



UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
POSGRADO EN CIENCIAS (QUÍMICA)

TESIS

**ANTIBIÓTICOS: CARACTERIZACIÓN Y DESARROLLO DE SENSORES PARA SU
CUANTIFICACIÓN Y DETECCIÓN**

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(QUÍMICA)

PRESENTA:

Q. Luis Diego González Garrido.

Matrícula: 2213800887

garridodiego840@gmail.com

ASESORA: DRA. MARÍA TERESA RAMÍREZ SILVA
ASESORA: DRA. DAFNE SARAHIA GUZMÁN HERNÁNDEZ

JURADO.

PRESIDENTA: DRA. GABRIELA ROA MORALES

SECRETARIA: DRA. LAURA GALICIA LUIS

VOCAL: DR. JORGE JUÁREZ GÓMEZ

IZTAPALAPA, CIUDAD DE MÉXICO A 29 DE ABRIL, 2024

**ANTIBIÓTICOS: CARACTERIZACIÓN Y DESARROLLO DE SENSORES PARA SU
CUANTIFICACIÓN Y DETECCIÓN**

AUTOR

Q. LUIS DIEGO GONZÁLEZ GARRIDO

Presentado para obtener el título de Maestría en Ciencias (Química)

ASESORAS

DRA. DAFNE SARAHIA GUZMÁN HERNÁNDEZ

DRA. MARÍA TERESA RAMÍREZ SILVA

“Theory guides; experiment decides”

Isaac Kolthoff

Dedicatoria

Dedico la presente tesis a mis papás, Jacqueline Garrido y Armando González y, a mi hermano Juan Pablo González. Personas que más admiro por ser un ejemplo de esfuerzo, dedicación, además, por ser gran parte de la fuente de mi inspiración y motivación para superarme cada día.

In memoriam

M. Teresa Terrazas y Alfonso Garrido por sus grandes enseñanzas de vida y momentos únicos que llevo en mi mente y corazón.

Agradecimientos

Durante mis estudios de posgrado a nivel maestría experimenté diversos sentimientos y experiencias que me llevan a concluir de manera satisfactoria. Sin embargo, el éxito de la presente investigación no sólo radica en lo individual; es el conjunto de enseñanzas, entusiasmo, correcciones y valores que grandes personas me han dado junto con el apoyo de valiosas instituciones.

Agradezco a la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, por permitir la realización de mis estudios de posgrado y continuar siendo orgullosamente mi *alma mater*.

A CONAHCYT por el apoyo brindado a través de la beca 001824 para mis estudios de posgrado a nivel maestría. MTRS y DSGH externan su gratitud al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto de cátedra 2159.

Agradezco al Laboratorio de Caracterización de Materiales Sintéticos y Naturales, Sección de Microscopía del Instituto Mexicano del Petróleo por la realización de los estudios de microscopía electrónica.

La vida me ha permitido estar entre hombros de gigantes y por ello les estoy agradecido.

Mi mamá, Jacqueline, quien siempre tuvo un sabio consejo, regaños y, que nunca se cansó de impulsarme en momentos difíciles y festejar conmigo cada momento. Le agradezco por cada detalle que tuvo conmigo en la presente investigación. Te amo ma.

Mi papá Armando por estar al pendiente mío y nunca dejarme sólo. Te amo pa.

Te agradezco por tanto apoyo Juan Pablo (mi hermano) por escucharme, aconsejarme y muchas ocasiones apoyarme en esta investigación. No suelo decirlo, sin embargo, eres un orgullo para mi y un ejemplo a seguir. Gracias por nunca dejarme sólo. Te amo Juan.

Agradezco a la Dra. Dafne Sarahia Guzmán Hernández por el asesoramiento, enseñanzas, apoyo y guía en la realización de la presente investigación. Por cada momento de satisfacción, crisis y por impulsarme en salir abante en esta investigación, gracias.

Agradezco al Dr. Eduardo Palacios González por su apoyo en los estudios de microscopía, sus enseñanzas y por permitirme participar en el manejo de muestras y equipo.

Agradezco a la Dra. Damaris Rodríguez Barrientos por sus enseñanzas, correcciones y apoyo en los estudios de electroforesis capilar de zona aplicados en la presente investigación.

Le doy las gracias al Dr. Alberto Rojas Hernández por cada consejo, sugerencia y apoyo en la presente investigación. Gracias por inspirarme a ser un mejor químico cada día y por darme como objetivo el superar lo mínimo requerido.

Agradezco al Dr. Jorge Martínez Guerra por su ayuda, enseñanzas, entusiasmo, consejos y correcciones en mi hacer experimental y teórico. Por su amistad y complicidad durante esta etapa académica.

Agradezco a la Arq. Zuliquey Chavarría en el apoyo y guía en la realización de diversas iconografías de la presente tesis y por su valiosa amistad.

Así mismo doy las gracias a mi amiga Brenda por los buenos momentos que compartimos en nuestro estar dentro del laboratorio.

A mis compañeros e investigadores del área de Química Analítica por los grandes momentos y aprendizajes que me dejan.

Agradezco a la Dra. Laura Galicia Luis, Dra. Gabriela Roa Morales y Dr. Jorge Juárez Gómez por el tiempo dedicado en el seguimiento de la investigación, por sus consejos, correcciones y sugerencias para un mejor trabajo.

Finalmente, quiero agradecer a la Dra. María Teresa Ramírez Silva y al Dr. Alberto Rojas Hernández por ser mis guías en el Área de Química Analítica y por ser parte de mi inspiración en el aprendizaje de esta rama de la química.

Resumen

En la presente tesis se desarrolla una metodología para la determinación de un antibiótico (tetraciclina) en medio acuoso a partir de la modificación de la superficie de un electrodo de pasta de carbono con una supramolécula plasmónica de oro.

Se presenta el estudio de estabilidad por espectroscopía de absorción de UV-Vis de tetraciclina en medio acuoso a diferentes valores de pH bajo condiciones inertes y temperatura constante (25 °C), obteniendo porcentajes de degradación del 2.380 ± 0.0042 % al 25.879 ± 0.00038 %, concluyendo que la molécula de tetraciclina es inestable en solución acuosa. A partir de los resultados obtenidos se determinaron las constantes de acidez en medio acuoso: $pK_{a1} = (3.277 \pm 0.067)$, $pK_{a2} = (7.397 \pm 0.055)$, $pK_{a3} = (9.349 \pm 0.039)$ y $pK_{a4} = (11.278 \pm 0.024)$. Así mismo se presenta el estudio de electroforesis capilar de zona el cual corrobora el predominio de las cinco especies de tetraciclina en medio acuoso determinadas previamente (TcH_4^+ , TcH_3 , TcH_2^- , TcH^{2-} y Tc^{3-}). Para inferir estabilidad a las diferentes especies de tetraciclina en medio acuoso se propone el uso de una supramolécula plasmónica de oro, para ello se presenta la síntesis de nanoestrellas de oro (AuNE) y se funcionalizan con β -ciclodextrina (AuNE• β -CD). Estos productos sintéticos se caracterizan por microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión, elucidando la morfología estrellada de las nanopartículas y su funcionalización con el oligosacárido; así entonces, se presenta el estudio de estabilidad en presencia de AuNE• β -CD obteniendo porcentajes de degradación menores al 0.002 % concluyendo que la supramolécula plasmónica de oro infiere estabilidad a la tetraciclina.

Con la finalidad de desarrollar un sensor para la cuantificación y detección de tetraciclina, se presenta la caracterización electroquímica del antibiótico en medio acuoso mediante

voltamperometría cíclica sobre un electrodo de pasta de carbono y un electrodo de pasta de carbono modificado con β -ciclodextrina, sobre estos últimos la tetraciclina no presenta señales de oxidación y reducción. Por lo anterior se presenta la modificación de la superficie de un electrodo de pasta de carbono a partir de la supramolécula AuNE• β -CD (EPC/AuNE• β -CD) por voltamperometría cíclica sucesiva. La superficie modificada se caracteriza por microscopía electrónica de barrido confirmando la presencia de la supramolécula plasmónica de oro sobre la superficie del EPC. La modificación de la superficie mostró ser adecuada en la determinación de tetraciclina a pH 1 (TcH_4^+), debido a que se observaron picos catódicos y anódicos asociados a la presencia del antibiótico; dando lugar a procesos de oxidación y reducción reversibles. Además, se encuentra que el proceso de transferencia de masa hacia el electrodo es adsorptivo. El electrodo EPC/AuNE• β -CD permite cuantificar tetraciclina en medio acuso a partir de voltamperometría lineal obteniendo parámetros de desempeño analítico: límite de cuantificación (0.0556 ± 0.0068) mM, límite de detección (0.1661 ± 0.0068) mM y sensibilidad (21.221 ± 0.706) $\mu\text{A mM}^{-1}$ y 98.87 % de recobro.

Abstract

In this thesis, a methodology is developed for the determination of an antibiotic (tetracycline) in aqueous medium from the modification of the surface of a carbon paste electrode with a gold plasmonic supramolecule.

The stability study by UV-Vis absorption spectroscopy of tetracycline in aqueous medium at different pH values under inert conditions at constant temperature (25 °C) is presented, obtaining degradation percentages from 2.380 ± 0.0042 % to 25.879 ± 0.00038 %, concluding that the tetracycline molecule is unstable in aqueous solution. From the results obtained, the acidity constants in aqueous medium were determined: $pK_{a1} = (3.277 \pm 0.067)$, $pK_{a2} = (7.397 \pm 0.055)$, $pK_{a3} = (9.349 \pm 0.039)$ y $pK_{a4} = (11.278 \pm 0.024)$. Likewise, the capillary electrophoresis study of the zone is presented, which corroborates the predominance of the five tetracycline species in aqueous medium previously determined (TcH_4^+ , TcH_3 , TcH_2^- , TcH^{2-} y Tc^{3-}). To infer stability to the different species of Tc in aqueous medium, the use of a gold plasmonic supramolecule is proposed, for which the synthesis of gold nanostars (AuNE) and functionalization with β -cyclodextrin (AuNE• β -CD) is presented. These synthetic products are characterized by scanning electron microscopy and transmission electron microscopy, elucidating the stellate morphology of the nanoparticles and their functionalization with the oligosaccharide; Thus, the stability study in the presence of AuNE• β -CD is presented, obtaining degradation percentages of less than 0.002 %, concluding that the plasmonic supramolecule of gold infers stability to tetracycline.

In order to develop a sensor for the quantification and detection of tetracycline, the electrochemical characterization of the antibiotic in aqueous medium is presented by cyclic voltammetry on a carbon paste electrode and a carbon paste electrode modified with β -

cyclodextrin, on the latter tetracycline does not show signs of oxidation and reduction. Therefore, the modification of the surface of a carbon paste electrode from the supramolecule AuNE• β -CD (EPC/AuNE• β -CD) by successive cyclic voltammetry is presented. The modified surface is characterized by scanning electron microscopy confirming the presence of the gold plasmonic supramolecule on the surface of the EPC. The modification of the surface was shown to be optimal in the determination of tetracycline at pH 1 (TcH_4^+), due to the presence of the antibiotic cathode and anode peaks, giving rise to reversible oxidation and reduction processes. In addition, the process of mass transfer to the electrode is found to be adsorptive. The EPC/AuNE• β -CD electrode allows the quantification of tetracycline in accused medium from linear voltammetry, obtaining analytical performance parameters: limit of quantification (0.0556 ± 0.0068) mM, limit of detection (0.1661 ± 0.0068) mM and sensitivity (21.221 ± 0.706) $\mu\text{A mM}^{-1}$ and 98.87% recovery.

Índice

Abreviaturas	xviii
Introducción	1
Hipótesis.....	5
Objetivo general	5
Objetivos particulares	5
 C A P Í T U L O I ESTUDIO DE ESTABILIDAD Y DETERMINACIÓN DE	
CONSTANTES DE ACIDEZ DE TETRACICLINA EN MEDIO ACUOSO	
1.1 Antecedentes	7
1.2 Reactivos.....	8
1.3 Equipo	9
1.4 Metodología.....	9
1.5 Resultados	10
1.6 Conclusiones	26
 C A P Í T U L O II SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOESTRELLAS	
DE ORO Y SU FUNCIONALIZACIÓN CON β-CD	
2.1 Antecedentes	28
2.2 Reactivos.....	29
2.3 Equipo.....	29
2.4 Metodología.....	30

2.5	Resultados	31
2.6	Conclusiones	37
C A P Í T U L O III ESTUDIO DE INTERACCIÓN DE AuNE•β-CD CON TETRACICLINA		38
3.1	Antecedentes	39
3.2	Reactivos	40
3.3	Equipo	40
3.4	Metodología	40
3.5	Resultados	41
3.6	Conclusiones	44
C A P Í T U L O IV DESARROLLO DE UN SENSOR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TETRACICLINA		45
4.1	Antecedentes	46
4.2	Reactivos	47
4.3	Equipo	48
4.4	Metodología	48
4.5	Resultados	49
4.6	Conclusiones	63
Conclusiones generales		64
Perspectivas		66

Bibliografía	67
Anexo 1.....	81
Referencias.....	82
Anexo 2.....	83
Referencias.....	85
Anexo 3.....	86
Referencias.....	89
Anexo 4.....	90
Referencias.....	91
Anexo 5.....	92
Referencias.....	94
Anexo 6.....	95
Referencias.....	97

Abreviaturas

% DTc	Porcentaje de degradación de tetraciclina
% R	Porcentaje de recobro
A	Absorbancia
Ag/AgCl _(sat)	Plata / Cloruro de plata saturado
AuNE	Nanoestrellas de oro
AuNE•β-CD	Complejo de inclusión de nanoestrellas de oro con β-ciclodextrina
β-CD	β-ciclodextrina
CD	Ciclodextrinas
CE	Contaminante emergente
<i>E</i>	Potencial
EA	Electrodo auxiliar
ECZ	Electroforesis capilar de zona
EDS	Espectrometría de energía dispersiva de rayos-x
$E_{i=0}$	Potencial de corriente nula
EPC	Electrodo de pasta de carbono

EPC/AuNE• β -CD	Electrodo de pasta de carbono modificado con la supramolécula derivada de nanoestrellas de oro y β -ciclodextrina
EPC/ β -CD	Electrodo de pasta de carbono modificado con β -ciclodextrina
ER	Electrodo de referencia
H ₂ O	Agua
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
HAuCl ₄ •3H ₂ O	Ácido tetracloroaurico trihidratado
HCl	Ácido clorhídrico
HClO ₄	Ácido perclórico
HRSEM	Microscopía electrónica de barrido de alta resolución
HRTEM	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución
i_{pa}	Corriente de pico anódico
i_{pc}	Corriente de pico catódico
λ	Longitud de onda
LD	Límite de detección

LC	Límite de cuantificación
LSPR	Resonancia de plasmón superficial localizado
N ₂ (g)	Nitrógeno gaseoso
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico
Na ₃ PO ₄	Fosfato trisódico
NaH ₂ PO ₄	Fosfato monosódico
NaOH	Hidróxido de sodio
NH ₂ OH	Hidroxilamina
Pt	Platino
s	Desviación estándar
SQUAD	Stability Quotients from Absorbance Data
Tc	Tetraciclina
Tc ³⁻	Especie de tetraciclina trianiónica
TcH ²⁻	Especie de tetraciclina dianiónica
TCH ₂ ⁻	Especie de tetraciclina monoaniónica
TCH ₃	Especie de tetraciclina neutra
TcH ₄ ⁺	Especie de tetraciclina protonada

U	Suma de los residuos de absorbancia cuadráticos
UV-Vis	Ultravioleta-visible
V	Volts

Introducción

En el siglo XXI, el crecimiento acelerado de la población, el avance tecnológico y el desarrollo industrial ha llevado a una compleja red de desafíos ambientales. Entre estos desafíos, la presencia de contaminantes emergentes en los cuerpos de agua se ha elevado a la vanguardia de las preocupaciones ambientales globales. Los contaminantes emergentes (CE), definidos como sustancias químicas aún no reguladas que se encuentran en el ecosistema a concentraciones entre los nanogramos por litro (ng L^{-1}) hasta los microgramos por litro ($\mu\text{g L}^{-1}$), poseen un alto potencial de impacto adverso en los ecosistemas y la salud humana [1, 2]. Entre los CE se encuentran los productos de cuidado personal, como cosméticos y detergentes los cuales contribuyen con compuestos químicos al medio ambiente. Pesticidas y herbicidas utilizados en la agricultura que contaminan cuerpos de agua mediante la escorrentía. Los plásticos, incluyendo microplásticos de descomposición y aquellos utilizados en productos de consumo, representan otra categoría. Compuestos industriales, nanomateriales, hormonas y disruptores endocrinos son también contaminantes emergentes que requieren atención debido a sus posibles efectos en ecosistemas acuáticos y la salud pública. Esta diversidad de contaminantes destaca la necesidad de investigaciones y estrategias de gestión efectivas para abordar este complejo desafío ambiental [3].

Dentro de esta categoría de contaminantes emergentes, los fármacos han tomado relevancia a medida que la sociedad depende cada vez más de estos productos para el tratamiento y la prevención de enfermedades. La liberación inadvertida de estos compuestos en el medio ambiente ha generado crecientes inquietudes. Desde antibióticos hasta antidepresivos, la presencia de fármacos en cuerpos de agua ha sido detectada en diversas partes del mundo, planteando interrogantes fundamentales sobre los posibles impactos ambientales y los riesgos para la salud pública.

Entre los fármacos con mayor impacto se encuentran los antibióticos debido a la alta concentración presente en aguas y suelos a causa del erróneo deshecho el cual, junto con la eliminación fisiológica que se tiene al consumirlos por alguna patología tiene como consecuencia la posible mutación de éstos generando resistencia antimicrobiana y teniendo un efecto dañino en la salud. Diferentes autores han predicho que la implementación de fármacos antibacterianos incrementará hasta en un 200 % en los próximos cinco años [4-6]. Uno de los antibióticos relevantes es la tetraciclina, Tc (figura 1), ((4S,4aS,5aS,6S,12aR)-4-(dimetilamino)-1,6,10,11,12a-pentahidroxi-6-metil-3,12-dioxo-4,4a,5,5a-tetrahidrotetraceno-2-carboxamida); un antibiótico de amplio espectro implementado para tratar infecciones bacterianas o gastrointestinales.

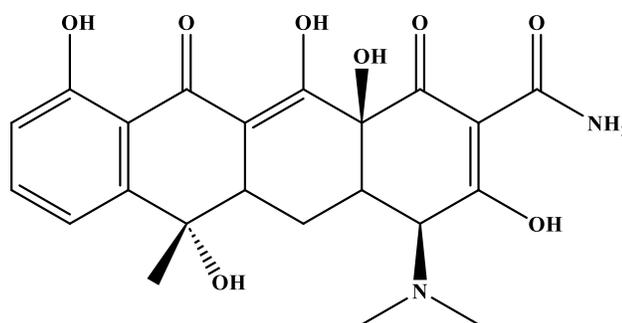


Figura 1. Fórmula semidesarrollada de Tc.

Chang et al, marcan que el uso excesivo del antibiótico se ha convertido en una gran amenaza para el medio ambiente ya que se han encontrado en suelos y aguas concentraciones de residuo de Tc teniendo efectos perjudiciales en el ecosistema y en la salud debido a su toxicidad alterando la flora microbiana en el intestino humano [7, 8].

La Tc se excreta en el medio ambiente a través de las heces humanas y excremento animal hasta en un 50 - 80 % [9]. Mahamallik et al refieren que los hospitales y la industria farmacéutica contribuyen a la acumulación de Tc en los sistemas de aguas residuales con una concentración de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que las aguas residuales domésticas contienen 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ [10-12]. La Tc se ha

encontrado en cuerpos de agua ($0.1 - 1.0 \mu\text{g L}^{-1}$) y en aguas residuales industriales con una concentración mayor a los 1.5 mg L^{-1} . En México se ha determinado Tc en aguas residuales en concentraciones de $45.9 - 51.1 \text{ ng L}^{-1}$ [13] y en aguas tratadas en una concentración de 64900 ng L^{-1} . Específicamente, se ha determinado en afluentes de Michoacán una concentración de Tc entre $2.7 - 119.4 \mu\text{g L}^{-1}$ [14].

Los residuos de tetraciclina (100 mg kg^{-1}) en vermicomposta, genera resistencia a antibióticos, además, inhibe funciones microbianas alterando los tiempos de descomposición de la materia orgánica [15]. Su exposición se ha asociado con la disminución del crecimiento y producción de la clorofila en el centeno produciendo estrés oxidativo en concentraciones mayores a 10 mg L^{-1} [16].

El desarrollo de diversas metodologías para el control de la calidad del agua presenta uno de los más grandes desafíos para grupos de investigación que se han concentrado en resolver la problemática que conlleva actualmente en la sociedad. La contaminación junto con el tratamiento nulo o incorrecto del agua vulnera distintos sectores que engloban la salud de las personas como la producción y cosecha de alimentos o su consumo directo [13]. Aunado a lo anterior, la problemática se extiende a dificultades ambientales y económicas; por lo que la identificación junto con la cuantificación de CE en aguas potables y/o residuales ha tomado gran relevancia y premura debido a las posibles afectaciones en la salud de la población [17]. Estas afectaciones van desde cambios hormonales, problemas de fertilidad, toxicidades gastrointestinales incluso la formación de carcinomas [18].

Debido a las consecuencias ambientales y sanitarias por la presencia de Tc en diferentes cuerpos de agua, en este trabajo se presenta el desarrollo de una metodología para la caracterización, cuantificación y determinación de Tc en medio acuoso y se propone el uso de

química supramolecular plasmónica para la formación de un sensor con capacidad de cuantificar Tc dentro de los límites encontrados en efluentes mexicanos.

Hipótesis

El desarrollo y caracterización de un sensor derivado de supramoléculas plasmónicas de oro junto con el estudio de especiación de tetraciclina en medio acuoso, permitirá el desarrollo de una metodología para su detección y cuantificación en efluentes mexicanos.

Objetivo general

Formación de un sensor para la cuantificación del antibiótico de tetraciclina en medio acuoso a partir de supramoléculas plasmónicas de oro.

Objetivos particulares

- a) Estudio de estabilidad y determinación de las constantes de acidez de tetraciclina en medio acuoso.
- b) Caracterización electroquímica de tetraciclina en medio acuoso.
- c) Estudio mediante microscopía electrónica de la supramolécula plasmónica de oro.
- d) Estudio de la interacción de tetraciclina con la supramolécula plasmónica de oro.
- e) Modificar y caracterizar la superficie de un electrodo de pasta de carbono a partir de la formación de una supramolécula plasmónica de oro.
- f) Estudio mediante microscopía electrónica de barrido y de transmisión sobre la superficie de un electrodo de pasta de carbono modificada.
- g) Determinar y cuantificar tetraciclina en medio acuoso con el electrodo modificado.

CAPÍTULO I
ESTUDIO DE ESTABILIDAD Y DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE ACIDEZ
DE TETRACICLINA EN MEDIO ACUOSO

Capítulo I Estudio de estabilidad y determinación de constantes de acidez de tetraciclina en medio acuoso

1.1 Antecedentes

En la literatura se reporta que la estabilidad de la molécula de tetraciclina (Tc) en solución acuosa y no acuosa es afectada por diversos factores como el ambiente químico y condiciones de almacenamiento, figura 1.1. Factores como la temperatura y la exposición prolongada a la luz aumentan el porcentaje y velocidad de degradación de Tc en solución acuosa. La Tc es sensible al pH, por tanto, su estabilidad puede variar con los cambios en la acidez o alcalinidad de la solución [19-21]. Además, se ha reportado que la Tc en solución acuosa presenta menor inestabilidad a valores de pH ligeramente alcalinos [22].

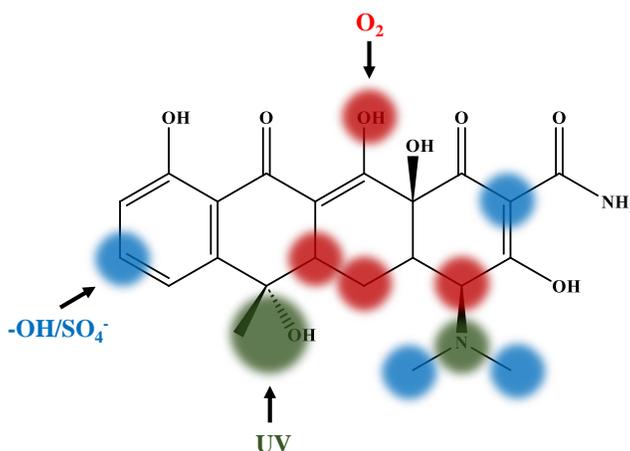


Figura 1.1. Posibles sitios de degradación de Tc por distintos factores marcados en la imagen [20].

Las propiedades ácido-base de las moléculas resultan importantes en el comportamiento químico influyendo en la capacidad para la interacción del analito con otras especies. En esta tesitura, la Tc presenta grupos funcionales ácidos (-OH, -NH₂ y -C=O), dándole propiedades ácido-base. La molécula de Tc presenta siete posibles zonas de desprotonación (cuadros rojos de la figura 1.2), sin embargo, en la literatura se reportan tres valores de constantes de acidez experimentales

de 3.3, 7.4 y 9.3 [23], en estudios teóricos reportan la existencia de un cuarto valor de pKa en 12.4 [24, 25] y, únicamente se encuentra que Dictionary of Analytical Reagents, 1993, reporta cinco constantes de acidez con valores de 2.07, 6.84, 8.75, 10.27 y 14.45, sin reportar la metodología para su determinación [26]. Dada la importancia de tener valores de constantes de acidez confiables en este capítulo se presenta el estudio de estabilidad de tetraciclina así como la determinación de sus constantes de acidez en medio acuoso mediante dos técnicas experimentales: espectroscopía de absorción de UV-Vis y electroforesis capilar de zona.

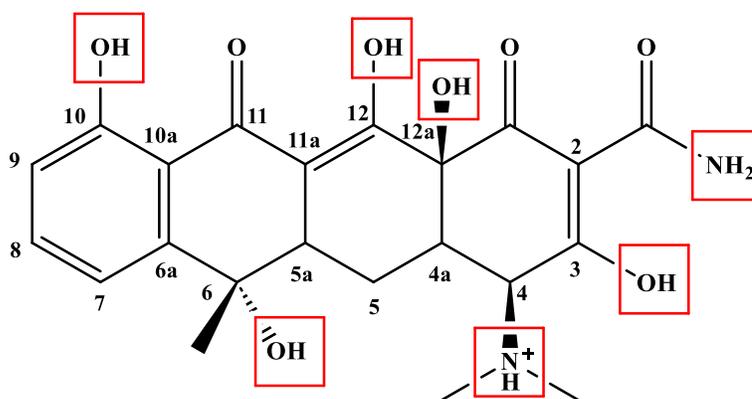


Figura 1.2. Fórmula semidesarrollada de TcH_4^+ señalando las posibles zonas de desprotonación con cuadros rojos.

1.2 Reactivos

Tetraciclina grado analítico de la marca Sigma Aldrich (98-102 %), NaH_2PO_4 (Sigma Aldrich, ≥ 98 %), Na_2HPO_4 (Sigma Aldrich, ≥ 99 %), Na_3PO_4 (Sigma Aldrich, 96 %), H_3PO_4 (Sigma Aldrich, 85 %), NaOH 1N (J. T. Baker), HCl 1 N (J. T. Baker), Acetona (Meyer, ≥ 99.5 %) y agua desionizada purificada mediante el sistema de gradiente Millipore Milli-Q (18.2 $M\Omega \cdot cm$, 25 °C) la cual fue burbujeada con $N_2(g)$ comprimido (Praxair).

1.3 Equipo

Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 950 , con celdas de cuarzo de 10 mm de longitud de paso óptico con dos paredes claras y dos esmeriladas. Baño ultrasónico Branson Ultrasonics 2800 para mantener la temperatura constante.

Potenciómetro sensION PH31 Hach con un electrodo de vidrio combinado Hach 50 14 T de Ag/AgCl [KCl, 3 M] de pH 0-14 (± 0.001) y con un rango de temperatura de -10 - 100 °C.

Equipo de electroforesis capilar P/ACE MDQ Beckman Coulter con un arreglo de diodos con un capilar de sílice fundida con una longitud total de 30 cm y diámetro de 75 μm aplicando un voltaje de 20 kV a 25 °C.

1.4 Metodología

El estudio por espectroscopía de absorción de UV-Vis para la determinación de las constantes de acidez de Tc en medio acuoso se lleva a cabo de manera puntual. Se imponen valores de pH entre 1.613 ± 0.001 - 13.005 ± 0.001 (sesenta y dos valores de pH) con sales de fosfato ajustando el pH con NaOH y HCl. Fuerza iónica constante de 0.1 M y temperatura constante de 25 °C en atmósfera inerte (N_2 (g)). El intervalo de estudio para cada espectro de absorción de UV-Vis es de 200 - 500 nm.

Para el cálculo de las constantes de acidez se utiliza el programa computacional Stability Quotients from Absorbance Data (SQUAD) [9]. Para más detalles sobre SQUAD ver anexo 1.

1.5 Resultados

En la figura 1.3a, se presenta la familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a pH 1.056 donde es posible observar dos bandas de absorción máxima en 262 nm y en 359 nm, además se aprecia la formación de una tercera banda a 216 nm. Conforme incrementa el tiempo en la solución, la banda en 216 nm incrementa en su absorbancia, este comportamiento evidencia la inestabilidad de la solución de Tc. A pH 5.102 se forman las bandas de absorción máxima en 280 nm y 362 nm (ver figura 1.3b); además, es importante resaltar la formación de un nuevo hombro a 244 nm, mientras que en la banda de 223 nm se puede apreciar que conforme incrementa el tiempo ésta también incrementa en su absorbancia.

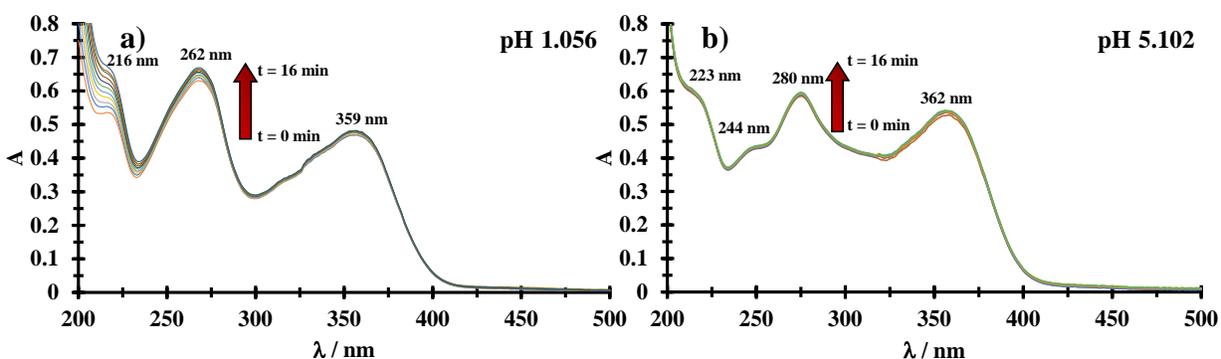


Figura 1.3. Espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a diferentes tiempos de estudio mostrados en la figura: **a)** pH 1.056 y **b)** pH 5.102.

A pH 8.523 los máximos de absorción se presentan en 278 nm y 362 nm y un hombro en 244 nm (figura 1.4a) y se aprecia un ligero aumento en la absorbancia en la banda de absorción de 362 nm conforme incrementa el tiempo en la solución de Tc. Al incrementar a pH 10.004 (figura 1.4b) se presentan un corrimiento batocrómico e hiperocrómico obteniendo bandas de absorción máxima en 271 nm y 380 nm y la presencia de un hombro a 250 nm. A este valor de pH es notable el incremento de la absorbancia en función de los 16 minutos de estudio.

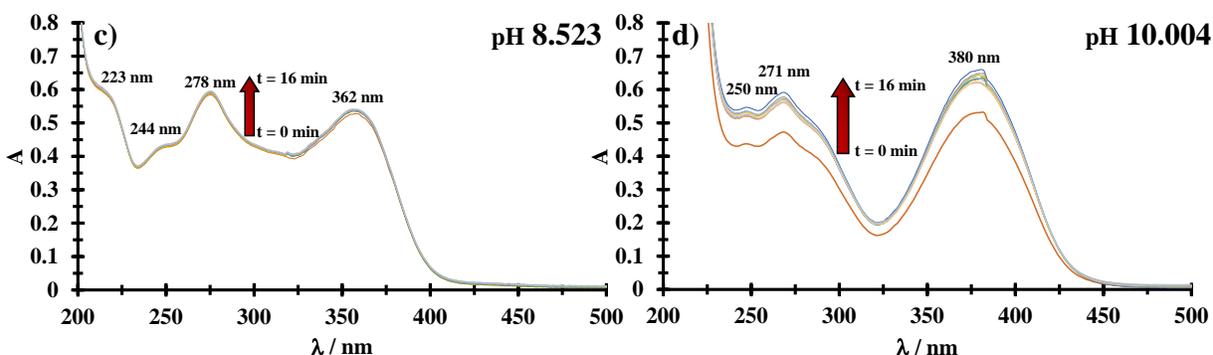


Figura 1.4. Espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM a diferentes tiempos de estudio mostrados en la figura: **a)** pH 8.523 y **b)** pH 10.004.

Finalmente, a pH 13.000, las bandas de absorción máxima a 271 nm y 383 nm junto con la formación de dos hombros a 250 nm y 289 nm tienen un comportamiento consistente con los otros valores de pH. A partir de los espectros de absorción de UV-Vis obtenidos se obtiene la gráfica de $A^\lambda = f(t)$, figura 1.5, donde se observa un comportamiento lineal que no es constante, es decir presenta una pendiente distinta de cero, lo cual demuestra la inestabilidad de Tc en un lapso de dieciséis minutos de estudio.

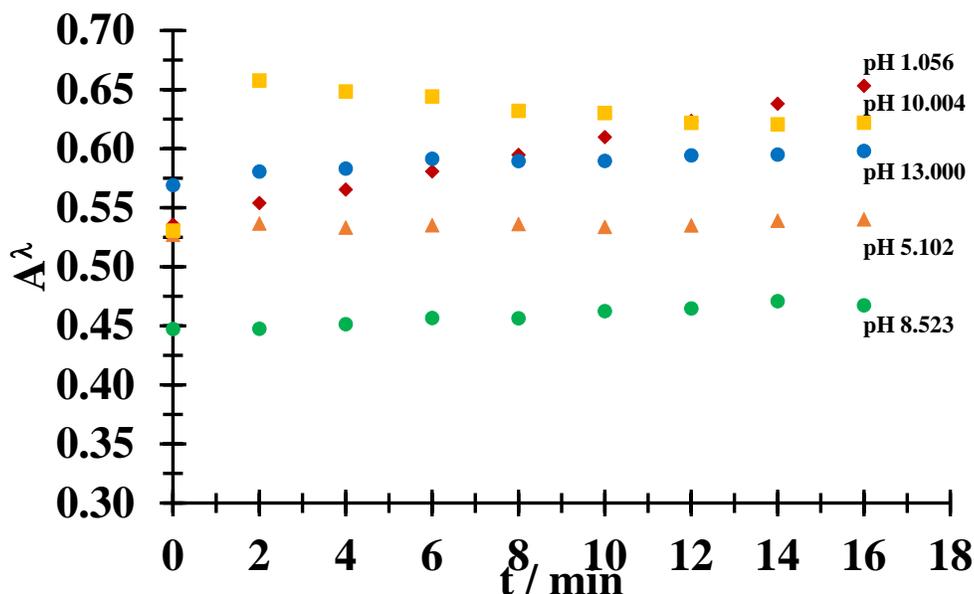


Figura 1.5. Gráfico $A^\lambda = f(t)$ a pH 1.056 (216 nm), pH 5.102 (359 nm), pH 8.523 (360 nm), pH 10.004 (379 nm) y pH 13.000 (250 nm).

En la tabla 1.1, se muestran el porcentaje de degradación de Tc (PD_{Tc}) a los distintos valores de pH de estudio a partir de la ecuación 1.

$$PD_{Tc} = \left(\frac{A_0 - A_f}{A_0} \right) * 100\% \quad (1)$$

Se observa que la molécula presenta un mayor porcentaje de descomposición a pH 1.056 y 10.004, sin embargo, en todos los estudios, se mostraron porcentajes de degradación considerables a un lapso de dieciséis minutos. Este comportamiento de descomposición es coherente con lo reportado en la literatura [19-22] y se determina que la Tc en medio acuoso no es estable al menos en un intervalo de dieciséis minutos.

Tabla 1.1. Porcentaje de degradación de Tc (PD_{Tc}) en medio acuoso.

pH	$PD_{Tc} \pm s$	pH	$PD_{Tc} \pm s$
1.056	25.879 ± 0.00038	10.004	19.437 ± 0.00051
5.102	2.380 ± 0.0042	13.000	5.099 ± 0.0019
8.523	4.771 ± 0.002		

En consecuencia, con los resultados obtenidos, se lleva a cabo de manera puntual la determinación de las constantes de acidez de Tc en medio acuoso mediante espectroscopía de absorción de UV-Vis. En la figura 1.6 se muestra una familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.05 mM a distintos valores de pH (1.631-13.005) donde es posible observar un desplazamiento hipocrómico (figura 1.6a), mientras que a valores de pH mayores de 7.938 se presenta un desplazamiento hiperocrómico. Es importante hacer notar la formación de distintas bandas de absorción en los espectros de absorción de UV-Vis a los diferentes valores de pH lo que es un indicativo de la formación de distintas especies de Tc en solución acuosa.

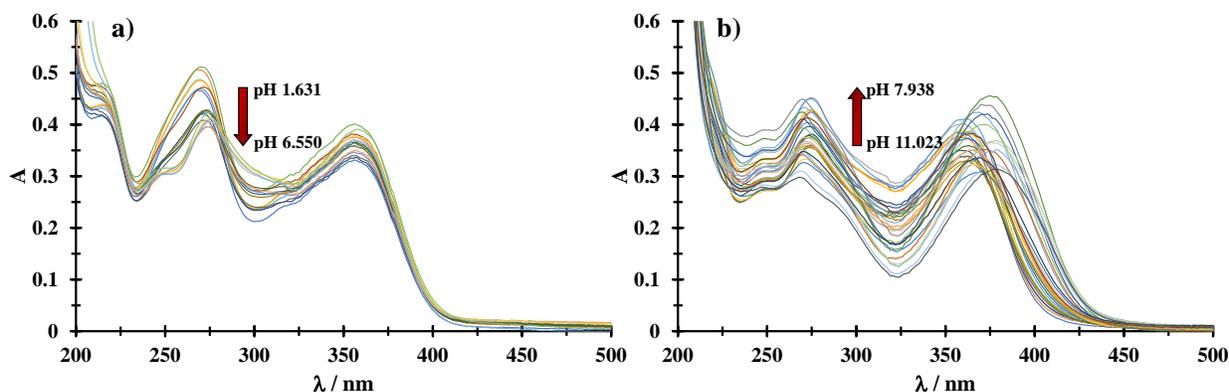


Figura 1.6. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.05 mM a diferentes valores de pH: a) 1.631- 6.550 y b) 7.938 -13.005.

En la figura 1.7 se muestran la familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc a diferentes valores de pH, de 1.631-13.005 donde se pueden apreciar puntos isobécticos en 245 nm, 256 nm, 261 nm, 284 nm y 365 nm.

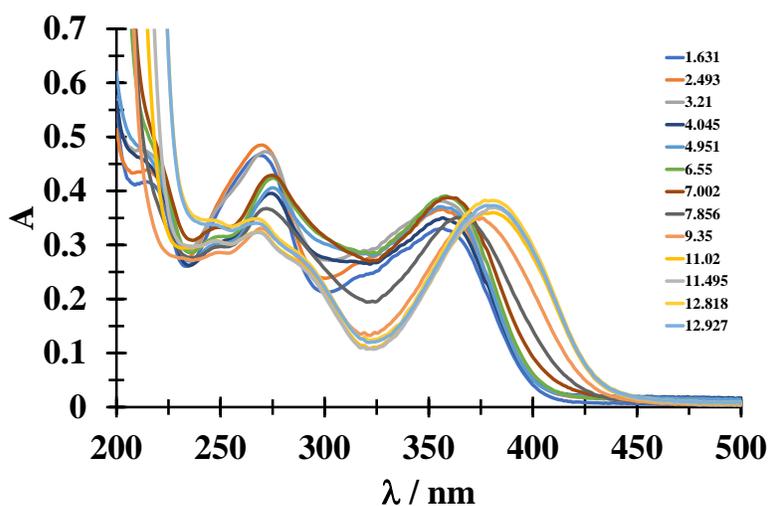


Figura 1.7. Familia de espectros de absorción de UV-Vis representativos de Tc 0.05 mM a diferentes valores de pH.

Estos puntos isobécticos indican que dos o más especies en disolución presentan el mismo coeficiente de absorptividad molar a una misma longitud de onda determinada lo cual puede asociarse a la presencia de uno o más equilibrios ácido-base y que pueden atribuirse a una o más constantes de acidez.

A partir de los espectros de absorción de UV-Vis de la figura 1.6 se grafica $A = f(pH)$ a tres longitudes de onda, ver figura 1.8, donde se puede observar cuatro puntos de inflexión asociados a los valores de pKa para Tc. El primer punto de inflexión se puede observar alrededor de pH 3, así mismo, se aprecia un cambio de pendiente en pH 7 y pH 9. Finalmente, a pH 12 se observa un cuarto punto de inflexión.

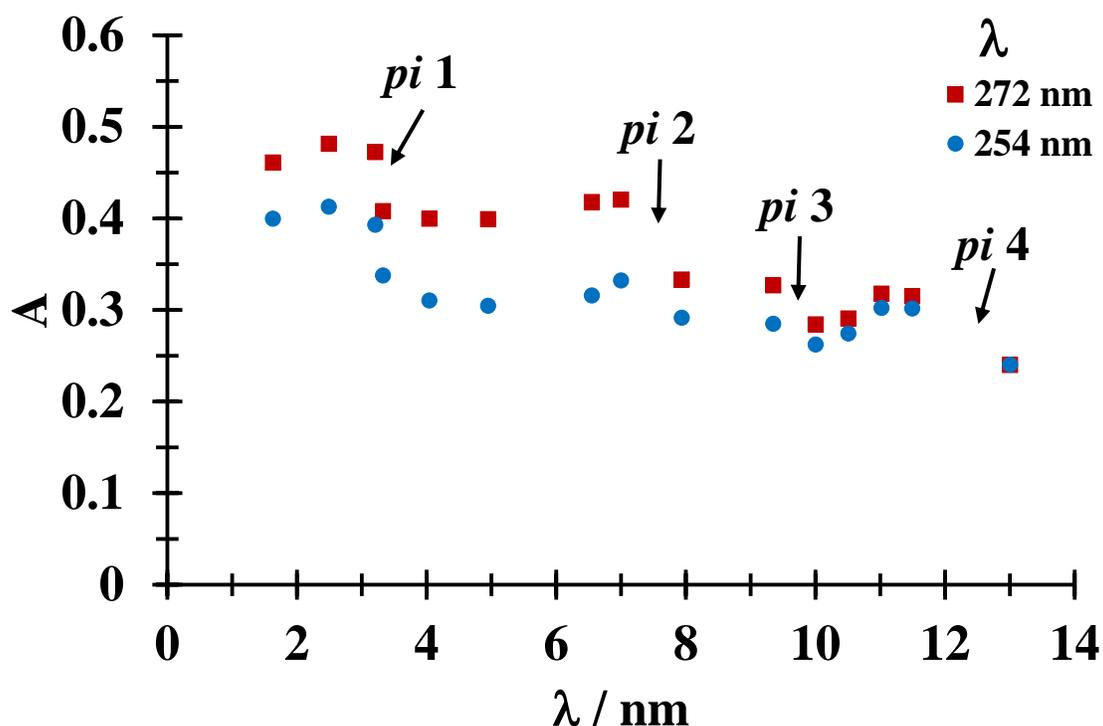


Figura 1.8. Gráfico $A = f(pH)$ a diferentes longitudes de onda mostradas en la figura.

Para calcular los valores de las constantes de acidez de Tc se hace uso del programa computacional SQUAD [27]. Como datos de entrada, se proponen los modelos de los equilibrios de las constantes globales (ver ecuación 1 a 4), los valores de pH (1.995-12.601) y la concentración para cada solución de Tc; así mismo se emplearon 4200 datos provenientes de los espectros de absorción de UV-Vis experimentales con un intervalo de longitud de onda de 234 a 433 nm.



Como datos de salida SQUAD proporciona las constantes de formación global ($\log\beta$), los coeficientes de absorptividad molar, así como la desviación estándar total (σ_{Tot}) y el parámetro estadístico U el cual es la suma de los cuadrados residuales entre los valores de absorbancia teóricos y experimentales, ver tabla 1.2.

Tabla 1.2 Valores de constantes de formación global de Tc 0.05 mM en solución acuosa determinadas por SQUAD.

Equilibrios globales de Tc	$\log\beta \pm s$
$Tc^{3-} + 4H^+ \rightleftharpoons TcH_4^+$	31.752 ± 0.049
$Tc^{3-} + 3H^+ \rightleftharpoons TcH_3$	28.475 ± 0.045
$Tc^{3-} + 2H^+ \rightleftharpoons TcH_2^-$	21.078 ± 0.031
$Tc^{3-} + H^+ \rightleftharpoons TcH^{2-}$	11.728 ± 0.024
$U = 2.352 \times 10^{-1}$	$s_{Tot} = 8.578 \times 10^{-3}$

En la figura 1.9 se observa el gráfico de coeficientes de absorptividad molar en función de la longitud de onda para las distintas especies obtenidas por SQUAD.

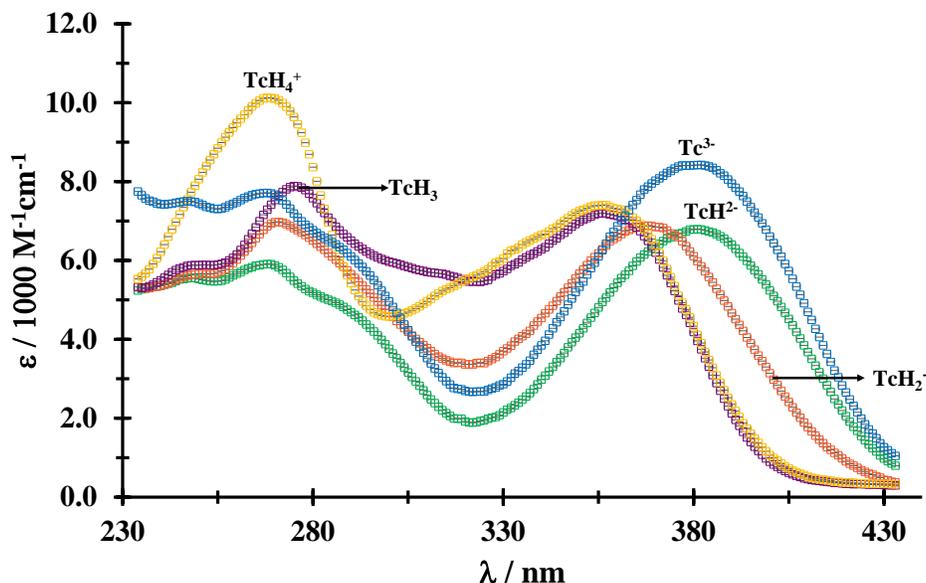


Figura 1.9. Coeficientes de absortividad molar de las diferentes especies de Tc en solución acuosa determinadas a partir del programa computacional SQUAD.

En la tabla 1.3 se presenta los valores de los coeficientes de absortividad molar para las longitudes de onda representativas de los distintos valores de pH.

Tabla 1.3. Coeficientes de absortividad molar a distintos valores de pH para longitudes de onda representativas de los espectros de absorción de UV-Vis.

λ	$\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$					
	pH	1.995 TcH_4^+	4.045 TcH_3	7.856 TcH_2^-	10.509 TcH^{2-}	12.818 Tc^{3-}
246		5528.2	5582.2	5827.6	7353.5	7493.8
269		5907.9	6935.2	7415.4	10120.0	7702.5
276		5411.3	6766.4	7882.8	9455.3	7088.6
356		4946.3	6282.6	7202.9	7404.2	6260.0
364		5864.7	6803.8	6938.6	7088.5	7409.4
381		6796.2	5979.6	3961.6	4112.9	8420.2

A partir de los coeficientes de absortividad molar resultantes del programa computacional es posible obtener los espectros de absorción simulados aplicando la ley de Lambert-Beer (ecuación 6).

$$A_{Tot}^{\lambda} = \varepsilon_{Tot}^{\lambda} C_0 l \quad (6)$$

Donde A_{Tot}^{λ} representa la absorbancia total de la solución a una longitud de onda dada, $\varepsilon_{Tot}^{\lambda}$ es el coeficiente de absortividad molar total a una longitud de onda dada, C_0 es la concentración de la solución y l es la longitud de paso óptico de la celda.

En la figura 1.10 se muestran los espectros de absorción de UV-Vis simulados a partir de los coeficientes de absortividad molar (línea continua) comparados con los espectros de absorancia de UV-Vis experimentalmente (marcadores), donde es posible apreciar el ajuste entre ellos, lo cual es un indicativo de la confiabilidad de los valores de constantes de acidez obtenidos a partir del programa computacional SQUAD.

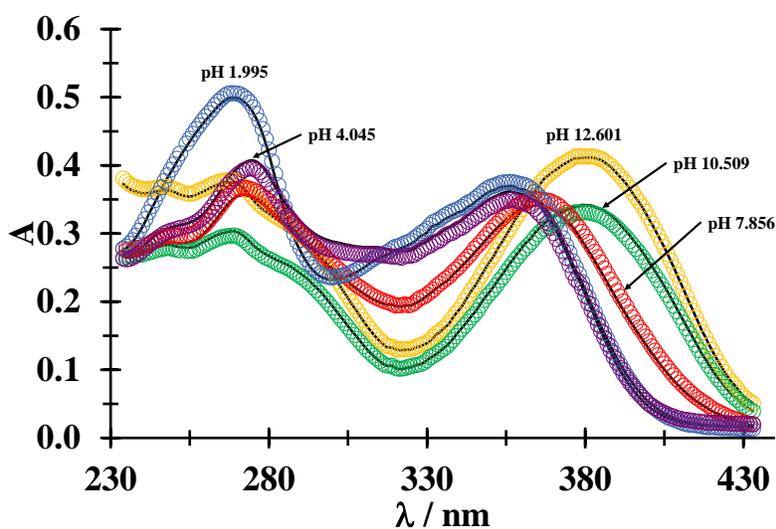


Figura 1.10. Espectros de absorción UV-Vis simulados a partir de los datos obtenidos con SQUAD (línea continua) comparados con los espectros de absorción de UV-Vis experimentales (marcadores) para Tc a distintos valores de pH mostrados en la figura.

A partir de los datos obtenidos se determinan cuatro equilibrios ácido-base para Tc en solución acuosa con valores de $pK_{a1} = (3.277 \pm 0.067)$, $pK_{a2} = (7.397 \pm 0.055)$, $pK_{a3} = (9.349 \pm 0.039)$ y $pK_{a4} = (11.728 \pm 0.024)$. Finalmente, con la información obtenida se genera el diagrama de fracción molar en función del pH junto con el diagrama de zonas de predominio lineal para cada especie de Tc en solución acuosa [28, 29], ver anexo 2.

En la figura 1.11 se muestra el diagrama de fracción molar junto con el diagrama de zonas de predominio en función de pH para Tc en medio acuoso.

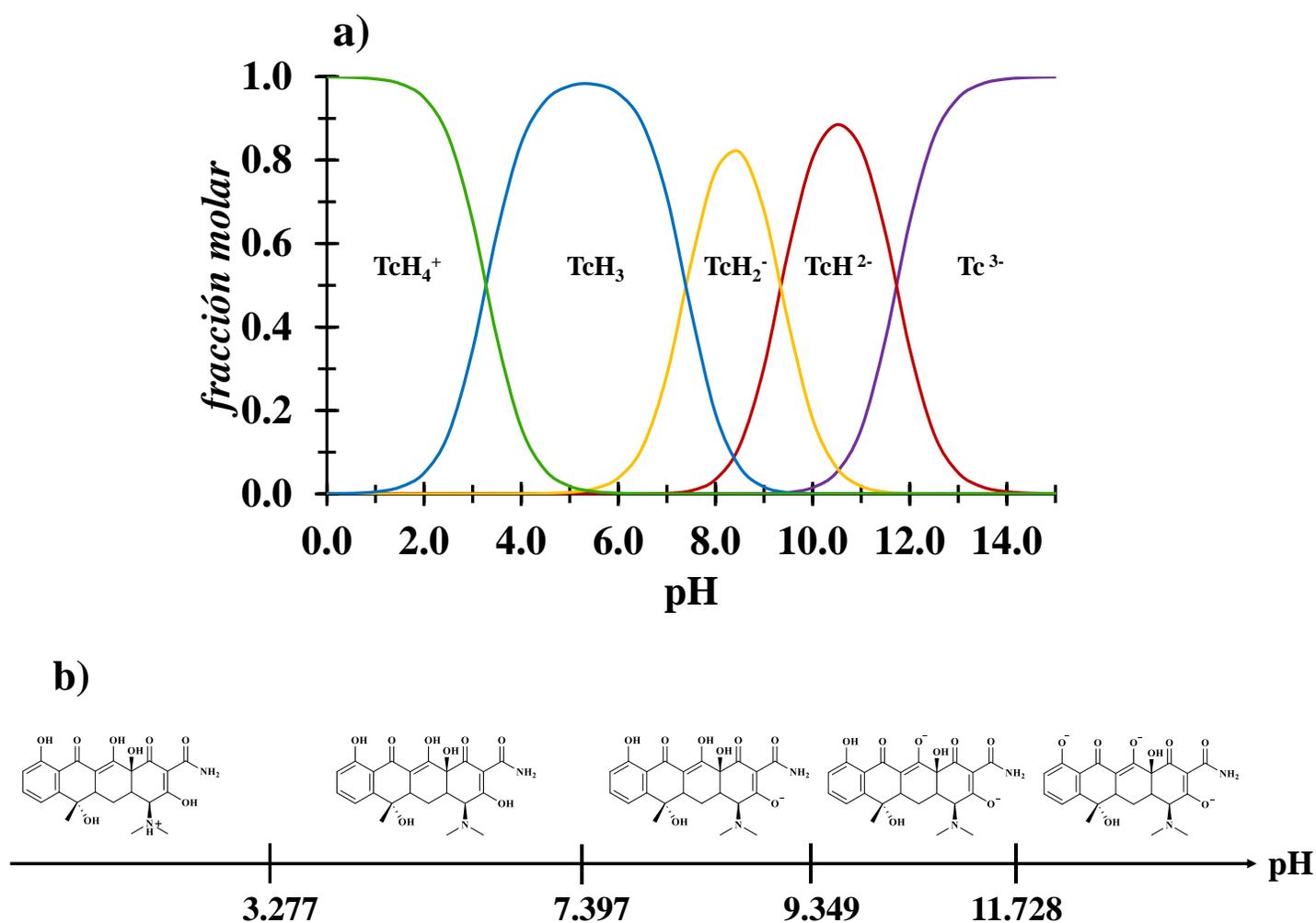
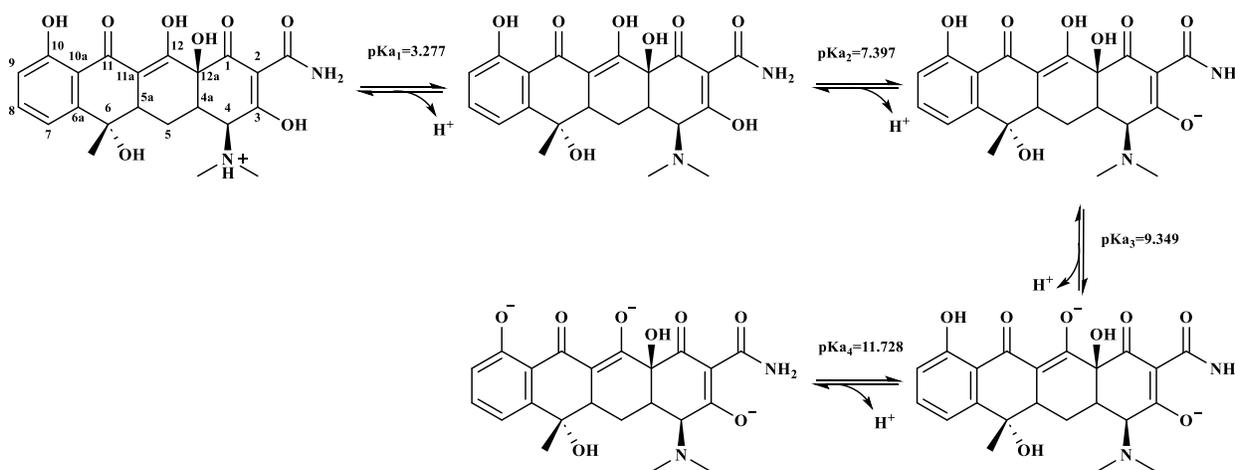


Figura 1.11. a) Diagrama de fracción molar para Tc y b) Diagrama de zonas de predominio lineal en función de pH para Tc.

En la literatura se encuentran reportados diversos mecanismos de disociación de TcH_4^+ , en un intervalo entre 3.46 a 7.39 en la escala de pH la especie predominante es en forma zwitteriónica [30], sin embargo, como se puede apreciar en el esquema 1.1, el protón con propiedades ácidas es el que se encuentra en el grupo dietilamino del C-4 dando lugar a la especie neutra, TcH_3 . La siguiente desprotonación de la especie TcH_3 se da en el grupo hidroxilo ácido enlazado al C-3 dando lugar a la especie mono-aniónica de Tc. Las últimas ionizaciones se encuentran en los grupos hidroxilo enlazados al C-12 y C-10 consecutivamente dando lugar a las especies de tetraciclina, TcH^{2-} y Tc^{3-} respectivamente.



Esquema 1.1. Mecanismo de desprotonación para TcH_4^+ .

Implementando un algoritmo de t de Student a un nivel de confianza del 95 % se lleva a cabo la comparación de los valores de las constantes de acidez de Tc determinadas en este trabajo con las reportadas en la literatura y se determina que existe una diferencia significativa respecto a los valores reportados en la referencia 7, sin embargo, con respecto a los valores reportados en las referencias 4 y 6 no existe una diferencia significativa (ver tabla 1.4).

Tabla 1.4. Compendio de valores de constantes de acidez determinadas en este trabajo por espectroscopia de absorción de UV-Vis y ECZ y las reportadas en la literatura.

pKa	[22]	[24]	[25]	Este trabajo
pKa₁	3.30 ± N.R.	3.46 ± N.R.	2.07 ± N.R.	3.277 ± 0.066
pKa₂	7.40 ± N.R.	7.39 ± N.R.	6.84 ± N.R.	7.397 ± 0.055
pKa₃	9.30 ± N.R.	9.59 ± N.R.	8.75 ± N.R.	9.349 ± 0.039
pKa₄	-----	12.1 ± N.R.	10.27 ± N.R.	11.278 ± 0.024
pKa₅	-----	-----	14.45 ± N.R.	-----

N. R. = No reportado

Con la finalidad de corroborar el predominio y la carga de las especies de Tc que se proponen en los equilibrios de acidez planteados en este trabajo, se hace uso de la técnica de electroforesis capilar de zona (ECZ), la cual permite separar analitos con carga en función de su movilidad en un campo eléctrico aplicado. Se aplica un voltaje a través del capilar implementando dos electrodos en los extremos del mismo y, en consecuencia, el campo eléctrico promueve el desplazamiento de las moléculas cargadas hacia el electrodo opuesto. Es importante destacar que a valores de pH mayores que cinco se emplea un marcador el cual tendrá una movilidad constante a través del valor de pH con la finalidad de optimizar la separación y movilidad de estos [31-33].

En la figura 1.12 se muestra el electroferograma de Tc a pH 2, donde es posible apreciar la existencia de una señal posterior a cuatro minutos y dado que a este valor de pH no existe flujo electroosmótico, la movilidad se debe únicamente a la carga de la especie como consecuencia de la polaridad impuesta al capilar, la cual se lleva del cátodo al ánodo, por lo que la señal se asocia a la especie TcH_4^+ .

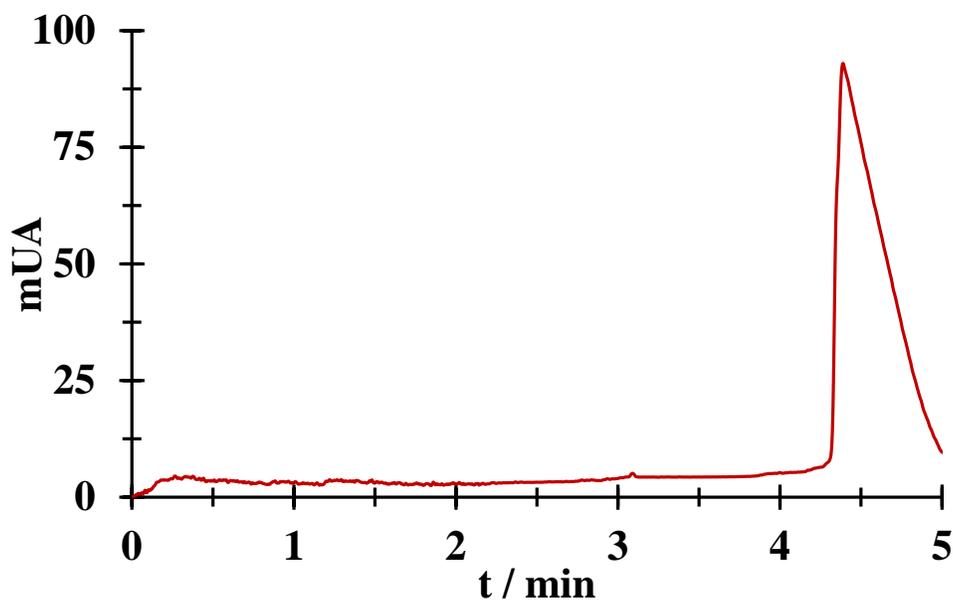


Figura 1.12. Electroferograma de Tc 50 mM a pH:2.

A valores mayores de pH 4.000 se hace uso de acetona como marcador de movilidad del flujo electroosmótico y es posible observar el efecto de las cargas de las distintas especies de Tc. En la figura 1.13a se muestra el electroferograma a pH 4.192; en línea continua la señal de Tc, en línea punteada la señal del marcador y es posible apreciar que la señal de la Tc se ubica unos segundos antes que la señal del marcador, esto se debe a que aún existe una fracción de la especie TcH_4^+ (véase figura 1.11a) coexistiendo con la especie TcH_3 . A pH 4.989 la especie predominante es TcH_3 (neutra), por tal motivo la señal de la Tc se observa acoplada a la señal del marcador (ver figura 1.13b). En la figura 1.13c y 1.13d se muestran los electroferogramas a pH 5.903 y pH 6.885 respectivamente; donde existe un desplazamiento de la fracción de la especie neutra hacia la especie mono-aniónica dado que la señal de la Tc se observa a tiempos posteriores de la señal del marcador.

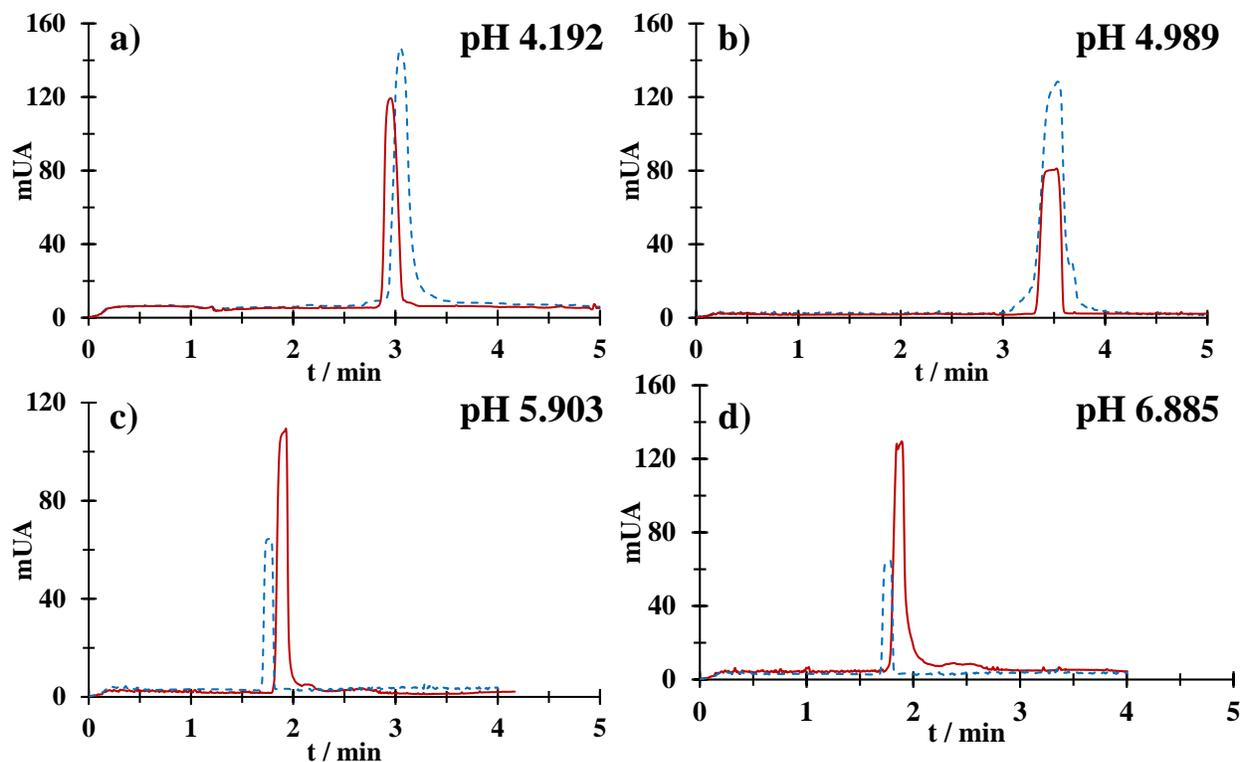


Figura 1.13. Electroferogramas de Tc 50 mM (línea continua) y de acetona (línea punteada) a distintos valores de pH: **a)** 4.192, **b)** 4.989, **c)** 5.903 y **d)** 6.885.

En la figura 1.14 se presentan los electroferogramas de Tc 50 mM para valores de pH 6.885 a 10.964. Las especies predominantes, según el diagrama de fracción molar, son de naturaleza aniónica, esto se corrobora ya que la señal de Tc (línea continua) se presenta en un tiempo posterior a la señal del marcador (línea punteada). Además, se muestra un desplazamiento en el tiempo para la señal de Tc conforme incrementa el valor de pH esto se asocia al cambio de especies mono-aniónica a dianiónica.

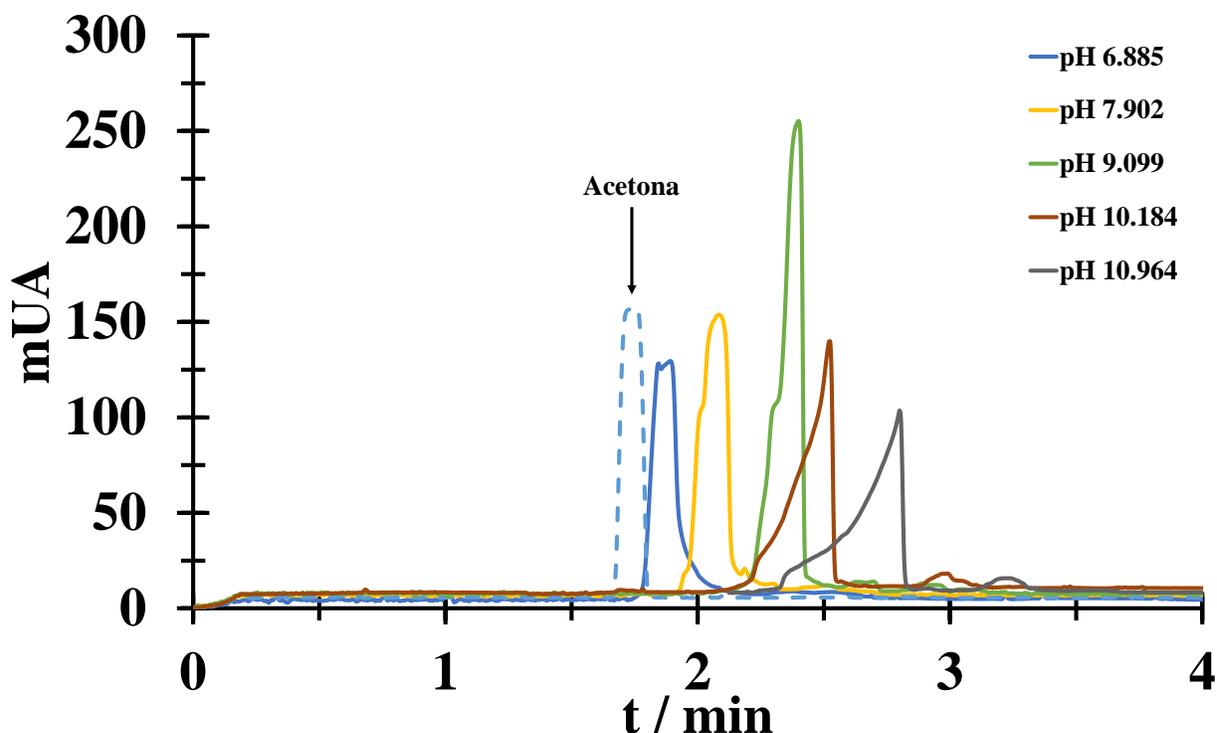


Figura 1.14. Electroferogramas de Tc 50 mM (línea continua) a distintos valores de pH mostrados en la figura y acetona (línea punteada).

A partir de los electroferogramas obtenidos de Tc y acetona se obtienen los tiempos de migración para las diferentes especies, con esta información es posible calcular la movilidad electroforética efectiva (u_{eff}), ecuación 7.

$$u = \frac{L_T L_{eff}}{V t_m} \quad (7)$$

Donde L_T es la longitud total del capilar; L_{eff} es la longitud al detector (o longitud efectiva); V es la magnitud del campo eléctrico aplicado y t_m es el tiempo de migración del analito.

Para pH 2.065 y 3.151, $u = u_{eff}$, debido a que no hay influencia del flujo electroosmótico. Sin embargo, para valores mayores a pH 4.191 las movilidades calculadas a partir de la ecuación 6, son movilidades electroforéticas aparentes (u_{app}) debido a que se tiene que considerar la

contribución del efecto del flujo electroosmótico, u_{eof} , y finalmente, calcular la u_{eff} para cada valor de pH, ecuación 8.

$$u_{eff} = u_{app} - u_{eof} \quad (8)$$

En la tabla 1.5 se muestran los valores u_{eff} calculados para cada pH. Se espera que el valor de la movilidad aumente de manera proporcional a la carga de la especie, es decir, la u_{eff} de la especie dianiónica sea el doble de la u_{eff} de la especie mono-aniónica. Se puede apreciar que la u_{eff} a pH 10.964 supera el doble del valor de la u_{eff} para pH 7.902, lo que indica que estamos pasando de la especie mono-aniónica a la dianiónica y trianiónica.

Tabla 1.5. Movilidades electroforéticas efectivas (u_{eff}) para Tc a diferentes valores de pH.

pH	$u_{eff} / \text{m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$	pH	$u_{eff} / \text{m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$
2.065 ± 0.001	1.14×10^{-08}	6.885 ± 0.001	-1.72×10^{-9}
3.151 ± 0.001	1.08×10^{-08}	7.902 ± 0.001	-4.63×10^{-9}
4.192 ± 0.001	3.92×10^{-10}	9.099 ± 0.001	-6.99×10^{-9}
4.989 ± 0.001	3.94×10^{-10}	10.184 ± 0.001	-6.90×10^{-9}
5.903 ± 0.001	-1.22×10^{-9}	10.964 ± 0.001	-1.05×10^{-8}

A partir de los valores de la movilidad electroforética efectiva obtenidos para cada sistema de Tc, es posible obtener $u_{eff} = f(pH)$, figura 1.15. donde se observa que las movilidades mayores que cero corresponden a la especie TcH_4^+ mientras que las movilidades cercanas a cero se asocian a la especie neutra y finalmente los valores de u_{eff} menores a cero están asociadas a las especies aniónicas de Tc, lo que resulta consistente con la especiación propuesta de Tc en el esquema 1.1. Este comportamiento se debe a que la movilidad electroforética efectiva es un promedio ponderado de las especies presentes para la Tc en cada valor de pH [13].

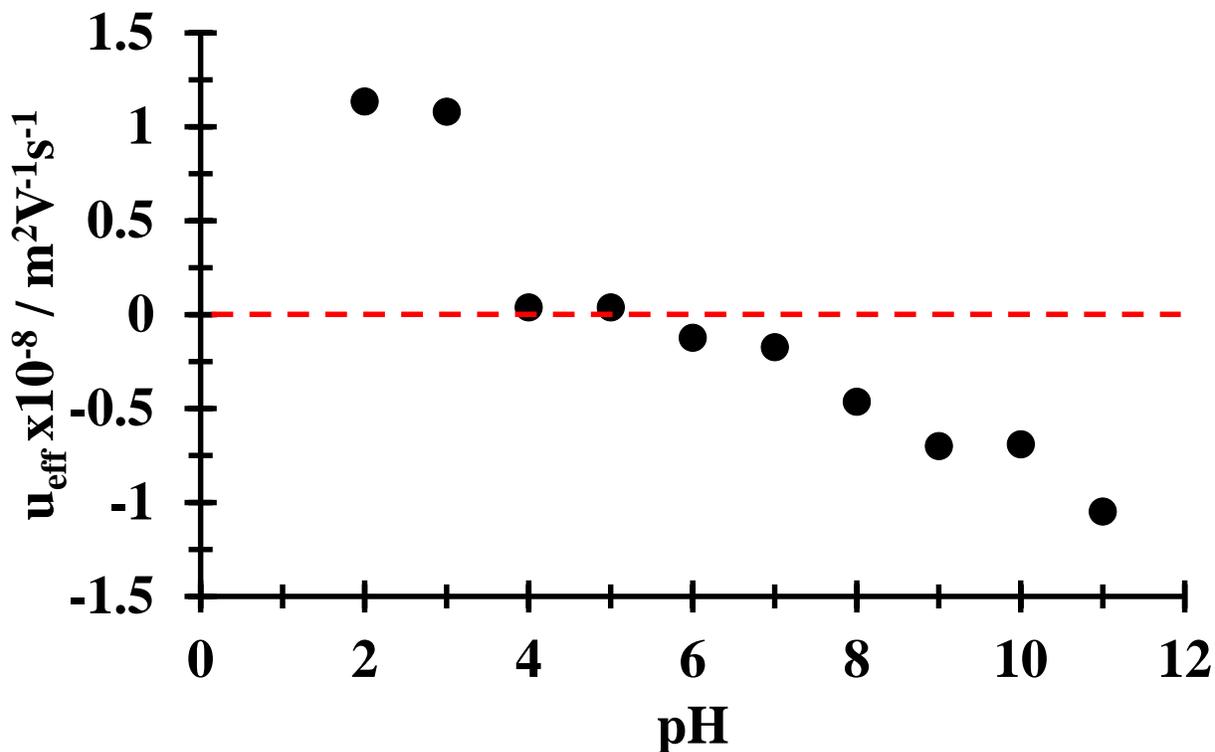


Figura 1.15. Gráfico $u_{eff} = f(pH)$ para Tc. La línea punteada marca el valor $u_{eff} = 0$.

El equipo de ECZ también proporciona los espectros de absorción de UV-Vis. La figura 1.16 muestra los espectros de absorción de UV-Vis de Tc 50 mM para diferentes valores de pH: a) 2.065, b) 4.989, c) 7.902 y d) 10.184, donde es posible observar las bandas de absorción características de Tc a las mismas longitudes de onda que se obtuvieron con el equipo de espectrofotometría de absorción de UV-Vis.

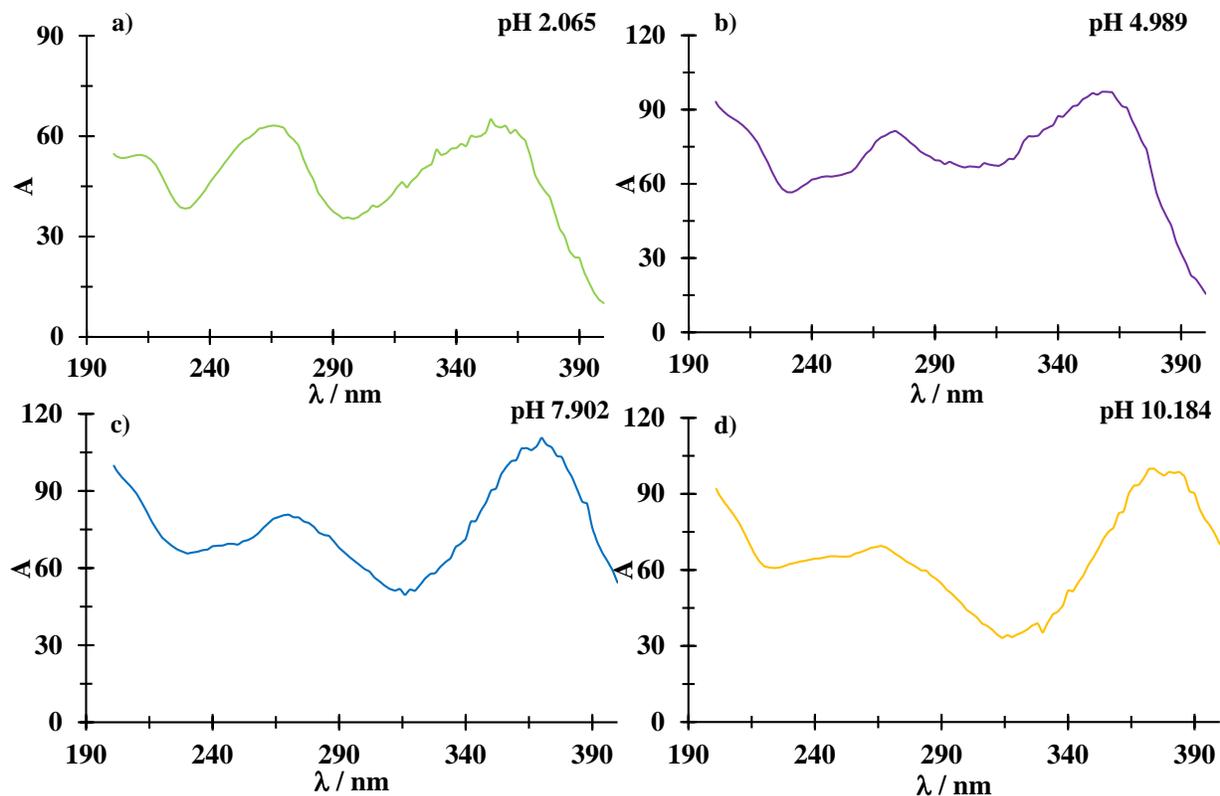


Figura 1.16. Espectros de absorción de UV-Vis de Tc 50 mM obtenidos por ECZ a diferentes valores de pH mostrados en la figura.

1.6 Conclusiones

Se determinó que la molécula de tetraciclina en medio acuoso presenta porcentajes de degradación al 104 % a distintos valores de pH demostrando su inestabilidad en un lapso de 16 minutos. El estudio a partir de dos técnicas experimentales diferentes permite formar un enfoque integral para la determinación precisa de las constantes de acidez de la Tc. Por medio de la técnica de espectroscopía de absorción de UV-Vis y el programa computacional SQUAD se determinaron cuatro constantes de acidez de tetraciclina en medio acuoso: $pK_{a1} = (3.277 \pm 0.067)$, $pK_{a2} = (7.397 \pm 0.055)$, $pK_{a3} = (9.349 \pm 0.039)$ y $pK_{a4} = (11.278 \pm 0.024)$ y, a partir del estudio de electroforesis capilar de zona se corroboró el predominio de las cinco especies de tetraciclina (TcH_4^+ , TcH_3 , TcH_2^- , TcH^{2-} y Tc^{3-}).

CAPÍTULO II
SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOESTRELLAS DE ORO Y SU
FUNCIONALIZACIÓN CON β -CD

Capítulo II Síntesis y caracterización de nanoestrellas de oro y su funcionalización con β -CD

2.1 Antecedentes

Las nanoestrellas de oro (AuNE) son materiales con estructura anisotrópica similar a una estrella tridimensional con un tamaño que oscila entre 2 nm y 100 nm [34]. Estas nanoestructuras presentan propiedades ópticas particulares debido a su geometría, además, dependiendo de su tamaño y forma tienen distintas propiedades. Una característica distintiva es la presencia de puntas afiladas en la estructura, lo que mejora su capacidad para capturar luz y su interacción con campos electromagnéticos [35]. Las AuNE han demostrado ser prometedoras en diversas aplicaciones como la detección biomolecular, la terapia fototérmica y la mejora de metodologías para la determinación de analitos [36-38].

Por otra parte, la β -ciclodextrina (β -CD) es un oligosacárido cíclico compuesto por siete unidades de glucosa formando una estructura toroidal tridimensional (figura 2.1) [39, 40]. Esta estructura confiere la capacidad de formar inclusiones con moléculas hidrofílicas, encapsulándolas en su cavidad hidrofóbica. Este fenómeno de inclusión proporciona ventajas en diversas aplicaciones, como la mejora de la solubilidad y la estabilidad de compuestos poco solubles en agua [41].

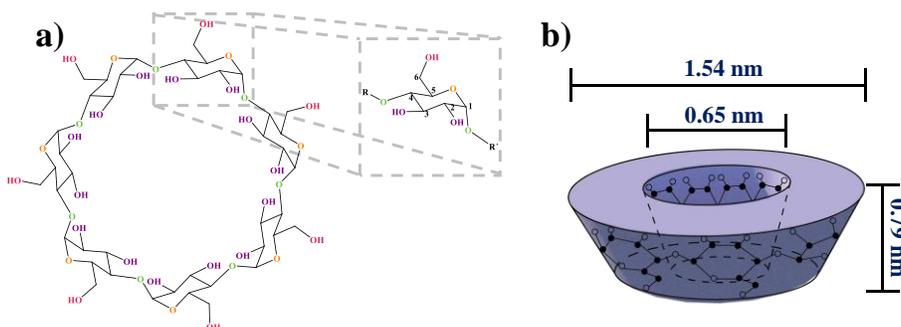


Figura 2.1. Molécula de β -CD: **a)** Fórmula semidesarrollada y **b)** estructura geométrica.

La β -CD se utiliza ampliamente en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética, así como en la formulación de productos para mejorar la liberación controlada de sustancias. Su versatilidad también se extiende a la nanotecnología y la química supramolecular, donde se utiliza para la construcción de sistemas supramoleculares y la funcionalización de nanomateriales [42].

Debido a las características de estos compuestos, es posible diseñar complejos supramoleculares plasmónicos entre AuNE y β -CD, donde la AuNE infiere orientación a la ciclodextrina y aumenta la capacidad de encapsular analitos en su cavidad. La interacción supramolecular resultante de la funcionalización de la AuNE con β -CD podría estabilizar y modificar propiedades de distintos analitos. En este capítulo, se aborda el estudio de la caracterización de la síntesis de AuNE y su interacción con β -CD.

2.2 Reactivos

Los reactivos utilizados son de grado analítico, las soluciones se preparan con agua desionizada purificada mediante el sistema de gradiente Millipore Milli-Q (18.2 M Ω .cm, 25 °C). NH₂OH•HCl (J. T. Baker, 99.3 %), NaOH 1 N (J. T. Baker), H₂AuCl₄•3H₂O (Sigma Aldrich, \geq 99.9 %), NaOH 1N (J. T. Baker), HCl 1N (J.T. Baker), β -ciclodextrina (Sigma Aldrich \geq 97 %).

2.3 Equipo

Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 950, con celdas de cuarzo de 10 mm de longitud de paso óptico con dos paredes claras y dos esmeriladas. Baño ultrasónico Branson Ultrasonics 2800 para mantener la temperatura constante.

Microscopio electrónico de barrido de alta resolución y de alto vacío (HRSEM) con porta especímenes de aluminio y filamento de emisión de campo tipo Schottky (FEG por sus siglas en

inglés), con doble haz modelo Nova-200 Nanolab con un rango de amplificación de 30x a 1,250,000x y con una resolución de hasta 1.1 nanómetros. Acoplado a un Espectrómetro de Energía Dispersiva de Rayos-x (EDS).

Microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (HRTEM por sus siglas en inglés) TITAN80-300 con rejilla de cobre de 3 milímetros de diámetro, filamento de emisión de campo tipo Schottky con voltaje de aceleración de 300 KV y resolución de 0.085 nm, acoplado a EDS. Las imágenes digitales HRTEM se obtienen utilizando una cámara CCD y Digital Micrograph Software de GATAN.

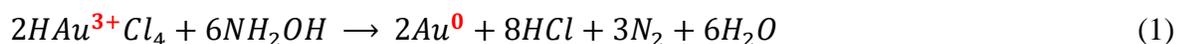
2.4 Metodología

La síntesis de las nanoestrellas de oro se basa en la metodología de un solo paso reportada por Minati et al bajo condiciones anhidras y temperatura constante [43], poniendo en agitación agua y NH_2OH 100 mM durante un minuto; se añade NaOH 1 N para llevar a $\text{pH}=11-12$ y posterior a un minuto de agitación rigurosa se añade una alícuota de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ para tener una concentración final 10 mM de la sal de oro, terminando con la agitación, se mantiene en reposo durante ocho horas. Finalmente, para la formación de la supramolécula plasmónica, las AuNE se activan durante diez minutos por ultrasonido y se funcionalizan con $\beta\text{-CD}$ durante seis minutos por el mismo método.

Las muestras de HRSEM se colocan en la superficie de un porta especímenes de aluminio. Las muestras de HRTEM se depositan con una pipeta algunas gotas de la muestra sobre una rejilla de cobre de 3 milímetros de diámetro, previamente cubiertas con una película de formvar y otra de carbón amorfo, transparentes a los electrones.

2.5 Resultados

El método de síntesis implementado es el definido como *bottom-up* de fase líquida que se basa en el ensamblaje de átomos en estructuras de mayor tamaño (2 - 100 nm) [44]. Se inicia la síntesis con una solución acuosa de NH_2OH de pH 11 – 12, se añade la sal de oro y al mezclar la solución se torna a un color azul profundo. La reacción química del proceso de síntesis de las AuNE se muestra en la ecuación 1, donde se puede observar la reducción de Au^{+3} a Au^0 y así, la formación de las nanoestrellas de oro.



El producto obtenido de la síntesis se caracteriza por espectroscopía de absorción de UV-Vis, figura 2.2, donde muestra una banda ancha entre 500 nm y 800 nm con una absorbancia máxima en 611 nm lo cual es indicativo de que el material absorbe en el naranja-rojizo emitiendo en el azul, color característico de la solución de las AuNE. Esta banda resulta característica de la formación de AuNE por su estructura anisotrópica y heterogénea que se asocia a las puntas alargadas que las estructuras presentan [45]. Estas características estructurales reflejan que las resonancias observadas en 611 nm se pueden asignar a modos de plasmón dipolar y en el máximo de absorbancia se encuentra el modo de plasmón multipolar el cual es un fenómeno óptico relacionado a la excitación de oscilaciones colectivas de electrones en superficie de metales nobles y se presentan cuando la frecuencia de luz incidente coincide con la frecuencia natural de oscilación de los electrones libres en la superficie del metal [46, 47]. Además, existen dos bandas a 291 nm y 364 nm asociadas a una resonancia ancha transversal debido a estructuras que pueden ser formaciones en punta o semiesferas no formadas completamente como nanoestrellas y es posible que el núcleo esférico contribuya al espectro general [48].

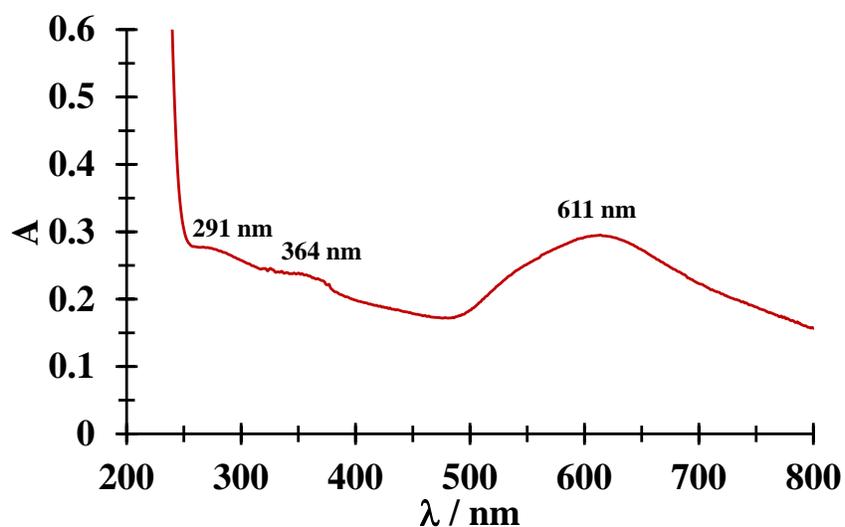


Figura 2.2. Espectro de absorción de UV-Vis de AuNE.

Con la finalidad de elucidar la morfología y composición del producto sintetizado, se caracteriza por HRSEM. En las figuras 2.3a y 2.3b se muestran las microscopías de la muestra donde se puede observar estructuras con geometría estrellada distribuidas por toda el área de estudio y en algunas zonas aglomeradas manteniendo una monodispersidad entre 10 a 15 nm. Es importante mencionar que existe heterogeneidad estructural en ciertas zonas de estudio en nanoestructuras con una geometría esférica amorfa asociadas a las bandas a 291 nm y 364 nm observadas por espectroscopía de absorción de UV-Vis.

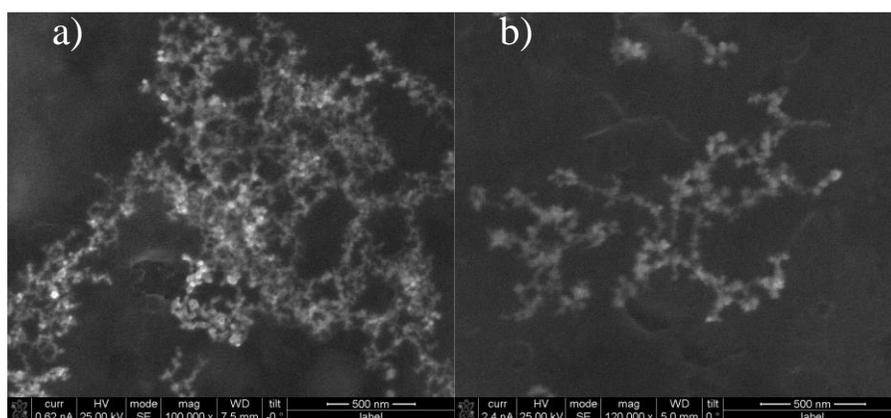


Figura 2.3. Micrografías de HRSEM de AuNE con magnitud: **a)** 100,000x y **b)** 120,000x.

En las imágenes de la caracterización por HRTEM, figura 2.4a, se observan las AuNE con una mejor definición morfológica y mayor monodispersidad a comparación del estudio por HRSEM (figura 2.3) con una distribución de tamaños de 10 a 15 nm. En la figura 2.4b se observa un mapeo químico global de las nanoestructuras donde es posible observar la presencia de oro en color rosa como composición de AuNE.

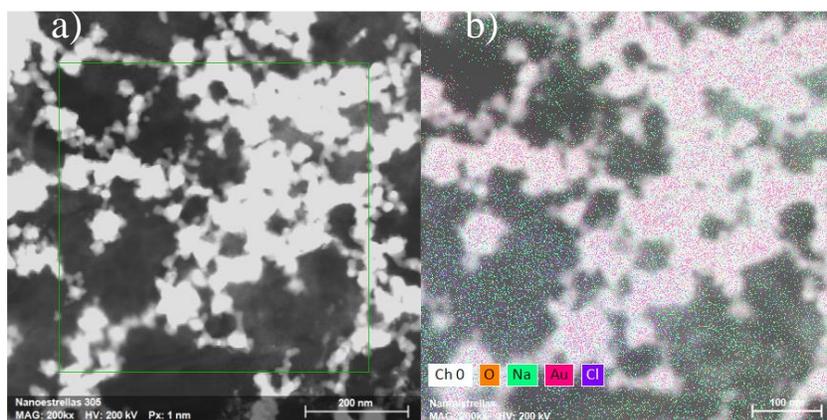


Figura 2.4. a) Micrografías de HRTEM de AuNE y b) Mapeo composicional global por EDS de AuNE.

En la figura 2.5 se muestra el mapeo elemental por cada componente químico, a) Au (oro), b) Cl (cloro), c) Na (sodio) y d) O (oxígeno) correspondiente a la muestra de AuNE, el cual, junto al estudio de EDS se confirma la presencia de oro como componente principal de las nanoestructuras y la presencia de Cl y Na se asocian a la síntesis de AuNE por HAuClO_4 y NaCl como reactivos.

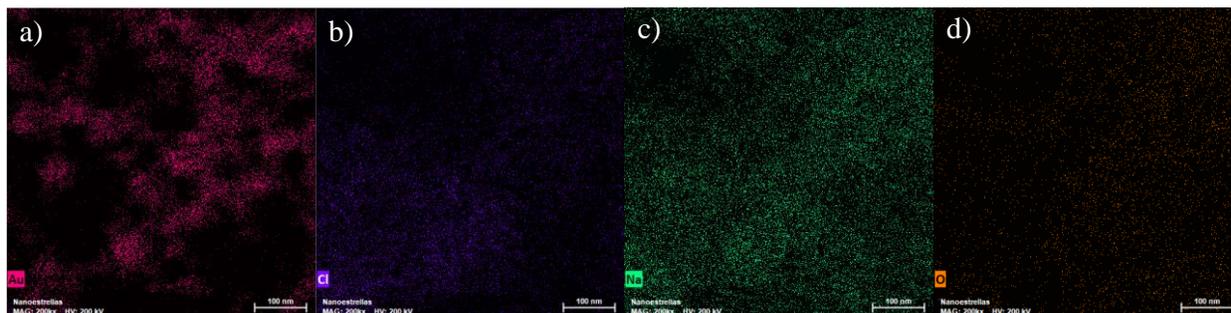


Figura 2.5. Mapeo composicional por EDS de AuNE a) Au, b) Cl, c) Na y d) O.

Para observar la morfología de las nanoestructuras funcionalizadas con β -CD (AuNE• β -CD) se caracteriza por HRSEM. En las figuras 2.6a y 2.6b se puede observar que al funcionalizar las AuNE con el oligosacárido hay cambios significativos en la morfología del nanomaterial; existe aglomeraciones alrededor de las nanoestructuras que no estaban presentes sin la funcionalización. Además, es posible observar una baja monodispersión de AuNE• β -CD, sin embargo, mantienen una estructura estrellada tridimensional con distintos números y forma de picos. Por lo anterior se confirma el cambio de estructura superficial de las AuNE en presencia de β -CD. En la figura 2.6c se puede apreciar un aumento del tamaño de la nanoestructura en un rango de 23 - 35 nm asociado a la funcionalización de las AuNE con la ciclodextrina.

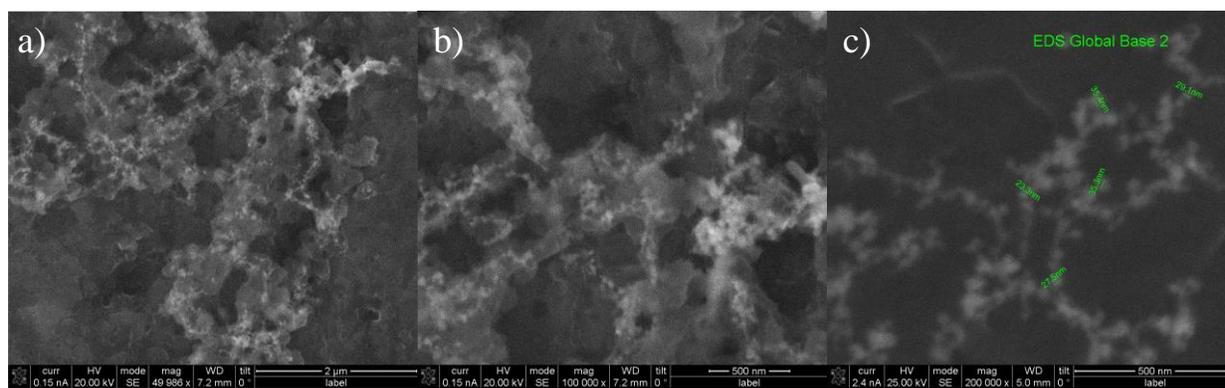


Figura 2.6. Micrografías de HRSEM de AuNE• β -CD a distintas resoluciones a) 2 μ m, b) 500nm y 100,000x y c) 500 nm y 200,000x incluida la medida de las nanopartículas en color verde.

En las imágenes de la figura 2.7 se presenta la caracterización por HRTEM en la cual se puede observar la estructura de AuNE• β -CD con una mejor definición morfológica y mayor monodispersidad a comparación del estudio por HRSEM con una distribución de tamaños de 23 a 35 nm. En la figura 2.7b se presenta un mapeo químico global de las nanoestructuras donde es

posible observar la presencia de oro, oxígeno y carbono como composición predominante de las nanoestructuras.

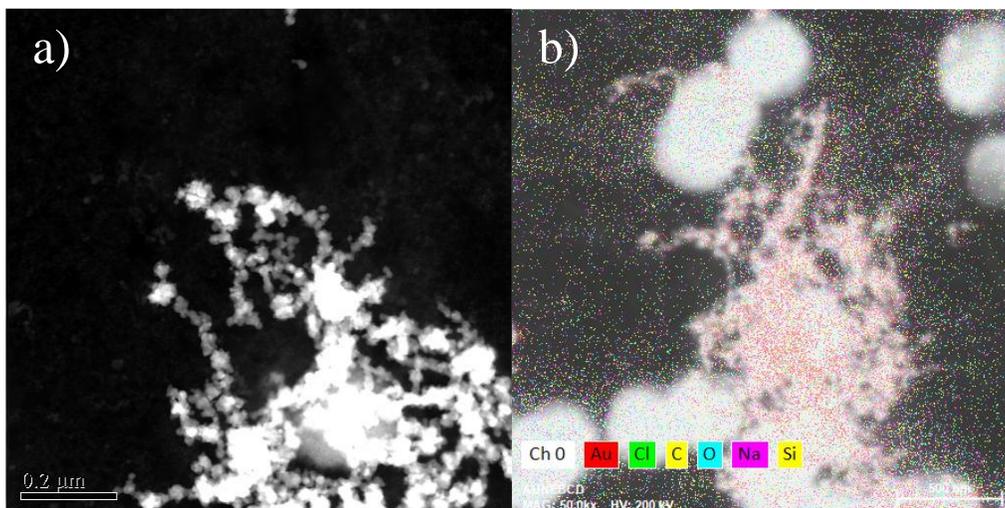


Figura 2.7. a) Micrografía de HRTEM de AuNE•β-CD y b) Mapeo composicional global por EDS de AuNE•β-CD.

Con la finalidad de conocer la composición química de las AuNE•β-CD se lleva a cabo un mapeo químico por EDS (figura 2.8) donde es posible observar la presencia significativa de carbono y oxígeno en la muestra asociado a la estructura de la β-CD, los cuales estructuralmente se encuentra alrededor de AuNE.

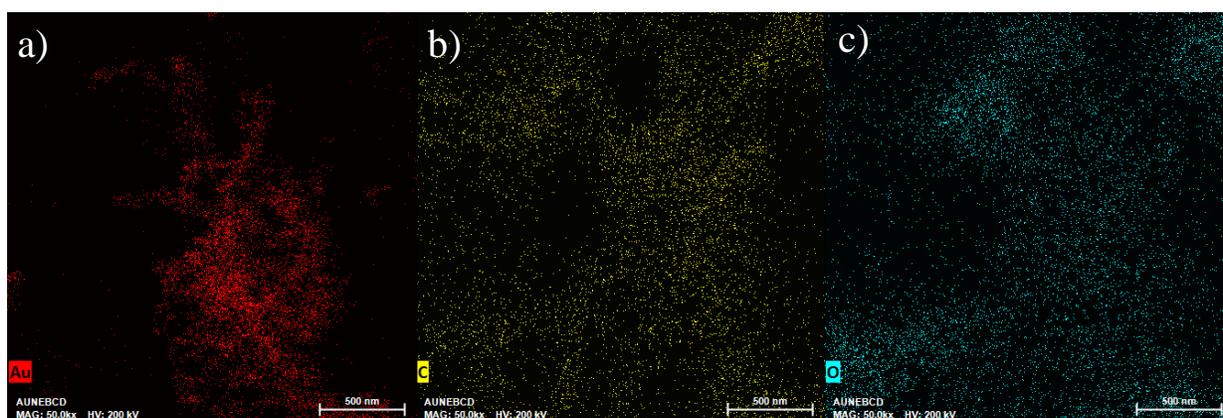
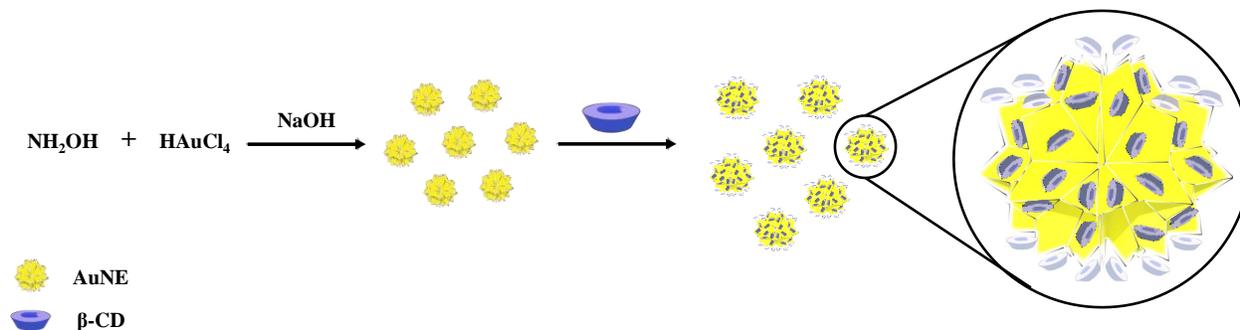


Figura 2.8. Mapeo composicional por EDS de AuNE•β-CD a) Au, b) C y c) O.

En el esquema 2.1, se propone un modelo de la síntesis y funcionalización de AuNE con β -CD.



Esquema 2.1. Modelo de la formación de la supramolécula AuNE• β -CD.

Es importante destacar que, basándose en lo reportado en la literatura, estas estructuras nanométricas están clasificadas como materiales inorgánicos artificiales por su naturaleza, además, dentro de la clasificación dimensional, tanto AuNE como AuNE• β -CD son de clasificación 0D debido a que las tres dimensiones que presentan están dentro del rango nanométrico, $(x, y, z) < 100 \text{ nm}$. Sin embargo, dentro de la subclasificación, las AuNE son del tipo 0D0 debido a que son matrices de partículas uniformes y las AuNE• β -CD se clasifican como nanomateriales del tipo 0D00 al considerarse matrices de partículas heterogéneas debido a la funcionalización con la β -CD [49].

2.6 Conclusiones

Se obtiene la formación de nanoestructuras de oro con geometría estrellada y su funcionalización con β -CD, partiendo de una ruta sintética de un solo paso respetando los principios que marca la química verde [50] evitando el uso de agentes reductores que generalmente son implementados en la síntesis de este tipo de nanomateriales. Se lleva a cabo la caracterización por espectroscopía de absorción de UV-Vis y por microscopías HRSEM y HRTEM junto con EDS donde se corrobora la geometría estrellada para AuNE y AuNE• β -CD, además, en esta última se observan estructuras aglomeradas observando la presencia de carbono y oxígeno alrededor de las estructuras de oro que se asocian a la presencia de la ciclodextrina.

CAPÍTULO III

ESTUDIO DE INTERACCIÓN DE AuNE• β -CD CON TETRACICLINA

Capítulo III Estudio de interacción de AuNE• β -CD con tetraciclina

3.1 Antecedentes

La química supramolecular se enfoca en el estudio de sistemas químicos complejos más allá de moléculas individuales como estructuras o productos resultantes de la interacción no covalente de estructuras moleculares más grandes. Estos sistemas complejos generalmente se acoplan de forma espontánea a través de un ensamblaje, donde las moléculas forman estructuras más grandes [51]. Dentro de la química supramolecular, los complejos de inclusión son compuestos moleculares donde una molécula (anfitrión) envuelve espacialmente a otra (huésped), ver figura 3.1.

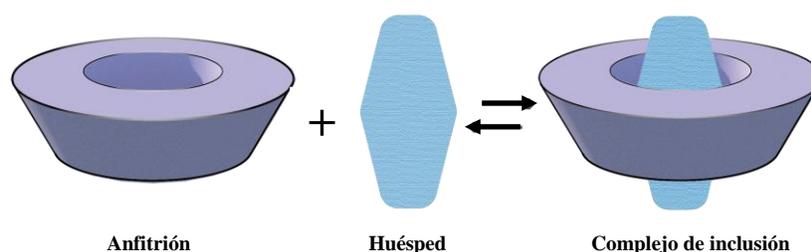


Figura 3.1. Esquema de la formación de un complejo de inclusión entre una molécula anfitrión y una molécula huésped.

La molécula huésped se sitúa dentro de la cavidad de la molécula anfitrión sin alterar de manera significativa la estructura o tamaño de la cavidad. Los compuestos de inclusión resultantes se clasifican como complejos "anfitrión-huésped" y, para que se establezca esta relación, los sitios de unión de ambas moléculas deben tener una disposición estereoelectrónica complementaria de los sitios de unión, es decir que las orientaciones de los grupos funcionales de ambas especies deben ser compatibles para permitir una interacción idónea. Cabe resaltar que la formación del complejo está asociada a la disminución en la energía libre de Gibbs lo que infiere que el complejo

es más estable [52, 53]. En este capítulo se presenta el estudio de interacción de AuNE• β -CD con Tc mediante espectroscopía de absorción de UV-Vis.

3.2 Reactivos

NH₂OH•HCl (J. T. Baker, 99.3 %), NaOH 1 N (J. T. Baker), H₂AuCl₄•3H₂O (Sigma Aldrich, \geq 99.9 %), NaOH 1N (J. T. Baker), HCl 1N (J.T. Baker), β -ciclodextrina (Sigma Aldrich \geq 97 %), tetraciclina grado analítico de la marca Sigma Aldrich (98-102 %), NaH₂PO₄ (Sigma Aldrich, \geq 98 %), H₃PO₄ (Sigma Aldrich, 85 %), NaOH 1N (J. T. Baker), HCl 1 N (J. T. Baker), y agua desionizada purificada mediante el sistema de gradiente Millipore Milli-Q (18.2 M Ω .cm, 25 °C) la cual fue burbujeada con N_{2(g)} comprimido (Praxair).

3.3 Equipo

Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 950, con celdas de cuarzo de 10 mm de longitud de paso óptico con dos paredes claras y dos esmeriladas. Baño ultrasónico Branson Ultrasonics 2800 para mantener la temperatura constante.

Potenciómetro sensION PH31 Hach con un electrodo de vidrio combinado Hach 50 14 T de Ag/AgCl [KCl, 3 M] de pH 0-14 (\pm 0.001) y con un rango de temperatura de -10 - 100 °C.

3.4 Metodología

La síntesis de las nanoestrellas de oro se basa en la metodología de un solo paso reportada por Minati et al bajo condiciones anhidras y temperatura constante [43], poniendo en agitación agua y NH₂OH 100 mM durante un minuto; se añade NaOH 1 N para llevar a pH=11-12 y posterior a un minuto de agitación rigurosa se añade una alícuota de H₂AuCl₄•3H₂O para tener una concentración final 10 mM de la sal de oro, terminando con la agitación, se mantiene en reposo durante ocho horas. Finalmente, para la formación de la supramolécula plasmónica, las AuNE se

activan durante diez minutos por ultrasonido y se funcionalizan con β -CD durante seis minutos por el mismo método.

3.5 Resultados

En la figura 3.2, se muestra la familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM y a pH 1.045 (TcH_4^+), en presencia de diferentes concentraciones de AuNE• β -CD mostradas en la figura. En línea punteada se presenta el espectro de absorción típico de TcH_4^+ en ausencia de AuNE• β -CD a pH 1.045. Cabe resaltar que la banda a 216 nm tiende a desvanecerse a medida que se incrementa la concentración de AuNE• β -CD. Además, se aprecia un efecto hiperocrómico en los máximos de absorción a 262 nm y 359 nm.

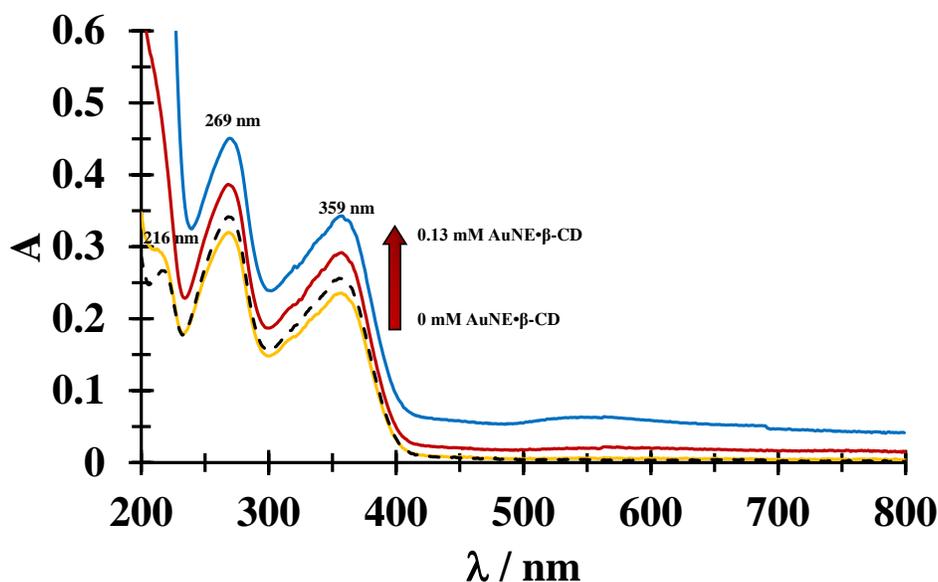


Figura 3.2. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de TcH_4^+ 2.48×10^{-5} M pH 1.045 a diferentes concentraciones de AuNE• β -CD en línea continua y TcH_4^+ en ausencia de AuNE• β -CD en línea punteada.

Es importante resaltar que el espectro de AuNE• β -CD no contribuye significativamente a la absorbancia en el rango de 200 a 500 nm, por lo tanto, los cambios observados en el espectro de absorción de TcH_4^+ pueden considerarse como un indicativo de la posible formación del complejo

entre la molécula de TcH_4^+ y $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$. La banda localizada en 216 nm se asocia a la transición electrónica del grupo $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, la ausencia de esta banda cuando TcH_4^+ se encuentra en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$, puede ser asociada a la interacción de las $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ con el grupo NH_2 o el grupo $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ de TcH_4^+ formándose el complejo de inclusión. Este tipo de complejos se asocia a la rama de la química anfitrión-huésped. En la figura 3.3 se presenta una propuesta de la posible interacción entre la supramolécula plasmónica y TcH_4^+ .

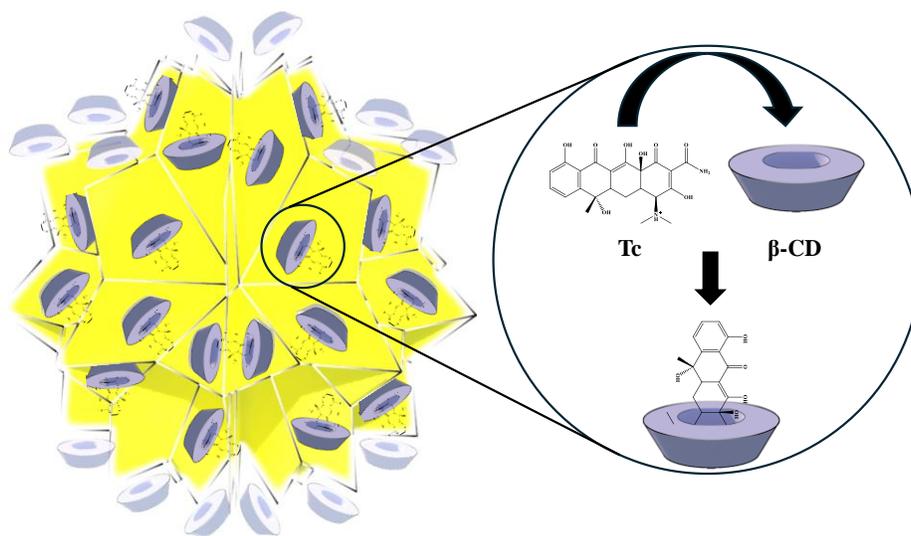


Figura 3.3. Modelo molecular del complejo de inclusión $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD-Tc}$.

Este enfoque de formación de complejos supramoleculares utilizando nanoestructuras de oro y β -ciclodextrina puede representar una estrategia efectiva para mejorar la estabilidad de la tetraciclina en medios acuosos, lo cual es de gran relevancia en el desarrollo de aplicaciones biomédicas y farmacológicas. En este sentido, finalmente, se lleva a cabo el estudio de estabilidad de Tc en solución acuosa en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$. En la figura 3.4, se presentan los espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ a diferentes valores de pH: a) pH 1.056 y b) pH 8.505, en un intervalo de 0 a 16 minutos. A pH 1.056, TcH_4^+ , se observa que

las dos bandas máximas de absorción a 262 nm y 359 nm permanecen constantes a lo largo del tiempo. El espectro de UV-Vis a pH 8.505, TcH_2^- en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ no muestra la formación del hombro en 244 nm típico de TcH_2^- en ausencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ (ver figura 3.4b).

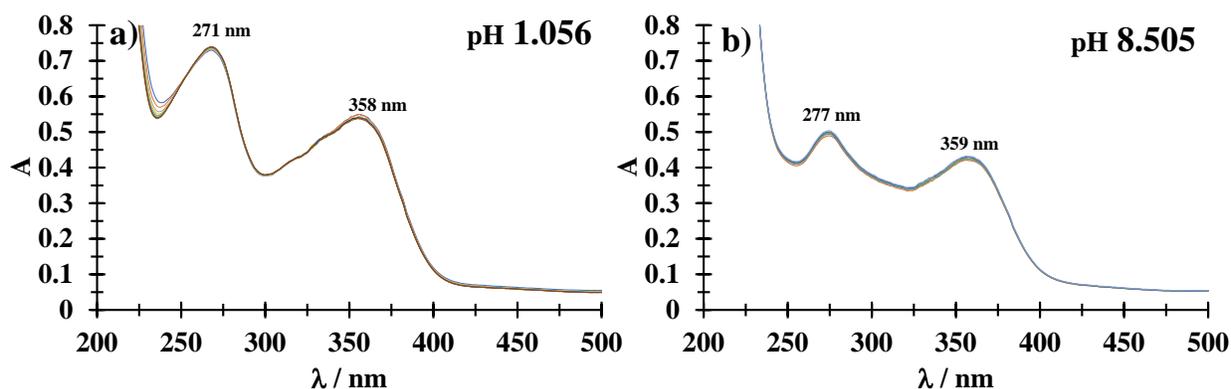


Figura 3.4. Familia de espectros de absorción de UV-Vis de Tc 0.043 mM en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ 0.0398 mM para valores de a) pH 1.056, b) pH 8.505.

Finalmente, a partir de los espectros de absorción obtenidos en la figura 3.4 se obtiene el gráfico $A^\lambda = f(t)$ para valores de pH 1.056, 8.505 y 10.043 donde se aprecia una tendencia constante, mostrando la estabilidad del antibiótico para las distintas especies de Tc en presencia de $\text{AuNE}\cdot\beta\text{-CD}$ (ver figura 3.5).

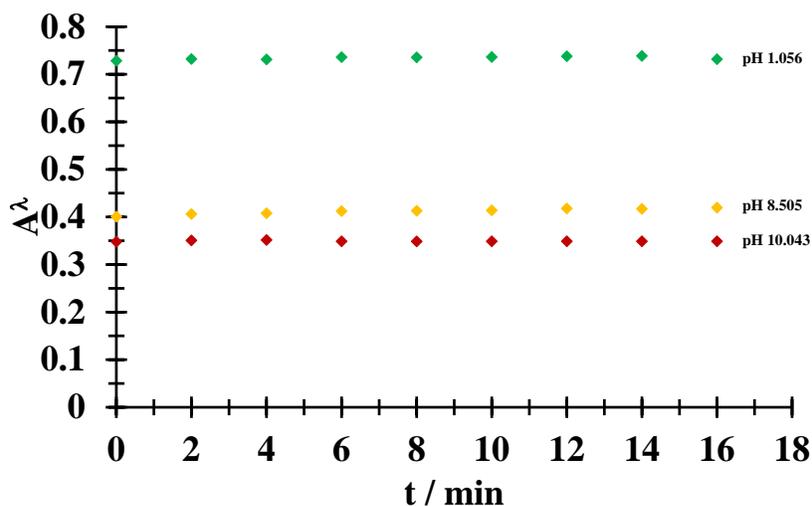


Figura 3.5. Gráfico $A^\lambda = f(t)$ a pH 1.056 (269 nm), pH 8.505 (363 nm) y pH 10.043 (293 nm).

Finalmente, en la tabla 3.1, se muestra el porcentaje de degradación de Tc (PD_{Tc}) en ausencia de AuNE• β -CD comparado con el porcentaje de degradación de Tc en presencia de AuNE• β -CD, donde es evidente la estabilidad conferida debido a AuNE• β -CD.

Tabla 3.1. Porcentaje de degradación de Tc en medio acuoso en ausencia y presencia de AuNE• β -CD.

pH	PD_{Tc}	
	En ausencia de AuNE• β -CD	En presencia de AuNE• β -CD
1.056	25.879	0.002
8.505	4.771	0.002
10.043	19.437	0.001

3.6 Conclusiones

Se lleva a cabo el estudio de interacción de TcH_4^+ con AuNE• β -CD por espectroscopía de absorción de UV-Vis observando un desplazamiento hipercrómico en las bandas de absorción máxima y la ausencia de bandas de absorción presentes en el espectro de Tc sin AuNE• β -CD. Este comportamiento en los espectros de absorción de UV-Vis son asociados a la inclusión entre AuNE• β -CD y TcH_4^+ . Finalmente, con el objetivo de inducir estabilidad al antibiótico se propone la presencia de AuNE• β -CD a distintos valores de pH obteniendo porcentajes de degradación inferiores al 0.002 % concluyendo que AuNE• β -CD infiere estabilidad de las diferentes especies de tetraciclina, lo cual representa una estrategia efectiva para mejorar la estabilidad de fármacos en medio acuoso.

CAPÍTULO IV

DESARROLLO DE UN SENSOR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TETRACICLINA

Capítulo IV Desarrollo de un sensor para la cuantificación de tetraciclina

4.1 Antecedentes

Las técnicas electroquímicas se basan en la medición de la respuesta de una celda electroquímica a partir de la aplicación de un potencial eléctrico a través de electrodos conductores de electrones sobre un electrolito[54]. Estas técnicas son particularmente útiles en la detección y cuantificación de analitos para la monitorización ambiental y el análisis clínico entre otras [55]. La voltamperometría es una técnica que se basa en el registro de la respuesta de un electrodo de trabajo en función de la diferencia de potencial teniendo como consecuencia la oxidación o reducción del analito de interés [56, 57].

En la técnica de voltamperometría, la celda electroquímica consiste de tres electrodos: un electrodo de trabajo (ET), donde se produce la transferencia de electrones entre las especies de interés y el electrodo; un electrodo de referencia el cual sirve para fijar la variación de los parámetros que se utilizan en la caracterización sobre el electrodo de trabajo y, por tanto su potencial debe ser conocido y constante; finalmente el electrodo auxiliar el cual cierra el circuito eléctrico de la celda [58].

El electrodo de trabajo representa el componente más importante de una celda electroquímica debido a que en la interfaz entre este y la solución es donde ocurre la transferencia de electrones de interés. Por lo anterior, los ET están fabricados de materiales, conductores o semiconductores químicamente estables con una morfología y superficie conocidas[59, 60]. Existen diversos materiales para la fabricación de un ET, donde su característica principal se avoca en la banda prohibida (band gap) que es la distancia entre la banda de valencia de los electrones y la banda de conducción. Esencialmente, la banda prohibida representa la energía mínima que se requiere para excitar un electrón hasta un estado en la banda de conducción en el que pueda

participar en la conducción [61]. En los materiales conductores, la banda de valencia se superpone con la banda de conducción. Esta superposición hace que los electrones de valencia estén esencialmente libres para moverse hacia la banda de conducción y participar en la conducción sin que exista una banda prohibida. Por otra parte, en los materiales semiconductores existe una brecha de energía estrecha entre la banda de valencia y la de conducción por lo que existe el flujo de electrones, aunque en menor capacidad que de un material conductor [62].

Los electrodos de pasta de carbono (EPC), se componen de polvo de carbono mezclado con un aglutinante, generalmente aceite mineral o parafina, presentan buena conducción eléctrica, una superficie porosa, rango amplio de potencial de trabajo y la facilidad para modificar su superficie electroactiva [63, 64]. La modificación estructural y superficial de estos electrodos ofrecen ventajas como alta sensibilidad, selectividad, capacidad de llevar a cabo mediciones *in situ* y fácil manejo para la detección y cuantificación de diversos fármacos [65-71]. Por lo anterior, en este capítulo se presenta el estudio electroquímico de tetraciclina sobre un EPC y un EPC modificado con β -CD y modificado con nanoestrellas de oro funcionalizadas con β -CD para su detección y cuantificación en medio acuoso.

4.2 Reactivos

Tetraciclina grado analítico de la marca Sigma Aldrich (98 - 102 %), NaH_2PO_4 (Sigma Aldrich, ≥ 98 %), Na_2HPO_4 (Sigma Aldrich, ≥ 99 %), Na_3PO_4 (Sigma Aldrich, 96 %), H_3PO_4 (Sigma Aldrich, 85 %), polvo de grafito (Johnson Matthey 1 μm , 99,9%) y aceite mineral (Sigma-Aldrich). Agua desionizada Millipore Milli-Q (18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, 25 °C).

4.3 Equipo

Potenciostato Epsilon BASi con una celda convencional de tres electrodos: EPC (con un área geométrica de 0.071 cm^2), un electrodo auxiliar de alambre de Pt (BASi MW-1032) y electrodo de referencia Ag/AgCl (BASi MF-2021).

4.4 Metodología

El EPC se prepara mezclando polvo de grafito (Johnson Matthey $1 \mu\text{m}$, 99,9%) y aceite mineral (nujol) de Sigma-Aldrich en una proporción 1/1 p/p, la mezcla resultante se coloca en un tubo de polietileno (10 cm de largo y 3 mm de diámetro) que contiene un pistón. Posteriormente se coloca la punta del tubo sobre una superficie plana y se presiona el pistón para lograr la eliminación del aire atrapado. El contacto eléctrico se hace soldando un cable de Pt a un cable de Cu externo [72-73].

La modificación del electrodo de trabajo se lleva a cabo con una solución de β -CD 7 mM en ácido perclórico 1 M aplicando 30 ciclos dentro de la ventana de potencial de -0.8 V a 1.5 V a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V s^{-1} .

La modificación del electrodo de trabajo con AuNE• β -CD se lleva a cabo con una solución de AuNE• β -CD (β -CD 7 mM y AuNE $1.41 \times 10^{-3} \text{ M}$) en ácido perclórico 1 M aplicando 30 ciclos dentro de la ventana de potencial de -0.8 V a 1.5 V a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V s^{-1} .

Las muestras de HRSEM se colocan en la superficie de una cinta especial de carbono, de tal manera que el material se mantenga fijo y estable, además, dichas cintas inducen conductividad para el adecuado flujo de los electrones a través de la superficie del material de interés.

4.5 Resultados

Se propone el uso de un EPC para la caracterización electroquímica de Tc a pH 1 donde predomina la especie TcH_4^+ (ver figura 1.11). En la figura 4.1 se muestra el voltamperograma cíclico, VC, de TcH_4^+ 51 μM (línea continua) y el VC de la solución de percloratos pH 1 (línea punteada) sobre un EPC vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} , es posible observar la ausencia de picos catódicos y/o anódicos que puedan ser asociados a la oxidación o reducción electroquímica de TcH_4^+ en una ventana de potencial de -0.30 a 0.815 V .

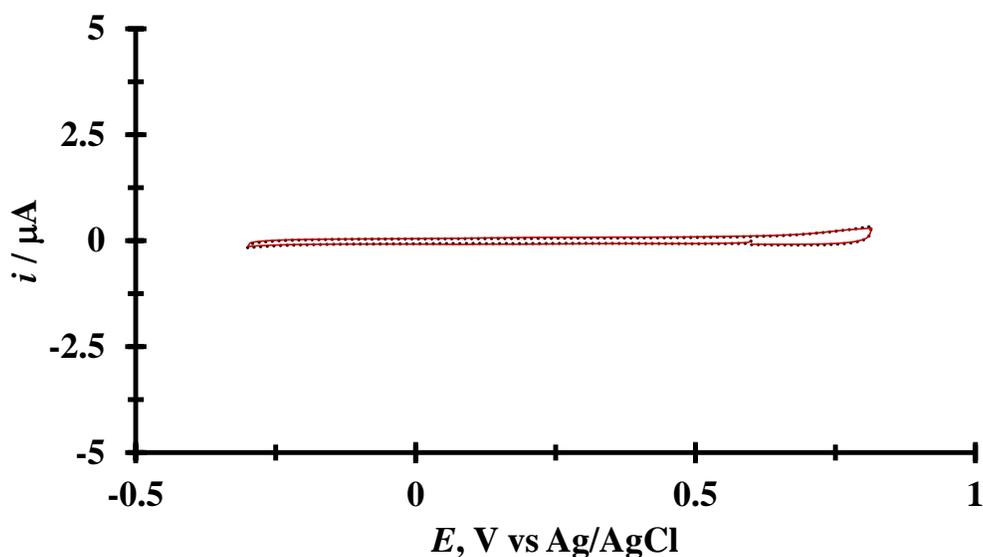
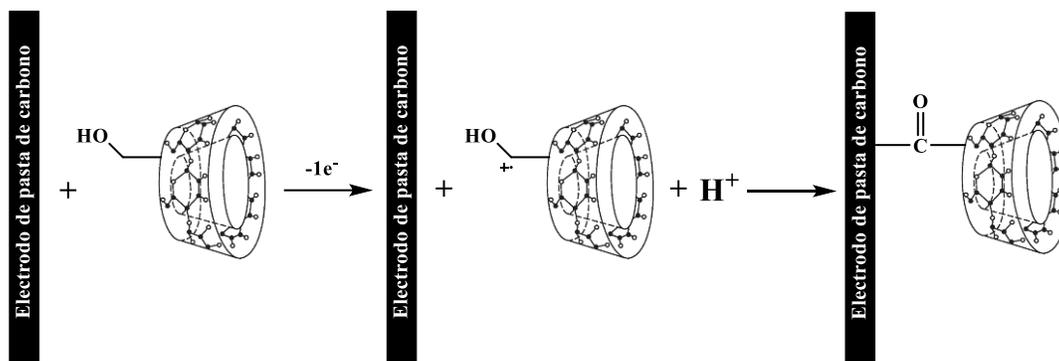


Figura 4.1. VC de TcH_4^+ 51 μM (línea continua) y VC en ausencia de TcH_4^+ (línea punteada) sobre un EPC vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ en una solución de HClO_4 0.1 M a pH 1.0. Los VC se obtuvieron a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} .

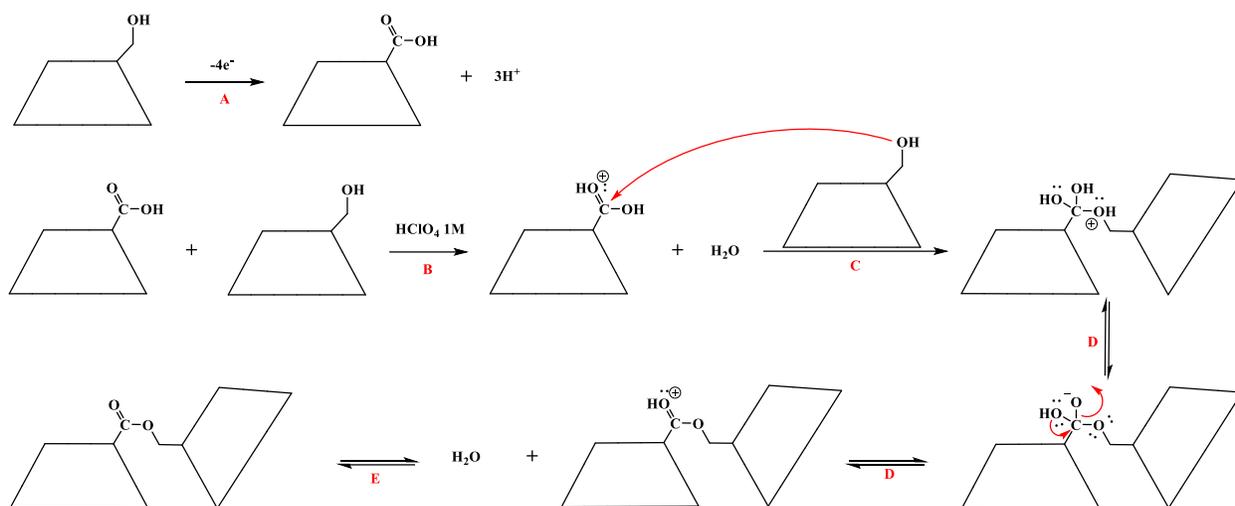
Debido a que la especie TcH_4^+ no presenta respuesta electroquímica en la ventana de potencial sobre el EPC se propone la modificación de la superficie del EPC con $\beta\text{-CD}$ mediante voltamperometría cíclica sucesiva. La modificación del EPC para la formación de la película electroactiva con $\beta\text{-CD}$ tiene dos etapas: la primera se da a partir de las interacciones de los grupos polares hidroxilos primarios de la $\beta\text{-CD}$ con la superficie del EPC a partir de la imposición del

potencial que polariza al oligosacárido generando radicales libres que se adhieren a la superficie del EPC, ver esquema 4.1 [74].



Esquema 4.1. Esquema reaccional de la superficie del EPC con β -CD [74].

La segunda etapa se da al aplicar el potencial anódico en medio ácido donde se oxidan monómeros de β -CD formando ácidos carboxílicos como grupo funcional del oligosacárido y moléculas de agua como se puede ver en el paso A del esquema 4.2. Estos radicales reaccionan con otros monómeros de β -CD [75, 76] donde el oxígeno del grupo carbonilo se protona formando el ion oxonio, paso B. El siguiente paso es la adición nucleofílica del alcohol de otro monómero de β -CD al ácido carboxílico protonado formando un producto intermediario tetraédrico, paso C. Posteriormente se lleva a cabo la transferencia de protones dando como resultado el movimiento neto de H^+ de un oxígeno a otro iniciando con la desprotonación del alcohol y posterior protonación generando otro grupo intermediario con agua como grupo saliente. Finalmente, se genera el grupo carbonilo, la molécula de agua se elimina del producto y se forma el dímero de β -CD entrelazadas por la formación del éster, paso E.



Esquema 4.2. Mecanismo de electropolimerización de β -CD.

En la figura 4.2, se presenta el voltamperograma cíclico sucesivo para la electropolimerización de β -CD sobre el EPC usando una solución de β -CD 7 mM en $HClO_4$ 1 M, en una ventana de potencial de 1.5 a -0.8 V, iniciando el barrido de potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.2$ V en dirección anódica a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . Se observa el crecimiento de la corriente capacitiva, lo cual se asocia a la presencia de la ciclodextrina sobre el electrodo. Los VC sucesivos presentan picos anódicos en 0.455 V (O_1), 0.853 V (O_2) y 1.06 V (O_3) y picos catódicos en 0.372 V (R_1) y -0.377 (R_2) asociados al proceso de electropolimerización lo cual corrobora la electropolimerización de la β -CD sobre el EPC [74].

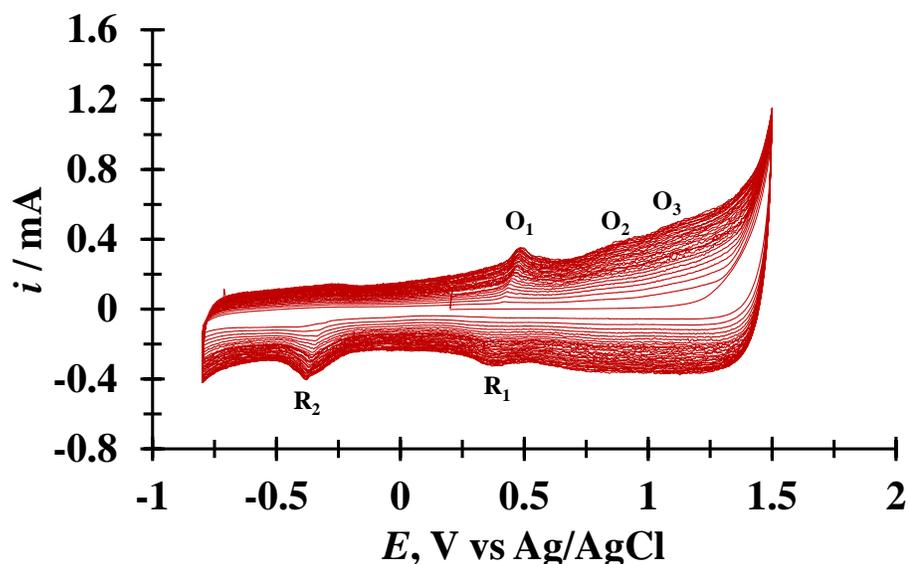


Figura. 4.2. Voltamperograma cíclico sucesivo (30 ciclos) de un sistema β -CD 7 mM sobre un EPC vs Ag/AgCl_(sat) en medio de HClO₄ 1 M en un intervalo de potencial de 1.5 a -0.8 V, potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.2$ V a una velocidad de 0.1 Vs⁻¹.

En la figura 4.3 se presenta el VC de TcH₄⁺ 51 μ M sobre el EPC/ β -CD (línea continua) y el VC de EPC- β -CD (línea punteada) en ausencia de TcH₄⁺, en una solución de HClO₄ 0.1 M a pH 1.0 a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs⁻¹: a) iniciando el barrido de potencial en sentido anódico y b) iniciando el barrido de potencial en sentido catódico. En ambos casos se aprecia únicamente el perfil característico del EPC- β -CD [74] y no se observan señales de oxidación/reducciones asociadas a la TcH₄⁺ en una ventana de potencial de -0.30 a 0.815 V.

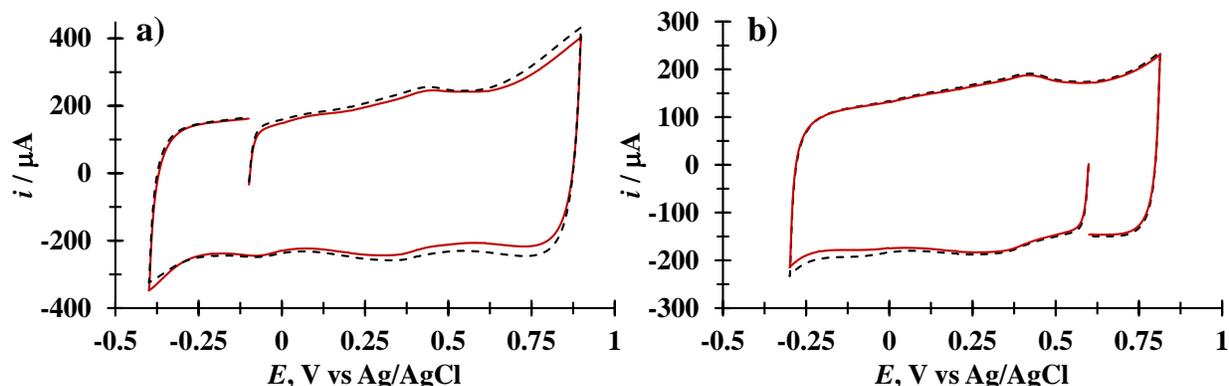


Figura 4.3. VC de TcH_4^+ 51 μM (línea continua) y el VC en ausencia de TcH_4^+ (línea punteada) sobre un EPC/ β -CD vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$ en una solución de HClO_4 0.1 M a pH 1.0. Ambos VC fueron obtenidos a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} , **a)** dirección anódica con un potencial de corriente nula $E_{i=0}=-0.10 \text{ V}$ y **b)** dirección catódica con un potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.60 \text{ V}$.

Debido a que la especie TcH_4^+ no presenta señales electroactivas sobre el EPC y el EPC/ β -CD, se propone la modificación de la superficie de un EPC utilizando una supramolécula plasmónica de oro. La modificación de la superficie de un EPC se lleva a cabo utilizando una solución de AuNE- β -CD, ver capítulo 1, mediante voltamperometría cíclica sucesiva, 30 ciclos, en HClO_4 1 M, iniciando el barrido de potencial en potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.2 \text{ V}$ en dirección anódica a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} . En la figura 4.4 se muestran dos voltamperogramas cíclicos sucesivos de 30 ciclos en un sistema de AuNE- β -CD sobre un EPC en una ventana de potencial de 1.5 a -0.8 V, iniciando el barrido de potencial en potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.2 \text{ V}$ en dirección anódica a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . Es posible observar que la corriente aumenta al incrementar el número de ciclos dando como resultado la electropolimerización de la AuNE- β -CD y, por tanto, la modificación de la superficie del EPC, se aprecia que la interacción de las nanoestrellas de oro con β -CD inhiben las señales típicas anódicas y catódicas de la ciclodextrina, dando lugar a dos picos en 0.418 V (O_1) y 0.938 V (O_2), así mismo se observa dos picos catódicos en 0.217 (R_1) y -0.447 V (R_2), ver inserto del figura 4.4, lo cual es

un indicativo de la presencia de las AuNE, dando como resultado una electropolimerización hacia el EPC con AuNE• β -CD (EPC/AuNE• β -CD).

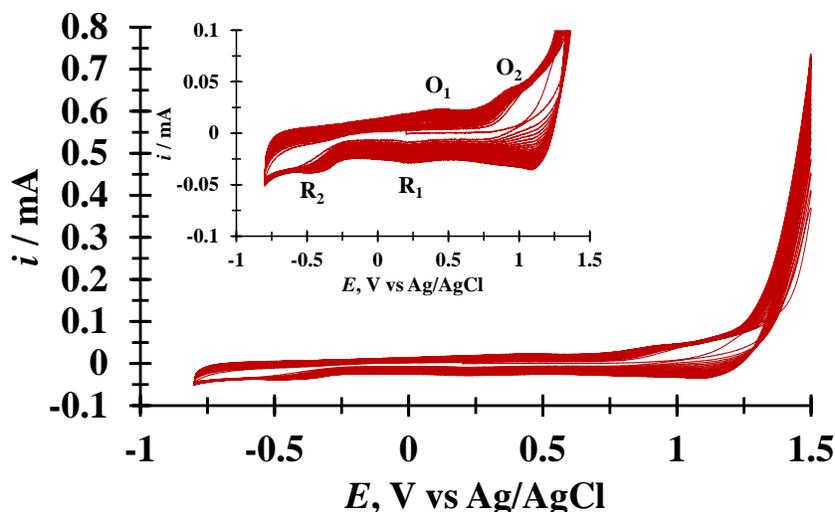


Figura 4.4. Voltamperograma cíclico sucesivo (30 ciclos) de un sistema β -CD 7 mM con AuNE 1.41×10^{-3} M sobre un EPC vs Ag/AgCl_(sat) en medio de HClO₄ 1 M en un intervalo de potencial de 1.5 a -0.8 V, potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.2$ V a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} .

En la figura 4.5 se muestra el VC de TcH₄⁺ 51 μ M sobre EPC/AuNE• β -CD (línea continua) y el perfil de la membrana de EPC/AuNE• β -CD (línea punteada), en una solución de HClO₄ 0.1 M a pH 1.0 a una velocidad de barrido de 0.1 Vs^{-1} : 4.5a iniciando el barrido de potencial en sentido anódico y 4.5b iniciando el barrido de potencial en sentido catódico. En ambos casos es posible apreciar la presencia de tres picos anódicos a 0.096 V (O₁), 0.180 V (O₂) y 0.330 V (O₃) y tres picos catódicos a 0.080 V (R₁), 0.160 V (R₂) y 0.330 V (R₃) asociados a la especie TcH₄⁺.

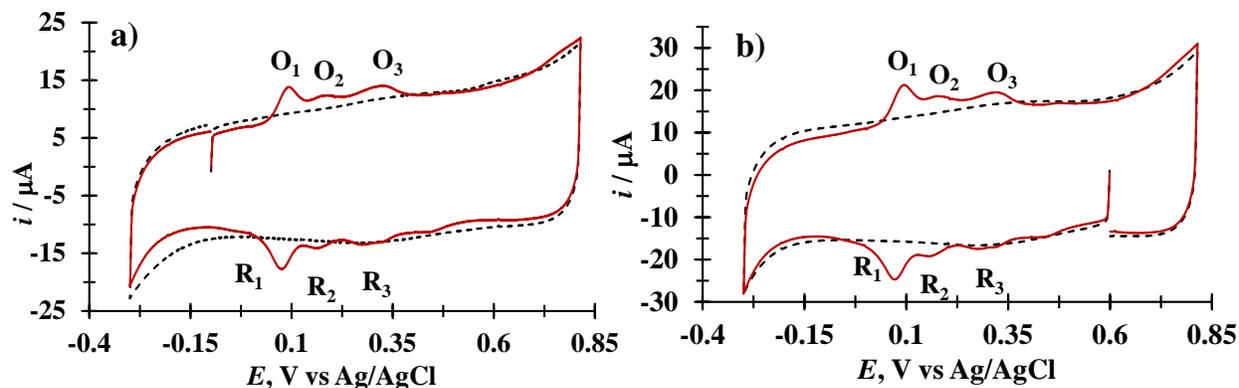
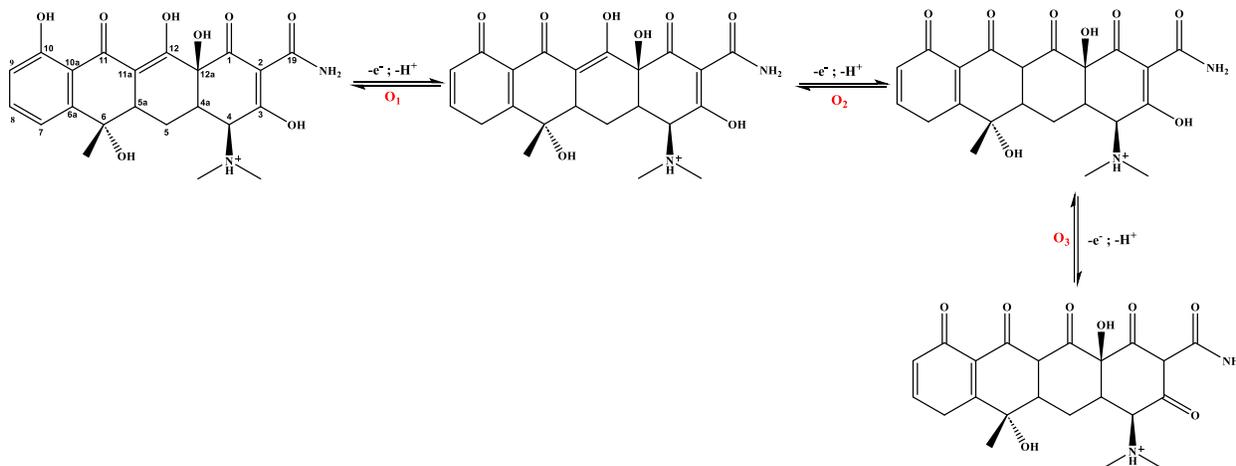


Figura 4.5. Voltamogramas cíclicos obtenidos para el EPC/AuNE•β-CD, en medio HClO₄ 0.1 M (línea punteada) y con TcH₄⁺ 51 mM. El VC obtenido en el rango de 0.8 a -0.3 V iniciando el barrido en **a)** $E_{i=0} = -0.1$ V en dirección anódica y **b)** $E_{i=0} = 0.6$ V en dirección catódica, ambos a una velocidad de barrido de 0.1 Vs⁻¹.

A partir de las señales obtenidas de oxidación y reducción de la especie TcH₄⁺ se propone un mecanismo electroquímico de oxidación el cual involucra tres procesos de oxidación-reducción. En el esquema 4.3 se propone el mecanismo de oxidación de TcH₄⁺ y es posible observar que el primer proceso de oxidación se lleva en el grupo hidroxilo del C-10 generando su correspondiente grupo cetónico. La segunda oxidación se presenta en el grupo hidroxilo del C-12 y, finalmente, el tercer proceso de oxidación de la especie TcH₄⁺ se presenta en el grupo hidroxilo enlazado a C-3 teniendo así la especie TcH₄⁺ totalmente oxidada perdiendo tres electrones.



Esquema 4.3. Mecanismo de oxidación electroquímico de TcH₄⁺propuesto en este trabajo.

Se puede observar que los picos anódicos y catódicos de la figura 4.5 presentan una simetría que refiere a un proceso reversible. Con la finalidad de ratificar que el proceso es reversible se aplica el criterio de la diferencia de potencial ($\Delta E_p \approx 60/n$ mV), para este caso con $n=3$, para la relación de O_1-R_1 , presenta un valor de 16 mV, para O_2-R_2 de 20 mV y finalmente para O_3-R_3 presenta un valor de 0 mV. Así mismo se aplica el criterio del cociente de corriente, $i_{pc}/i_{pa}=1$, obteniendo valores de 0.833, 0.880 y 1.000 respectivamente, lo que implica que se trata de procesos reversibles [3].

Con la finalidad de conocer el proceso de transferencia de masa de la especie TcH_4^+ sobre el EPC/AuNE• β -CD se lleva a cabo un estudio de velocidades de barrido de potencial por VC. En la figura 4.6 se presenta una familia de VC para la especie TcH_4^+ 51 μ M en $HClO_4$ 0.1 M a diferentes velocidades de barrido de potencial sobre un EPC/AuNE• β -CD y se aprecia que a medida que aumenta la velocidad de barrido de potencial, v , la corriente del pico anódico y catódico aumenta proporcionalmente.

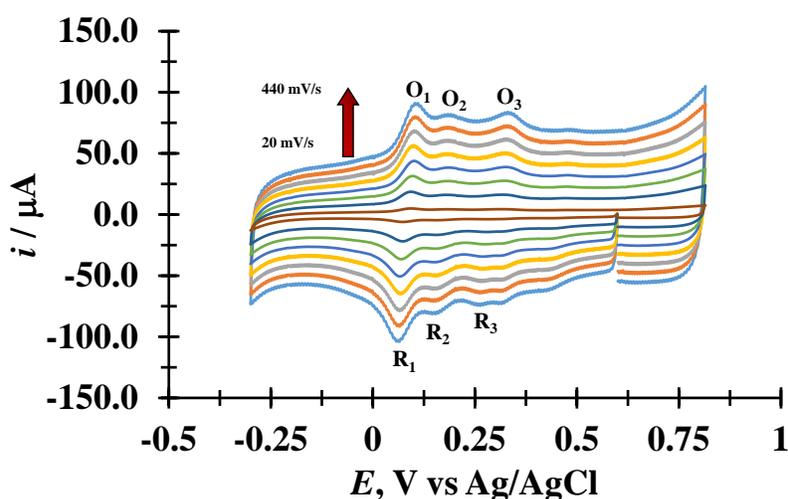


Figura 4.6. Familia de voltamperogramas cíclicos de TcH_4^+ 51 μ M sobre EPC/AuNE• β -CD a distintas velocidades de barrido de potencial (20 a 440 mVs^{-1}) en $HClO_4$ 0.1 M a pH 1 en un intervalo de potencial de -0.30 a 0.815 V, potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.60$ V a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} .

En la figura 4.7 se muestra el gráfico de corriente de pico (i_p) en función de la velocidad de barrido de potencial (v) para el proceso catódico y anódico. Estos procesos presentan una tendencia lineal con un coeficiente de correlación de 0.999 lo cual es característico de un proceso de transferencia de masa adsorptivo [76].

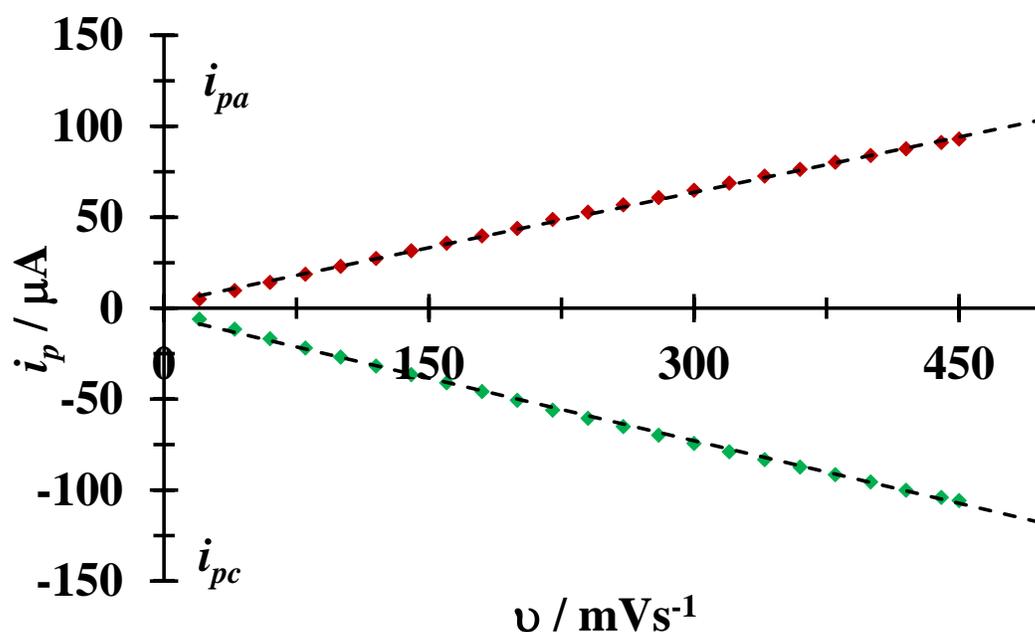


Figura 4.7. Gráficos de i_{pa} vs v y i_{pc} vs v de TcH_4^+ $51 \mu\text{M}$ sobre EPC/AuNE• β -CD a distintas velocidades de barrido de potencial (20 a 440 mVs^{-1}) en HClO_4 0.1 M a pH 1 en un intervalo de potencial de -0.30 a 0.815 V , potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.60 \text{ V}$ a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} .

La figura 4.8 muestra los gráficos de $\log(i_p)$ en función de $\log(v)$ para 4.8a, pico anódico y 4.8b, pico catódico los cuales presentan una pendiente de 0.940 y 0.919 respectivamente, lo cual corrobora que el proceso de transferencia de masa está controlado por adsorción [56].

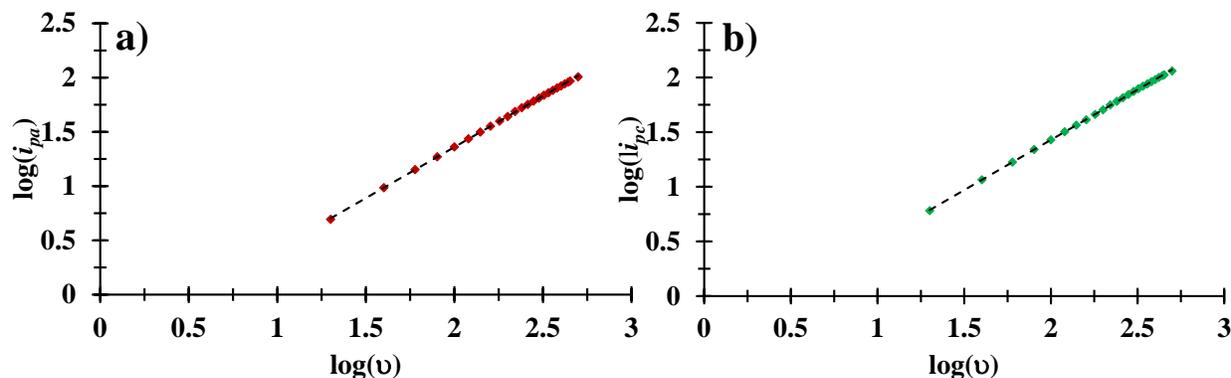


Figura 4.8. Gráficos de **a)** $\log(i_{pa})$ vs $\log(v)$ y **b)** $\log(i_{pc})$ vs $\log(v)$ de TcH_4^+ 51 μM sobre EPC/AuNE• β -CD a distintas velocidades de barrido de potencial (20 a 440 mVs^{-1}) en HClO_4 0.1 M a pH 1 en un intervalo de potencial de - 0.30 a 0.815 V, potencial de corriente nula $E_{i=0}=0.60$ V a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} .

Las señales anódicas y catódicas de TcH_4^+ observadas sobre EPC/AuNE• β -CD se asocian a los plasmones de superficie localizados que se presenta en la supramolécula AuNE• β -CD. Estas oscilaciones colectivas de electrones de la banda de conducción en la nanopartícula son excitadas por la incidencia de la luz generando intensos campos electromagnéticos aumentando el área electroactiva del electrodo de trabajo y, así una mayor sensibilidad, interacción y adsorción de la molécula [77].

Con la finalidad de corroborar la presencia de los plasmones de superficie localizados presentes en la supramolécula AuNE• β -CD sobre la superficie del EPC se lleva a cabo la caracterización por HRSEM de la superficie de EPC, EPC/ β -CD y EPC/AuNE• β -CD. En la figura 4.9 se muestran las micrografías de EPC (4.9a), EPC/ β -CD (4.9b) y EPC/AuNE• β -CD (4.9c), donde es posible observar diferencias estructurales sobre el grafito de la pasta de carbono. En la figura 4.9a se aprecia sobre el EPC geometrías heterogéneas a distintos tamaños y direcciones denominadas lajitas que, son estructuras características de carbono amorfo. Además, se puede apreciar porosidad sobre la superficie del EPC con tamaños alrededor de 3.63 μm . El análisis composicional por EDS exhibe homogeneidad en términos composicionales sobre la superficie del

EPC, siendo el carbono el componente en su totalidad sin presentar contaminaciones. Es importante destacar que pese a que se implementa un aglutinante (aceite mineral nujol) para la formación de la pasta, este al ser una parafina aceitosa inerte no reacciona ni interfiere en el estudio composicional. Al llevar a cabo la modificación de la superficie del EPC con β -CD y AuNE• β -CD (4.9b y 4.9c) el grafito presenta una estructuración con mayor homogeneidad en tamaños y geometría mostrando rigidez y direccionalidad sobre la superficie, además, se observa la disminución de poros y una superficie aglomerada perdiendo su superficie plana.

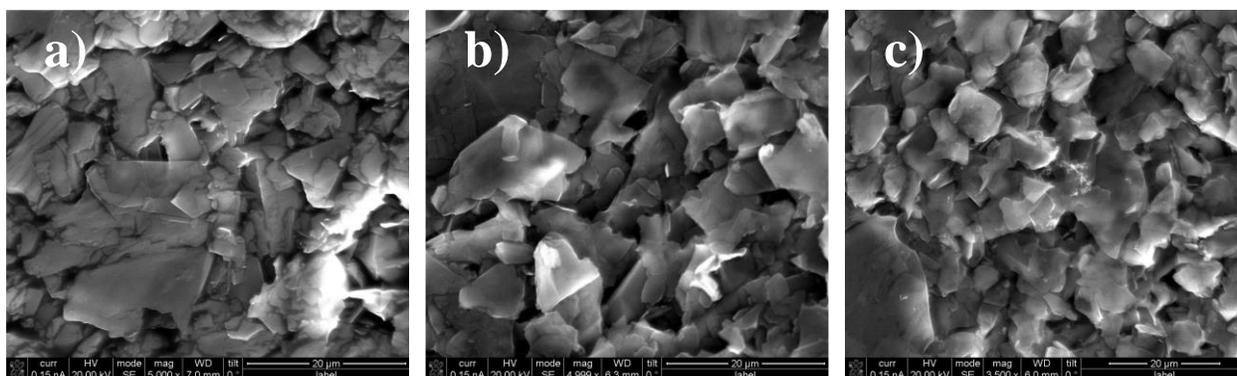


Figura 4.9. Micrografías por HRSEM a 20 μ m a) EPC, b) EPC/ β -CD y c) EPC/AuNE• β -CD.

Al aumentar la magnitud a 10,000x en HRSEM (figura 4.10) es posible observar con más claridad los cambios estructurales en la superficie de los tres electrodos de estudio. En las figuras 4.10b y 4.10c se aprecia con mayor claridad la existencia de trazas de lajita aglomeradas; y específicamente en 4.10c es evidente la presencia de estructuras estrelladas de oro atribuidas a AuNE• β -CD sobre la superficie del EPC.

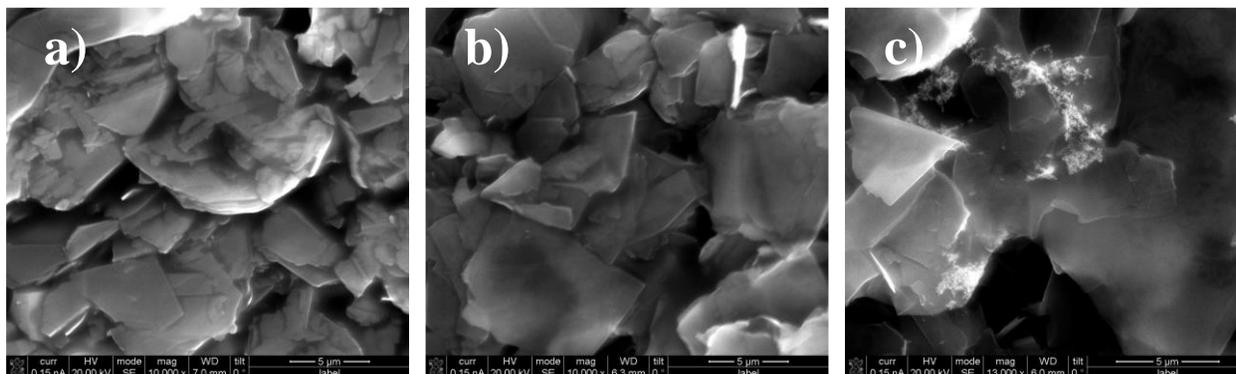


Figura 4.10. Micrografías por HRSEM a 5 μm de a) EPC, b) EPC/ β -CD y c) EPC/AuNE $\cdot\beta$ -CD.

Una vez caracterizado el sensor se lleva a cabo la determinación de los parámetros de desempeño analítico de cuantificación de TcH_4^+ . En la figura 4.11a se presenta una familia de voltamperogramas lineales para distintas concentraciones del analito de 0 a 51 mM a pH 1 para el estudio de determinación de TcH_4^+ sobre el EPC/AuNE $\cdot\beta$ -CD vs Ag/AgCl, donde se puede observar que la i_{pa} aumenta en función de la concentración. En la figura 4.11b se presenta el gráfico de $i_{pa} = f([\text{TcH}_4^+])$ el cual tiene una tendencia lineal con ecuación $i_{pa} = (21.22 \pm 0.706) [\text{TcH}_4^+] \mu\text{A mM}^{-1} + (-0.0601 \pm 0.23) \mu\text{A}$ y una correlación lineal $R^2 = 0.999$. A partir de los datos de la ecuación anterior se obtuvo el límite de cuantificación (LC) de $(0.0555 \pm 0.0068) \text{ mM}$ y el límite de detección de (LD) $(0.0166 \pm 0.0068) \text{ mM}$ y una sensibilidad de $(21.22 \pm 0.706) \mu\text{A mM}^{-1}$.

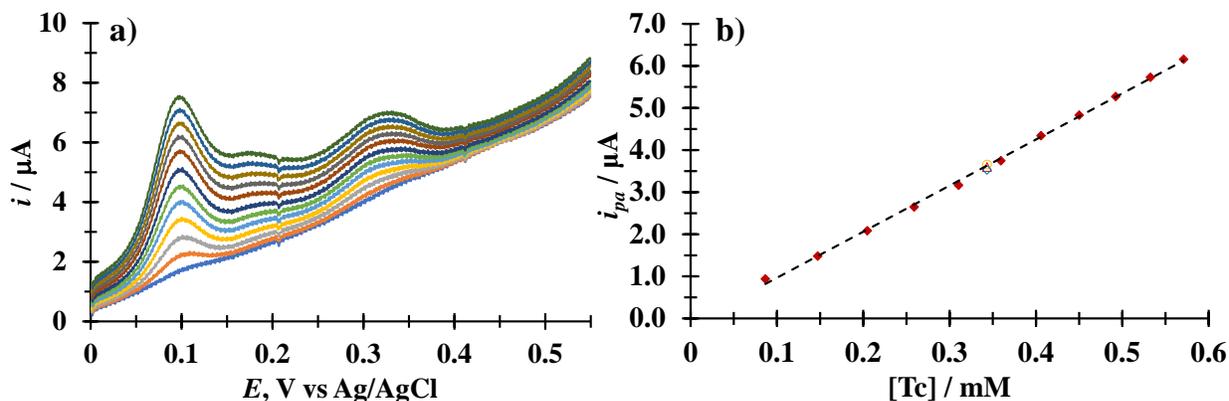


Figura 4.11. a) Voltamperograma lineal de TcH_4^+ sobre EPC/AuNE• β -CD a distintas concentraciones de TcH_4^+ (0 a 51 μM) a pH 1 en un intervalo de potencial de -0.300 a 0.815 V, potencial de corriente nula $E_{i=0} = 0.60$ V a una velocidad de 0.1 Vs^{-1} . b) gráfica $i_{pa} = f([\text{TcH}_4^+])$.

En la tabla 4.1 se presentan los valores de parámetros de desempeño analítico LD, LC y sensibilidad para tetraciclina obtenidos por diferentes técnicas experimentales reportados en la literatura comparados con los valores obtenidos en este trabajo y se puede apreciar que el valor de LD obtenido en este trabajo supera algunos obtenidos mediante HPLC, sin embargo no así para otras técnicas más complejas, cabe resaltar que técnicas como HPLC o espectroscopía de fibra óptica son técnicas de elevados costos en mantenimiento y reactivos en comparación con el método aquí propuesto. Es importante mencionar que los valores de parámetros de desempeño aquí obtenidos nos permitirían validar a futuro un método para determinación de Tc en medicamentos, y más aún, detectar Tc a las concentraciones que se han encontrado en efluentes mexicanos de 51 $\mu\text{g/mL}$ [78].

Tabla 4.1. Parámetros de desempeño analítico para Tc mediante diferentes técnicas.

Técnica experimental	LD / μg/mL	LC / μg/mL	Sensibilidad / μA mM⁻¹	Referencia
Complejo Tc-Hg(II) UV-Vis / HPLC	0.587 - 2.532 ± N.R.	N. R.	N. R.	[79]
HPLC	5 - 150 ± N.R.	N. R.	N. R.	[79]
Espectroscopía con fibra óptica	N. R.	0.25 ± N.R.	N. R.	[80]
Electrodo de carbón vítreo modificado con malaquita por voltamperometría de onda cuadrada	0.071 ± N.R.	0.236 ± N.R.	N. R.	[81]
EPC/ AuNE•β-CD por V. C.	7.11 ± 0.3	24.74 ± 3.022	21.22 ± 0.706	Este trabajo

N. R. = No reportado

4.6 Conclusiones

Se llevó a cabo la caracterización electroquímica de tetraciclina a pH 1 (TcH_4^+) a partir de la técnica de voltamperometría cíclica iniciando el estudio sobre un EPC, en dirección anódica y catódica, sin observar alguna señal de oxidación y reducción asociada a la presencia del analito en estudio. Se propuso la implementación de β -CD para la modificación de la superficie del EPC, sin embargo, tampoco existieron señales asociadas a la especie de tetraciclina. Se propuso una segunda modificación de la superficie del EPC con AuNE• β -CD obteniendo una electropolimerización distintiva y diferente.

Se realizó la caracterización por microscopía electrónica de barrido de la superficie de EPC, EPC/ β -CD y EPC/AuNE• β -CD observando cambios estructurales en cuanto al grafito presente en la pasta de carbono implementada. Además, se observan nanoestructuras estrelladas sobre la superficie de EPC/AuNE• β -CD y por medio de EDS se confirma que su composición es de oro aseverando así la modificación de la superficie del EPC con la supramolécula plasmónica de oro.

La modificación con la supramolécula plasmónica de oro resultó la adecuada para la determinación de TcH_4^+ en solución acuosa tanto en dirección anódica como en dirección catódica. El estudio muestra tres picos anódicos y tres picos catódicos y a partir de la simetría de estos y por criterios de reversibilidad se intuye que los procesos son reversibles. Además, a partir de un estudio de VC de TcH_4^+ a distintas velocidades de barrido de potencial se determinó que el proceso de transferencia de masa es adsorptivo. Finalmente, a partir del estudio de voltamperometría lineal se determinaron parámetros de desempeño analítico: límite de cuantificación (0.0556 ± 0.0068) mM, límite de detección (0.1661 ± 0.0068) mM y sensibilidad (21.221 ± 0.706) mA mM⁻¹. Es importante destacar que los límites de cuantificación obtenidos se encuentran dentro de los límites reportados en la literatura.

Conclusiones generales

En el presente trabajo de investigación se desarrolló un sensor a partir de la modificación de la superficie de un EPC a partir de una supramolécula plasmónica de oro (AuNE• β -CD) para la determinación y cuantificación de TcH_4^+ en medio acuoso.

Derivado de los objetivos propuestos en el trabajo se llevó a cabo la síntesis de nanoestrellas de oro a partir de una ruta sintética de un solo paso y se llevó a cabo la funcionalización con β -CD para la formación de una supramolécula plasmónica de oro (AuNE• β -CD). Estos productos se caracterizaron por HRSEM y HRTEM donde se corroboró la geometría estrellada junto con su composición elemental y su funcionalización con el oligosacárido.

Se llevó a cabo la determinación de las constantes de acidez en medio acuoso a partir de espectroscopía de absorción de UV-Vis junto con el programa computacional SQUAD y electroforesis capilar de zona. Se obtuvieron cuatro valores de constantes de acidez de manera experimental ($\text{pK}_{a1} = 3.277 \pm 0.067$, $\text{pK}_{a2} = 7.397 \pm 0.055$, $\text{pK}_{a3} = 9.349 \pm 0.039$ y $\text{pK}_{a4} = 11.278 \pm 0.024$) y así la especiación de Tc (TcH_4^+ , TcH_3 , TcH_2^- , TcH^{2-} y Tc^{3-}) demostrando el predominio de todas las especies.

Se estudió la estabilidad de Tc en medio acuoso a partir de espectroscopía de absorción de UV-Vis demostrando que la Tc a distintos valores de pH presenta porcentajes de degradación de 2.380 - 25.879 %. Para poder estabilizar al antibiótico se propuso la implementación de AuNE• β -CD demostrando que la supramolécula plasmónica infiere estabilidad a Tc a distintas especies de Tc (TcH_4^+ , TcH_2^- , TcH^{2-}). Además, se demostró la interacción de AuNE• β -CD con Tc formando así un posible complejo de inclusión.

Finalmente se caracterizó la Tc a pH 1 (TcH_4^+) con un sensor fabricado a partir de la modificación de un electrodo de pasta de carbono con AuNE• β -CD. Se estudio la superficie del sensor EPC/AuNE• β -CD por HRSEM y EDS observando la presencia de AuNE• β -CD sobre la superficie del EPC. Los resultados demostraron que la formación del sensor fue el adecuado para la determinación y cuantificación del analito en estudio. Se observó la existencia de tres procesos anódicos y tres procesos catódicos para la molécula de TcH_4^+ y por un estudio a diferentes velocidades de barrido de potencial se demuestra que el proceso de transferencia de masa es adsortivo. Finalmente, a partir del estudio de voltamperometría lineal se determinaron parámetros de desempeño analítico: límite de cuantificación (0.0556 ± 0.0068) mM, límite de detección (0.1661 ± 0.0068) mM y sensibilidad (21.221 ± 0.706) mA mM⁻¹. Es importante destacar que los límites de cuantificación obtenidos se encuentran dentro de los límites reportados en la literatura.

Perspectivas

Los estudios que se presentaron en esta investigación permiten la continuidad y nuevos aportes en cuanto al uso del sensor fabricado con la supramoléculas plasmónica de oro. Se pretende la implementación y la validación del EPC/AuNE• β -CD en muestras reales con tetraciclina y así mismo mejorar los parámetros de desempeño analítico mediante técnicas electroquímicas más sensibles como voltamperometría diferencial de pulso y onda cuadrada. Además, en el estudio de la implementación de una supramolécula plasmónica de oro podría abrir la posibilidad de una multi determinación con otros analitos farmacéuticos.

Pese a que no fue un objetivo de estudio en la presente investigación, las distintas técnicas de caracterización de los electrodos muestran cambios estructurales considerables en la superficie de cada uno, por lo que se abre la posibilidad de un estudio a profundidad acerca de los procesos moleculares que acontecen en las distintas modificaciones del electrodo de pasta de carbono y así comprender molecularmente el sensor.

Se recomienda dar continuidad al estudio de la formación de los complejos de inclusión entre la supramolécula plasmónica de oro con las distintas especies de tetraciclina y así poder determinar las constantes de inclusión y así poder entender la formación del complejo de inclusión por espectroscopía de absorción de UV-Vis.

Bibliografía

- [1] P. E. Rosenfeld, L. G. H. Feng. (2011). Risks of Hazardous Wastes. Boston. Ed. William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-62341-2>.
- [2] R. Kumar, M. Qureshi, D. Kumar-Vishwakarma, N. Al-Ansari, A. Kuriqi, A. Elbeltagi, A. Saraswat. (2022). A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.*, 6, <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100219>.
- [3] S. Sauvé, M. Desrosiers. (2014). A review of what is an emerging contaminant. *Chem. Cent. J.*, 8, 15, <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-15>.
- [4] E. Klein, T. Van-Boeckel, E. Martinez, S. Pant, S. Gandra, S. Levin, H. Goossens, R. Laxminarayan. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 10, 115, <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>.
- [5] N. Koch, N. Islam, S. Sonowal, R. Prasad, H. Sarma. (2021). Environmental antibiotics and resistance genes as emerging contaminants: Methods of detection and bioremediation. *Curr. Res. Microb. Sci.*, 2, <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100027>.
- [6] E. Baralla, M. Demontis, F. Dessì, M. Varoni. (2021). An Overview of Antibiotics as Emerging Contaminants: Occurrence in Bivalves as Biomonitoring Organisms. *Animals*, 11, 11, <https://doi.org/10.3390/ani11113239>.

- [7] Q. Chang, W. Wang, G. Regev-Yochay, M. Lipsitch, W. Hanage. (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evol. Appl.*, 8, 3, <https://doi.org/10.1111/eva.12185>.
- [8] L. Lu, J. Liu, Z. Li, X. Zou, J. Guo, Z. Liu, J. Yang, Y. Zhou. (2020). Antibiotic resistance gene abundances associated with heavy metals and antibiotics in the sediments of Changshou Lake in the three Gorges Reservoir area, China. *Ecol. Indic.*, 113, <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106275>.
- [9] A. Chen, Y. Chen, C. Ding, H. Liang, B. Yang. (2015). Effects of tetracycline on simultaneous biological wastewater nitrogen and phosphorus removal. *RSC Adv.*, 5, 73, <https://doi.org/10.1039/C5RA08434B>.
- [10] P. Mahamallik, S. Saha, A. Pal. (2015). Tetracycline degradation in aquatic environment by highly porous MnO₂ nanosheet assembly. *Chem. Eng. J.*, 276, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.04.064>.
- [11] S. Yang, J. Cha, K. Carlson. (2005). Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1097, 1, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.08.027>.
- [12] A. Pena, M. Paulo, L. Silva, L. Seifrtová, C. Lino, P. Solich. (2010). Tetracycline antibiotics in hospital and municipal wastewaters: a pilot study in Portugal. *Anal. Bioanal. Chem.*, 396, 8, <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3581-3>.

- [13] J. C. Durán-Álvarez, B. Prado-Pano, B. Jiménez-Cisneros. (2012). Sorption and desorption of carbamazepine, naproxen and triclosan in a soil irrigated with raw wastewater: Estimation of the sorption parameters by considering the initial mass of the compounds in the soil. *Chemosphere*, 88, 1, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.067>.
- [14] V. H. Robledo-Zacarías, M. A. Velázquez-Machuca, J. L. Montañez-Soto, J. L. Pimentel-Equihua, A. A. Vallejo-Cardona, M. D. López-Calvillo, J. Venegas-González. (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de morelia, michoacán, méxico. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 33, 2, <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.04>.
- [15] H. Xia, J. Chen, X. Chen, K. Huang, Y. Wu. (2019). Effects of tetracycline residuals on humification, microbial profile and antibiotic resistance genes during vermicomposting of dewatered sludge. *Environ. Pollut*, 252, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.048>.
- [16] T. Han, Y. Liang, Z. Wu, L. Zhang, Z. Liu, Q. Li, X. Chen, W. Gou, L. Jiang, F. Pan, S. Ge, Z. Mi, Z. Liu, H. Huang, X. Li, J. Zhou, Y. Li, J. Wang, Z. Zhang, Y. Tang, L. Yang, M. Wu. (2019). Effects of tetracycline on growth, oxidative stress response, and metabolite pattern of ryegrass. *J. Hazard. Mater.*, 380, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120885>.
- [17] H. Ramírez-Malule, D. H. Quiñones-Murillo, D. Manotas-Duque. (2020). Emerging contaminants as global environmental hazards. A bibliometric analysis. *Emerg. Contam.*, 6, <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2020.05.001>.

- [18] R. Kumar Mishra, S. Samyukthalakshmi-Mentha, Y. Misra, N. Dwivedi. (2023). Emerging pollutants of severe environmental concern in water and wastewater: A comprehensive review on current developments and future research. *Water-Energy Nexus*, 6, <https://doi.org/10.1016/j.wen.2023.08.002>.
- [19] Y. Liang, M. B. Denton, R. B. Bates. (1998). Stability studies of tetracycline in methanol solution. *J. Chromatogr. A*, 827, 1, [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(98\)00755-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(98)00755-9).
- [20] B. Yang, X. Cheng, Y. Zhang, W. Li, J. Wang, H. Guo. (2021). Insight into the role of binding interaction in the transformation of tetracycline and toxicity distribution. *Enviro. Sci. Ecotechnol.*, 8, <https://doi.org/10.1016/j.ese.2021.100127>.
- [21] Y. Wu, R. Fassihi. (2005). Stability of metronidazole, tetracycline HCl and famotidine alone and in combination. *Int. J. Pharm.*, 290, 1, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.10.015>.
- [22] Y. Amangelsin, Y. Semenova, M. Dadar, M. Aljofan, G. Bjørklund. (2023). The Impact of Tetracycline Pollution on the Aquatic Environment and Removal Strategies. *Antibiotics (Basel)*, 12, 3, <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030440>.
- [23] M. O. Schmitt, S. Siegfried, M. L. Nelson. (2007). Novel Insight into the Protonation-Deprotonation Equilibria of Tetracycline and Several Derivatives in Aqueous Solution. II. Analysis of the pH-Dependent Fluorescence Spectra by the SVD Technique. *Z. für Phys. Chem.*, 221, 2, <https://doi.org/10.1524/zpch.2007.221.2.235>.

- [24] M. F. M. Tavares, V. L. McGuffin. (1994). Separation and characterization of tetracycline antibiotics by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 686, 1, [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(94\)89014-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(94)89014-5).
- [25] H. A. Duarte, S. Carvalho, E. B. Paniago, A. M. Simas. (1999). Importance of Tautomers in the Chemical Behavior of Tetracyclines†. *J. Pharm. Sci.*, 88, 1, <https://doi.org/10.1021/js980181r>.
- [26] A. Townshend, D. T. Burns, Ryszard Lobinski, E. J. Newman, G. Guilbault, Z. Marczenko, H. Onishi. (1993). Dictionary of Analytical Reagents Chapman & Hall chemical database. Ed. CRC Press.
- [27] D. J. Leggett. (1985). Computational Methods for the Determination of Formation Constants. Modern Inorganic Chemistry. Boston, Ed. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4934-1_6.
- [28] A. Rojas-Hernández, N. Rodríguez-Laguna, M. T. Ramírez-Silva, R. Moya-Hernández. (2012). Distribution Diagrams and Graphical Methods to Determine or to Use the Stoichiometric Coefficients of Acid-Base and Complexation Reactions. *InTech*, <https://doi.org/10.5772/34640>.
- [29] A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez, I. González, J. G. Ibanez. (1995). Predominance-Zone Diagrams in Solution Chemistry. Dismutation Processes in Two-Component Systems (M-L). *J. Chem. Educ.*, 72, 12, <https://doi.org/10.1021/ed072p1099>.
- [30] L. Jin, X. Amaya-Mazo, M. E. Apel, S. S. Sankisa, E. Johnson, M. A. Zbyszynska, A. Han. (2007). Ca^{2+} and Mg^{2+} bind tetracycline with distinct stoichiometries and

linked deprotonation. *Biophys. Chem.*, 128, 2,
<https://doi.org/10.1016/j.bpc.2007.04.005>.

- [31] D. Rodríguez-Barrientos, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M. T. Ramírez-Silva. (2009). Determination of pKa values of tenoxicam from ¹H NMR chemical shifts and of oxicams from electrophoretic mobilities (CZE) with the aid of programs SQUAD and HYPNMR. *Talanta*, 80, 2, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.058>.
- [32] S. C. Moldoveanu, V. David. (2017). Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis. Boston, Ed. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00003-2>.
- [33] L. Nytrrová, K. Odehnalová, J. Pazourek. (2022). Extension of the Internal Standard Method for Determination of Thermodynamic Acidity Constants of Compounds Sparingly Soluble in Water by Capillary Zone Electrophoresis. *ACS Omega*, 7, 1, <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06224>.
- [34] N. T. Le, T. J. M. Boskovic, M. M. Allard, K. E. Nock, S. R. Kwon, C. C. Perry. (2022). Gold Nanostar Characterization by Nanoparticle Tracking Analysis. *ACS Omega*, 7, 49, <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03275>.
- [35] Z. Xi, R. Zhang, F. Kiessling, T. Lammers, R. M. Pallares. (2023). Role of Surface Curvature in Gold Nanostar Properties and Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng*, 10, 1, <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.3c00249>.
- [36] S. M. Mousavi, M. Zarei, S. A. Hashemi, S. Ramakrishna, W.-H. Chiang, C. W. Lai, A. Gholami. (2020). Gold nanostars-diagnosis, bioimaging and biomedical

applications. *Drug Metab. Rev.*, 52, 2,
<https://doi.org/10.1080/03602532.2020.1734021>.

- [37] M. Amjadi, Z. Abolghasemi-Fakhri. (2018). Gold nanostar-enhanced chemiluminescence probe for highly sensitive detection of Cu(II) ions. *Sens. Actuators B: Chem.*, 257, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.11.013>.
- [38] Y. Liu, B. M. Crawford, T. Vo-Dinh. (2018). Gold nanoparticles-mediated photothermal therapy and immunotherapy. *Immunotherapy*, 10, 13, <https://doi.org/10.2217/imt-2018-0029>.
- [39] G. Roa-Morales, T. Ramírez-Silva, L. Galicia. (2003). Carbon paste electrodes electrochemically modified with cyclodextrins. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 7, <https://doi.org/10.1007/s10008-002-0325-0>.
- [40] A. Cid-Samamed, J. Rakmai, J. C. Mejuto, J. Simal-Gandara, G. Astray. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chem.*, 384, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132467>.
- [41] S. B. Carneiro, F. I. Costa-Duarte, L. Heimfarth, J. Siqueira-Quintans, L. J. Quintans-Júnior, V. F. da Veiga-Júnior, A. A. Neves de Lima. (2019). Cyclodextrin-Drug Inclusion Complexes: In Vivo and In Vitro Approaches. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 3, <https://doi.org/10.3390/ijms20030642>.
- [42] G. Tiwari, R. Tiwari, A. K. Rai. (2010). Cyclodextrins in delivery systems: Applications. *J. Pharm. Bioalli. Sci.*, 2, 2, <https://doi.org/10.4103/0975-7406.67003>.

- [43] L. Minati, F. Benetti, A. Chiappini, G. Speranza. (2014). One-step synthesis of star-shaped gold nanoparticles. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 441, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.10.025>.
- [44] B. Mekuye, B. Abera. (2023). Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications. *Nano Select*, 4, 8, <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>.
- [45] C. L. Nehl, H. Liao, J. H. Hafner. (2006). Optical Properties of Star-Shaped Gold Nanoparticles. *Nano Lett.*, 6, 4, <https://doi.org/10.1021/nl052409y>.
- [46] F. Hao, C. L. Nehl, J. H. Hafner, P. Nordlander. (2007). Plasmon Resonances of a Gold Nanostar. *Nano Lett.*, 7, 3, <https://doi.org/10.1021/nl062969c>.
- [47] K. M. Mayer, J. H. Hafner. (2011). Localized Surface Plasmon Resonance Sensors. *Chemical Reviews*, 111, 6, <https://doi.org/10.1021/cr100313v>.
- [48] M. J. Oliveira, M. P. de Almeida, D. Nunes, E. Fortunato, R. Martins, E. Pereira, H. J. Byrne, H. Águas, R. Franco. (2019). Design and Simple Assembly of Gold Nanostar Bioconjugates for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Immunoassays. *Nanomaterials (Basel)*, 9, 11, <https://doi.org/10.3390/nano9111561>.
- [49] V. V. Pokropivnyu, V. V. Skorokhod. (2007). Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Mater. Sci. Eng.*, 27, 5, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.09.023>.

- [50] H. C. Erythropel, J. B. Zimmerman, T. M. de Winter, L. Petitjean, F. Melnikov, C. Ho Lam, A. W. Lounsbury, K. E. Mellor, N. Z. Janković, Q. Tu, L. N. Pincus, M. M. Falinski, W. Shi, P. Coish, D. L. Plata, P. T. Anastas. (2018). The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. *Green Chem*, 20, <https://doi.org/10.1039/C8GC00482J>.
- [51] K. Ariga. (2016). *Biomaterials Nanoarchitectonics*. Ed. William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37127-8.00003-0>.
- [52] A. Cid-Samamed, J. Rakmai, J. C. Mejuto, J. Simal-Gandara, G. Astray. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*, 384, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132467>.
- [53] V. Aiassa, C. Garnero, A. Zoppi, M. R. Longhi. (2023). Cyclodextrins and Their Derivatives as Drug Stability Modifiers. *Pharmaceuticals*, 16, 8, <https://doi.org/10.3390/ph16081074>.
- [54] A. Doménech-Carbó, L. de Carvalho, M. Martini, D. P. Valencia, G. Cebrián-Torrejón. (2015). *Studies in Natural Products Chemistry*. Ed. Atta-ur-Rahman, 45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63473-3.00003-4>.
- [55] Y. Zheng, H. Karimi-Maleh, L. Fu. (2022). Advances in Electrochemical Techniques for the Detection and Analysis of Genetically Modified Organisms: An Analysis Based on Bibliometrics. *Chemosensors*, 10, 5, <https://doi.org/10.3390/chemosensors10050194>.

- [56] D. K. Gosser. (1993). Cyclic voltammetry : simulation and analysis of reaction mechanisms. New York, Ed. VCH.
- [57] N. Shah, M. B. Arain, M. Soylak. (2020). New Generation Green Solvents for Separation and Preconcentration of Organic and Inorganic Species. Ed. Mustafa Soylak and Erkan Yilmaz. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818569-8.00002-4>.
- [58] K. Jeremiah-Aoki, J. Chen. (2019). Tips of Voltammetry. IntechOpen, <https://doi.org/10.5772/intechopen.81341>.
- [59] C. Horwood. (2022). Ionic Liquids in Analytical Chemistry. Ed. Elseiver. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823334-4.00012-6>.
- [60] J. Grimshaw. (2000). Electrochemical Reactions and Mechanisms in Organic Chemistry. Amsterdam, Ed. Elsevier Science B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-044472007-8/50001-X>.
- [61] A. Chaves, J. G. Azadani, Hussain Alsalman, D. R. da Costa, R. Frisenda, A. J. Chaves, Seung Hyun Song, Y. D. Kim, Daowei He, Jiadong Zhou, A. Castellanos-Gomez, F. M. Peeters, Zheng Liu, C. L. Hinkle, Sang-Hyun Oh, Peide D. Ye, Steven J. Koester, Young Hee Lee, Ph. Avouris, Xinran Wang, Tony Low. (2020). Bandgap engineering of two-dimensional semiconductor materials. *npj 2D Mater Appl*, 4, 29, <https://doi.org/10.1038/s41699-020-00162-4>.
- [62] M. Tilli, A. Haapalinea. (2010). Handbook of Silicon Based MEMS Materials and Technologies. Bostonas, Ed. William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-1594-4.00001-2>.

- [63] I. Švancara, K. Vytřas, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang. (2009). Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis. *Electroanalysis*, 21, 1, <https://doi.org/10.1002/elan.200804340>.
- [64] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández. (1995). Carbon paste electrodes with electrolytic binder: Influence of the preparation method. *Electroanalysis*, 7, 2, <https://doi.org/10.1002/elan.1140070215>.
- [65] A. C. Powera, A. Morri. (2013). Electrochemistry. InTech. <https://doi.org/10.5772/51480>.
- [66] D. S. Guzmán-Hernández a, M. A. Martínez-Cruz, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, S. Corona-Avedaño, L. H. Mendoza-Huizar, M. Palomar-Pardavé. (2016). Simultaneous electrochemical quantification of naproxen, acetaminophen and diclofenac using a bare carbon paste electrode. *Anal. Methods*, 8, <https://doi.org/10.1039/C6AY02691E>.
- [67] J. Martínez-Guerra, M. Palomar-Pardavé, M. Romero-Romo, S. Corona-Avedaño, D. S. Guzmán-Hernández, A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez-Silva. (2022). On the Curcumin and β -Cyclodextrin Interaction in Aqueous Media. Spectrophotometric and Electrochemical Study. *ChemElectroChem*, 9, 7, <https://doi.org/10.1002/celc.202101534>.
- [68] S. Corona-Avedaño, M.T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, A. Rojas-Hernández, M. Palomar-Pardavé. (2013). Influence of the HClO₄ concentration on the β -CD electropolymerization over a carbon paste electrode and on dopamine's

- electrochemical response. *Electrochim.*, 89, 9, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.10.165>.
- [60] M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avedaño, M. Romero-Romo, G. Alarcón-Angeles, A. Merkoçi, M. T. Ramírez-Silva. (2014). Supramolecular interaction of dopamine with β -cyclodextrin: An experimental and theoretical electrochemical study. *J. Electroanal. Chem.*, 717, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.01.002>.
- [70] M. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avedaño, M. Romero-Romo, G. Alarcón-Angeles. (2014). Guest-Host Complex Formed between Ascorbic Acid and β -Cyclodextrin Immobilized on the Surface of an Electrode. *Molecules*, 19, 5, <https://doi.org/10.3390/molecules19055952>.
- [71] D. S. Guzmán-Hernández, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avedaño, M. Romero-Romo, M.T. Ramírez-Silva. (2014). Electrochemical quantification of the thermodynamic equilibrium constant of the tenoxicam- β -cyclodextrin inclusion complex formed on the surface of a poly- β -cyclodextrin-modified carbon paste electrode. *Electrochim.*, 140, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.05.092>.
- [72] M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández. (1995). Carbon paste electrodes with electrolytic binder: Influence of the preparation method. *Electroanálisis*, 1995, 7, 2, <https://doi.org/10.1002/elan.1140070215>.
- [73] R. Martínez, M.T. Ramírez, I. González. (1998). Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric

- Response. *Electroanálisis*, 10, 5, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199804\)10:5<336::AID-ELAN336>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199804)10:5<336::AID-ELAN336>3.0.CO;2-N).
- [74] G. Roa-Morales, T. Ramírez-Silva, L. Galicia. (2003). Carbon paste electrodes electrochemically modified with cyclodextrins. *J. Solid State Electrochem.*, 7, 6, <https://doi.org/10.1007/s10008-002-0325-0>.
- [75] A. C. Pereira, A. E. F. Ferreira, G. B. Bettio. (2019). β -Cyclodextrin electropolymerization: mechanism, electrochemical behavior, and optimization. *Chemical Papers*, 73, <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00732-x>.
- [76] A. J. Bard; L. R. Faulkner. (2001) *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. New York, Ed. Wiley.
- [77] J. Zhao, S. Xue, R. Ji, B. Li, J. Li. (2021). Localized surface plasmon resonance for enhanced electrocatalysis. *Chem. Soc. Rev.*, 50, 22, <https://doi.org/10.1039/D1CS00237F>.
- [78] J. Meléndez, Y. García, V. Galván, L. Día, K. Vargas, J. Mejía, R. Flores. (2020). Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos. Nuevas técnicas de detección, remediación y perspectivas de legislación en América Latina. *Rev. salud ambient*, 20, 1.
- [79] A. J. Abdulghani, H. H. Jasim, A. S. Hassan. (2013). Determination of Tetracycline in Pharmaceutical Preparation by Molecular and Atomic Absorption Spectrophotometry and High Performance Liquid Chromatography via Complex Formation with Au(III) and Hg(II) Ions in Solutions. *Int. J. Anal. Chem.*, 2013, <https://doi.org/10.1155/2013/305124>.

- [80] J. L. Rufino, F. C. B. Fernandes, M. S. Ruy, H. R. Pezza, L. Pezza. (2010). A simple spectrophotometric method for the determination of tetracycline and doxycycline in pharmaceutical formulations using chloramine-t. *Eclet. Quím.*, 35, 4, <https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000400018>.
- [81] M. Turbale, A. Moges, M. Dawit, M. Amare. (2020). Adsorptive stripping voltammetric determination of Tetracycline in pharmaceutical capsule formulation using Poly(Malachite green) modified glassy carbon electrode. *Heliyon*, 6, 12, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05782>.

Anexo 1

Stability Quotients from Absorbance Data, SQUAD, es un programa computacional escrito en lenguaje de programación informática Fortran para calcular valores de constantes de acidez de sistemas con hasta cinco componentes propuestos, empleando un enfoque de minimización de la suma de residuales al cuadrados no lineal (ecuación A1.1).

$$U = \sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^I (A_{i,k}^{obs} - A_{i,k}^{calc})^2 \quad (\text{A1.1})$$

El software tiene la capacidad de analizar diversos sistemas abarcando una variedad de equilibrios químicos como ácido-base o la formación de complejos mixtos entre metales y ligandos a partir de las iteraciones de los datos de absorbancia experimentales presentados en forma de una matriz de Gauss-Newton. El método de Gauss-Newton es iterativo y se repite hasta que se alcance una convergencia deseada, es decir, hasta que la diferencia entre los valores observados y los valores predichos sea lo más pequeña posible. Es importante destacar que para que el software compute los valores de estabilidad es necesario introducir al archivo input datos del modelo químico propuesto junto con los distintos sistemas de estudio y con las propuestas numéricas de las constantes globales de formación. Además es importante señalar el intervalo de longitudes de onda, los valores de pH junto con las concentraciones de las soluciones y las absorbancias obtenidas experimentalmente.

Los resultados se presentan en un archivo de salida (output) que reporta los valores de las constantes de equilibrio global ($\log \beta$), los coeficientes de absortividad (ϵ) para cada especie presente en el sistema, con su desviación estándar y el valor del parámetro estadístico U.

Referencias

- [1] D. J. Leggett. (1985). Computational methods for the determination of formation constants.

Anexo 2

La fracción molar es la cantidad de sustancia de un componente dividida entre la cantidad de sustancia de los componentes de la mezcla. La Tc tiene un comportamiento ácido-base de Brønsted y al ser un sistema polidonador sus equilibrios de formación global son representados por la ecuación A2.1.



En el sistema de estudio del presente trabajo, la especie química L representa Tc y el protón ácido está representado por H^+ . Este equilibrio tiene asociado una constante de formación global:

$$\beta_j = \frac{[LH_j^{j-a}]}{[L^{a-}][H^+]^j} \quad (\text{A2.2})$$

donde $j \in \{0, 1, \dots, n\}$

La definición de las fracciones molares para describir la distribución de especies del componente L con respecto al protón (H^+) se puede observar en la ecuación 8 junto con la factorización en la ecuación de balance de cantidad de sustancia del componente L a partir de la ecuación A2.1 [11].

$$f_j = \frac{[LH_j^{j-a}]}{[L]_T} = \frac{\beta_j [H^+]^j}{1 + \sum_{j=1}^n \beta_j [H^+]^j} \quad (\text{A2.3})$$

Donde $[L]_T$ es la concentración total del componente L en el sistema.

Siendo así, la fracción molar para el polireceptor está definida por:

$$f_0 = \frac{1}{1 + \sum_{i=1}^n \beta_i [L]^i} \quad (\text{A2.4})$$

y para el resto de las especies la fracción molar está representada por:

$$f_j = f_0 \beta_j [L]^j \tag{A2.5}$$

Referencias

- [1] A. Rojas-Hernández, N. Rodríguez-Laguna, M. T. Ramírez-Silva, R. Moya-Hernández. (2012). Distribution Diagrams and Graphical Methods to Determine or to Use the Stoichiometric Coefficients of Acid-Base and Complexation Reactions. *InTech*, <https://doi.org/10.5772/34640>.

Anexo 3

La espectroscopia es la investigación y medición de los espectros producidos por la materia que interactúa con la radiación electromagnética o la emite. Además, se estudian las interacciones entre partículas como electrones, protones e iones, así como su interacción con otras partículas en función de su energía de colisión. En la técnica de espectroscopia de absorción los compuestos presentes en la muestra son excitados por la radiación electromagnética (REM) emitida por una fuente de luz. Las moléculas de estos compuestos absorben la energía de la radiación electromagnética, lo que resulta en su excitación, pasando de un estado fundamental de baja energía a un estado excitado de mayor energía. En el lado opuesto de la muestra se encuentra un detector, comúnmente un fotodiodo que registra la absorción de diferentes longitudes de onda por parte de la muestra y cuantifica la magnitud de dicha absorción.

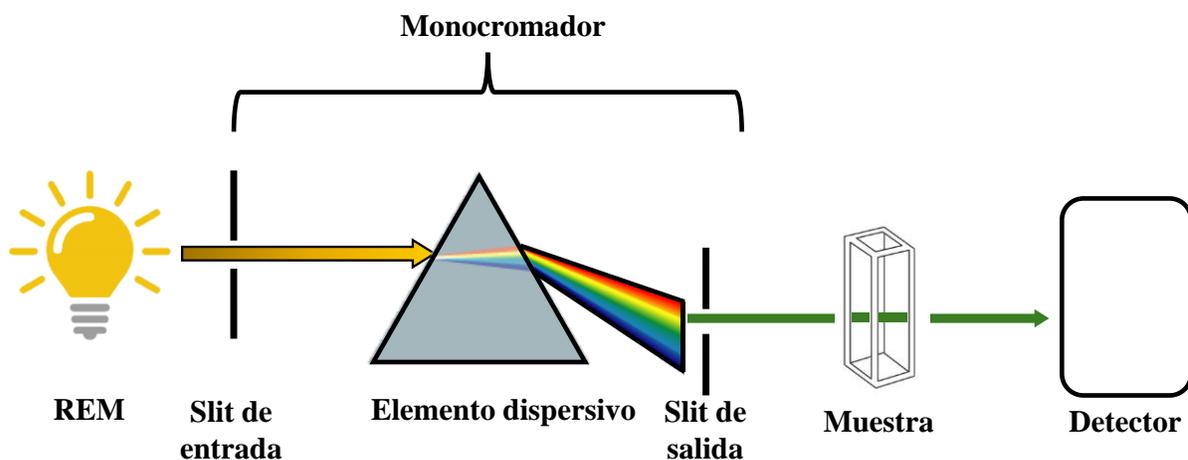


Figura A3.1. Sistema de un espectrofotómetro de absorción de UV-Vis.

La espectroscopia de absorción de ultravioleta-visible (UV-Vis) es implementada para realizar análisis cualitativos y cuantitativos de una muestra utilizando una fuente de luz en el rango de longitud de onda ultravioleta de 200 a 400 nm al rango de longitud de onda visible de

400 a 700 nm. La interacción entre la fuente de luz y la muestra se puede analizar mediante la absorción, transmisión o reflexión en el espectro UV-Vis.

La ley de Lambert-Beer describe cuando un haz de luz monocromática pasa a través de una solución, la disminución de la luz con la longitud del camino es proporcional a la concentración de la solución y la intensidad de la luz.

$$-dI \propto I \quad (\text{A3.1})$$

$$-dI \propto c \quad (\text{A3.2})$$

$$-dI \propto l \quad (\text{A3.3})$$

$$-\frac{dI}{dI} \propto cI \quad (\text{A3.4})$$

$$-\frac{dI}{dI} \propto \alpha cI \quad (\text{A3.5})$$

donde I es la intensidad luminosa, c es la concentración de la solución, l es la longitud de paso óptico, α es el coeficiente de absorción y $-\frac{dI}{dI}$ es la tasa de caída de resistencia con un espesor dI .

Reescribiendo la ecuación (A3.5),

$$-\frac{dI}{I} \propto \alpha c dI \quad (\text{A3.6})$$

Integrado la ecuación (A3.6)

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = \alpha c \int_0^l dI \quad (\text{A3.7})$$

$$-\ln(I) + C = (\alpha c)l + C \quad (\text{A3.8})$$

Evaluando los límites de integración:

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \alpha cl \quad (\text{A3.9})$$

Ahora, $\ln(x) = 2.303 \log_{10} x$, entonces:

$$\log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) = \frac{\alpha cl}{2.303} \quad (\text{A3.10})$$

El coeficiente de absortividad molar es directamente proporcional al coeficiente de absorción, por

tanto, $\varepsilon = \frac{\alpha}{2.303}$ y sustituyendo en la ecuación (A3.10):

$$\log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon cl = A \quad (\text{A3.11})$$

Referencias

- [1] K. Thambiratnam, S. A. Reduan, Z. C. Tiu, H. Ahmad. (2020). Nano-Optics. Ed. Elseiver. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818392-2.00009-3>.
- [2] H. -H. Perkampus. (1992). UV-VIS Spectroscopy and Its Applications. Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-77477-5>.
- [3] L. D. S. Yadav. (2005). Organic Spectroscopy. Ed. Springer Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2575-4_2.

Anexo 4

La electroforesis capilar de zona es una técnica analítica que utiliza un capilar estrecho lleno de electrolito para separar moléculas según su carga y movilidad eléctrica en un campo eléctrico aplicado. Durante el proceso, las moléculas se mueven a través del capilar debido a la aplicación de voltaje y la velocidad de migración depende de su carga y tamaño. La separación se logra en base a las diferencias en la movilidad electroforética de las moléculas en una matriz líquida. Para comprender el comportamiento de las moléculas bajo la influencia de un campo eléctrico dentro de un capilar es fundamental comprender los fenómenos que resultan de la geometría y tamaño del capilar.

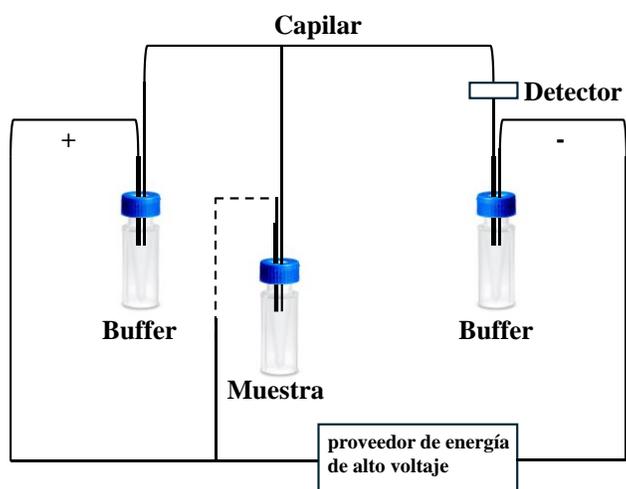


Figura A2.1. Configuración instrumental de un equipo de electroforesis capilar.

Referencias

- [1] D. Rodríguez-Barrientos, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M. T. Ramírez-Silva. (2009). Determination of pKa values of tenoxicam from ^1H NMR chemical shifts and of oxicams from electrophoretic mobilities (CZE) with the aid of programs SQUAD and HYPNMR. *Talanta*, 80, 2, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.058>.
- [2] J. W. Jorgenson, K. D. Lukacs. (1981). Free-zone electrophoresis in glass capillaries. *Clin. Chem.*, 27, 9.
- [3] J. Sastre-Toraño, R. Ramautar, G. de Jong. (2019). Advances in capillary electrophoresis for the life sciences. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 15, 1118, <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.04.020>
- [4] R. K. Harstad, A. C. Johnson, M. M. Weisenberger, M. T. Bowser. (2016). Capillary electrophoresis. *Anal. Chem.*, 88, 1, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04125>.

Anexo 5

La voltametría es un conjunto de técnicas electroquímicas que se implementan para estudiar la corriente eléctrica generada por la variación controlada de un potencial eléctrico aplicado a una celda electroquímica.

La voltamperometría cíclica (VC), dentro del conjunto de técnica de voltametría, es un método para evaluar el comportamiento electroquímico de un sistema. Es un enfoque ampliamente utilizado para obtener conocimiento cualitativo de reacciones electroquímicas. La influencia en la VC se obtiene de la capacidad a través de la cual proporciona conocimientos e información adecuados para diversos parámetros como reacciones químicas acopladas, reacciones de transferencia de electrones, entre otros. La VC es una técnica de inversión que consiste en el escaneo lineal repetitivo del potencial de un electrodo de trabajo estacionario a una velocidad de barrido constante y registra la corriente en función del potencial aplicado.

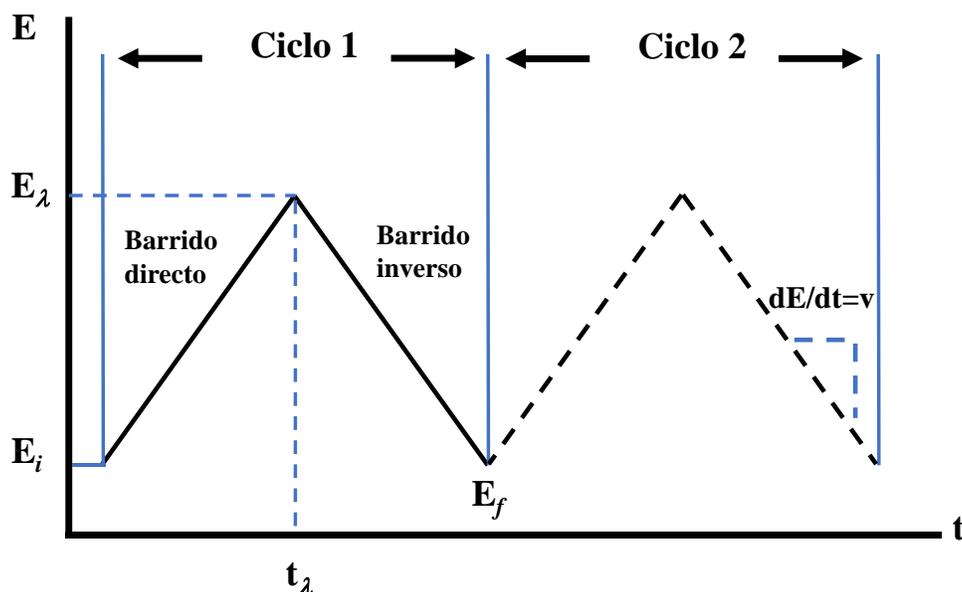


Figura A4.1. Señal de excitación potencial-tiempo triangular utilizada en VC.

La celda electroquímica implementada consta de tres electrodos para controlar y monitorear una reacción con una solución de algún electrolito soporte de alta fuerza iónica y que no sea reactivo. Los tres electrodos son: electrodo de referencia (ER), el cual es un electrodo no polarizable que mantiene su potencial constante al permitir el paso eficiente de la corriente eléctrica. El electrodo auxiliar (EA) proporciona un medio para aplicar el potencial de entrada al electrodo de trabajo. El propósito de estos electrodos es completar el circuito y permitir que fluya la carga. Finalmente, el electrodo de trabajo (ET) es aquel donde se impone un potencial y corriente y se lleva la caracterización electroquímica de un analito en interés.

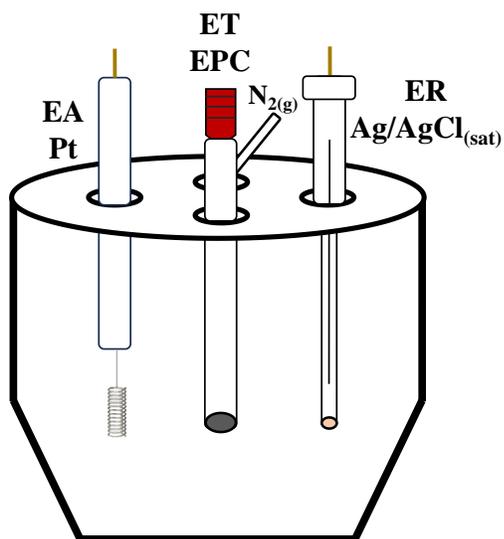


Figura A4.1. Celda electroquímica de tres electrodos.

Referencias

- [1] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.*, 95, 2, <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>.
- [2] H. Yamada, K. Yashii, M. Asahi, M. Chiku, Y. Kitazumi. (2022). Cyclic Voltammetry Part 1: Fundamentals. *Electrochemistry*, 90, 10, <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.22-66082>.
- [3] A. L. Bard, L. Faulkner. (2001). *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*. Ed. John Wiley & Sons.

Anexo 6

La microscopía electrónica es una técnica utilizada para obtener imágenes de ultra alta resolución de átomos individuales de los materiales y estructuras al nivel atómico o de microestructura. El uso de electrones como fuente de radiación para la formación de imágenes permite una mayor resolución espacial en comparación con la resolución alcanzada utilizando fotones en microscopía óptica (~200 nm). La microscopía electrónica puede dividirse en dos categorías principales: microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Un microscopio electrónico de barrido (SEM) proyecta y escanea un flujo enfocado de electrones sobre la superficie de una muestra y recopila las diferentes señales producidas mediante detectores especializados. Los electrones del haz interactúan con los átomos dentro de la muestra, produciendo así diversas señales que pueden usarse para obtener información sobre la topografía y composición de la superficie. En la figura A5.1a se muestra un esquema del funcionamiento de un equipo de SEM. Los electrones se producen en la parte superior de la columna del cañón de electrones y se aceleran a través de la columna a un voltaje de aceleración específico (1 keV - 30 keV). Las lentes y aperturas del condensador actúan para reducir el diámetro del haz. La última lente de la columna es la lente objetivo que enfoca el haz en la superficie de la muestra. El diámetro del haz en un SEM puede variar desde 1 nm hasta 20 nm. La posición del haz de electrones sobre la muestra se controla mediante bobinas de exploración situadas encima de la lente objetivo. Estas bobinas permiten escanear el haz sobre la superficie de la muestra en el plano XY. El haz escaneado incide en la muestra, generando una variedad de señales que incluyen electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X característicos.

En el microscopio electrónico de transmisión una fuente de electrones en la parte superior del microscopio emite electrones que viajan a través del vacío en la columna del microscopio. Se utilizan lentes electromagnéticas para enfocar los electrones en un haz muy delgado y luego se dirige a través de la muestra de interés. Estos electrones son luego dirigidos y modulados por lentes específicas y atraviesan la muestra hacia el detector. Las imágenes de campo brillante tradicionales se basan en que los electrones incidentes se dispersen y desaparezcan del haz dependiendo de la densidad composicional y la orientación del cristal de la muestra. La intensidad de los electrones no dispersos da lugar a una "imagen de sombra" del espécimen con diferentes partes de un espécimen mostradas en oscuridad variada según la densidad.

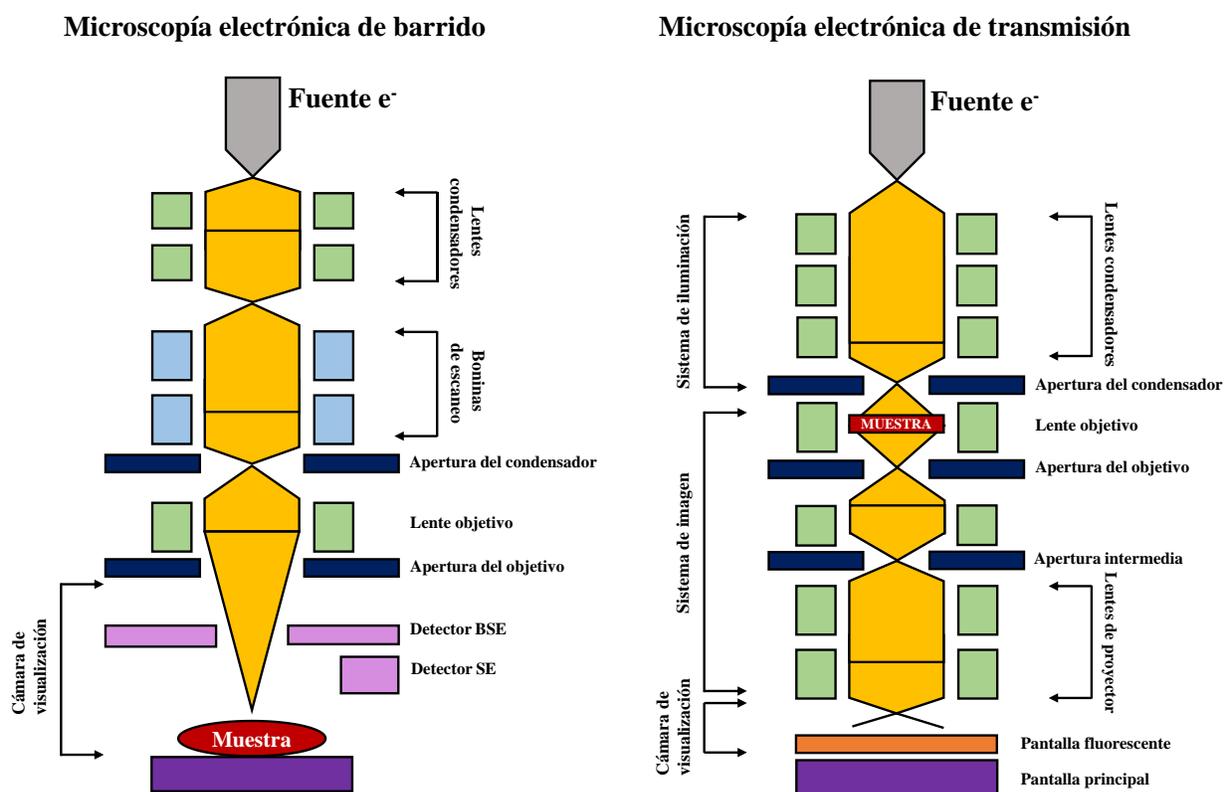


Figura A5.1. Sistema de un microscopio electrónico de barrido y de transmisión

Referencias

- [1] J. Goldstein, D. Newbury, D. Joy, C. Lyman, P. Echlin, E. Lifshin, L. Sawyer, J. Michael. (2003). Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. New York, Ed. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9>.
- [2] D. B. Williams, C. B. Carter. (2009). Transmission Electron Microscopy. US, Ed. Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-76501-3>.
- [3] W. Zhou, R. Apkarian, Z. L. Wang, D. Joy. (2007). Scanning Microscopy for Nanotechnology. New York, Ed. Springer-Verlag . <https://doi.org/10.1007/978-0-387-39620-0>.
- [4] S. Amelinckx, J. Van Landuyt. (2003). Encyclopedia of Physical Science and Technology, Transmission Electron Microscopy. Ed. Academic Press. <https://doi.org/10.1002/9783527603978.mst0010>.
- [5] D. Dorfs, R. Krahne, A. Falqui, L. Manna, C. Giannini, D. Zanchet. (2011). Comprehensive Nanoscience and Technology. Oxford, Ed. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812295-2.00028-3>.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00119

Matrícula: 2213800887

Antibióticos:
caracterización y desarrollo
de sensores para su
cuantificación y detección.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 29 del mes de abril del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. GABRIELA ROA MORALES
DR. JORGE JUAREZ GOMEZ
DRA. LAURA GALICIA LUIS

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (QUÍMICA)

DE: LUIS DIEGO GONZALEZ GARRIDO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



LUIS DIEGO GONZALEZ GARRIDO
ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

Roman Linares Romero
DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTA

DRA. GABRIELA ROA MORALES

VOCAL

DR. JORGE JUAREZ GOMEZ

SECRETARIA

DRA. LAURA GALICIA LUIS