KH₂PO₄ 2.143g
- Fosfato de Potasio dibásico K₂HPO₄ 4.354g

Estas cantidades fueron puestas en un matraz de aforación de 250 ml para después agregar 250ml de agua destilada.

6.2 Preparación de los Electrodos

En los experimentos se utilizaron electrodos de carbón vítreo con diámetros de 3 mm (BASi, Inc.) pulidos con alúmina de 0.3 μ m (Struers A/S.) enjuagados con agua destilada. La calidad del pulido se evaluó en una celda electroquímica con una solución de ferricianuro de potasio K₃[Fe(CN)₆] (Favela Pro, S.A. de C.V.) 1 mM en un amortiguador de fosfatos 0.05 M verificando que la separación de potenciales de pico del par redox Fe³⁺/Fe²⁺ fuera cercana a 60 mV.

6.3 Solución de Pectina

Se empleó pectina de cítricos (PROQLIMS, S.A.) para preparar una solución acuosa con una concentración de 1mg/mL. Para ello se pesó 1mg de pectina en un vial para después ser diluida con 1mL de agua destilada. Posteriormente se colocó el vial en ultrasonido por un periodo de 10 minutos para facilitar su disolución y evitar cualquier formación de grumos. Esta solución se utilizó en la preparación de las dispersiones de NTC.

6.4 Dispersión de Nanotubos de Carbono

Se utilizaron NTC de pared múltiple de grado industrial (Chengdu Alpha Nano Technology Co., Ltd.) para obtener dispersiones con la solución de pectina. La pureza de los NTC utilizados fue de 85% en masa, sus longitudes de 5 a 15 μ m y sus diámetros de 10 a 30 nm. Las dispersiones se prepararon pesando en un vial 2 mg de NTC a los que se agregó 1 ml de la solución de pectina elaborada previamente. Hecha la mezcla, se colocó el vial con la dispersión NTC-PEC en ultrasonido por espacio de 10 min. La dispersión contuvo una relación de NTC y PEC de 2:1 en masa, óptima para la transferencia de electrones de acuerdo a los resultados de una investigación paralela (realizada por este equipo de trabajo) aún no publicada.

6.5 Modificación de los Electrodos de Carbón Vítreo

Una vez obtenida la dispersión, esta se utilizó para modificar los electrodos de carbón vítreo depositando 20 µl de la misma sobre la superficie de los electrodos. Se permitió que el agua se evaporara en una estufa de desecación manteniéndose a una temperatura constante de 30°C, obteniéndose una película homogénea.

6.6 Solución de Analitos

Para la evaluación de los electrodos se preparó una solución de AA, AU y DPA con concentraciones de 1mM en una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4.

6.7 Evaluación de la Respuesta Farádica de la Solución AA-AU-DPA

La respuesta amperométrica de los analitos sobre los electrodos se estudió mediante voltamperometría diferencial de pulsos bajo los parámetros mostrados en la Tabla 1.

Parámetro	Valor
Potencial inicial	-1000 mV
Potencial final	1000 mV
Velocidad de barrido	20 mV/seg
Paso de potencial	4 mV
Ancho de pulso	50 mV
Amplitud de pulso	50 mV
Periodo de pulso	200 mV

Tabla 2: Condiciones de la voltamperometría diferencial de pulsos.

Se realizaron dos series de experimentos, en los que se probaron primero los electrodos de carbón vítreo sin modificación y posteriormente los electrodos modificados con la dispersión NTC-PEC.

Los experimentos se llevaron a cabo en una celda electroquímica de tres electrodos en la que se utilizó un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un contraelectrodo de platino y un electrodo de trabajo de carbón vítreo sin modificar o modificado con la dispersión NTC-PEC según el experimento realizado.

En la celda se colocó la solución conteniendo AA, AU y DPA 1mM con electrolito soporte de solución amortiguadora de fosfatos (pH 7.4). Esto último con el fin de replicar un pH fisiológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo el voltamperograma cíclico del ferricianuro de potasio el cual tuvo una separación de picos de 63 mV, este experimento nos sirvió para determinar que los electrodos se pulieron correctamente, ya que la literatura cita que la separación de picos en la voltamperometría cíclica del ferricianuro de potasio realizada con un electrodo de carbón vítreo debe ser cercana a los 60 mV.



Figura 12 Voltamperograma típico del ferricianuro de potasio.

Posteriormente se procedió a modificar estos electrodos con la dispersión de NTC-PEC para evaluar su comportamiento y desempeño con la misma técnica y condiciones anteriores, esto con el fin de asegurar que una vez modificados los electrodos con la dispersión estos podrían tener un mejor desempeño en la determinación y cuantificación de ciertos analitos.



Figura 13: Voltamperograma diferencial de pulsos llevado a cabo en un electrodo de carbón vítreo sin modificación alguna para la determinación de AA.

En la figura anterior se muestra el comportamiento de un electrodo de carbón vítreo desnudo ante el ácido ascórbico, obteniéndose una altura de pico de 7.9814 mV en un experimento de voltamperometría diferencial de pulsos.

En la Figura 14 se muestra el voltamperograma de una solución 1 mM de AA, AU y DPA en un amortiguador de fosfatos con pH 7.4 en un electrodo de carbón vítreo desnudo, en la que se observan dos picos, el primero a 90 mV con una corriente de 37.6 µA y el otro a 380 mV con una corriente de 10.8 µA. Estos dos picos corresponden a la oxidación de los tres analitos antes mencionados, confirmándose la dificultad para determinarlos independientemente con electrodos convencionales; es decir sin que hayan sido modificados o se le hayan agregado algún otro material que pudiera incrementar su desempeño.



Figura 14: Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbón vítreo desnudo.

La señal obtenida a partir de la solución de AA-AU-DPA se analizó con la ayuda del software OriginPro 8. De este modo se obtuvo la deconvolución de los picos de corriente de la figura 14 y después de realizada la deconvolucion se obtuvo la figura 15. Se puede observar que la señal de corriente original se encuentra compuesta por la contribución de tres procesos faradáicos, correspondientes a la presencia de los tres analitos, cada uno con un potencial de 80, 116 y 380 mV y una corriente de 27.75, 9.17 y 10.47 µA respectivamente. De este modo se confirma que los analitos de interés no pueden determinarse de forma simultánea con este sistema.



Figura 15: Deconvolución del voltamperograma correspondiente a la solución de AA, AU y DPA

Respuesta de la Solución AA-AU-DPA con electrodos modificados con NTC-PEC

En la figura 16 se puede observar el voltamperograma de AA-DPA-AU obtenido con el electrodo de carbón vítreo modificado con la dispersión de nanotubos de carbono y pectina en el que se observan tres procesos farádicos bien diferenciados en potenciales de -32 mV, 168 mV y 332 mV. Sus valores de corriente fueron de 63.9 μ A, 232.9 μ A y 219.7 μ A, respectivamente.



Figura 16: Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbono vítreo modificado con una dispersión NTC-PEC.

La separación entre picos permite analizar cada pico de manera independiente, esto queda demostrado comparando los voltamperogramas experimentales con los voltamperogramas teóricos obtenidos mediante deconvolución. En la figura 16 se observan los valores de potencial de cada uno de los procesos redox a -32, 168 y 332 mV.

Cabe mencionar que, gracias a la gran área superficial y actividad electrocatalítica de los NTC, los electrodos modificados permiten obtener corrientes mayores a las que se observaron sobre un electrodo sin modificar. En la figura 18 se muestran dos voltamperogramas sobrepuestos que permiten hacer la comparación entre un electrodo desnudo y el otro que fue modificado con la dispersión NTC-PEC; la diferencia entre los electrodos es muy notoria.



Figura 17: Decombolución de la figura16 que corresponde a una Voltamperometría diferencial de pulsos de la solución AA-DPA-AU 1 mM en buffer de fosfatos 0.05 M (pH 7.4) sobre un electrodo de carbono vítreo modificado con una dispersión NTC-PEC.



Figura 18: Voltamperogramas correspondientes a la mezcla AA-DPA-AU sobrepuestos, de un electrodo de carbono vítreo sin modificar (electrodo desnudo) y de un electrodo de carbón vítreo modificado con la dispersión NTC-PEC.

En la figura anterior (fig. 18) se pueden apreciar claramente las ventajas que ofrece la dispersión de NTC-PEC en un electrodo de carbón vítreo. La línea de color negro

corresponde al voltamperograma de la mezcla de los tres analitos (AA, DPA y AU) que se usaron para este trabajo, este voltamperograma fue obtenido utilizando un electrodo de carbón vítreo sin modificar. La línea de color rojo corresponde al voltamperograma obtenido con un electrodo de carbón vítreo modificado con la dispersión de NTC-PEC. Como es notorio; la aplicación de NTC en los electrodos de carbón vítreo mejora su sensibilidad y selectividad ya que en la línea de color rojo se aprecian los tres picos separados correspondientes a cada uno de los analitos. Contrario a esto; en la línea de color negro se aprecian dos picos, uno deforme que no permite diferenciar entre dos señales, por lo que es necesario hacer una deconvolución para poder diferenciar los picos.

En la figura 19 se muestran los cinco voltamperogramas correspondientes al experimento de disminución de la concentración de dopamina empezando con una concentración de 1 mM y terminando con una concentración de 0.2 mM. El experimento se realizó con 3 electrodos de carbón vítreo modificado. En las figuras 20 y 21 se muestran repeticiones del mismo experimento



Figura 19: Disminución de la concentración de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC.



Figura 20: Repetición 2 Disminución de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC



Figura 21: Repetición 3 Disminución de DPA para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC



Figura 22: Curva de calibración correspondiente a Dopamina para los tres electrodos mostrados anteriormente. Obtenido a partir del software estadístico OriginPro 8®.

Como se puede observar en la Figura 22 y de acuerdo al análisis estadístico, la curva de calibración muestra una tendencia no muy cercana a una línea recta por lo cual se decidió realizar experimentos con mezclas menos complejas. Las Figuras 23, 24 y 25 muestran la de determinación de AU en una mezcla que solo contenía AA y AU utilizando un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC. Para cada figura se utilizó un electrodo diferente.



Figura 23: Gráfica que corresponde a la disminución de la concentración de AU y que corresponde a la repetición 1 para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado



Figura 24: Repetición 2 Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC. Mezcla AU-AA.



Figura 25: Repetición 3 Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC. Mezcla AU-AA.



Figura 26: Curva de calibración obtenida para AU obtenida con datos de las tres repeticiones mostradas anteriormente obtenida mediante el software estadístico OriginPro 8®.

En la curva de calibración para ácido úrico obtenida de una solución que contenía una mezcla de AU-AA (Figura 26), se observa que en el experimento llevado a cabo con una concentración de 0.8 mM, la corriente es más alta de lo esperado, sin embargo, la línea recta cae dentro del error experimental de todas las determinaciones. Tomando en cuenta esto, se procedió a realizar experimentos donde solo se evaluara un analito a la vez en electrodos de carbón vítreo modificados, esto con el fin de obtener una curva de calibración y datos más confiables.



Figura 27: Disminución de la concentración de AU para obtener la curva de calibración correspondiente a este analito. Experimento llevado a cabo con un electrodo de carbón vítreo modificado con NTC-PEC.

En la figura 27 se muestra el experimento llevado a cabo para la disminución de Ácido Úrico. La Concentración de este analito fue disminuida solo con la solución amortiguadora de fosfatos.



Figura 28: Curva de calibración correspondiente a la disminución de AU

De acuerdo a la curva de calibración para AU se decide que otra opción para obtener una mejor curva de calibrado es la de determinar AA disminuyendo su concentración de 1 mM a 0.2 mM. Se observa con claridad el aumento de corriente en la concentración de 0.6 mM por lo cual se decide realizar experimentos con otro analito Las figuras correspondientes a este experimento se muestran a continuación.



Figura 29: Voltamperogramas correspondientes a la disminución de AA desde 1mM hasta 0.2mM

En la figura 29 se puede apreciar que el experimento llevado a cabo con este analito, se mantiene más estable, lo cual se observará claramente en la curva de calibración mostrada a continuación. Cabe mencionar que este experimento fue realizado solo con AA en la solución, diluyendo este analito con solución amortiguadora de fosfatos, disminuyendo así su concentración.



Figura 30: Curva de calibración correspondiente a la disminución de AA solo.

Como se pude observar en la curva de calibración para el ácido ascórbico (fig. 30), la línea de tendencia se mantiene estable por lo cual este experimento muestra un comportamiento más lineal.

7 CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación; la pectina puede ser utilizada exitosamente como agente dispersante de nanotubos de carbono y en la modificación de electrodos mediante la formación de películas.

Los electrodos modificados con películas de nanotubos de carbono en pectina de cítricos permitieron separar e incrementar los picos de corriente correspondientes a la oxidación del AA, AU y DPA.

De acuerdo a las curvas de calibración obtenidas en los experimentos llevados a cabo, el analito que mostró una mayor tendencia lineal fue el de ácido ascórbico solo.

Respecto a las mezclas AA, AU y DPA la tendencia lineal es cercana a la unidad pero dista en comparación con la del ácido ascórbico solo. Esto también se observa en la mezcla AA con AU.

Para los experimentos de DPA solo y Au solo, la línea de tendencia muestra un grado erróneo considerable. La variación de los datos para obtener línea de tendencia quizá esté relacionada con la temperatura de secado de la estufa donde se metían a secar los electrodos para formar la película. Ya que esta tenía una temperatura variable de entre 43 y 52 °C.

8 **RECOMENDACIONES**

Se recomienda hacer más estudios con diferentes mezclas de analitos.

Cuidar la temperatura de secado de la dispersión de nanotubos de carbono una vez puesta en los electrodos, ya que como se observa en los resultados de esta investigación, quizá sea unos de los pasos críticos en este trabajo para obtener mejores resultados.

9 BIBLIOGRAFÍA

- 1. Croisier, F. and C. Jérôme, *Chitosan-based biomaterials for tissue engineering.* European Polymer Journal, 2013. **49**(4): p. 780-792.
- 2. Badui Dergal, S., *Química de lo Alimentos*, 2006, Cuarta Ed., Pearson Educación: México D.F. p. 81-92.
- 3. Fennema, O.R., K.L. Parkin, and D. Srinivasan, *Química de los Alimentos*, 2010, 3a Ed., Editorial Acribia S.A.: Zaragoza, España. p. 114-135.
- 4. Robinson, D.S., *Bioquimica y valor Nutritivo de los Alimentos*, 1991, Acribia S.A.: Zaragoza, España. p. 57-67.
- 5. Gunning, A.P., R.J. Bongaerts, and V.J. Morris, *Recognition of galactan components of pectin by galectin-3.* FASEB J, 2009. **23**(2): p. 415-24.
- 6. Portenoy, R.K., et al., A multicenter, placebo-controlled, double-blind, multiplecrossover study of Fentanyl Pectin Nasal Spray (FPNS) in the treatment of breakthrough cancer pain. Pain, 2010. **151**(3): p. 617-24.
- 7. Xianwen, K., et al., *Molecularly imprinted polymers based electrochemical sensor for bovine hemoglobin recognition.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2012. **168 (2012)**: p. 395-401.
- 8. Chen, X., et al., A high performance electrochemical sensor for acetaminophen based on single-walled carbon nanotube–graphene nanosheet hybrid films. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012. **161**(1): p. 648-654.
- 9. Zhao, J., et al., *Electrochemical sensor for hazardous food colourant quinoline yellow based on carbon nanotube-modified electrode.* Food Chemistry, 2011. **128**(2): p. 569-572.
- 10. Peng-Cheng Ma, et al., *Dispersion and functionalization of carbon nanotubes for polymer-based nanocomposites: A review.* Comoposites: Part A, 2010. **41**: p. 1345-1367.
- 11. Ali Mostofizadeh, et al., Synthesis, Properties, and Applications of Low-Dimensional Carbon-Related Nanomaterials. Journal of Nanomaterials, 2011. **2011**: p. 1-21.
- 12. Tsai, Y.-C., S.-Y. Chen, and H.-W. Liaw, *Immobilization of lactate dehydrogenase within multiwalled carbon nanotube-chitosan nanocomposite for application to lactate biosensors.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2007. **125**(2): p. 474-481.
- 13. Wang, Y., et al., *Dispersion of single-walled carbon nanotubes in poly(diallyldimethylammonium chloride) for preparation of a glucose biosensor.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2008. **130**(2): p. 809-815.
- 14. E., M.J. and F.C. Robert, *Quimica General Quinta Edicion*2009, México.p108
- 15. A. Skoog Douglas, M.W.D., Holler F. James, Crouch Stanley R., *Química Analítica 7a edición.* 7A ed2001, México D.F.: Mc GRAW-HILL. p 405-414
- 16. Mortmer, C.E., *Quimica*, 1999, Grupo Editorial Iberoamerica: México, D.F. p. 484-485.
- 17. Chang, R., *Principios Esenciales de Quimica General*, 2006, 2006, Mc Graw Hill: Madrid, España. p. 635-636.

- 18. Mc, M. and L. Jhon, *Química General*, in *Química General*, P.P. Hall, Editor 2009, 5a Edición, Pearson Prentice Hall: México D.F. p. 701-702.
- 19. A., S.D., H.J. F., and N.T. A., *Principios de Analisis Instrumental Quinta Edicion*2001, Madrid. p. 691
- 20. Cazares, X.M., Comportamamiento de Acido Ascórbico Durante el Almacenamiento en Refrigeración y Atmósfera Modificada de Chile Ancho Verde (
- Capsicum Annuum L.), in Departamento de Fitomejoramiento1997, Universidad Atónoma Agraria Antonio Narro: Departamento de Fitomejoramiento. p. 24.
- 21. Torres, L.E.V., Uso de Antioxidantes en el Combate de Punta Morada en Papa (Solanum tuberosum L.), in Departamento de Fitomejoramiento2012, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Buenavista, Saltillo Coahuila México. p. 32.
- 22. Fennema, O.R., *Química de los Alimentos*. 2a Edición ed2000, España: Editorial Acribia. p. 676
- 23. Lehninger, A., *Principios de bioquímica*. 5^a ed2009, Barcelona, España: Ediciones Omega S.A. p. 892-894
- 24. Jacobus F Van Staden, R.I.S.V.S., *Flow-injection analysis systems with different detection devices and other related techniques for the invitro and in vivo determination of dopamine as neurotransmitter. Areview.* Talanta, 2012. **102** (2012)(34-43).
- 25. Balasubramanian, K. and M. Burghard, *Biosensors based on carbon nanotubes.* Anal Bioanal Chem, 2006. **385**(3): p. 452-68.
- 26. Wu, K. and S. Hu, *Electrochemical Study and Selective Determination of Dopamine at a Multi-Wall Carbon Nanotube-Nafion Film Coated Glassy Carbon Electrode.* Microchimica Acta, 2004. **144**(1-3): p. 131-137.
- Temoçin, Z., Modification of glassy carbon electrode in basic medium by electrochemical treatment for simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013. B 176(Sensors and Actuators): p. 796-802.
- 28. Umasankar, Y., S. Thiagarajan, and S.M. Chen, *Nanocomposite of functionalized multiwall carbon nanotubes with nafion, nano platinum, and nano gold biosensing film for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid.* Anal Biochem, 2007. **365**(1): p. 122-31.

10 ANEXOS

10.1 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Úrico (Au)

Concentración: 1 mM			
	AA	DPA	Au
E1	40.33	247.65	223.59
E2	33.90	207.91	187.68
E3	36.74	244.95	223.91

Concentración: 0.8 mM			
	AA	DPA	AU
E1	31.08	217.72	196.74
E2	32.67	196.91	179.21
E3	34.44	212.37	192.90

Concentración: 0.6 mM			
	AA	DPA	AU
E1	41.85	230.71	206.42
E2	39.74	229.28	209.58
E3	43.12	247.57	222.73

Concentración: 0.4 Mm			
	AA	DPA	AU
E1	49.40	261.57	201.52
E2	40.65	210.35	152.36
E3	40.83	213.64	159.67

Concentración: 0.2 Mm			
	AA	DPA	AU
E1	50.01	248.31	155.54
E2	46.56	199.67	130.05
E3	46.65	203.80	134.36



Las tablas y graficas anteriores corresponden al experimento para la determinación de Ácido Úrico (AU). En este experimento se fue disminuyendo la concentración de AU iniciando con una concentración de 1mM hasta llegar a una concentración de 0.2mM.

En las tablas están sombreados en color gris los datos que corresponden a la diminución del analito en cuestión (AU). Cabe mencionar que la determinación de AU se llevó a cabo en una mezcla de Ácido Ascórbico, Dopamina y por último Ácido úrico

De lado derecho; las figuras mostradas, son los voltamperogramas obtenidos en dichos experimentos. De arriba hacia abajo se muestran los voltamperogramas obtenidos que corresponden al electrodo 1,2 y 3 respectivamente. Con cada electrodo se realizaron los experimentos con las 5 concentraciones asignadas. Se muestra en diferente color la concentración del analito asignando de la siguiente manera:

- Negro-----1mM
 Rojo-----0.8mM
 Azul-----0.6mM
 Verde-----0.4mM
- Rosa-----0.2mM

Para los demás anexos, la asignación de colores es la misma, variando solamente la mezcla de analitos y el analito objetivo a determinar. El analito que va disminuyendo la concentración esta sombreado en las tablas con color gris y así respectivamente para los demás experimentos.

El análisis estadístico y las gráficas mostradas en este trabajo fueron elaborados con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

Análisis estadístico

Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	223.59	187.68	223.91	211.72667	20.82564
0.8	196.74	179.21	192.9	189.61667	9.21469
0.6	206.42	209.58	222.73	212.91	8.6499
0.4	201.52	152.36	159.67	171.18333	26.52535
0.2	155.54	130.05	134.36	139.98333	13.64373

La tabla muestra los datos del estadístico correspondiente al experimento de disminución de ácido úrico



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de ácido úrico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.2 Experimento correspondiente a la determinación de Dopamina (DPA)

Concentración: 1 mM				
	AA	DPA	Au	
E1	36.01	248.95	191.43	
E2	37.27	285.00	228.59	
E3	35.55	235.96	187.33	

Concentración: 0.8 mM			
	AA	DPA	AU
E1	28.73	162.25	152.39
E2	29.75	154.19	143.68
E3	34.05	189.87	178.21

Concentración: 0.6 mM			
	AA	DPA	AU
E1	35.20	186.41	223.43
E2	25.33	118.44	134.59
E3	29.70	152.26	171.75

Concentración: 0.4 Mm			
	AA	DPA	AU
E1	33.47	104.73	220.39
E2	33.51	121.88	182.53
E3	25.06	83.00	151.18

Concentración: 0.2 Mm			
	AA	DPA	AU
E1	51.16	154.40	253.03
E2	42.11	98.96	181.17
E3	32.31	83.95	144.59



Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas	en renglones	
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	248.95	285.00	235.96	256.63667	25.40756
0.8	162.95	154.19	189.87	169.00333	18.59429
0.6	186.41	118.44	152.26	152.37	33.98513
0.4	104.73	121.88	83.00	103.20333	19.48491
0.2	154.40	98.96	83.95	112.43667	37.10817

Análisis estadístico

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de dopamina



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Dopamina obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.3 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Úrico (AU)

Concentración: 1 mM		
	AA	Au
E1	48.74	368.49
E2	40.49	292.90
E3	42.38	328.89

Concentración: 0.8 mM		
	AA	AU
E1	71.90	439.84
E2	57.99	321.73
E3	58.97	353.27

Concentración: 0.6 mM			
	AA	AU	
E1	45.80	306.72	
E2	41.75	268.65	
E3	42.58	280.86	

Concentración: 0.4 Mm		
	AA	AU
E1	55.08	326.19
E2	40.56	23073
E3	41.68	231.97

Concentración: 0.2 Mm		
	AA	AU
E1	48.52	232.71
E2	40.72	203.85
E3	40.65	182.43



63

Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	368.49	292.9	328.89	330.09333	37.80936
0.8	439.84	321.73	353.27	371.61333	61.15432
0.6	306.72	268.65	280.86	285.41	19.43857
0.4	326.19	230.73	231.97	262.96333	54.75941
0.2	232.71	203.85	182.43	206.33	25.23158

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de dopamina



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Úrico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.4 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Úrico (AU)

Concentración: 1 mM		
	AU	
E1	343.64	
E2	253.95	
E3	257.15	

Concentración: 0.8 mM		
	AU	
E1	291.89	
E2	240.53	
E3	254.34	

Concentración: 0.6 mM		
	AU	
E1	329.31	
E2	214.07	
E3	233.07	

Concentración: 0.4 Mm		
	AU	
E1	268.65	
E2	211.73	
E3	201.02	

Concentración: 0.2 Mm		
	AU	
E1	292.79	
E2	193.63	
E3	194.42	


Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	343.64	253.95	257.15	284.91333	50.88395
0.8	291.89	240.53	254.34	262.25333	26.57871
0.6	329.31	214.07	233.07	258.81667	61.78376
0.4	268.65	211.73	201.02	227.13333	36.35108
0.2	292.79	193.63	194.42	226.94667	57.02337

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Ácido Úrico



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Úrico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.5 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Ascorbico (AA)

Concentración: 1 mM	
	AA
E1	36.65
E2	30.48
E3	35.21

Concentración: 0.8 mM	
	AA
E1	28.35
E2	26.24
E3	24.59

Concentración: 0.6 mM	
	AA
E1	23.90
E2	22.40
E3	17.69

Concentración: 0.4 Mm	
	AA
E1	14.24
E2	12.69
E3	16.07

Concentración: 0.2 Mm		
	AA	
E1	13.41	
E2	10.71	
E3	11.24	



Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	36.5	30.48	35.21	34.06333	3.16958
0.8	28.35	26.24	24.59	26.39333	1.88468
0.6	23.9	22.4	17.69	21.33	3.24032
0.4	14.24	12.69	16.07	14.33333	1.69193
0.2	13.41	10.71	11.24	11.78667	1.43061

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Ácido Ascórbico.



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Ascórbico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.6 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Úrico (AU)

H/μA

Αη/Ι

H/µA

Concentración: 1 mM		
	AU	
E1	305.48	
E2	232.57	
E3	229.22	

Concentración: 0.8 mM	
	AU
E1	322.23
E2	259.54
E3	203.93

Concentración: 0.6 mM		
	AU	
E1	307.99	
E2	262.47	
E3	288.39	

Concentración: 0.4 Mm	
	AU
E1	279.29
E2	202.57
E3	249.17

Concentración: 0.2 Mm	
	AU
E1	256.21
E2	197.28
E3	159.71



Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	305.48	232.57	229.22	255.75667	43.09423
0.8	322.23	259.54	203.93	261.9	59.1853
0.6	307.99	262.47	288.39	286.28333	22.83301
0.4	279.29	202.57	242.17	241.34333	38.36668
0.2	256.21	197.28	159.71	204.4	48.6424

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Ácido Úrico



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Úrico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.7 Experimento correspondiente a la determinación de Dopamina

ΑηΊ

Aμl

Aµ/I

Concentración: 1 mM		
DPA		
E1	227.70	
E2	224.88	
E3	233.39	

Concentración: 0.8 mM		
	DPA	
E1	187.05	
E2	207.21	
E3	238.44	

Concentración: 0.6 mM		
	DPA	
E1	222.86	
E2	157.15	
E3	165.21	

Concentración: 0.4 Mm		
	DPA	
E1	188.75	
E2	196.14	
E3	155.82	

Concentración: 0.2 Mm	
	DPA
E1	137.93
E2	136.69
E3	132.13



Concentración	Altura de pico y Número de electrodo		Estadísticas en renglones		
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	227.7	224.88	233.39	228.65667	4.33491
0.8	187.05	207.21	238.44	210.9	25.89295
0.6	222.86	157.15	165.21	181.74	35.83827
0.4	188.75	196.14	155.82	180.23667	21.46586
0.2	137.93	136.69	132.13	135.58333	3.05426

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Dopamina.



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Dopamina obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.8 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Ascórbico.

Concentración: 1 mM		
	AA	
E1	46.31	
E2	37.17	
E3	41.32	

Concentración: 0.8 mM		
	AA	
E1	21.00	
E2	24.69	
E3	30.43	

Concentración: 0.6 mM		
	AA	
E1	24.52	
E2	22.84	
E3	24.23	

Concentración: 0.4 Mm		
	AA	
E1	16.41	
E2	13.71	
E3	15.69	

Concentración: 0.2 Mm		
	AA	
E1	10.50	
E2	8.94	
E3	8.40	



---/

Concentración	Altura de pico y Número de electrodo			Estadísticas en renglones	
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	46.31	37.17	41.42	41.63333	4.57373
0.8	21	24.69	30.43	25.37333	4.75199
0.6	24.52	22.84	24.23	23.86333	0.89802
0.4	16.41	13.71	15.69	15.27	1.39814
0.2	10.5	8.94	8.40	9.28	1.0905

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Ácido Ascórbico.



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Ascórbico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.

10.9 Experimento correspondiente a la determinación de Ácido Ascórbico.

Concentración: 1 mM			
	AA		
E1	35.33		
E2	33.27		
E3	38.93		

Concentración: 0.8 mM			
	AA		
E1	22.18		
E2	23.70		
E3	24.31		

Concentración: 0.6 mM			
AA			
E1	10.63		
E2	24.34		
E3	22.95		

Concentración: 0.4 Mm			
	AA		
E1	8.65		
E2	15.97		
E3	13.32		

Concentración: 0.2 Mm			
	AA		
E1	19.46		
E2	15.14		
E3	11.42		



Concentración	Altura de pico y Número de electrodo			Estadísticas en renglones	
	E1	E2	E3	Media	Desviación Estándar
1	35.33	33.27	38.93	35.84333	2.8647
0.8	22.18	23.70	24.31	23.39667	1.09692
0.6	10.63	24.34	22.95	19.30667	7.54629
0.4	8.65	15.97	13.32	12.64667	3.70616
0.2	19.46	15.14	11.42	15.34	4.02373

La tabla muestra los datos y el análisis correspondiente al experimento de disminución de Ácido Ascórbico.



La grafica corresponde al análisis estadístico del experimento de la disminución de Ácido Ascórbico obtenido con la ayuda del software estadístico OriginPro 8®.