

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ  
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS



DISEÑO DE UN ELECTRODO NANOESTRUCTURADO PARA LA  
DETECCIÓN DE FARMACOS: CASO DICLOFENACO

POR

POR DENNISE DEYANIRA SALINAS SALAIS

TESIS

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

CD. JUÁREZ, CHIH.

NOVIEMBRE, 2023

DISEÑO DE UN ELECTRODO NANOESTRUCTURADO PARA LA  
DETECCIÓN DE FÁRMACOS: CASO DICLOFENACO

POR

DENISE DEYANIRA SALINAS SALAIS



---

DRA. MÓNICA GALICIA GARCÍA

DIRECTORA



---

DRA. KATYA AIMEÉ CARRASCO URRUTIA

CO-DIRECTORA



---

DRA. CLAUDIA LUCÍA VARGAS REQUENA

COORDINADORA DE LA CARRERA



---

DR. JOSÉ ALBERTO LOPEZ DÍAZ

JEFE DEL DEPARTAMENTO



---

C.D. SALVADOR DAVID NAVA MARTINEZ

DIRECTOR DEL INSTITUTO

NOVIEMBRE, 2023

## DEDICATORIA

Girl, you´ve got to be what tomorrow needs.

(My Chemical Romance, 2010)

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, me gustaría agradecer a la Dra. Mónica Galicia García quien con su sabiduría, paciencia y amabilidad me guío durante este proyecto. También a todos aquellos que, directa o indirectamente, contribuyeron a este proyecto, mi más profundo agradecimiento porque este trabajo fue el resultado de su colaboración y apoyo.

A Jorge por estar ahí desde el primer día y a nuestros amigos por su comprensión, ánimo y momentos de distracción que han hecho este viaje más llevadero y memorable. Gracias por ser la familia que elegí.

A mi querido Andrés con el que he compartido risas y lágrimas, quién pese a la distancia ha estado ahí en cada momento. Gracias por tu increíble capacidad de escucharme y ser mi cómplice durante estos años de amistad.

También agradezco a mis mascotas, por acompañarme en mis noches de desvelo. En especial Astro, porque desde el día en que me eligió me ha amado incondicionalmente, convirtiéndose en un torbellino de emociones y mi consuelo en los momentos más difíciles.

Al amor de mi vida por su compañía, te amo y aprecio más de lo que las palabras pueden expresar.

Por último, a mi padrino Jesús Manuel Tena Molina y a mi abuela Blasa Tena Molina. Su apoyo ha sido un impulso invaluable durante esta travesía. Porque lo que he logrado al día de hoy ha sido gracias a ustedes.

## RESUMEN

El diclofenaco sódico es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo que, al consumirse durante tiempos prolongados y en altas dosis, puede provocar daños gastrointestinales, hepáticos y renales. Se le ha catalogado como contaminante emergente debido a su amplio uso y degradación deficiente, por lo que también afecta a las especies animales que habitan en el medio acuoso, bioacumulándose en su organismo y, por ende, distribuyéndose en la cadena alimenticia. Por esta razón, en los últimos años se han desarrollado métodos para detectar este compuesto, especialmente porque no se conoce un límite mínimo permisible de la misma en nuestro país. Dentro de los métodos más recientes, precisos y de bajo costo, encontramos a las técnicas electroquímicas, las cuales son relativamente fáciles de utilizar y ofrecen buena sensibilidad, exactitud, precisión y que permiten un análisis rápido. En este trabajo se modificó químicamente un electrodo de grafito vidriado con nanotubos de carbono y nanopartículas de oro con la finalidad de mejorar propiedades como sensibilidad y velocidad de respuesta. Posteriormente, utilizando distintas técnicas electroquímicas se realizó la detección de DCF utilizando voltamperometría de onda cuadrada, con lo cual se obtuvo un límite de detección (LOD) de 2.69 mM y un límite de cuantificación (LOQ) de 0.99 mM.

Palabras clave: Diclofenaco, electrodo, nanomateriales, electroquímica, voltamperometría.

## **ABSTRACT**

Diclofenac sodium is a nonsteroidal anti-inflammatory drug that, when it's consumed for long periods of time at high doses, can cause gastrointestinal damage and liver or kidney problems. It has been classified as an emerging contaminant due to its wide use and poor degradation, which is why it also affects animal species that live in aqueous environment, bioaccumulating in their organism and therefore, being distributed in the food chain. For this reason, in recent years methods have been developed to detect this compound, especially because there isn't a permissible limit on water for it in our country. Among the most recent, precise and low-cost methods, we find electrochemical techniques, which are relatively easy to use and offer good sensitivity, accuracy, precision and allow rapid analysis. In this work, a glassy graphite electrode was chemically modified with carbon nanotubes and gold nanoparticles in order to improve properties such as sensitivity and response speed. Subsequently, using different electrochemical techniques, the detection of DCF was carried out using square wave voltammetry, which obtained a limit of detection (LOD) of 2.69 mM and a limit of quantification (LOG) of 0.99 mM.

Key words: diclofenac, electrode, nanomaterials, electrochemistry, voltammetry.

## CONTENIDO

INDICE DE CUADROS .....	X
INDICE DE FIGURAS .....	XI
INTRODUCCIÓN .....	1
1. Antecedentes .....	2
1.1 Definición de fármaco .....	2
1.2 Fármacos antiinflamatorios no esteroideos.....	2
1.3 Diclofenaco .....	2
1.4 Mecanismo de acción .....	3
1.5 Efectos adversos del DCF en la salud humana .....	4
1.6 Impactos ambientales .....	4
1.7 Técnicas para su cuantificación y detección .....	5
1.8 Electroquímica .....	6
1.8.1 Celda electroquímica .....	6
1.8.2 Electrodo .....	7
1.8.2.1 Electrodo de trabajo .....	7
1.8.2.2 Electrodo de referencia .....	7
1.8.2.3 Electrodo Auxiliar .....	8
1.8.3 Voltamperometría cíclica.....	8
1.8.4 Voltamperometría de pulso: onda cuadrada .....	9
1.8.5 Espectroscopia de impedancia electroquímica .....	9
1.8.6 Cronoamperometría (CA).....	9
1.9 Nanomateriales .....	10
1.9.1 Nanomateriales de carbono .....	10

1.9.1.1 Nanotubos de carbono .....	11
1.9.1.1 Nanotubos de carbono de pared simple.....	12
1.9.1.2 Nanotubos de carbono de pared múltiple.....	12
1.9.1.4 Grafeno .....	12
1.9.1.5 Puntos cuánticos basados en carbono.....	13
1.9.2 Nanopartículas .....	14
1.9.1.1 Nanopartículas metálicas .....	14
1.9.1.2 Nanopartículas de oro.....	15
1.9.2.3 Nanopartículas de plata .....	15
1.9.2.4 Nanopartículas de platino.....	16
1.10 Sensores .....	16
1.10.1 Transductor .....	17
1.10.2 Biosensores electroquímicos .....	17
1.10.3 Sensores electroquímicos .....	17
1.10.3.1 Sensores electroquímicos para la detección de diclofenaco.....	18
2. Materiales y métodos .....	21
2.1 Reactivos .....	21
2.2 Equipo.....	21
2.3 Modificación del electrodo de grafito vidriado con quitosano y nanotubos de carbono.....	22
2.4 Modificación del electrodo con MWCNT-f y nanopartículas de oro.....	22
2.5 Caracterización electroquímica .....	23
2.6 Voltamperometría cíclica.....	23
2.7 Espectro de impedancia electroquímica .....	23

2.8 Determinación electroquímica de DCF .....	24
2.9 Preparación de la muestra farmacéutica.....	24
3. Resultados y discusión .....	25
LITERATURA CITADA.....	37

## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Métodos electroquímicos para la detección de DCF	18

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura química del diclofenaco	3
2	Voltamograma cíclico	9
3	Representación esquemática de la relación entre los diferentes alótopos de carbono	13
4	Micrografías obtenidas por SEM de la superficie del GCE modificado con nanotubos de carbono a una resolución de 1000x y 2000x	26
5	Voltamperometrías cíclicas en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$ 5 mM en KCl 0.1 M con GCE como electrodo de trabajo. Las velocidades de barrido utilizadas van desde los 50 $\text{mVs}^{-1}$ a 800 $\text{mVs}^{-1}$ .	27
6	Curvas de velocidad de barrido a la un medio contra corriente en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$ 5 mM en KCl 0.1 M con GCE como electrodo de trabajo.	28
7	Impedancias electroquímicas obtenidas en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$ 5 mM en KCl 0.1 M con GCE y ECG-MWCNT-f como electrodos de trabajo.	28
8	Voltamperometría cíclica a una velocidad de barrido de 100 $\text{mV s}^{-1}$ en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$ 5mM en KCl 0.1 M con GCE y ECG-MWCNT-f como electrodos de trabajo.	29
9	Voltamperometría cíclica para a) GCE en PBS pH 7 y b) GCE en solución de DCF 1mM en PBS pH 7.	30
10	Probable mecanismo de oxidación del diclofenaco sódico	31

11	SWV obtenidas en soluciones de DCF a distintas concentraciones (0.05, 0.09, 0.3, 0.9 y 1 mM) en PBS pH 7, utilizando el GCE-MWCNT-f y GCE-MWCNT-f/AuNPs.	30
12	Curva de calibración por SWV empleando a) GCE-MWCNT-f para 0.09, 0.3, 0.5 y 1 mM y b) GCE-MWCNT-f/AuNPS para 0.05 mM.	32

## INTRODUCCIÓN

El diclofenaco (DCF) es un fármaco que ha sido ampliamente utilizado para tratar lesiones musculoesqueléticas, artritis e inflamación postraumática. Debido a su amplio uso y degradación deficiente, el DCF es considerado como un contaminante emergente que puede causar efectos adversos en el ecosistema (Boumya, W., et al., 2021). Frecuentemente es detectado en aguas tratadas, arroyos, ríos, lagos e incluso en agua potable (Fu, Q., et. al., 2020). Teniendo en cuenta el impacto negativo que este fármaco pueda tener para el medio ambiente y las especies que habiten en el, es de vital importancia establecer un método preciso y exacto para la detección de DCF a concentraciones muy bajas.

Se han utilizado varias técnicas para su determinación y cuantificación donde se incluyen la espectrofotometría y espectrofluorimetría, las cuales son sensibles, pero suelen ser costosas, requieren extensos tratamientos de la muestra y largos tiempos de detección. Sin embargo, técnicas electroquímicas como voltamperometría de onda cuadrada y voltamperometría cíclica acopladas con la fabricación de sensores electroquímicos, presentan una nueva alternativa para la detección de contaminantes emergentes debido a su elevada sensibilidad, respuesta rápida, bajo límite de detección (LOD), fácil manejo, bajo coste y buena portabilidad (Boumya, et. al., 2021).

Actualmente se desconoce la concentración de esta sustancia en medio acuoso (agua residual y potable), por lo que determinar la concentración de este analito en agua resultará benéfico para la población de Ciudad Juárez, ya que al cuantificar esta sustancia puede que se implementen nuevos métodos para su remoción y mejoras en la calidad de agua potable. Debido a lo anterior, durante esta investigación se modificó un electrodo de carbono con distintos nanomateriales que en conjunto con técnica voltamperométrica avanzada se realizó la detección de DCF. Dicho sistema demostró tener la capacidad de determinar concentraciones muy bajas del analito.

## **1. Antecedentes**

### **1.1 Definición de fármaco**

Sustancia que se extrae de fuentes naturales o sintetizada en el laboratorio que puede interactuar con el organismo y producir una respuesta, ya sea beneficiosa o tóxica (Cabildo Miranda, M. P., 2015).

La OMS (Organización Mundial de la Salud) denomina como fármaco a “toda sustancia que, una vez dentro de un organismo vivo, puede modificar una o más funciones de este” (Herrero J., S., 2019).

### **1.2 Fármacos antiinflamatorios no esteroideos**

Dentro de la familia de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) se incluye una gran variedad de medicamentos no opioides con excelentes propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Suelen usarse para el tratamiento de enfermedades como la espondilitis anquilosante y condiciones donde hay dolor muscular agudo (McEvoy, L., et. al., 2021).

Contienen un grupo de fármacos de distinta composición química y potenciales terapéuticos, caracterizados por tres peculiaridades en común: propiedades farmacológicas similares, mecanismo de acción básico y efectos adversos similares. Además, son unos de los medicamentos más prescritos, representando aproximadamente entre un 5% a 10% de las prescripciones a nivel global (Motoc, S., et. al., 2022; McEvoy, L., et. al., 2021).

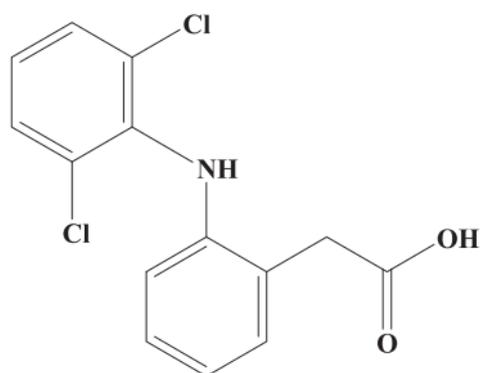
### **1.3 Diclofenaco**

El diclofenaco de sodio (ácido 2-[2-[(2,6-diclorofenil)-amino]-fenil] acético) (DCF) es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) con un potente efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético (Figura 1). Desde 1974 ha demostrado ser muy eficiente para dolencias reumáticas, inflamación articular aguda y dolor

moderado a intenso. Debido a su baja solubilidad es comúnmente usado en su forma de sal de sodio o potasio (Afkhami, et. al., 2016; Boumya, W., et. al., 2021).

Vendido comercialmente bajo el nombre de Voltaren, entre otros, es prescrito en forma de tabletas orales o gel tópico, ampliamente utilizado para tratar una variedad de malestares inflamatorios que incluyen artritis reumatoide, osteoartritis, desordenes de los tejidos blandos, cólico renal, gota aguda, dismenorrea y migraña. También se usa en la medicina veterinaria, principalmente en el tratamiento de animales ganaderos (Eteya, M. M., et. 2019; Nasiri, F., et. al., 2021).

Se absorbe rápida y completamente en el tracto gastrointestinal al administrarse oralmente y luego se elimina completamente en aproximadamente 12 horas, una parte en orina y otra por las heces (Sasal, A., et. al., 2020).



**Figura 1.** Estructura química del diclofenaco. Fuente: Modificado de (Honakeri, N. C., et. al., 2020).

#### **1.4 Mecanismo de acción**

El DCF actúa inhibiendo las enzimas ciclooxigenasas (COX), reduciendo la liberación del ácido araquidónico y mejorando su absorción. El paso crítico en la

formación de prostaglandinas a partir de la oxidación del ácido araquidónico es la reacción COX (Bilir, A., et. al., 2019).

La COX 1 es la isoforma que se expresa en la mayoría de los tejidos y su concentración permanece relativamente estable. Participa en la mediación de funciones plaquetarias, regulación del flujo sanguíneo renal y la citoprotección de la mucosa gástrica. (Gan, T. J., 2010).

Por otro lado, el aumento de COX 2 puede aumentar drásticamente en respuesta al daño, incrementa la generación de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, mediadores de inflamación y dolor. Pese a que el DCF tiene una selectividad mayor para la COX 2, también inhibirá en al menos un 70% a la COX 1 (Gan, T. J., 2010).

### **1.5 Efectos adversos del DCF en la salud humana**

El DCF puede causar problemas como ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares, especialmente si el paciente lo usa durante mucho tiempo. También puede causar efectos adversos en humanos como anemia aplásica, trastornos gastrointestinales, agranulocitosis y alteraciones en la función renal (Eteya, M. M., et. al. 2019).

Sin embargo, diferentes grados de riesgo cardiovascular han sido reportados para distintos AINEs, el DCF pertenece al grupo de alto riesgo. Detalles de su mecanismo aún no se han aclarado por lo que no se puede establecer la relación entre los distintos grados de cardiotoxicidad (Pereira-Leite, C., et. al., 2020).

### **1.6 Impactos ambientales**

El uso generalizado de DCF resultó en la liberación de una gran cantidad de este fármaco en el ambiente acuático, por lo que recientemente ha sido designado

como un contaminante ambiental debido a su bioacumulación en la cadena alimentaria (Nasiri, F., et. al., 2021).

Estudios reportan que únicamente entre el 6% y 7% del gel tópico es absorbido, mientras que el resto es arrastrado de la piel o se adhiere a la ropa. Esto es importante para el ambiente debido a que un gran porcentaje del DCF aplicado tópicamente terminarán inevitablemente en los desagües domésticos y finalmente en una planta tratadora de aguas residuales. Debido a esto es detectado frecuentemente en aguas residuales tratadas, arroyos, ríos, lagos e incluso en el agua potable con concentraciones en el rango de los  $\mu\text{g/L}$  (Zou, Y., et. al., 2022; Fu, Q., et. al., 2020).

También se ha reportado que puede dañar algunas especies con concentraciones menores o iguales a  $1 \mu\text{g/L}$ . Un ejemplo de estos efectos adversos es la hepatotoxicidad aguda que causa alteraciones en los riñones y branquias de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), además presenta toxicidad aguda para el fitoplancton y zooplancton. La posibilidad de efectos sinérgicos con otros productos farmacéuticos o químicos en el medio acuático incrementa su riesgo ambiental (Sasal, A., et. al., 2020).

### **1.7 Técnicas para su cuantificación y detección**

Teniendo en cuenta su impacto negativo en la salud de las personas, animales y en el medio ambiente, resulta crucial establecer un método efectivo para cuantificar DCF en medios acuosos a concentraciones muy bajas, no solo para evaluar sus riesgos ambientales, sino también para mejorar los tratamientos de aguas residuales (Zou, et. al., 2022).

Se han utilizado varios métodos para la detección y cuantificación de DCF en varios tipos de muestras, como los fluidos biológicos y medio acuoso. Los métodos más populares son la espectroscopia (concentraciones de DCF determinadas:  $6.8 \times 10^{-7} - 8.4 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ), espectrofluorimetría ( $4.2 \times 10^{-7} -$

$1.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), calorimetría ( $4.6 \times 10^{-6} - 2.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ), cromatografía de capa fina de alto rendimiento ( $6.8 \times 10^{-7} - 2.7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ), y cromatografía líquida de alto rendimiento ( $1.7 \times 10^{-8} - 1.4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (Eteya, M. M., et. 2019; Sasal, A., et. al., 2020).

## **1.8 Electroquímica**

La electroquímica es una herramienta para probar reacciones que involucran la transferencia de electrones. Relaciona el flujo de electrones con cambios químicos. En inorgánica, este cambio resulta ser la oxidación o reducción de un complejo metálico. Aquí se desarrollan técnicas analíticas para identificar y cuantificar especies químicas, técnicas analíticas que, en conjunto con las técnicas ópticas y otras constituyen las técnicas instrumentales de análisis químico (Elgrishi, N., 2018; Pingarrón, J. M. & Sánchez, P., 2003).

Las transformaciones químicas que experimentan las sustancias durante el proceso de “electrolisis” son el resultado de reacciones electroquímicas. Lo anterior debido al paso de corriente eléctrica a través de electrodos y los instrumentos, así como el transporte de especies cargadas o no a través de las soluciones electrolíticas en las que se encuentran (Pingarrón, J., M. & Sánchez, 2003).

### **1.8.1 Celda electroquímica**

Dispositivo donde se llevan a cabo reacciones químicas de tipo oxido-reducción, que dan como resultado la aparición de corrientes faradaicas. Este instrumento puede ser de tipo galvanico cuando hay reacciones espontaneas o electrolítica cuando no lo son (Zoski, C. G., 2007; Elgrishi, N., 2018).

### **1.8.2 Electrodo**

En una celda electroquímica, el electrodo es un conductor eléctrico donde se produce la transferencia de electrones. Funciona como ánodo o cátodo (Zoski, C. G., 2007).

Dentro de los análisis electroquímicos (sobre todo en voltamperometría cíclica) es común utilizar una celda con arreglo de tres electrodos, los cuales suelen denominarse como electrodo de referencia (RE), de trabajo (WE) y electrodo auxiliar (CE). Mientras que la corriente fluye en medio del WE y CE, el RE es usado para obtener una medida precisa del potencial aplicado en comparación con una reacción de referencia que permanezca constante (Elgrishi, N., 2018).

Estos tres electrodos están conectados en una estación electroquímica que es capaz de aplicar potencial y medir los cambios electroquímicos debido a la transferencia de electrones entre WE y la solución (Islam, T., et. al., 2020).

#### **1.8.2.1 Electrodo de trabajo**

Electrodo donde ocurren los procesos electroquímicos de interés. Actúa como transductor que puede convertir reacciones electroquímicas en señales eléctricas. Se compone de materiales inertes a reacciones redox dentro del rango potencial de interés. Varía en cada uno de los experimentos, con el fin de brindar distintos potenciales o para mejorar/reducir la adsorción de las especies de interés sobre su superficie. Son típicamente cátodos (Elgrishi, N., 2018; Zoski, C. G., 2007; Islam, T., et. al., 2020).

#### **1.8.2.2 Electrodo de referencia**

Se encarga de mantener un potencial constante durante experimentos donde las condiciones cambian continuamente. El potencial del WE se referencia frente al potencial del RE. Estos son típicamente ánodos en celdas electroquímicas (Zoski, C. G., 2007).

El electrodo de calomel saturado (SCE) y el de AgCl/Ag son los más comunes y los más utilizados en medio acuoso. Generalmente están disponibles comercialmente (Elgrishi, N., 2018).

### **1.8.2.3 Electrodo Auxiliar**

No se generan procesos de interés en la superficie de este. Ayuda al correcto flujo de corriente a través de la celda. Dicha corriente viaja entre el electrodo de trabajo y el auxiliar (Zoski, C. G., 2007).

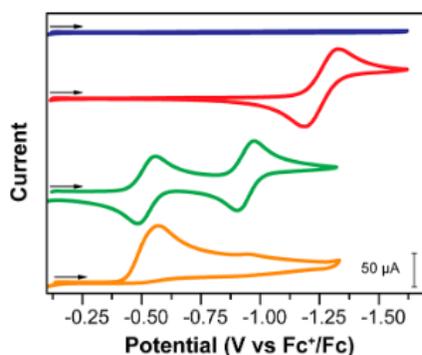
Su propósito es cerrar el circuito eléctrico, normalmente se utiliza un alambre de platino como electrodo auxiliar. Pueden generar subproductos según el experimento, por lo que a veces pueden estar aislados del resto del sistema (Elgrishi, N., 2018).

### **1.8.3 Voltamperometría cíclica**

Técnica electroquímica empleada para investigar reacciones de oxidación – reducción. También es invaluable para estudiar reacciones químicas iniciadas por la transferencia de electrones, donde se incluye la catálisis (Elgrishi, N., 2018).

Los métodos voltamperométricos se pueden usar tanto para sensores como para biosensores y son aplicables a compuestos electroactivos. Además, la caracterización de estos compuestos y la determinación del mecanismo de reacción del electrodo se realiza principalmente por CV (Bounegru, A. V., & Apetrei, C., 2020; Elgrishi, N., 2018).

Los trazos en la figura 2 son llamados voltamogramas cíclicos. El eje de las x representa el potencial aplicado (E), mientras que en el eje de las Y se encuentra la respuesta, la corriente resultante (i).



**Figura 2.** Voltamograma cíclico. Fuente: modificado de (Elgrishi, N., 2018)

#### **1.8.4 Voltamperometría de pulso: onda cuadrada**

Técnica que se encuentra entre los medios más sensibles para la evaluación directa de concentraciones, puede ser ampliamente utilizada para el análisis de trazas, especialmente en compuestos farmacéuticos (Dogan-Topal, B., Ozkan, S. A., & Uslu, B., 2010).

#### **1.8.5 Espectroscopia de impedancia electroquímica**

Técnica electroquímica utilizada en el análisis de los procesos que ocurren entre el electrodo y la solución electrolítica. Es un método de identificación y determinación de parámetros a partir de un modelo desarrollado en base a la respuesta en frecuencia del sistema electroquímico en estudio (Simões, F. R., & Xavier, M. G., 2017; Nam, K. M., et. al., 2013).

#### **1.8.6 Cronoamperometría (CA)**

Método que utiliza un paso de potencial y tiene las lecturas de corriente de salida frente al tiempo bajo control potencioestático. La respuesta obtenida mediante esta técnica es la corriente que, tras llevar a cabo el salto de potencial (E1 a E2) pasa a través del electrodo y dicha señal se monitoriza en función del tiempo. La

corriente suele limitarse por el transporte de masa (Zoski, C. G., 2007; Pingarrón, J. M. & Sánchez, P., 2003, Mortimer, R. J., 2016).

Permite estudiar la velocidad de las reacciones de los electrodos y las velocidades de las reacciones químicas acopladas, así como el estudio de los fenómenos de adsorción (Westbroek, P., 2005).

## **1.9 Nanomateriales**

Los nanomateriales tienen atributos únicos que los convierten en andamios excelentes para la detección química y biológica. Sus propiedades más destacadas son su alta relación superficie-volumen, la morfología ajustable (es decir, tamaño y forma y la versatilidad de su composición (metálica, orgánica o híbrida) (Chen, A., & Chatterjee, S., 2013).

Los nanomateriales sufren diversas transiciones fisicoquímicas que modifican sus propiedades, estos cambios y su intensidad se utilizan para detectar la presencia de moléculas o iones y determinar su concentración en una muestra (Tsogas, G. Z., et. al., 2022).

Con base en esta estrategia, se han desarrollado nuevas sondas analíticas, sensores y biosensores para determinar una amplia gama de analitos que son de interés ambiental, biológico, alimentario e industrial (Tsogas, G. Z., et. al., 2022).

### **1.9.1 Nanomateriales de carbono**

La extensa familia de materiales carbonosos a nanoescala incluye: nanotubos de carbono (CNT), grafeno, puntos cuánticos basados en carbono, fullereno, negro de carbono, nanocables de carbono y nanodiamantes (Fritea, L., et. al., 2021).

Los nanomateriales de carbono ofrecen ciertas ventajas como lo son una alta relación superficie-volumen, alta conductividad eléctrica, estabilidad química, biocompatibilidad y alta resistencia mecánica. Los sensores basados en estos

nanomateriales suelen ser más sensibles y ofrecen límites de detección más bajos que otros métodos convencionales (Chen, A., & Chatterjee, S., 2013).

### **1.9.1.1 Nanotubos de carbono**

Fueron descubiertos en 1991 por Lijima, consisten en tubos cilíndricos 1D de átomos de carbono con hibridación  $sp^2$  acomodados en una red hexagonal con electrones deslocalizados (Fritea, L., et. al., 2021).

Son únicos debido a los fuertes enlaces intermoleculares entre los anillos hexagonales alternos que conducen una estructura aglomerada. Pueden tener diferentes longitudes, espesores y número de capas. Su diámetro está apenas alcanza los nanómetros, mientras que su longitud puede alcanzar varios milímetros, incluso centímetros (Fritea, L., et. al., 2021).

Debido a sus excelentes propiedades mecánicas y eléctricas, los NTC se han convertido en uno de los nanomateriales de carbono más populares. Son tubos cilíndricos hechos de átomos de carbono con un diámetro interno de  $>0.9\text{nm}$ . Algunas de las propiedades únicas de los NTC son su excelente conductividad eléctrica y térmica, excelente capacidad electrocatalítica, buena elasticidad, alta resistencia a la tracción y flexibilidad, además de buena biocompatibilidad (Bounegru, A. V., & Apetrei, C., 2020; Islam, T., et. al., 2020).

Los NTC se pueden clasificar según el número de capas de grafeno que tengan; existen los nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y los de pared múltiple (MWCNT). El tratamiento con calor es requerido para cambiar la estructura de los SWNT a una pared doble (DWNT) o incluso a una múltiple. Los DWNT y MWNT son mucho más estables que los SWNT (Fritea, L., et. al., 2021; Bounegru, A. V., & Apetrei, C., 2020).

Con el fin de aumentar el rendimiento de los NTC en aplicaciones analíticas, se realiza una funcionalización donde se incluyen algunos grupos funcionales;  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{F}$ , que no alteran significativamente sus propiedades. Además,

se crean sitios de unión más activos en la superficie de los nanotubos (Fritea, L., et. al., 2021).

#### **1.9.1.1 Nanotubos de carbono de pared simple**

Consisten en hojas de grafeno individuales que se envuelven en tubos cilíndricos con diámetros entre 0.4 y 2.5 nm, su alta conductividad eléctrica en conjunto con su diminuto tamaño los hace apropiados electrodos microscópicos individuales (Chen, A., & Chatterjee, S., 2013).

#### **1.9.1.2 Nanotubos de carbono de pared múltiple**

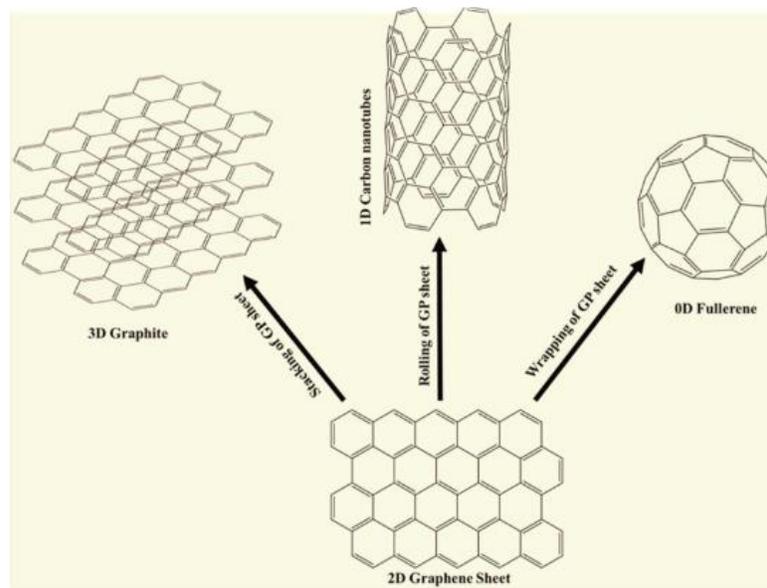
Se componen de múltiples láminas de grafeno anidadas, con diámetros que varían hasta los 100 nm. Las longitudes de estos nanotubos pueden variar desde unos pocos nanómetros hasta varios micrómetros. Con superficies químicamente modificables que poseen grandes áreas de superficie, propiedades físicas únicas y longitudinales, los MWNT son fuertes candidatos para su aplicación en sensores electroquímicos (Chen, A., & Chatterjee, S., 2013).

#### **1.9.1.4 Grafeno**

El grafeno (G) fue descubierto en 2004 por Noselov et. al., este nanomaterial 2D basado en carbono con hibridación  $Sp^2$  no es más que una capa de carbonos libres en una red hexagonal con electrones  $\pi$ , deslocalizados. Es considerado como el material más delgado y resistente (Fritea, L., et. al., 2021).

Posee propiedades únicas como: excelente conductividad eléctrica, gran área superficial, excelente resistencia mecánica, alta conductividad térmica, transparencia óptica y elasticidad (Fritea, L., et. al., 2021).

Se considera el bloque de construcción para otros nanomateriales de carbono; al apilarse, conduce a grafito 3D, al enrollarse, forma CNT 1D y al envolverse, da como resultado fullerenos 0D (figura 3) (Fritea, L., et. al., 2021).



**Figura 3.** Representación esquemática de la relación entre los diferentes alótropos de carbono. Fuente: Modificado de (Islam, T., et. al., 2020).

### 1.9.1.5 Puntos cuánticos basados en carbono

Los últimos nanomateriales a base de carbono descubiertos son los puntos cuánticos de carbono (CD), definidos como nanopartículas de carbono con menos de 10 nm de diámetro y los puntos cuánticos de grafeno (CQD) que son láminas de G 0D, con geometría plana circular y con un tamaño muy pequeño (3-20nm) (Fritea, L., et. al., 2021; Sainz-urruela, C., et. al., 2021).

Debido a su estructura única, presentan muchas ventajas, como biocompatibilidad, baja toxicidad, fácil funcionalización, estabilidad química, bajo costo, versatilidad, atractivas propiedades ópticas como fotoluminiscencia, alta área superficial y buena solubilidad (Fritea, L., et. al., 2021).

Se aplican principalmente en detección electroquímica, dispositivos electroquímicos flexibles, electrocatálisis y celdas de biocombustibles (Fritea, L., et. al., 2021).

### **1.9.2 Nanopartículas**

Tiene propiedades químicas y físicas que difieren de aquellos materiales de donde se obtienen. Por ejemplo, las nanopartículas metálicas tienen puntos de fusión significativamente más bajos que su metal precursor (Fritea, L., et. al., 2021).

Dependiendo de la aplicación en cuestión las nanopartículas (NPs) son seleccionadas para lograr una función en particular, a partir de las propiedades de los materiales que las constituyen como de su tamaño (Kleijn, S. E. F., et. al., 2014).

Una de las mayores aplicaciones de las NP es la electrocatálisis, campo relacionado con las interacciones que implican la transferencia de carga en la zona donde un catalizador sólido y un electrolito interactúan. Esta área es clave para el desarrollo de sistemas de detección electroquímica (Kleijn, S. E. F., et. al., 2014).

#### **1.9.1.1 Nanopartículas metálicas**

Son las más usadas debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad, excelente conductividad y una gran área superficial. Pueden utilizarse solas y en combinación con otras nanoestructuras, con el objetivo de amplificar la señal, aumentar la sensibilidad y lograr grandes mejoras en la detección y cuantificación de diferentes moléculas y biomoléculas (Fritea, L., et. al., 2021; Islam, T., et. al., 2020).

Varias nanopartículas metálicas (MNPs) se utilizan actualmente en la modificación de sensores, siendo las NPs de oro (AuNPs), plata (AgNPs) y platino (PtNPs) las más utilizadas (Fritea, L., et. al., 2021; Islam, T., et. al., 2020).

#### **1.9.1.2 Nanopartículas de oro**

AuNPs u oro coloidal, se pueden sintetizar fácilmente en tamaños que oscilan entre 3 y 100 nm de diámetro. Se utilizan ampliamente para diseñar sensores electroquímicos, debido a su alta capacidad catalítica, excelente biocompatibilidad y una rápida transferencia de electrones (Fritea, L., et. al., 2021; Nasiri, F, 2019).

El método más utilizado para sintetizar AuNPs cuasi esféricas es la reducción química de  $\text{Au}^{3+}$  y  $\text{Au}^+$  a iones de  $\text{Au}^0$  utilizando diferentes agentes reductores (citrate de sodio, borohidruros, ácidos cítrico y oxálico, polioles, peróxido de hidrogeno, sulfitos, etc.) (Fritea, L., et. al., 2021).

La síntesis electroquímica de AuNPs es un método empleado a menudo al desarrollar sensores electroquímicos, donde la optimización de los parámetros del método electroquímico influye en el tamaño y espesor de la capa de las NPs electrodepositadas. Se sabe que la forma y función de las AuNPs están muy influenciados por los parámetros de su síntesis (Fritea, L., et. al., 2021).

#### **1.9.2.3 Nanopartículas de plata**

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son otras de las MNPs más utilizadas y fabricadas. Se oxidan más fácilmente que las AuNPs en medios electroquímicos, lo que las convierte en excelentes candidatos para modificar sensores. Sin embargo, su uso está limitado porque son menos estables y no se pueden funcionalizar fácilmente (Islam, T., et. al., 2020).

El nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) es la sal precursora más usada para su síntesis, mientras que una gran variedad de agentes reductores como el citrate de sodio, ascorbato, borohidruro de sodio, hidrogeno elemental, el reactivo de Tollens, etc.,

son usados en la reducción de los iones de plata ( $\text{Ag}^+$ ) en solución (Fritea, L., et. al., 2021).

El uso de un buen agente reductor puede ayudar a controlar el tamaño y forma de las AgNPs sintetizadas. Estas propiedades morfológicas pueden influir fuertemente en su aplicabilidad en la detección electroquímica.

#### **1.9.2.4 Nanopartículas de platino**

Además de las AuNPs y AgNPs, las NPS de platino (PtNPs) también son frecuentemente empleadas en la fabricación de sensores. Son altamente conductivas, relativamente estables y tienen buena actividad catalítica que también depende de las propiedades estructurales (Islam, T., et. al., 2020).

Como es el caso de otras MNPs, es posible preparar PtNPs con tamaño y forma definidos. Las estrategias utilizadas incluyen la reducción química, reducción electroquímica, electrodeposición y reducción fotoquímica de sales de platino ( $\text{PtCl}_6^{2-}$  y  $\text{PtCl}_4^{2-}$ ). Las que tienen formas cúbicas, poligonales o de varilla ofrecen mejores sitios de anclaje para los componentes de reconocimiento en comparación con las NPs esféricas (Fritea, L., et. al., 2021; Islam, T., et. al., 2020).

### **1.10 Sensores**

Un sensor es un dispositivo usado para medir una variable física, entre las cuales se incluyen: temperatura, presión, humedad, masa, luz y voltaje. Para medir estas variables, es necesario convertirlas en una señal de fácil acceso, generalmente un voltaje. Puede producir señales digitales intermitentes o continuas y la fuerza de señal resultante suele ser directamente proporcional a la variable que se mide y el componente encargado de tal conversión es llamado transductor (Yoon, J. Y., 2013; Zhang, J., et. al., 2021).

### **1.10.1 Transductor**

La función del transductor es convertir varias señales físicas, químicas y biológicas en señales eléctricas y luego obtener el resultado correspondiente a través del análisis y procesamiento de datos (Zhang, J., et. al., 2021).

Transforma una señal eléctrica cuantificable y procesable, que es amplificada y emitida por el instrumento secundario. Entonces, se puede conocer la existencia y concentración de la sustancia a medir (Zhang, J., et. al., 2021).

### **1.10.2 Biosensores electroquímicos**

Dispositivo que por medio de reacciones bioquímicas detecta compuestos químicos gracias a señales eléctricas, térmicas y ópticas. Las reacciones suelen estar mediadas por tejidos, enzimas, microbios o células enteras, entre otros. Son similares a los sensores electroquímicos, pero estos incorporan moléculas biológicas para la detección rápida y precisa de las especies objetivo (Boumya, W., et al., 202; Bounegru, A. V., & Apetrei, C., 2020).

Los electrodos a base de NTC son ampliamente usados para el desarrollo de biosensores al inmovilizar enzimas y otros compuestos sobre el electrodo. La respuesta dependerá de la naturaleza del electrodo y del compuesto inmovilizado (Bounegru, A. V., & Apetrei, C., 2020).

### **1.10.3 Sensores electroquímicos**

Los sensores electroquímicos son una clase de sensores químicos donde un electrodo es usado como el elemento transductor en presencia del analito. Usan varias propiedades para detectar parámetros químicos, físicos o biológicos (Simões, F. R., & Xavier, M. G., 2017).

Brindan información sobre la composición de un sistema en tiempo real acoplado una capa químicamente selectiva a un transductor electroquímico. De

esta manera la energía química de la interacción entre la especie química y el sensor se traduce en una señal analíticamente útil. (Antuña-Jiménez, D., et. al., 2012)

### 1.10.3.1 Sensores electroquímicos para la detección de diclofenaco

Debido a su alta actividad electrónica, el DCF puede ser detectado en concentraciones bajas usando varios tipos de electrodos modificados basados en materiales avanzados (Cuadro 1). De hecho, el uso de estos electrodos permite el incremento de la señal eléctrica y la mejora de la selectividad relacionada a la oxidación del DCF (Boumya, W., et. al., 2021).

**Cuadro I.** Métodos electroquímicos para la detección de DCF

Tipo de sensor electroquímico	Técnica	LOD	Muestra	Autor
GCE/Core Shell	SWV	$3.41 \times 10^{-8}$ M	Orina	Honakeri, N. C., et. al., 2020
Aptámero de DCF/f-MWCNTs/ GCE	CV EIS	$1.62 \times 10^4$ nM	DCF grado analítico	Zou, Y., et. al., 2022
AuNP/MWCNT/GCE	SWV CV	$0.02 \mu\text{mol L}^{-1}$	Tabletas Orina	Afkhami, A., et. al., 2016
SPCE/MWCNTs-COOH	DPAdSV	$2.8 \times 10^{-11}$ $\mu\text{mol L}^{-1}$	Agua de río	Sasal, A., et. al., 2020
f-MWCNTs- GO/AuNPs/AuE	CV	$0.09 \mu\text{mol L}^{-1}$	Tabletas Orina Agua de grifo	Nasiri, F., et., al., 2021

La <sub>2</sub> O <sub>3</sub> @SF-L Cu <sub>2</sub> S/GCE	CV CA DPV	1.7 nM	Orina Suero sanguíneo	Baniahmad, B., et. al., 2022
Electrodo de pasta de carbón modificada con tirosina (TCPEs)	DPV	3.28 μmol/L	Orina	Chethana, B. K., et., al., 2012
Au–PtNPs/f- MWCNTs/AuE	CV SWV	0.9 μM	Tabletas Orina	Eteya, M. M., et., al., 2019

GCE: Electrodo de grafito vidriado; f-MWCNTs: Nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados; AuNP: Nanopartículas de oro; GO: Oxido de grafeno; PtNPs: Nanopartículas de platino; SWV: Voltamperometría de onda cuadrada; CV: Voltamperometría cíclica; EIS: Espectroscopia de impedancia electroquímica; DPAdSV: Voltamperometría de redisolución por adsorción de pulso diferencial; CA: Cronoamperometría; DPV; Voltamperometría de pulso diferencial.

### **1.11 Hipótesis**

La modificación de un electrodo de carbono con nanomateriales y su implementación como sensor electroquímico propicia la detección de DCF en medio acuoso a bajas concentraciones.

### **1.12 Objetivos**

#### **1.12.1 General**

- Modificar un electrodo de carbono con nanomateriales para la determinación voltamperométrica de diclofenaco sódico a bajas concentraciones.

#### **1.12.2 Específicos**

- Verificar el incremento de la capacidad de transferencia electrónica de un electrodo de grafito vidriado modificado con nanotubos de carbono, quitosano y nanopartículas de oro.
- Caracterizar la superficie del electrodo modificada anteriormente.
- Optimizar las variables electroquímicas para la detección y cuantificación voltamperométrica a bajas concentraciones de DCF.

## **2. Materiales y métodos**

### **2.1 Reactivos**

Diclofenaco sódico grado reactivo, solución ácida de  $\text{HAuCl}_4$ , otros reactivos y los nanotubos de carbono de pared múltiple (30  $\mu\text{m}$  de longitud, 10-12 nm de diámetro, 95% de pureza) se obtuvieron de Sigma Aldrich, todos de grado analítico. Diariamente se preparó una solución 1 mM de DCF disolviendo 0.2961g de DCF en agua destilada en un matraz aforado de 100 mL. La solución se mantuvo refrigerada a 4 °C, en la oscuridad. A partir de esta se realizaron soluciones de concentraciones más bajas por dilución en serie utilizando agua destilada. Un buffer de fosfatos a pH 7 se preparó como solución electrolítica de apoyo. La muestra farmacéutica (tabletas de DCF) fue obtenida de una farmacia local. Se utilizó agua bidestilada para preparar todas las diluciones.

### **2.2 Equipo**

Para los experimentos voltamperométricos se utilizó un potenciostato (Bio-Logic Science Instruments, mod. SP-200) por medio del software EC-Lab (V.10.32) y una celda electroquímica con arreglo de tres electrodos para los experimentos de CV, EIS y SWV. El RE utilizado fue un SCE, un alambre de malla de platino como CE y un electrodo de grafito vidriado modificado con nanotubos de carbono y nanopartículas de oro como electrodo de trabajo.

Para las mediciones de pH se usó un potenciómetro (OAKTON, mod. PC700) y agua destilada en todo momento. El electrodo modificado fue caracterizado mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia de dispersión de rayos (EDS).

### **2.3 Modificación del electrodo de grafito vidriado con quitosano y nanotubos de carbono**

Previo a la modificación del electrodo, fue necesario funcionalizar los MWCNT con grupos ácidos, e hidroxilo, por lo cual fueron colocados en un sistema de reflujo durante 6 horas.

El GCE fue pulido con  $\text{Al}_2\text{O}_3$  utilizando lijas de grano 400, 1500 y 4000 sucesivamente. Posteriormente se pasaron por un disco de material especial para eliminar las rayas y finalmente un paño de lana para lograr un acabado espejo. Al terminar, se sónico con etanol, acetona y agua bidestilada.

El GCE recién limpio se activó electroquímicamente en una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  a una velocidad de  $100 \text{ mVs}^{-1}$  realizando 20 barridos de voltamperometría cíclica en el intervalo de -0.6 a 2 V.

Se preparó una solución de MWCNT-f disueltos en quitosano, ácido acético y agua, de la cual se tomó una alícuota de  $15 \mu\text{L}$  para depositarla en la superficie del GCE limpio, la cual secó a temperatura ambiente. Así, se formó una película de MWCNT-f en la superficie del GCE.

### **2.4 Modificación del electrodo con MWCNT-f y nanopartículas de oro**

El recubrimiento con AuNPs en el GCE-MWCNT-f se llevó a cabo realizando barridos de voltamperometría cíclica de 0.7 a 0.0 V contra un electrodo auxiliar de calomel saturado (ECS) en 0.1 M KCl y 2 M de HCl, conteniendo  $250 \text{ mg L}^{-1}$  ácido tetracloráurico ( $\text{HAuCl}_4$ ), a una velocidad de barrido de  $50 \text{ mVs}^{-1}$  durante 15 ciclos y mediante la imposición de un potencial fijo (cronoamperometría). Se llevó a cabo la variación del número de ciclos en el proceso de electrodeposición, para controlar la cantidad y el tamaño de las AuNPs depositadas. Debido a que el tamaño de las nanopartículas influye significativamente en la eficiencia catalítica, se eligió el número de ciclos óptimos en el proceso de electrodeposición de oro para la determinación y cuantificación efectiva del DCF.

El electrodo modificado se identificó como GCE-MWCNT-f/AuNPs. Por último, se enjuagó el electrodo con agua bidestilada.

## **2.5 Caracterización electroquímica**

Se preparó una solución de ferrocianuro de potasio y ferricianuro de potasio  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  5 mM en cloruro de potasio (JT Baker) 0.1 M como prueba redox para caracterizar electroquímicamente el electrodo de trabajo.

## **2.6 Voltamperometría cíclica**

Se realizaron voltamperometrías cíclicas utilizando el electrodo de trabajo (GCE) en la solución de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  entre -0.2 y 0.6 V vs SCE a distintas velocidades de barrido (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800  $\text{mVs}^{-1}$ ). Luego de determinar la corriente pico obtenida a cada velocidad, se graficaron vs la velocidad de barrido al un medio ( $v^{1/2}$ ). La gráfica obtenida se ajustó a un modelo de regresión lineal y con los valores obtenidos para la ecuación de la recta se determinó el proceso que determina la velocidad de la reacción, así como el área electroactiva del GCE utilizando la ecuación de Randles-Sevcik (Frietas, et. al., 2021).

## **2.7 Espectro de impedancia electroquímica**

Se corrieron espectros de impedancia electroquímica usando el electrodo de grafito vidriado modificado con nanotubos de carbono en la solución  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  entre 10 mHZ y 6000 KHZ imponiendo una amplitud sinusoidal de 10mA. A los espectros obtenidos se les ajustó por medio del software EC-Lab<sup>®</sup> (V.10.32) un circuito equivalente de Randles que simula por medio de dos resistencias, un capacitor y un elemento de fase constante los valores de la resistencia de la solución ( $R_s$ ), la resistencia a la transferencia de carga ( $R_{ct}$ ), la capacitancia de la doble capa ( $C_{dl}$ ) y la impedancia de Warburg ( $Z_w$ ) para el sistema, con el fin de

obtener los parámetros eléctricos para los electrodos fabricados (Nagarajan & Vairamuthu, 2021).

## **2.8 Determinación electroquímica de DCF**

Las mediciones de voltamperometría de onda cuadrada realizaron en una celda electroquímica, utilizando un SCE como electrodo de referencia, un electrodo de malla de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de trabajo modificado con los nanomateriales antes mencionados. Las mediciones se realizaron en soluciones de DCF 0.05, 0.09, 0.3, 0.5 y 1 mM en buffer de fosfatos de pH 7 entre 0.3 y 0.85 V.

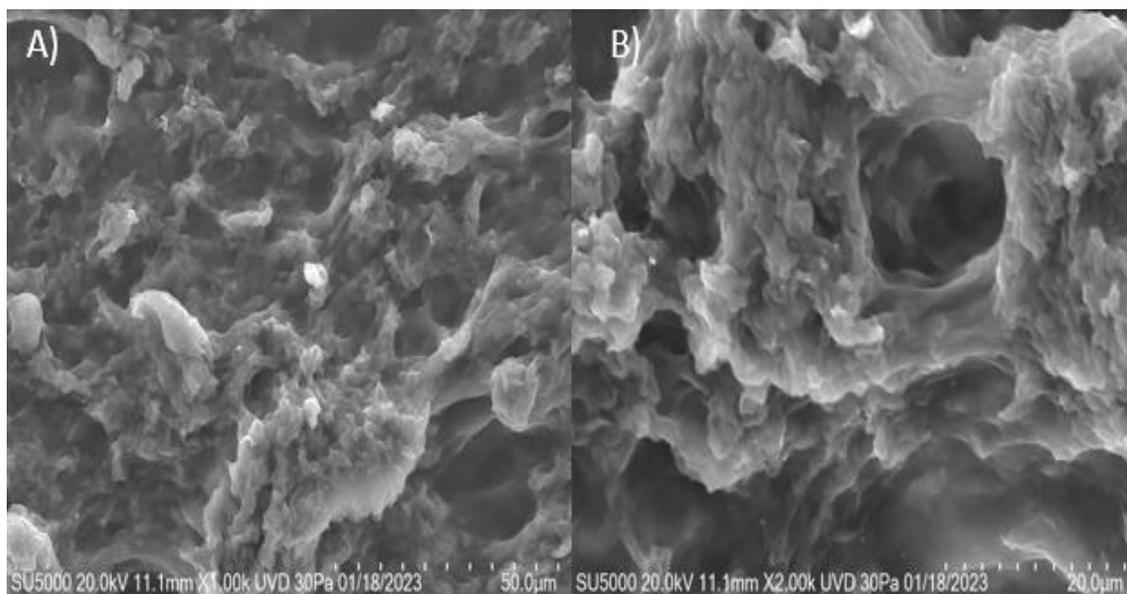
## **2.9 Preparación de la muestra farmacéutica**

Cinco tabletas de DS se pulverizaron finamente en un mortero. Las cantidades requeridas fueron transferidas a un matraz aforado de 50 mL y disueltas en buffer PBS de pH 7. El contenido del matraz fue sonicado durante 5 minutos para llevar a cabo una disolución completa. Finalmente, las soluciones se filtraron y se mantuvieron en el refrigerador. (Afkhami, A., Bahiraei, A., & Madrakian, T., 2016)

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Caracterización morfológica de GCE-MWCNT-f

La superficie del GCE modificado con nanotubos de carbono se observó mediante microscopía electrónica de barrido y se presenta en la Figura 4, donde aprecia en dos diferentes aumentos, la presencia de los nanotubos de carbono inmersos en una red tridimensional del biopolímero utilizado, que fue quitosano. Se puede observar la disposición espacial y tridimensional de los nanotubos sobre en una matriz de quitosano que se encuentra adherido a la superficie del grafito vidriado.



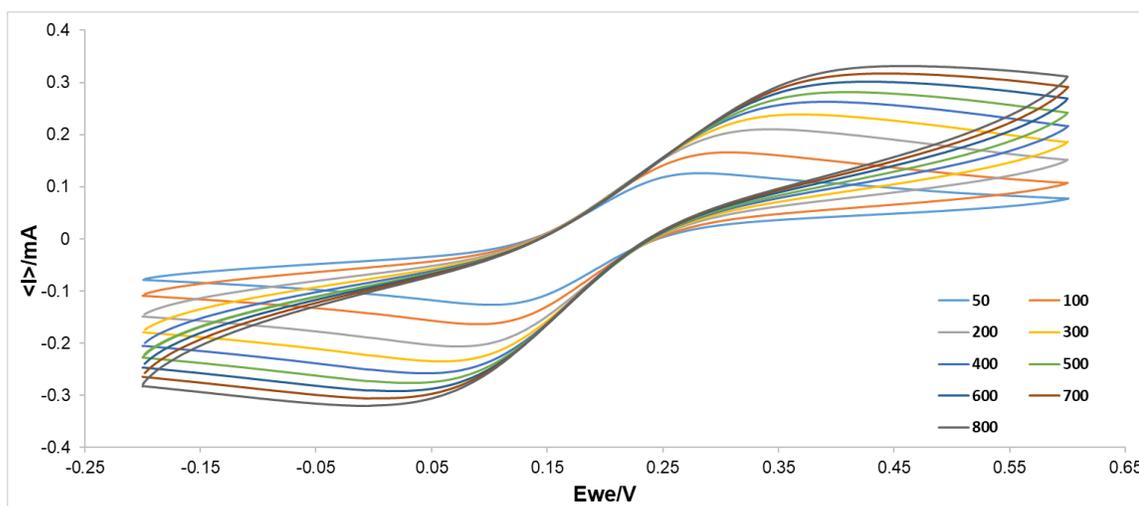
**Figura 4.** Micrografías obtenidas por SEM de la superficie del GCE modificado con nanotubos de carbono y quitosano a una resolución de A)1000x, B)2000x

El relieve tridimensional que se forma gracias al conglomerado de la matriz de quitosano y los nanotubos de carbono le proporciona al electrodo una mayor área superficial para la transferencia electrónica. Esto significa que se incrementa el número de sitios electroactivos disponibles para que ocurran reacciones que

involucren transferencia de carga (de electrón), es decir reacciones electroquímicas que permiten la oxidación o reducción electroquímica de analitos a nivel nano-, lo que favorece el proceso de detección y cuantificación electroquímica. Esta modificación química es útil para llevar a cabo procesos de donde se requiere un aumento en la cantidad de sitios electroactivos, donde se llevarán a cabo procesos de oxidación anódica o reducción catódica.

### 3.2 Caracterización electroquímica del GCE y GCE-MWCNT-f

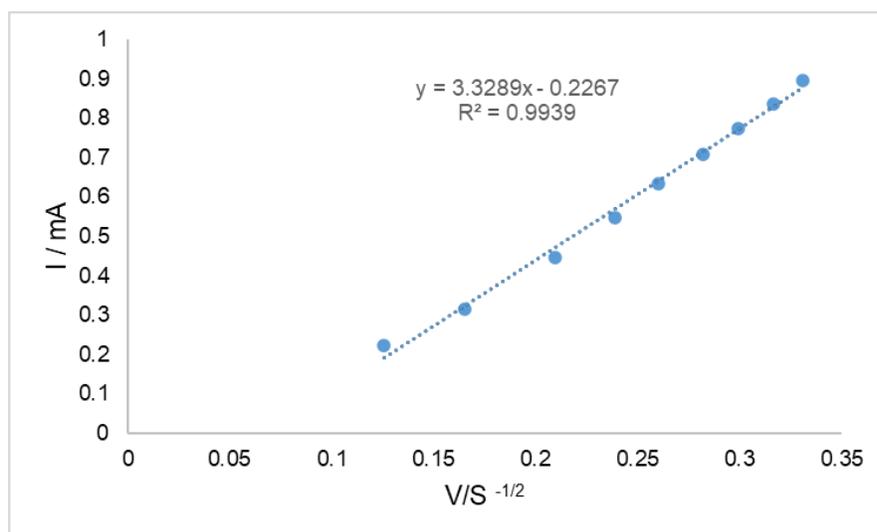
El comportamiento electroquímico del GCE pulido se evaluó utilizando voltamperometrías cíclicas en una solución de ferrocianuro y ferricianuro de potasio en concentración 5mM. Los voltamogramas cíclicos obtenidos para el análisis de las corrientes pico que se observan en la Figura 5, demuestran que la corriente pico  $I_p$ , aumenta conforme se aumenta la velocidad de barrido.



**Figura 5.** Voltamperometrías cíclicas en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  5 mM en KCl 0.1 M con GCE como electrodo de trabajo. Las velocidades de barrido utilizadas van desde los  $50 \text{ mVs}^{-1}$  a  $800 \text{ mVs}^{-1}$ .

En la Figura 6 se muestra la curva de calibración construida con los datos de las corrientes pico  $I_p$  obtenidas en los voltamogramas para las distintas velocidades de barrido para el GCE. En esta se graficó la velocidad de barrido  $(\text{V/s})^{-1/2}$

respecto, la corriente pico  $I_p$  (mA). Los puntos se ajustan a una línea recta que significa que el proceso de óxido-reducción de las especies ferricianuro y ferrocianuro, está controlado por un proceso difusional. .



**Figura 6.** Curvas de velocidad de barrido a la un medio contra corriente en  $[Fe(CN)_6]^{3/4}$  5 mM en KCl 0.1 M con GCE como electrodo de trabajo.

El modelo redox de ferrocianuro y ferricianuro de potasio ilustrado anteriormente, es clásicamente utilizado para determinar el área electroactiva en la superficie de electrodos. Utilizando la pendiente (Figura 6), se calculó el área electroactiva del GCE con la Ecuación 1, de Randles-Sevcik. (Motoc, et. al., 2019; Motoc, S. et. al., 2022; 2016, Bard & Faulkner, 2000).

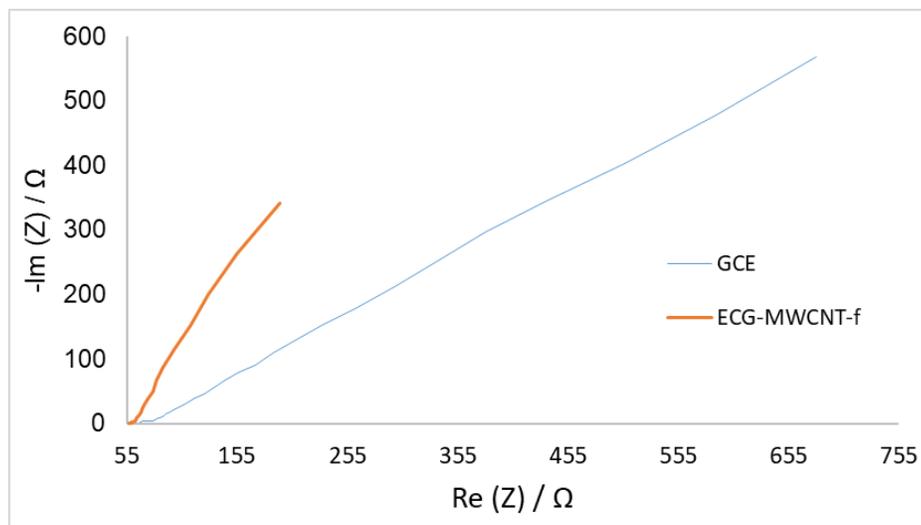
### Ecuación 1

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^2 A D^{\frac{1}{2}} C v^{\frac{1}{2}}$$

Donde  $i_p$  es la corriente pico en amperios,  $n$  el número de electrones que son transferidos durante la reacción (1),  $D$  es el coeficiente de difusión de la especie ( $7.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $C$  es la concentración en  $\text{mol cm}^{-3}$  ( $5 \text{ mol cm}^{-3}$ ),  $v$  es la velocidad de barrido en  $\text{V s}^{-1}$  y  $A$  el área electroactiva en  $\text{cm}^2$ .

En estos experimentos, de acuerdo con el despeje del área a partir de la pendiente de la recta, se encontró un valor de área electroactiva de  $A_{\text{elec}} = 0.3437 \text{ cm}^2$  para el GCE. Este parámetro es sumamente importante ya que impacta directamente a la velocidad de las reacciones electroquímicas y eficiencia del sistema. A mayor superficie electroactiva, mayor será la señal electroquímica obtenida (Motoc, S. et. al., 2022). También se calculó el área geométrica, teniendo en cuenta un diámetro igual a 3 mm, dando como resultado  $A_{\text{geo}} = 0.070 \text{ cm}^2$ . Por lo que se ve que se tiene una mayor área electroactiva que el área geométrica.

Por otro lado, se realizaron experimentos de espectroscopía de impedancia electroquímica para verificar también el efecto en cuanto al dato de la resistencia a la transferencia de carga, de la superficie de grafito vidriado y la superficie modificada con nanotubos de carbono y quitosano. La figura 7 muestran las impedancias electroquímicas para GCE y GCE-MWCNT-f. Esta técnica se emplea en general para para caracterizar las propiedades de la interfase en electrodos sin modificar y una vez modificados con nanomateriales.



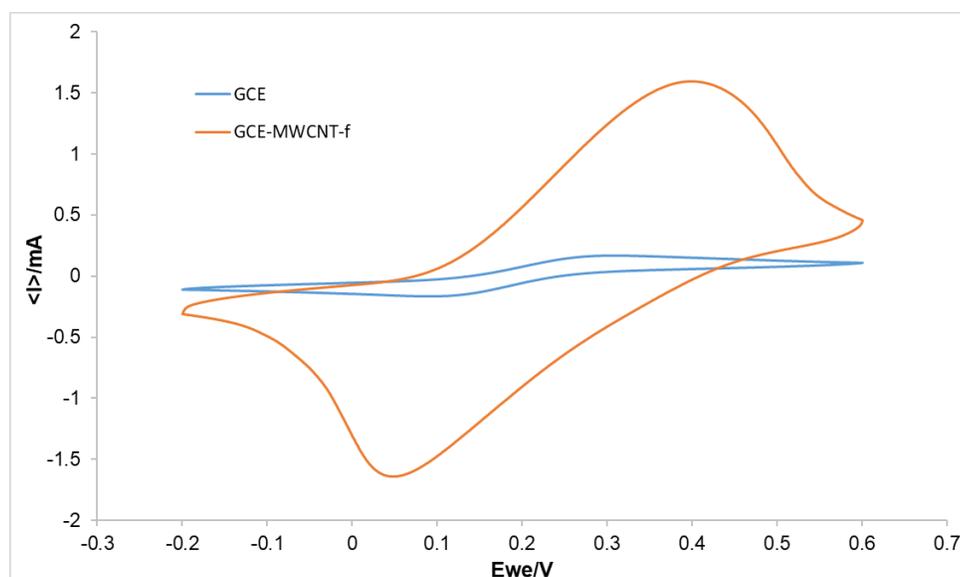
**Figura 7.** Impedancias electroquímicas obtenidas en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  5 mM en KCl 0.1 M con GCE y ECG-MWCNT-f como electrodos de trabajo.

La Figura 7 muestra que la impedancia obtenida para el GCE muestra una región semicircular seguida por una lineal. Es decir con el electrodo no modificado se observó el comportamiento típico del par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4}$  siendo un semicírculo asociado al proceso de transferencia de carga y luego una línea recta con una pendiente de  $45^\circ$  correspondiente al control por difusión (Huang, 2018).

Esta parte semi circular, que se refiere a la resistencia a la transferencia de carga es pequeña. Por otro lado, el ECG-MWCNT-f muestra prácticamente solo la porción lineal a bajas frecuencias, indicando un proceso de difusión y la eliminación de la resistencia a la transferencia de carga, por no aparecer el semicírculo. Por lo que el electrodo modificado presenta menos resistencia a la transferencia de energía en el medio (Afkhami, A., et. al., 2016).

Desde el punto de vista voltamperométrico, se realizó una comparación de los datos de corriente pico  $I_p$ , obtenidos para el electrodo modificado con nanotubos de carbono, y el electrodo sin modificar. Debido a que el dato de  $I_p$  es

directamente proporcional con la concentración del analito [C], se puede observar en la figura 8, que, al modificar el electrodo, la corriente pico incrementa desde los 165.3  $\mu\text{A}$  hasta 1593.39  $\mu\text{A}$ , casi 10 órdenes de magnitud mayor, lo que indica que es posible detectar mayor cantidad de analito cuando el electrodo se modifica con nanotubos de carbono. Esto también indica que es posible utilizar el electrodo modificado como un sensor electroquímico capaz de hacer cuantificaciones sensibles (de más baja concentración).



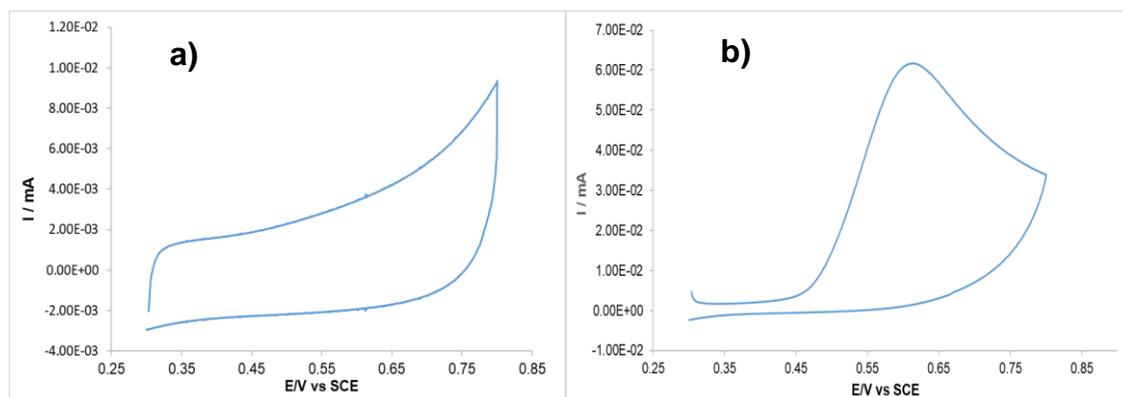
**Figura 8.** Voltamperometría cíclica a una velocidad de barrido de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3/4} 5\text{mM}$  en KCl 0.1 M con GCE y ECG-MWCNT-f como electrodos de trabajo.

En este sentido, los electrodos pulidos requieren de una cantidad significativamente mayor de energía para la detección de DCF y ofrecen una velocidad de transferencia electrónica baja. Teniendo estos una sensibilidad y selectividad bajas (Boumya, W., et. al., 2021).

La modificación del GCE con MWCNT-f resulta en el incremento de la corriente pico debido a que la presencia de los nanotubos puede aumentar el área superficial de adherencia y por ende la conductividad de electrones, así como la

velocidad en la transferencia de electrones. Lo último, debido principalmente a su alta conductividad (Zou, Y., et. al., 2022).

En la figura 9(a) se muestra la detección electroquímica de un buffer de PBS a pH 7 como electrolito soporte utilizando solo GCE en un experimento de voltamperometría cíclica. Posteriormente, se realiza la voltamperometría cíclica de DCF 1 mM, utilizando este mismo buffer de PBS como electrolito soporte, y se observa el pico de oxidación anódica del anion  $\text{DCF}^-$ , como se aprecia en la Figura 9(b). Los resultados de estas figuras indican que el buffer puede utilizarse para la detección del fármaco debido a que NO presenta ningún pico de oxidación, y cuando se adiciona el diclofenaco SI se observa un pico bien definido alrededor de los 0.6 – 0.8 V vs ECS, atribuible a la oxidación del anión diclofenaco.

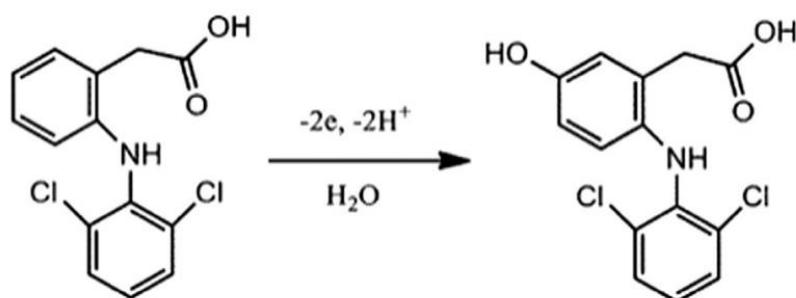


**Figura 9.** Voltamperometría cíclica en GCE de 3mm  $\phi$  a) en PBS 0.1M pH 7 y b) DCF 1mM en PBS 0.1M pH 7.

A este respecto, se han reportado diversos estudios donde se exponen los aspectos mecanísticos del proceso redox del DCF. Boumya, W., et. al. (2021), y se presentan recopilaciones de distintos experimentos donde se ha evaluado el comportamiento de oxidación del DCF. Estos trabajos sugieren que la molécula se oxida irreversiblemente, como se observa también en nuestros resultados de

la Figura 9(b), donde se aprecia una curva de un proceso químicamente irreversible, es decir no se aprecia pico de reducción, y solo es evidente el pico de oxidación.

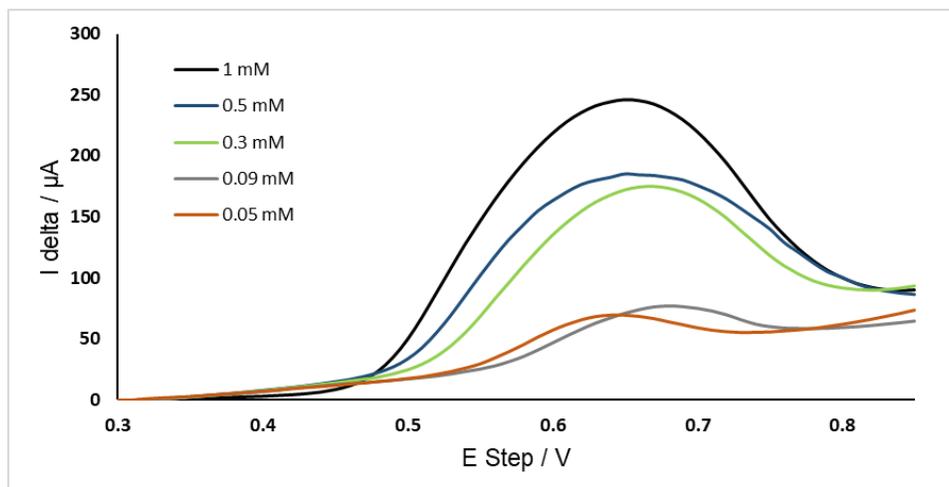
Sin embargo, en esos trabajos de investigación, también se indica que este proceso dependerá del medio en el que se encuentre, así como del electrodo y moléculas que se utilicen para modificar al mismo. Para el modelo aplicado en este caso, se propone que el mecanismo de oxidación ilustrado en la Figura 10, aparentemente irreversible donde la transferencia es de 2 electrones.



**Figura 10.** Probable mecanismo de oxidación del diclofenaco sódico. Fuente: Modificado de (Afkhani, A., Bahiraei, A., & Madrakian, T., 2016)

### 3.3 Determinación electroquímica de DCF

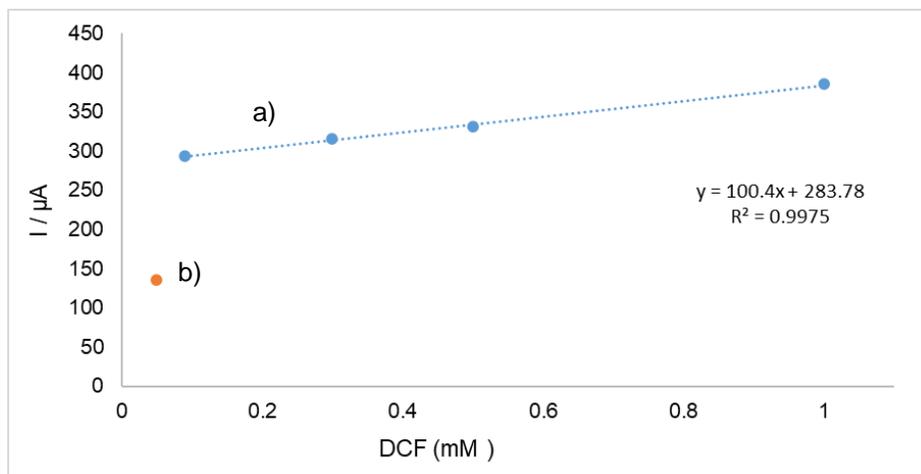
Luego de verificar que el analito de interés puede observarse con el electrodo de trabajo GCE, se utilizó la técnica de voltamperometría de onda cuadrada, SWV en soluciones de DCF de concentraciones: 0.09, 0.03, 0.5, 0.3 y 1 mM utilizando el GCE-MWCNT-f y a una concentración 0.05 mM para el GCE-MWCNT-f/AuNPs como se ilustra en la Figura 10, con la finalidad de evaluar la repetibilidad del método.



**Figura 11.** SWV obtenidas en soluciones de DCF a distintas concentraciones (0.05, 0.09, 0.3, 0.9 y 1 mM) en PBS 0.1m a pH 7, utilizando el GCE-MWCNT-f y GCE-MWCNT-f/AuNPs.

Cada concentración se evaluó por triplicado y por lo tanto se determinó el promedio de cada resultado para cada concentración, así como su desviación estándar, con esto se construyó una curva de calibración para el GCE-MWCNT-f (Figura 11). Con la ecuación de la recta se determinaron los parámetros estadísticos como el límite de detección y el método de cuantificación del método analítico.

Algunos estudios han demostrado que la combinación de los nanotubos de carbono con algún nanomaterial metálico puede incrementar los sitios electroactivos y acelerar la cinética de transferencia (Boumya, W., et. al., 2021). Debido a esto, se esperaba poder determinar concentraciones más bajas de 0.05 mM al modificar el electrodo con nanopartículas de oro. Sin embargo, esta última concentración fue la última que fue posible detectar y en la que se podía apreciar el pico de corriente  $I_p$ , para la oxidación del DCF, por lo que la experimentación solo se concretó con los datos anteriores.



**Figura 12.** Curva de calibración por SWV empleando a) GCE-MWCNT-f para 0.09, 0.3, 0.5 y 1 mM y b) GCE-MWCNT-f/AuNPS para 0.05 mM.

La construcción de la curva de calibración de la figura 12, indica que existió un comportamiento lineal del valor de la  $I_p$ , respecto a la concentración, con un valor de  $R^2$  de 0.9975. Por lo tanto, con la ecuación de la recta se determinó el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para el GCE-MWCNT-f, utilizando las ecuaciones 2 y 3. En estas, la “s” es la desviación estándar y “m” la pendiente.

### Ecuación 2

$$LOD = \frac{3s}{m}$$

### Ecuación 3

$$LOQ = \frac{10s}{m}$$

El LOD obtenido fue de 2.69 mM, mientras que el LOQ fue de 0.99 mM. Estos valores indican que el sistema tiene la capacidad de identificar concentraciones extremadamente bajas de DCF en medio acuoso, esencial para aplicaciones analíticas y farmacéuticas.

Si bien, hasta el día de hoy no existe un nivel mínimo permisible específico para el DCF en agua potable en México que haya sido establecido por alguna normativa oficial. En el caso de Ciudad Juárez, existen muy pocos análisis para la determinación de DCF, uno de ellos es el realizado por Bernadac, L., et. al. (2019), donde evalúan el efluente y afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales que se encuentra en el sur de la ciudad. Dicho análisis utilizó técnicas espectrofotométricas, encontrando concentraciones de 160 partes por billón para el afluente.

Para la determinación de DCF en una muestra farmacéutica se realizó el procedimiento implementado por Afkhami, A., et. al., (2016), donde la solución es filtrada al vacío. Sin embargo, en este caso no fue posible detectar el pico de oxidación característico de DCF apreciable entre los 0.6 – 0.8 V. Se sospecha que el método de separación utilizado no es totalmente adecuado y que la señal producida por el equipo corresponde a alguno de los excipientes utilizados en la formulación de la tableta, por lo que se cree que el sistema no será capaz de determinar el fármaco en otra matriz.

## **Conclusión**

En este trabajo se modificó un electrodo de grafito vidriado con nanotubos de carbono y quitosano. De igual forma, se le electro-depositaron nanopartículas de oro, con el fin de determinar DCF de manera más sensible y eficiente. La modificación del electrodo resultó en un gran incremento del área superficial electroactiva y buena actividad electroanalítica que puede incrementar la señal

analítica, Esto permite llevar a cabo análisis más sensibles y específicos, importantes para garantizar la correcta determinación y cuantificación de esta especie, diclofenaco, en diversas muestras. Además, investigaciones como estas demuestran el potencial de la detección electroquímica para la cuantificación de contaminantes emergentes con LOD y LOQ igualmente bajos, teniendo un impacto positivo en áreas como la farmacología y química ambiental.

### **Recomendaciones**

Para el análisis de la muestra farmacéutica se recomienda utilizar un método de obtención y tratamiento distinto al propuesto en esta investigación. Además, el control de los parámetros es importante al depositar las nanopartículas de oro, la corriente y el tiempo de deposición influyen en el tamaño y forma deseados.

## LITERATURA CITADA

- Afkhami, A., Bahiraei, A., & Madrakian, T. (2016). Gold nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a sensitive voltammetric sensor for the determination of diclofenac sodium. *Materials Science and Engineering C*, 59, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.097>
- Antuña-Jiménez, D., Díaz-Díaz, G., Blanco-López, M. C., Lobo-Castañón, M. J., Miranda-Ordieres, A. J., & Tuñón-Blanco, P. (2012). Molecularly imprinted electrochemical sensors: Past present and future. In *Molecularly Imprinted Sensors: Overview and Applications* (pp. 1–34). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-56331-6.00001-3>
- Baniahmad, B., Hassani Nadiki, H., Jahani, S., Nezamabadi-Pour, N., Toolabi, A., & Foroughi, M. M. (2022). Simultaneous Electrochemical Determination of Chlorzoxazone and Diclofenac on an Efficient Modified Glassy Carbon
- Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2000). *Electrochemical methods : fundamentals and applications* (John Wiley & Sons, Ed.; 2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Electrode by Lanthanum Oxide@ Copper(I) Sulfide Composite. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.889590>
- Bernadac, L., Puente, M., Carrollo, J., Soto, M., Flores, T., Solis, S., Dominguez, M., Vazquez, F. & Hernandez, P. (2019). Identificación de diclofenaco en aguas residuales de Ciudad Juarez. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*.
- Bilir, A., Aslan, E., Koca, B., Turamanlar, O., Ertekin, A., Albay, S., & Ertekin, T. (2019). The effect of diclofenac sodium on neural tube development in the early stage of chick embryos. *Folia Morphologica (Poland)*, 78(2), 307–313. <https://doi.org/10.5603/FM.a2018.0080>
- Boumya, W., Taoufik, N., Achak, M., Bessbousse, H., Elhalil, A., & Barka, N. (2021). Electrochemical sensors and biosensors for the determination of

- diclofenac in pharmaceutical, biological and water samples. In *Talanta Open* (Vol. 3). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2020.100026>
- Bounegru, A. V., & Apetrei, C. (2020). Voltamperometric sensors and biosensors based on carbon nanomaterials used for detecting caffeic acid—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 1–32. <https://doi.org/10.3390/ijms21239275>
- Cabildo Miranda, M. P., Claramunt Vallespi, R. M., Escolastico Leon, C., Jimenez Guerrero, J. A., Gutiérrez, M. D. (2015). FARMACOS Y MEDICAMENTOS. Recuperado de <https://books.google.com.mx/books?isbn=843627038X>
- Chen, A., & Chatterjee, S. (2013). Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12), 5425–5438. <https://doi.org/10.1039/c3cs35518g>
- Chethana, B. K., Basavanna, S., & Arthoba Naik, Y. (2012). Voltammetric determination of diclofenac sodium using tyrosine-modified carbon paste electrode. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 51(31), 10287–10295. <https://doi.org/10.1021/ie202921e>
- Dean, S. N., Shriver-Lake, L. C., Stenger, D. A., Erickson, J. S., Golden, J. P., & Trammell, S. A. (2019). Machine learning techniques for chemical identification using cyclic square wave voltammetry. *Sensors (Switzerland)*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/s19102392>
- Dogan-Topal, B., Ozkan, S. A., & Uslu, B. (2010). The Analytical Applications of Square Wave Voltammetry on Pharmaceutical Analysis. In *The Open Chemical and Biomedical Methods Journal* (Vol. 3).
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- Eteya, M. M., Rounaghi, G. H., & Deiminiat, B. (2019). Fabrication of a new electrochemical sensor based on Au–Pt bimetallic nanoparticles decorated multi-walled carbon nanotubes for determination of diclofenac.

- Microchemical Journal*, 144, 254–260.  
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.09.009>
- Fritea, L., Banica, F., Costea, T. O., Moldovan, L., Dobjanschi, L., Muresan, M., & Cavalu, S. (2021). Metal nanoparticles and carbon-based nanomaterials for improved performances of electrochemical (Bio)sensors with biomedical applications. *Materials*, 14(21).  
<https://doi.org/10.3390/ma14216319>
- Freitas, R. C., Orzari, L. O., Ferreira, L. M. C., Paixão, T. R. L. C., Coltro, W. K. T., Vicentini, F. C., & Janegitz, B. C. (2021). Electrochemical determination of melatonin using disposable self-adhesive inked paper electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 897, 115550.  
<https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2021.115550>
- Fu, Q., Fedrizzi, D., Kosfeld, V., Schlechtriem, C., Ganz, V., Derrer, S., Rentsch, D., & Hollender, J. (2020). Biotransformation Changes Bioaccumulation and Toxicity of Diclofenac in Aquatic Organisms. *Environmental Science and Technology*, 54(7), 4400–4408.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07127>
- Gan, T. J. (2010). Diclofenac: An update on its mechanism of action and safety profile. In *Current Medical Research and Opinion* (Vol. 26, Issue 7, pp. 1715–1731). Informa Healthcare.  
<https://doi.org/10.1185/03007995.2010.486301>
- Herrero Jaén, Sara. (2019). La Farmacología del Cuidado: Una aproximación deductiva ciudadológica desde el paradigma de la salud y el modelo de Avedis Donabedian. *Ene*, 13(4), 1348. Epub 01 de junio de 2020. Recuperado en 21 de octubre de 2022, de [t.ly/KZod](https://t.ly/KZod)
- Honakeri, N. C., Malode, S. J., Kulkarni, R. M., & Shetti, N. P. (2020). Electrochemical behavior of diclofenac sodium at coreshell nanostructure modified electrode and its analysis in human urine and pharmaceutical

samples. *Sensors International*, 1.

<https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100002>

- Islam, T., Hasan, M. M., Awal, A., Nurunnabi, M., & Saleh Ahammad, A. J. (2020). Metal Nanoparticles for Electrochemical Sensing: Progress and Challenges in the Clinical Transition of Point-of-Care Testing. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245787>
- Kleijn, S. E. F., Lai, S. C. S., Koper, M. T. M., & Unwin, P. R. (2014). Electrochemistry of nanoparticles. In *Angewandte Chemie - International Edition* (Vol. 53, Issue 14, pp. 3558–3586). Wiley-VCH Verlag. <https://doi.org/10.1002/anie.201306828>
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J. C., Moro, M. A. & Portolés, A. (2008) *Farmacología Básica y Clínica*. (18<sup>a</sup> ed.). Madrid: Médica Panamericana
- McEvoy, L., Carr, D. F., & Pirmohamed, M. (2021). Pharmacogenomics of NSAID-Induced Upper Gastrointestinal Toxicity. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.684162>
- Mortimer, R. J. (2016). Spectroelectrochemistry, methods and instrumentation. In *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (pp. 172–177). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00289-2>
- Motoc, S., Manea, F., Baciú, A., Orha, C., & Pop, A. (2022). Electrochemical method for ease determination of sodium diclofenac trace levels in water using graphene—Multi-walled carbon nanotubes paste electrode. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(1). <https://doi.org/10.3390/ijerph19010029>
- Nagarajan, S., & Vairamuthu, R. (2021). Electrochemical detection of riboflavin using tin-chitosan modified pencil graphite electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 891. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2021.115235>

- Nam, K. M., Shin, D. H., Jung, N., Joo, M. G., Jeon, S., Park, S. M., & Chang, B. Y. (2013). Development of galvanostatic fourier transform electrochemical impedance spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 85(4), 2246–2252. <https://doi.org/10.1021/ac303108n>
- Nasiri, F., Rounaghi, G. H., Ashraf, N., & Deiminiat, B. (2021). A new electrochemical sensing platform for quantitative determination of diclofenac based on gold nanoparticles decorated multiwalled carbon nanotubes/graphene oxide nanocomposite film. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 101(2), 153–166. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1661396>
- Pereira-Leite, C., Figueiredo, M., Burdach, K., Nunes, C., & Reis, S. (2020). *membranes Unraveling the Role of Drug-Lipid Interactions in NSAIDs-Induced Cardiotoxicity*. <https://doi.org/10.3390/membranes>
- Pingarrón, J. M. & Sánchez, P. (2003). Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones. España: SÍNTESIS, S.A.
- Sainz-urruela, C., Vera-lópez, S., Andrés, M. P. S., & Díez-pascual, A. M. (2021). Graphene-based sensors for the detection of bioactive compounds: A review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073316>
- Sasal, A., Tyszczyk-Rotko, K., Wójciak, M., & Sowa, I. (2020). First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac. *Materials*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/ma13030781>
- Sasal, A., Tyszczyk-Rotko, K., Wójciak, M., Sowa, I., & Kuryło, M. (2020). Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation. *Materials*, 13(14). <https://doi.org/10.3390/ma13143091>
- Simões, F. R., & Xavier, M. G. (2017). *Nanoscience and its Applications*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-49780-0/00006-5>

- Tsogas, G. Z., Vlessidis, A. G., & Giokas, D. L. (2022). Analyte-mediated formation and growth of nanoparticles for the development of chemical sensors and biosensors. In *Microchimica Acta* (Vol. 189, Issue 11). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05536-7>
- Yoon, J. Y. (2013). Introduction to Biosensors. From Electric Circuits to Immunosensors. (2a ed.). Switzerland: Springer
- Westbroek, P. (2005). Electrochemical methods. In *Analytical Electrochemistry in Textiles* (pp. 37–69). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845690878.1.37>
- Zoski, C. G. (2007). Handbook of Electrochemistry. (1<sup>st</sup> Ed.). Oxford: Elsevier
- Zhang, J., Lu, L., Zhang, Z., & Zang, L. (2021). Electrochemical cell-based sensor for detection of food hazards. In *Micromachines* (Vol. 12, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/mi12070837>
- Zou, Y., Griveau, S., Ringuedé, A., Bedioui, F., Richard, C., & Slim, C. (2022). Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube–Based Aptasensors for Diclofenac Detection. *Frontiers in Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.812909>