



1

MEMORIA DEL PROYECTO DE TESIS DOCTORAL

1. - Antecedentes y estado actual del tema

El uso de nuevos materiales catalíticos para reacciones de interés es un tema de candente actualidad. Entre las reacciones que han suscitado un mayor interés se encuentran aquellas que involucran enzimas. Las enzimas, catalizadores biológicos, son macromoléculas involucradas en numerosas transformaciones químicas^[1]. La alta especificidad, tanto en la reacción que catalizan como en la selección de sus sustratos, resulta ser su característica más sobresaliente. Dentro de la variedad de reacciones en las que intervienen nos ocuparemos principalmente de las enzimas que participan en procesos de oxido-reducción conocidas como oxidoreductasas^[2]. Muchas de las enzimas catalizan reacciones de interés biomédico, donde el sustrato empleado es un marcador clínico en patologías de salud pública. Una de las enzimas que se han inmovilizado frecuentemente sobre un electrodo es la glucosa oxidasa (GOx), por sus diversas aplicaciones. En este sistema, se genera H_2O_2 a través de la producción de superóxido ($O_2^\bullet$)^[3]. La utilización de este tipo de enzimas como catalizadores biológicos en biosensores por ejemplo, presenta ventajas dada su alta especificidad y eficiencia, sin embargo, estas muestran una estabilidad relativamente baja. Por lo cual, es necesario buscar materiales que sirvan de soporte a las enzimas^[5, 6].

Por otro lado la reacción de reducción de oxígeno, involucrada en una pila de combustible y para la cual se está trabajando en el empleo de nuevos catalizadores sustitutivos del platino, es otra de las reacciones que más interés ha suscitado en los últimos años.

En general, la incorporación de un material nanoparticulado al electrodo favorece la transferencia electrónica de las reacciones redox involucradas. En este sentido, el empleo de nanopartículas en general y en nuestro caso de nanopartículas magnéticas, puede ser una vía de estudio para mejorar tanto la respuesta de determinadas enzimas como para electrocatalizar la reacción de reducción de oxígeno. Las ferritas son materiales muy conocidos y se expresan mediante la fórmula MFe_2O_3 , donde M es un metal divalente. Poseen una estructura de espinela, y son consideradas como los materiales magnéticos de mayor importancia. En el caso de la ferrita de hierro, Fe_3O_4 , el Fe^{3+} se puede reducir fácilmente a Fe^{2+} , sin que se produzca un cambio en la estructura. Esta reducción ha sido observada en diferentes procesos y se sabe que tiene lugar con la generación de vacantes de oxígeno para compensar la carga negativa introducida en la estructura. Estas vacantes son sitios que pueden promover, tanto la reducción, como oxidación^[7]. Es interesante observar las diferencias que se pueden obtener con la

sustitución de Fe, por Ni y Co, en la estructura de la espinela, para poder establecer un mecanismo de reacción, que hasta el momento no es del todo claro.^[8, 9] Por lo tanto el uso de ferritas, de Fe, Ni y Co parece a priori interesante, en un estudio comparativo de la catálisis de estos materiales frente a reacciones enzimáticas y de reducción de oxígeno, para determinar que que ión o iones metálicos son los que intervienen en el proceso de catálisis. Para esto es fundamental obtener materiales que puedan ser comparados en cuanto a composición, morfología, estructura y tamaño de las nanopartículas.

Un avance del uso de nanopartículas magnéticas como materiales electroquímicos es usarlas de forma directa por medio de atracción magnética sobre un imán para mantener las nanopartículas en su superficie^[10]. Esta metodología evita la formación de tintas para la adhesión de las nanopartículas al soporte metálico, lo que produce en muchas ocasiones una baja reproducibilidad del sistema estudiado.

2 . – Bibliografía más relevante

- [1] Rivas-Canino, M.M.; Cáceres-Diéguez, A.; Mora-Pacheco, N.; Rivas-Canino, G. *MEDISAN* 2003, 7, 89-99.
- [2] Bright, H.J.; Appleby, M.J. *Biol. Chem.*, 1969, 244, 3625-3634
- [3] DeLouise, L.A.; Miller, B.L. *Anal. Chem.* 2004, 76, 6915-6920.
- [4] Wenfang Liu, Ping Wang, *Biotechnology Advances*, 2007, 25, 369-384.
- [5] Grieshaber D., MacKenzie R., Vörös J., Reimhult E., *Sensors*, 2008, 8, 1400.
- [6] Costa S.A., Reis R.L., *Journal of Materials Science* 2004, 15, 335.
- [7] Wang Z, Liu X., Minfeng L., Chai p., Liu Y., Meng J., *Journal of Physical Chemistry B* (ACS Publications), 112 (36), 11292, (2008).
- [8] Li Su, Wenjie Qin, Huige Zhanga, Zia Ur Rahmana, Cuiling Rena, Sudai Maa, Xingguo Chen, *Biosensors and Bioelectronics* 63 (2015) 384–391.
- [9] Kooti M., Afshari M., *Scientia Iranica F* 19 (2012) 1991-1995.
- [10] Caglar Ozdemir, Ozlet Akca, E. Ilker Medine, Dilek Odaci Demirkol, Perihan Unak, Suna Timur, *Food Anal. Methods* (2012) 5:731–736.

3 . – Objetivos de la investigación

Mejorar los métodos de inmovilización de enzimas en la superficie de un electrodo y la inclusión de nanopartículas magnéticas, para su aplicación en biosensores y estudiar la efectividad de estas nanopartículas en la reacción de reducción de oxígeno.

Objetivos específicos

- Síntesis y caracterización de ferritas de hierro, níquel y cobalto.
- Preparación y optimización de biosensores por deposición en tinta.
- Preparación de biosensores en superficies magnéticas.
- Modificación superficial de nanopartículas magnéticas.
- Inmovilización de enzimas con nanopartículas magnéticas modificadas.
- Comparación de catálisis de las diferentes ferritas (Fe, Ni, Co) tanto en su uso como biosensores y en la electrocatalisis de la reducción de oxígeno.

4 . – Metodología, hipótesis y plan de trabajo

Para el uso de las nanopartículas como biosensores, se diseñará un sistema, fabricado de manera tal que se pueda obtener una respuesta importante de los biosensores a peróxido de hidrógeno. Se probará la deposición sobre electrodos de grafito por medio de tintas. Para ello, se usarán nanopartículas magnéticas secas y/o formando coloides estables. Por otro lado se pretende usar las nanopartículas de forma directa, sin la formación de tintas, adhiriendo las mismas mediante un imán al electrodo de trabajo.

Es fundamental para realizar una comparación precisa entre las distintas ferritas utilizadas que éstas tengan el mismo tamaño y composición. La síntesis se llevará a cabo mediante el uso de ánodos de sacrificio (placa de hierro) y placas del otro metal del que estará fabricado la ferrita (Co y Ni), colocando los ánodos frente a frente y rodeándolos por una lámina de hierro como cátodo, la disolución electrolítica será Bromuro de tetrabutil amonio ($(CH_3CH_2CH_2CH_2)_4NBr$). Para poder conseguir composiciones y tamaños iguales en las distintas ferritas, se deberá varias

tanto la corriente como la temperatura durante el proceso de síntesis, con el fin de obtener las condiciones en cada caso más óptimas.

Una vez obtenidas las nanopartículas magnéticas serán caracterizadas por distintas técnicas como TEM, rayos-X, ICP masas para verificar las propiedades de las mismas.

Posteriormente los materiales obtenidos serán utilizados en la preparación de los composites. En este punto se pretende encontrar la proporción óptima de nanopartículas y enzimas, así como de los medios de dispersión. Una vez se obtengan las condiciones óptimas de preparación de los composites, se aplicarán estas a la fabricación de electrodos magnéticos que sirvan como plataforma para inmovilización de las nanopartículas y las enzimas, buscando la optimización de la respuesta del biosensor.

La respuesta electroquímica de los biosensores, una vez obtenidos los electrodos modificados, se medirá por medio de voltamperometría cíclica, en una disolución amortiguadora de fosfatos a $\text{pH} = 7.4$. Se variará el potencial entre -0.30 y 0.8 V en una disolución de peróxido con el fin de comprobar la respuesta del sistema electrodo a la oxidación y reducción del mismo. La caracterización también puede llevarse a cabo posteriormente, mediante amperometría, manteniendo un volumen de trabajo y haciendo adiciones del analito, que puede ser peróxido y glucosa. En este punto se calcularán límites de detección, cuantificación, sensibilidad, e interferentes.

Además los electrodos preparados y ya sistematizada de forma óptima las condiciones de adhesión al electrodo de trabajo se utilizarán para conocer la respuesta del sistema a la reducción de oxígeno. Se emplearán disoluciones básicas (KOH, NaOH) saturadas con oxígeno. El estudio se realizará por voltametría cíclica y utilizando un electrodo rotario para calcular los parámetros cinéticos, tales como número de electrones intercambiados en la reacción, coeficientes de transferencia y densidad de corriente de intercambio en equilibrio. La comparación en la respuesta electrocatalítica de las ferritas de Fe, Ni y Co empleadas nos proporcionará el posible mecanismo electrocatalítico y las diferencias o similitudes entre los tres materiales empleados.

5 . – Firmas

El doctorando

El/los Director/es de la tesis



Fdo.: _____

Fdo.: _____