



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS**

**MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE GRAFENO,  
POLIANILINA Y NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA  
BIOCELDAS DE COMBUSTIBLE.**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN INGENIERÍA Y  
CIENCIAS APLICADAS**

**PRESENTA: ELSA PEREYRA LAGUNA.**

**ASESOR: ELSA CARMINA MENCHACA CAMPOS**

**CO-ASESOR: JORGE URUCHURTU CHAVARIN**

**CUERNAVACA MOR.**

**FEBRERO 2020**

## RESUMEN

Este trabajo se centra en la síntesis, caracterización y evaluación del compuesto Óxido de grafeno reducido, Polianilina y nanopartículas de oro (GO/PANI/NpAu), sintetizados por el método de Hummer, polimerización química in situ con óxido de grafeno y por el método de Turkevich respectivamente. La fabricación de los electrodos consiste en un diseño que optimice las contribuciones eléctricas al sistema, para una mayor eficiencia a la respuesta de la aplicación deseada, en esta tesis se enfocó en el desarrollo de electrodos para aplicaciones biomédicas, tal como lo es las bioceldas de combustible. La fabricación de los electrodos consiste en depositar el material híbrido sobre un sustrato de tela y papel de carbón, para después incorporar la enzima Glucosa Oxidasa.

Las propiedades químicas y estructurales del electrodo fueron caracterizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía de Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X, UV visible y espectroscopia Raman. Los resultados confirman la formación de un material híbrido, la covalente funcionalización y reducción del grafeno mediante la polimerización por la inserción de cadenas poliméricas sobre el grafeno. Las evaluaciones de sus propiedades electroquímicas fueron analizadas por voltamperometría cíclica (VC) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en medio ácido ( $H_2SO_4$  1M), después de la incorporación de la enzima Glucosa oxidasa (GOx), el electrolito usado fue solución de buffer de fosfatos.

Los materiales sintetizados proveen al electrodo buenas propiedades conductoras, y una exitosa incorporación de la enzima glucosa oxidasa al sistema PANI-GOx el cual fue evaluado a diferentes concentraciones de glucosa y velocidades de barrido.

## **ABSTRACT**

This work focuses on the synthesis, characterization and evaluation of the composite reduced graphene oxide, polyaniline and gold nanoparticles (GO / PANI / NpAu), synthesized by the Hummer method, chemical in situ polymerization with graphene oxide and by the method of Turkevich respectively. The manufacture of the electrodes consists of a design that optimizes the electrical contributions to the system, for a greater efficiency to the response of the desired application, in this thesis focused on the development of electrodes for biomedical applications, such as bio fuel cell. The manufacture of the electrodes consists of depositing the hybrid material on a substrate of cloth and paper of carbon, to later incorporate the enzyme Glucose Oxidase.

The chemical and structural properties of the electrode were characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction, UV-Vis and Raman spectroscopy. The results confirm the formation of a hybrid material, the covalent functionalization and reduction of graphene by polymerization by the insertion of polymer chains on graphene. The evaluation of its electrochemical properties was analyzed by cyclic voltammetry (VC) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in acid medium ( $H_2SO_4$  1M), after the incorporation of the enzyme Glucose oxidase (GOx), the electrolyte used was a solution of phosphate buffer.

The synthesized materials provide the electrode with good conductive properties, and a successful incorporation of the glucose oxidase enzyme into the PANI-GOx system, which was evaluated at different glucose concentrations and scanning speeds.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a cada una de las personas con las que me ha tocado convivir, ya que a ellas les debo en parte donde estoy y quien soy.

Pero mi mayor agradecimiento es al universo, a Dios y a las personas que me han ayudado ya sea con su apoyo incondicional, con su amor, consejos, enseñanzas y/o con su sabiduría.

Infinitas gracias a mi esposo Fernando, a mis hijos Alexis y Mauricio, mis padres, suegros y a toda la familia, mis amigos, mis asesores y revisores de tesis.

**Dedicado a mi familia**

## ÍNDICE

Resumen	I
Abstract	II
Agradecimientos	III
Dedicatorias	IV
Lista de abreviaturas	V
Lista de Figuras y tablas	VII

### **Capítulo 1 Introducción**

1.1 Planteamiento en la síntesis y diseño de electrodos nanoestructurados	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general	2
1.2.2 Objetivos particulares	3
1.3 Hipótesis	3

### **Capítulo 2. Marco Teórico**

2.1 Introducción a los Nanomateriales	4
2.2 Grafeno	6
2.2.1 Rutas de obtención de Grafeno	6
2.2.2 Reducción del óxido de Grafeno	8
2.3 Polímeros conductores	8
2.3.1 Polianilina	9
2.3.2 Compuestos Grafeno Polianilina	9
2.4 Nanotecnología	10
2.4.1 Nanopartículas de oro	10

2.5 Enzima Glucosa Oxidasa	11
2.6 Bioceldas de combustible	12
2.7 Nanocompuestos en bioceldas de combustible	16

### **Capítulo 3 Metodología Experimental**

3.1 Reactivos	18
3.2 Síntesis de los Materiales	19
3.2.1 Síntesis del óxido de Grafeno	19
3.2.2 Síntesis de Polianilina y Polianilina in situ con óxido de Grafeno	20
3.2.3 Síntesis de nanopartículas de oro	20
3.3 Disoluciones	21
3.3.1 Disolución de Glucosa Oxidasa (GOx)	21
3.3.2 Disolución de ABTS	21
3.3.3 Disolución de D-(+) - Glucosa Anhidra	21
3.4 Diseño de los Electrodo de trabajo	21
3.4.1 Electrodo de óxido de Grafeno (GO), Polianilina (PANI) y Óxido de Grafeno/Polianilina (GO/PANI)	21
3.4.2 Electrodo Híbrido GO/PANI/NpAu	22
3.4.3 Electrodo PANI y GO/PANI con GOx	22
3.5 Caracterización Físicoquímica de los materiales	22
3.5.1 Microscopía Electrónica de Barrido	22
3.5.2 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier	22
3.5.3 Cristalografía de Rayos X	23
3.5.4 Espectroscopía Raman	24

3.5.5 Espectroscopía de UV visible	24
3.6 Evaluación Electroquímica	25
3.6.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)	26
3.6.2 Voltamperometría Cíclica	26
3.7 Determinación de la actividad enzimática para la Glucosa Oxidasa	27

## **Capítulo 4 Resultados y Discusión**

4.1 Caracterización de los materiales	28
4.1.1 Óxido de Grafeno (GO)	28
4.1.1.1 Análisis Elemental	29
4.1.1.2 Microscopía Electrónica de barrido de alta resolución (HRSEM)	30
4.1.1.3 Difracción de rayos X (RXD)	32
4.1.1.4 Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier	33
4.1.2 Polianilina (PANI)	34
4.1.2.1 Microscopía electrónica de Barrido	34
4.1.2.2 Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier	35
4.1.2.3 Difracción de rayos X (RXD) PANI	36
4.1.3 Nanopartículas de Oro	37
4.1.3.1 Microscopía electrónica de Barrido	38
4.1.3.2 Espectroscopía Ultravioleta visible	39
4.2 Caracterización de los materiales Híbridos GO/PANI y GO/PANI/NPAu.	40



4.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier	41
4.2.2 Difracción de rayos X (RXD)	43
4.2.3 Caracterización Espectroscopía Raman	44
4.3 Actividad de la Glucosa oxidasa	46
4.4 Evaluación electroquímica de los nanomateriales	48
4.4.1 Evaluación electroquímica de la Polianilina	48
4.4.2 Espectroscopía de impedancia Electroquímica	53
4.4.3 Voltamperometría Cíclica de los materiales	55
4.5 Incorporación de la Enzima Glucosa Oxidasa a los electrodos PANI y GO/PANI	57
4.5.1 Evaluación Electroquímica PANI-GOx	57
4.5.2 Evaluación Electroquímica GO/PANI-GOx	60

## **Capítulo 5 Conclusiones**

5.1 Conclusiones	64
5.2 Bibliografía	66

## Lista de Abreviaturas

GO	Óxido de grafeno
PANI	Polianilina
NpAu	Nanopartículas de oro
GO/PANI	Composito de óxido de grafeno y polianilina
GO/PANI/NpAu	Composito de óxido de grafeno, Polianilina y nanopartículas de oro.
SEM	Microscopio electrónico de barrido
FTIR	Espectroscopía Infrarroja por trasformada de Fourier
VC	Voltamperometría cíclica.
EIS	Espectroscopía de impedancia electroquímica
F/g	Faradios por gramo
w/w	Proporción en peso/peso
d	Distancia entre planos
UV-vis	Espectroscopía de absorción Ultravioleta- visible
APS	Persulfato de amonio
VC	Voltamperometría cíclica
Z	Impedancia electroquímica.
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
Redox	Reacción de óxido – reducción.
i <sub>a</sub>	Corriente anódica
FAD	Flavina Adenina Dinucleótido (sitio activo de la GOx)
FADH <sub>2</sub>	Flavina Adenina Dinucleótido (estado reducido de la GOx)

BCC	Bioceldas de combustible
BCCE	Biocelda de combustible enzimático
mV/s	Mili Volts sobre segundo
mM	Mili molar
nm	Nanómetro
pH	Potencial de hidrógeno
Ag / AgCl	Plata / cloruro de plata
O <sub>2</sub>	Oxígeno molecular
mL	Mili litro
L	Litro
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
M	Molar
HCl	Ácido clorhídrico
W	Peso
ABTS	2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid)
μl	Micro litros
KCl	Cloruro de potasio
KV	Kilo Volts

## **Lista de figuras y tablas**

### **Capítulo 2**

Figura 2.1 Mural de pintura Maya encontrada en Bonampak, Chiapas (foto Ernesto Peñaloza).

Figura 2.2 a) Foto de HRSEM en él se muestra la paligorskita en resolución atómica, b) muestra la representación de la inserción de moléculas de índigo en los canales de la arcilla paligorskita ( (Lori Ann Polette-Niewold, 2007).

Figura 2.3 Ilustración de la clasificación de métodos de obtención del grafeno, Top-down y bottom up (Xiao-Ye Wang).

Figura 2.4 principales polímeros conductores, en ellos puede observarse que poseen dobles uraalternos o conjugados.

Figura 2.5 Estados de oxidación de la polianilina.

Figura 2.6 cofactores más comunes para oxidar la glucosa; FAD/FADH<sub>2</sub>, NAD<sup>+</sup>/NADH, Y PQQ.

Figura 2.7 Representación esquemática de una biocelda de combustible, con reducción de oxígeno en el cátodo, la oxidación del sustrato es catalizada por enzimas.

Figura 2.8 Representación esquemática de los procesos de una biocelda enzimática de combustible, con la oxidación del combustible por la enzima 1, proporcionando electrones y protones, junto con la reducción de un oxidante por la enzima 2, el cual consume los electrones y protones.

### **Capítulo 3**

Figura 3.1 Ilustración esquemática de los componentes para un FTIR. (Mohamed, 2017)

Figura 3.2 Celda electroquímica de tres electrodos.

## Capítulo 4

Figura 4.1 Oxidación de la estructura cristalina del grafito mediante el método de Hummers. En donde se introducen grupos funcionales en la estructura cristalina del grafito y por sonicación se separan las láminas de grafeno oxidado.

Figura 4.2 Análisis elemental del grafeno se observa el alto grado de oxidación del mismo.

Figura 4.3 Imágenes obtenidas por HRSEM del óxido de grafeno a) laminas GO arrugadas y con dobleces, b) Imagen donde puede observarse la transparencia del material al encontrarse con pocas láminas de GO.

Figura 4.4 Difractogramas de rayos X a) de grafito y b) de óxido de grafeno.

Figura 4.5 Espectro de absorción FTIR del óxido de grafeno.

Figura 4.6 imagen de microscopia electrónica de barrido de la Polianilina donde se observa morfología de nanofibras menores a 100 nm.

Figura 4.7 Espectro de absorción por FTIR del polímero Polianilina, con sus respectivas bandas de absorción.

Figura 4.8 Patrones cristalográficos para la Polianilina (RXD) y sus respectivos planos de reflexión.

Figura 4.9 Ilustración del método de síntesis de NpAu mediante la reducción del  $\text{AuCl}_4^-$  en solución acuosa, con el agente oxidante/estabilizante citrato de sodio.

Figura 4.10 Imagen de HRSEM de nanopartículas de oro, con forma esférica de tamaños que van de 10 a 40 nm de diámetro.

Figura 4.11. Izq. Se observa el coloide color rojo de las NpAu y derecha el espectro de absorción UV vis con un máximo de absorción a 520 nm debido a la resonancia de la superficie plasmon característica de las NpAu.

Figura 4.12 Polimerización química in situ de grafeno y Polianilina para formar el compuesto híbrido GO/PANI y GO/PANI/NpAu con la incorporación de las NpAu sobre la matriz.

Figura 4.13 Espectro de absorción FTIR para cada material GO, PANI, GO/PANI y el material híbrido GO/PANI/NpAu, en el cual se observan los grupos funciones presentes.

Figura 4.14 difracción de rayos X (XRD) de Grafito, GO, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu con sus respectivos patrones cristalográficos.

Figura 4.15 Espectro de absorción Raman para; grafito, GO y GO/PANI.

Figura 4.16 Medición de la actividad de la glucosa Oxidasa, mediante espectrofotometría UV-vis a 500nm.

Figura 4.17 Voltamperometría Cíclica de la Polianilina con sus tres estados de oxidación; Leucoesmeraldina, Esmeraldina y Pernigranilina. (Cauca, 2018)

Figura 4.18 Fotografía del producto de síntesis de la polimerización de la PANI, en el cual se obtiene el producto de color verde, característico de la sal de Esmeraldina (Forma conductora de la Polianilina).

Figura 4.19 Voltamperograma cíclico de la PANI, a una velocidad de barrido de 5 mV/s, donde se observan los picos característicos de Leucoesmeraldina/ Esmeraldina y Esmeraldina/ Pernigranilina.

Figura 4.20 Gráficos de a) Nyquist y b) Bode para 2 concentraciones de PANI en la polimerización *in situ* con GO, del 20% y 40 % W/W.

Figura 4.21 Gráfico de Nyquist para el material de soporte Tela de Carbono y cada uno de los materiales sintetizados; GO, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu.

Figura 4.22 Diagrama de Bode para cada material utilizado, tela de carbono, GO, PANI, GO/PANI Y GO/PANI/NpAu.

Figura 4.23 Voltamperograma cíclico de cada material, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu donde se observa la repuesta electroquímica de cada electrodo y sus picos redox.

Figura 4.24 Voltamperograma Cíclico de los electrodos PANI (como blanco) y PANI-GOx en una solución buffer APS pH7, con glucosa 100 mM como electrolito.

Figura 4.25 Relación del efecto de la velocidad de barrido sobre la densidad de corriente para el electrodo PANI-GOx.

Figura 4.26 Efecto de la concentración de Glucosa sobre el electrodo PANI-GOx a una velocidad de barrido de 100 mV/s, en solución buffer de Fosfatos pH 7.

Figura 4.27 Voltamperograma de los electrodos GO/PANI y GO/PANI-GOX, a una velocidad de barrido de 100 mV/s, con una concentración de glucosa de 100 mM.

Figura 4.28 Voltamperometría cíclica del electrodo GO/PANI-GOx a diferentes concentraciones de glucosa 10,20,40 y 60 mM, con una velocidad de barrido de 100Mv/s en el cual se observa que no hay actividad de la enzima.

# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Planteamiento en la síntesis y diseño de electrodos nanoestructurados

Numerosos campos de investigación como la computación, biomedicina, sensores, almacenamiento de energía, etc. han expandido sus estudios al campo de la nanociencia para estudiar los efectos cuánticos y propiedades de los nanomateriales, que en muchos casos son superiores que en escala bulto, esto para poder desarrollar nuevos avances tecnológicos.

Los avances en estas disciplinas dependen en gran medida de la capacidad de sintetizar nanomateriales con determinados tamaños y formas controladas. Un ejemplo arquetipo son los materiales carbonosos nanoestructurados que destacan por sus propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas. Asimismo, el desarrollo de nanoestructuras de los polímeros conductores ha abierto nuevas vías para explotar sus interesantes propiedades eléctricas, ópticas y químicas. El campo de los metales en escala nano también es muy prometedor por sus potenciales propiedades eléctricas, térmicas, ópticas y catalíticas. Las propiedades mencionadas resultan muy prometedoras para el desarrollo de aplicaciones prácticas de estos materiales y sus combinaciones (materiales híbridos o *compositos*). El mayor obstáculo para lograr un material híbrido es el sintetizado o procesado del producto conformado con la configuración deseada.

El trabajo en esta tesis se centró en la síntesis de materiales compuestos (híbridos) formados por la combinación de: un material carbonoso



(grafeno), un polímero conductor (Polianilina) y un metal (nanopartículas de oro), así como el diseño del electrodo para aplicaciones energéticas, además de la incorporación de la enzima Glucosa oxidasa para aplicaciones Bioenergéticas en una celda de combustible.

En el capítulo I se mencionan los objetivos e hipótesis del trabajo, en el capítulo 2 se introducen los materiales empleados: Grafeno (GO), Polianilina (PANI), nanopartículas de oro (NpAu) y glucosa oxidasa. En primer lugar, se habla del grafeno, un material prometedor debido a sus excelentes propiedades eléctricas, físicas y de gran área superficial. En segundo se trata la Polianilina, un polímero conductor con una estructura y características de especial interés. Se comentan las particularidades de su síntesis, las propiedades físicas y químicas. En tercero se trata de las nanopartículas de oro, de sus excelentes propiedades potencializadas en escala nano. También se aborda acerca de la enzima glucosa oxidasa, su mecanismo de transferencia de electrones, Y por último se menciona la problemática de las celdas de combustible enzimáticas y como se trata de mejorar al introducir los nanomateriales híbridos. En el capítulo 3 se mencionan los mecanismos de síntesis para cada material, y la metodología de la elaboración y consideraciones para el diseño del electrodo. En el capítulo 4 se dan a conocer la caracterización de los materiales y su evaluación electroquímica, finalmente se concluye en el capítulo 5.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Diseñar, sintetizar y construir un electrodo a base de grafeno, polianilina y nanopartículas de oro (GO/PANI/NpAu), para evaluar su aplicación como dispositivo o parte de un dispositivo en aplicaciones bio energéticas.

### **1.2.2 Objetivos particulares**

- Desarrollar nuevos compuestos de nanomateriales eléctricamente conductores como electrodos.
- Diseñar, elaborar y evaluar los electrodos con los materiales nanoestructurados a base de grafeno, Polianilina y NpAu.
- Integrar al electrodo la enzima glucosa oxidasa para crear un ánodo para una celda de combustible enzimática.

El grafeno por sí solo es un buen material conductor, sin embargo, se ha estudiado que la combinación de ciertos nanomateriales estructurados pueden mejorar sus propiedades eléctricas, físicas y químicas, que del material evaluado por sí solo.

### **1.3 Hipótesis**

Cada uno de los materiales con los que se trabajará posee excelentes propiedades conductoras, sin embargo, incorporando GO, PANI y NpAu en el diseño de un electrodo en escala nano, se potencializan sus propiedades eléctricas, mejorando la eficiencia de transferencia de electrones del sistema al cual se le incorpora la enzima glucosa oxidasa para aplicaciones biomédicas.

# Capítulo 2

## MARCO TEÓRICO

### 2.1 Introducción a los Nanomateriales

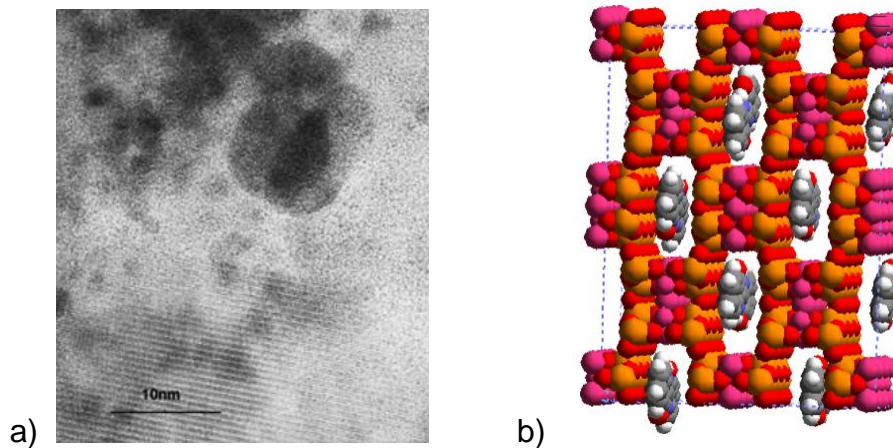
Los materiales en escala manométrica han estado presentes desde hace varios siglos, prueba de ello son las espadas de Damasco, éstas eran conocidas en la edad media por su gran tenacidad y por su filo indestructible. A pesar de que en esta época ya se usaba la nanotecnología, se desconocía el porqué de estas propiedades; es hasta apenas unos años atrás que los investigadores desvelaron ésta y otras incógnitas; encontrando que estas propiedades están relacionadas con la presencia de nanotubos de carbono y de carburo de hierro que aparecen por los métodos de forja empleados (Domingo, 2010).

En América encontramos uno de los usos de la nanotecnología en la cultura maya, quienes utilizaban el colorante “azul maya” con el cual decoraban sus cuevas y templos con hermosos dibujos los cuales perduran desde hace más de 12 siglos, **figura 2.1**, soportando las inclemencias del tiempo y del clima. El análisis de la coloración ha mostrado que el pigmento usado estaba formado por moléculas de índigo (colorante natural), atrapadas en estructuras porosas de diferentes arcillas, entre la que destaca la paligorskita, que como se puede observar en la **figura 2.2**, la micrografía HRSEM y su representación de como el azul índigo penetra en los canales de la arcilla paligorskita. (Lori Ann Polette-Niewold, 2007). Así como estos ejemplos, existen muchos en los que se demuestra que nuestros antepasados hacían uso de la nanotecnología, sin embargo, el estudio de las propiedades, síntesis y elaboración de estos materiales es reciente,

haciendo que el estudio de la nanotecnología tenga una alta demanda de investigación y con nuevas y prometedoras aplicaciones.



**Figura. 2.1 Mural de pintura Maya encontrada en Bonampak, Chiapas (foto Ernesto Peñaloza).**



**Figura 2.2 a) Foto de HRSEM en el se muestra la paligorskita en resolución atómica, b) muestra la representación de la inserción de moléculas de índigo en los canales de la arcilla paligorskita ( Lori Ann Polette-Niewold, 2007).**

## 2.2 Grafeno.

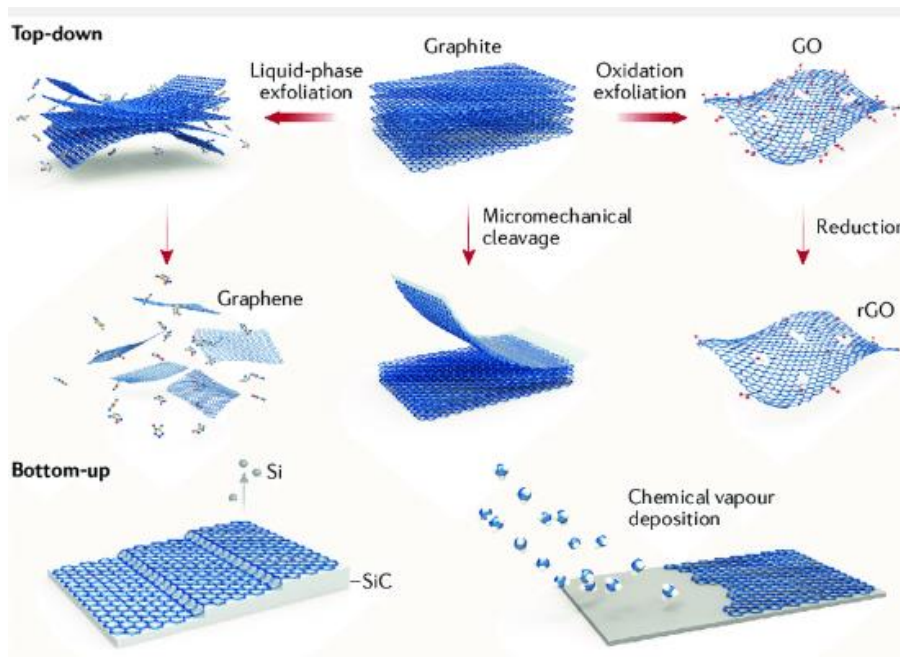
El grafeno se aisló por primera vez en el 2004 a partir del grafito por A. K. Geim y colaboradores que desarrollaron una técnica mecánica de exfoliación. El éxito del grafeno se debe a las prometedoras propiedades que se le han investigado, las propiedades que destacan son; alta movilidad de electrones ( $200,000 \text{ cm}^2 \text{ v}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), excelente conductividad eléctrica ( $6000 \text{ S cm}^{-1}$ ), gran área superficial ( $2630 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ), buena conductividad térmica ( $\sim 5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ), alta transmitancia óptica ( $\sim 97.7\%$ ) y un elevado módulo de Young ( $\sim 1.0 \text{ TPa}$ ) (Raji M. Z., 2019). Estas excelentes propiedades han llamado la atención de los investigadores debido a sus potenciales aplicaciones, mismas que son debidas a la estructura especial del grafeno basado en una hibridación  $sp^2$  (C=C) que le dan una estructura muy rígida a la molécula además de movilidad electrónica, y los tipos de enlaces C-C (carbono y carbono) que son de los enlaces más fuertes en los materiales, el diamante por ejemplo es una conjugación de solamente enlaces C=C.

### 2.2.1 Rutas de obtención de Grafeno

La comunidad científica ha incluido el grafeno 2D dentro de los nanomateriales de carbono, en los cuales están incluidos; grafeno dopado, óxido de grafeno, grafeno, fluorografeno, grafina, grafono, grafeno poroso, y entre otros alótopos de carbono (Raji M. Z., 2019). La síntesis de grafeno y sus derivados se refiere a cualquier proceso o extracción de grafeno que pueda prepararse en diferentes formas y en diferentes sustratos en función del tamaño, forma, la pureza, eflorescencia y volumen de producción deseado.

La obtención de grafeno puede clasificarse en dos categorías, partiendo del origen de su síntesis; Top-down (ruta descendente) y Bottom-up (ruta ascendente). La siguiente **figura 2.3** ilustra los procesos de ambas rutas, Para la ruta Top down el cual consiste en partir de grafito y separar las capas de grafeno mediante la superación de fuerzas de Van der Waals

existente entre las capas, el método más conocido para esta ruta es el propuesto por Hummeren el que incluye una exfoliación en fase líquida de su precursor el grafito que inicialmente es oxidado, lo que lleva al óxido de grafeno, que después es reducido ya sea química o térmicamente a óxido de grafeno reducido (rGO), la ruta Top-down, el inconveniente de este método es el bajo rendimiento y la cantidad de impurezas. En la ruta por Bottom-up generalmente se realiza por crecimiento epitaxial utilizando metano como precursor y se emplean precursores de carbono que sometido a altas temperaturas se obtiene una grafitización de alta calidad y pureza y de igual manera con bajo rendimiento, la ruta más empleada es la por deposición de vapores químicos. (Anju M., 2019).



**Figura 2.3 Ilustración de la clasificación de métodos de obtención del grafeno, Top-down y bottom up (Xiao-Ye Wang).**

### 2.2.2 Reducción del óxido de Grafeno

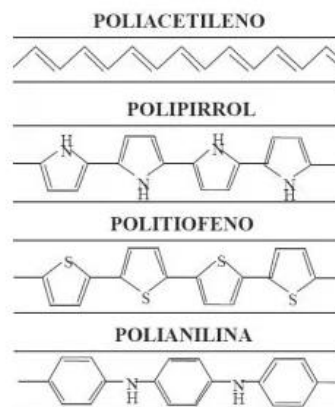
Aquí se expone la ruta de obtención Top-down por el método de Hummer, por lo cual también mencionaremos los métodos de reducción que se emplearon para eliminar los grupos oxigenados de las láminas de grafeno.

El método de reducción en las láminas de óxido de grafeno (GO) es un paso muy importante, porque el GO al contar con muchos grupos oxigenados en la red cristalina de carbono, hace que éste pierda su propiedad conductora al perder la continuidad de los orbitales  $\pi$  responsables de la capa de conducción del material, es por eso que una vez separadas las láminas de grafeno se procede a su reducción.

Los más utilizados son métodos térmicos, donde el óxido de grafeno es llevado a altas temperaturas para perder los grupos oxigenados, y los métodos químicos en donde se utilizan agentes reductores tales como la hidrazina (Raji M. Z., 2019), y recientemente se han hecho estudios sobre la reducción por polimerización en donde se hace la polimerización sobre los grupos oxigenados, reduciéndolos para después formar las cadenas poliméricas sobre la red del grafeno

### 2.3 Polímeros conductores

La mayoría de los polímeros son materiales aislantes eléctricos, es decir no conducen la electricidad, sin embargo existen polímeros que presentan enlaces deslocalizados, con frecuencia cuentan con anillos aromáticos que le dan una estructura similar a la del silicio semiconductor que hace que estos tengan propiedades conductoras, entre los polímeros conductores más destacados se encuentran; polianilina, poliacetileno, polipirrol y politiofeno, los cuales se ilustran a continuación en la **figura 2.4**



**Figura 2.4 principales polímeros conductores, en ellos puede observarse que poseen dobles enlaces alternos o conjugados.**

### 2.3.1 Polianilina

Los polímeros conductores tienen un sistema conjugado de cadenas  $\pi$ , con enlaces simples y dobles que se alternan a lo largo de la estructura polimérica, esta estructura es responsable de las propiedades electrónicas como conductividad eléctrica, transiciones ópticas de baja energía, bajo potencial de ionización y alta afinidad electrónica, además posee propiedades importantes como buena estabilidad, biocompatibilidad, etc. (Chauhan N. P., 2019). Es por ello que los polímeros conductores pueden actuar como matriz para la inmovilización de biomoléculas y facilitar la transferencia de electrones en redox o reacciones enzimáticas.

### 2.3.2 Compuestos de Grafeno- Polianilina

El grafeno una vez que está funcionalizado con grupos oxigenados es referido como óxido de grafeno, con estos grupos oxigenados se pueden formar enlaces covalentes con otros compuestos, como lo es con los polímeros conductores.

El efecto sinérgico del grafeno y la polianilina preparado por polimerización in situ, ofrece una mejor estabilidad y capacitancia al compuesto que



comparado para solamente PANI. La cantidad de PANI determina la morfología del material. (Chauhan N. P., 2018)

Los compuestos basados en un compuesto de carbón, un componente metálico y polímeros conductores son usados para la fabricación de dispositivos para la conversión y/o almacenaje de energía.

## **2.4 Nanotecnología**

La nanotecnología actualmente desempeña un papel importante en diferentes campos de las ciencias como son; química, física, procesos catalíticos, electrónica, sector energético, etc. Esto debido a las propiedades únicas que surgen como resultado de sus dimensiones, las estructuras de las moléculas poseen diferentes propiedades físicas y químicas que determinan las aplicaciones de los materiales.

Las recientes investigaciones se centran en los métodos de síntesis y caracterizaciones para nuevas o mejores aplicaciones, en ellos se busca controlar el tamaño, la forma geométrica y los grados de dimensiones anisótropas que revelan la estabilidad de los nanomateriales. (Ramalingam, 2019)

### **2.4.1 Nanopartículas de oro**

Los primeros reportes del uso del oro fueron con fines médicos como agente antibacteriano para combatir la tuberculosis, por lo cual las investigaciones se centraron en el uso en bioaplicaciones, así la biocompatibilidad y toxicidad están bien documentadas. Las variaciones en el tamaño y forma de las NpAu es determinante para la captación celular, por ejemplo las nanoesferas tienen un nivel elevado de absorción celular comparado con los nanobarras del mismo tamaño. (Ramalingam, 2019).

Las Nanopartículas de oro presentan resonancia plasmón que es una oscilación colectiva del campo electromagnético. La resonancia plasmón depende en gran medida del tamaño y forma de las NpAu. Además, debido

a la excitación de esta resonancia las NpAu muestran una banda de absorción electromagnética en la región visible, es por ello que la caracterización por espectroscopia UV-vis es una herramienta muy útil para la caracterización de las NpAu.

## 2.5 Enzima Glucosa Oxidasa

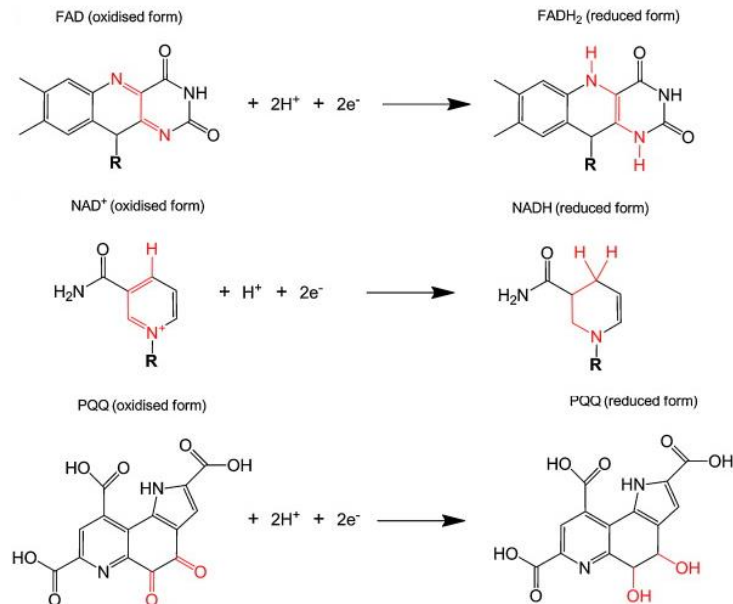
La glucosa oxidasa consta de dos unidades idénticas (homodímero), en las que el cofactor redox orgánico es Flavina Adenina Dinucleótido (FAD) está protegido por proteína glicosilada.

La glucosa oxidasa es de las enzimas más estudiadas, debido a sus diversas aplicaciones industriales, las más conocida son los sensores de glucosa para el control de la diabetes, los estudios más recientes están innovando aplicaciones en bioceldas de autoalimentación para bio aplicaciones y sensores de autoalimentación. Los mayores beneficios de utilizar la glucosa oxidasa sobre otras enzimas para aplicaciones bio electroquímicas son su alta especificidad para la glucosa, bajo potencial redox (-0.42V vs. Ag/AgCl a pH 7.4) y buena termoestabilidad. Los mayores retos en el uso de la enzima GOx son la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante la reacción oxidativa que puede disminuir la estabilidad de la enzima, la competencia entre O<sub>2</sub> y medidores redox para electrones GOx y que su centro activo no está expuesto, se encuentra embebido en la proteína, evitando directamente la transferencia de electrones a la superficie del electrodo. (N.Mano, 2019)

La catálisis de la GOx ocurre mediante una reacción de óxido-reducción, en la semireacción reductora la glucosa β-D- es oxidada a D-glucolactona, y en la semireacción oxidativa, el oxígeno molecular, el co-sustrato de la enzima, ingresa al sitio activo después de la liberación de la D glucolactona y se reduce a peróxido de hidrógeno. (N.Mano, 2019)

Las enzimas redox consisten en una apoenzima (componente proteico) y su cofactor, la presencia de éste asegura la transferencia de electrones

entre la enzima y el sustrato, El cual puede ser fuertemente unido dentro de la estructura de la enzima. Los cofactores más comunes para oxidar la glucosa son: dinucleótido de falvina adenina (FAD), nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y pirroloquinolina quinona (PQQ). **Figura 2.5**



**Figura 2.5 cofactores más comunes para oxidar la glucosa; FAD/FADH<sub>2</sub>, NAD<sup>+</sup>/NADH, Y PQQ.**

## 2.6 BIOCELDAS DE COMBUSTIBLE

La generación de electricidad a partir de técnicas renovables y amigables con el ambiente, así como el desarrollo de dispositivos capaces de satisfacer las necesidades de sensores inalámbricos y control remoto, ha motivado el desarrollo de diferentes tecnologías para utilizar la energía almacenada de compuestos orgánicos, tales como fructosa, etanol, metanol y glicerol.

Las bioceldas de combustible (BCC) se pueden clasificar en aquellas que utilizan células vivas (bacterias, algas) y los que utilizan catalizadores

extraídos de células (enzimas, cascadas de enzimas y, más recientemente, mitocondrias) como catalizadores biológicos.

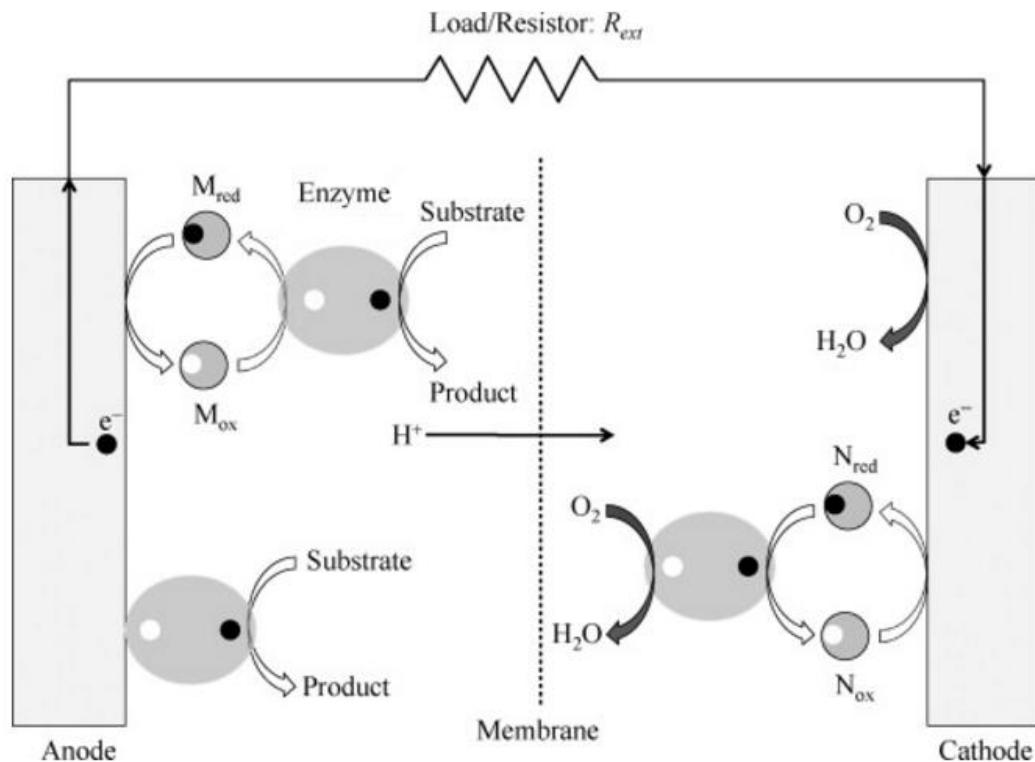
El uso de células vivas como catalizadores en células de combustible microbianas (BCCM) es un área con aplicaciones relacionadas con la conversión de la biomasa en electricidad. (Para uso biológico no está contemplado debido a los riesgos que conlleva).

En las últimas décadas, las bioceldas de combustible enzimáticas han generado gran interés debido a sus potenciales aplicaciones, tales como bioelectrónica, sensores y con propósitos médicos.

En el sentido más amplio, las BCC se definen como los dispositivos capaces de transformar directamente la energía química en eléctrica a través de reacciones electroquímicas que dependen de vías bioquímicas. En lugar de catalizadores de metales nobles, se emplean enzimas para catalizar las reacciones redox, que ofrece las siguientes ventajas: costo comparativamente bajo, operación bajo condiciones moderadas (temperatura 20-50°C y pH neutro) y sin emisión de gases efecto invernadero.

La conversión de energía química en eléctrica se consigue por el acoplamiento de una reacción de oxidación (suministro de electrones) en el ánodo, con una reacción de reducción utilizando los electrones en el cátodo. Estas dos reacciones son separadas electrónicamente en el interior del sistema para obligar a los electrones a fluir a través de un circuito externo, mientras que el movimiento de iones en el interior del sistema

mantiene el equilibrio de cargas y completa el circuito eléctrico. **Figura 2.6**



**Figura 2.6 Representación esquemática de una biocelda de combustible, con reducción de oxígeno en el cátodo, la oxidación del sustrato es catalizada por enzimas.**

Se han propuesto las bioceldas de combustible enzimáticas (BCCE), que pueden catalizar la oxidación de los combustibles en los ánodos y/o reducción de oxidantes en cátodos para proporcionar energía eléctrica. BCCE completos tienen catalizadores enzimáticos, tanto en el ánodo y el cátodo, mientras que también se han propuesto BCCE híbridas, donde sólo uno de los dos electrodos está basado en la catálisis enzimática, mientras que el otro se basa en procesos catalíticos tradicionales de pilas de combustible o de la batería.

Las ventajas que ofrecen las BCCE son la capacidad de producir una amplia gama de catalizadores basados en procesos sostenibles (biológicos), la versatilidad de los catalizadores es oxidar/reducir una amplia gama de sustratos bajo condiciones moderadas de pH y temperatura, y la alta especificidad de las reacciones catalíticas, lo que

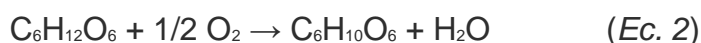
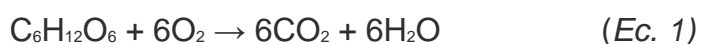
permite en algunos casos la eliminación de las membranas en las celdas de combustible tradicionales, donde se hace uso de una membrana electrolítica.

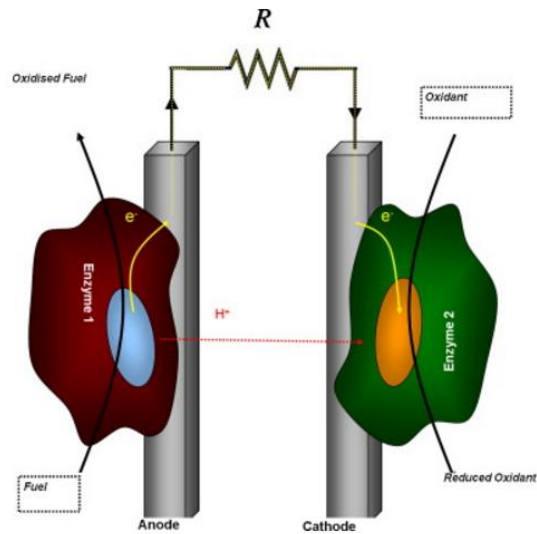
Una potencial aplicación que ha recibido mucho la atención es el desarrollo de BCCE miniaturas, para implantes que proporcionan energía intermitente subcutáneamente, o monitores insertados que permiten detectar los niveles de glucosa en el fluido intersticial.

Las potencias de una BCCE dependen del voltaje y la corriente de la celda. El voltaje de la celda depende de los combustibles y oxidantes seleccionados, la velocidad de transferencia de electrones, la corriente que fluye, la resistencia dentro de la celda (pérdidas óhmicas) y los procesos de transporte de masas. Por ejemplo, el voltaje de la celda para la oxidación completa de la glucosa en dióxido de carbono y agua puede ser estimada (*Ec. 1*) como 1.24 V a 25°C. A partir de energías libre de Gibbs estándar de formación de todos los componentes de BCCE se presentan 100% de eficiencia coulombiana sin sobretensiones o pérdidas óhmicas. Para llevar a cabo la extracción de hasta 24 electrones de la glucosa, los estudios se centran en el montaje de múltiples enzimas en el ánodo, sin embargo, la mayoría de las investigaciones de las BCCE se han centrado, hasta la fecha, en el uso de una sola enzima en el ánodo para oxidar la glucosa a glucolactona, *Ec. 2*, proporcionando sólo 2 electrones por mol de glucosa y un voltaje de celda de máximo 1.18 V.

Los voltajes máximos de celda para una BCCE se determinan normalmente por la diferencia entre los potenciales formales redox ( $E^\circ$ ) de los cofactores de la enzima redox, en el sitio activo, utilizado para el ánodo y cátodo.

### Figura 2.7





**Figura. 2.7** Representación esquemática de los procesos de una biocelda enzimática de combustible, con la oxidación del combustible por la enzima 1, proporcionando electrones y protones, junto con la reducción de un oxidante por la enzima 2, el cual consume los electrones y protones.

## 2.7 Nanocompuestos en bioceldas de combustible

Las nanopartículas metálicas, incluidas las NpAu ahora se utilizan en sistemas bioelectroquímicos para proporcionar una superficie específica más alta, mejor orientación enzimática, mejorar la transferencia de electrones o una combinación de cada uno. La mayoría de los trabajos reportados sobre la GOx consiste en la adición de partículas metálicas dentro de matrices poliméricas, o directamente la fijación de GOx sobre Pt o partículas de oro para acortar la distancia entre los centros redox FAD/FADH<sub>2</sub> y la superficie del electrodo. (N.Mano, 2019)

En las últimas décadas se ha centrado la investigación en mejorar la transferencia de electrones entre la Glucosa Oxidasa (GOx) y el electrodo de superficie para mejorar el rendimiento electroquímico en una celda de combustible, es por ello que se hace un esfuerzo para sintetizar nuevos modificadores de la superficie del electrodo o agentes inmovilizadores de enzimas, el cual pueda inmovilizar a la enzima además de retener la bioactividad de la misma. (Lai, 2016)



# Capítulo 3

## MÉTODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 3.1 Reactivos

Todos los reactivos empleados son grado analítico. El agua empleada en todos los casos fue agua desionizada.

- Polvo de grafito.
- Ácido sulfúrico 98% (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Meyer).
- Ácido clorhídrico (HCl, Meyer).
- Acetona (Meyer).
- Etanol 98% (Meyer).
- Nitrato de sodio (NaNO<sub>3</sub>, Meyer).
- Permanganato de potasio (Meyer).
- Monómero de anilina (Sigma Aldrich).
- Chloride trihidrate (HAuCl<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, Sigma Aldrich).
- Polytetrafluoroetileno 60% wt, disperso en agua (Teflon Sigma Aldrich)
- Peróxido de hidrogeno (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Reasol).
- Persulfato de amonio (Golden Bell).
- Tinta Nafion (Sigma Aldrich).
- Tela y papel de carbono (Sigma Aldrich).
- Borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>, Sigma Aldrich).
- Ácido cítrico (Sigma Aldrich).
- Enzima glucosa Oxidasa de *Aspergillus niger* (GOx 140 KU/mg, Sigma Aldrich).
- Peroxidasa de rábano (HRP, 173 U/mg, Sigma Aldrich).
- Buffer de fosfatos pH 7.4 (MEYER)
- ABTS 2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid (Sigma Aldrich).

- POD Peroxidase (Horseradish roots, Sigma Aldrich).
- D-(+) Glucosa anhidra, (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, Sigma Aldrich).

## 3.2 Síntesis de los Materiales:

### 3.2.1 Síntesis del óxido de Grafeno

La síntesis del grafeno se hizo a partir de su precursor el grafito, se utilizó grafito en polvo, el método de obtención fue el método de Hummer; el cual consiste en dos procesos, el primero es la oxidación con ácidos fuertes, en el cual se rompen las fuerzas intermoleculares por medio de la adición de grupos funcionales (hidroxilos, éteres, cetonas y epóxidos) en los anillos aromáticos de la red cristalina del grafito (obteniéndose óxido de grafito), y el segundo la aplicación de sonicación y centrifugación para la obtención de dispersiones acuosas de óxido de grafeno (GO, por sus siglas en inglés). El proceso detalladamente se describe a continuación:

A un matraz erlenmeyer de 5 L se le añadieron 230 mL de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 98%) enfriado a 0°C, al cual se le adicionó 10 g de grafito en polvo y 5 g de nitrato de sodio. Después se adicionaron lentamente 30 g de permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>), cuidando que no se eleve la temperatura y con agitación constante, esta mezcla se mantuvo así durante 2 horas, posteriormente con suma precaución, se añadieron 2 L de agua desionizada para diluir la mezcla, por último, para reducir el exceso de permanganato se añadieron 25 mL de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30%).

La mezcla anterior se filtró en un embudo Buchner y el precipitado fue lavado con una disolución de HCl 1 M, el producto obtenido, óxido de grafito, fue secado en el liofilizador, para después hacer dispersiones en agua destilada en concentración 10% en peso, y llevados a un baño de ultrasonido de media potencia durante 2 horas.

Se obtuvo una dispersión color marrón la cual fue centrifugada a 4500 rpm durante 10 min, haciendo lavados exhaustivos con agua destilada (por lo menos 5 lavados).

### 3.2.2 Síntesis de Polianilina y Polianilina *in situ* con óxido de grafeno

La polianilina se sintetizó mediante polimerización química usando persulfato de amonio (APS) como agente oxidante y ácido clorhídrico (HCl, 2M) como agente dopante. La relación molar empleada anilina-APS fue 1:1 respectivamente.

Se prepararon 2 soluciones de anilina y APS por separado, en 100 mL de HCl 2M se adicionaron 0.3 mL de anilina, y en la solución de APS se añadieron 0.3 g en 100 mL de HCl 2 M. ambas soluciones se llevaron a baño de hielo a 0°C y posteriormente fueron mezcladas y puestas en ultrasonido durante 3 horas a una temperatura no mayor a 20°C. Se obtuvo una mezcla color verde, la cual fue filtrada en un embudo Buchner, también al precipitado verde se le hicieron lavados con agua desionizada y etanol. Por último el producto final se dejó secar en un horno a 60°C durante 4 horas.

Para la síntesis del híbrido óxido de grafeno/polianilina (GO/PANI), fue preparado por el mismo método de polimerización, pero con presencia del óxido de grafeno en una relación de anilina-GO del 40%:60% en peso (W). en las mismas condiciones ácidas de HCl 2 M y usando baño ultrasónico a 20°C durante 3 horas de acuerdo al método de síntesis de la polianilina. Para finalizar solo se hicieron lavados exhaustivos con agua destilada para remover el exceso de ácido.

### 3.2.3 Síntesis de nanopartículas de oro.

Para la síntesis de nanopartículas de oro (NpAu), se empleó el método de Turkevich, en el cual en un frasco con 10 mL de solución precursora de Au, una solución de tetracloroaurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) 1mM se calienta en una parrilla a 96°C con agitación constante, después se adiciona 1 ml de citrato de sodio 38.8 mM a la solución anterior, y se observa un cambio de color de amarillo a rojo borboña. Se mantiene con agitación constante y calentamiento durante 15 min más después del cambio de coloración. Una vez obtenida la solución coloidal de NpAu se almacena a 4°C.

### **3.3 Disoluciones**

#### **3.3.1 Disolución de Glucosa Oxidasa (GOx)**

Se pesa 1 mg de la enzima y se disuelve en 1ml de solución buffer de fosfatos pH 7.4 (APS), a esta solución se vuelve a diluir con 100 µl (disolución anterior) en 1000 µl de buffer APS.

#### **3.3.2 Disolución de ABTS**

Se pesan 8 mg de ABTS y se disuelven en 4 ml de solución buffer APS pH7.4.

#### **3.3.3 Disolución de D-(+) – Glucosa Anhidra**

Se pesan 0.2 g de glucosa anhidra y se disuelven en 1 ml de agua desionizada.

### **3.4 Diseño de los Electrodo de trabajo**

#### **3.4.1 Electrodo de Óxido de Grafeno (GO), Polianilina (PANI) y Óxido de Grafeno/Polianilina (GO/PANI)**

Para la preparación de los electrodo de trabajo a base de óxido grafeno, polianilina y el composito GO/PANI se prepararon en una mezcla de proporción 90:10 w/w del nanomaterial y polytetrafluoroethylene (Teflón) como aglutinante, la disolución se llevó a cabo en etanol. El material soporte utilizado fue la tela de Carbono con un área de 1cm<sup>2</sup>, la mezcla se dejó secar a temperatura ambiente durante 12 h.

También se hicieron electrodo cambiando el aglutinante por tinta nafión, y el material de soporte cambiándolo por papel de Carbón. Esto por ser mejor conductor iónico y por tener un tamaño de reticulación menor al de la tela de Carbono respectivamente.

### 3.4.2 Electroodos Híbridos GO/PANI/NpAu

Para el caso del material híbrido GO/PANI/NpAu fueron mezclados en una proporción de 72:20:8 w/w respectivamente, se utilizó Teflón como aglutinante y etanol como disolvente, el material soporte 1cm<sup>2</sup> tela de Carbono, la mezcla de dejó secar durante 12 h.

### 3.4.3 Electroodos PANI y GO/PANI con GOx

Se prepararon electroodos como se indican en el apartado 3.4.1 y 3.4.2 y para la incorporación de la enzima GOx se adicionó 20 µl de la disolución de GOx (apartado 3.3.1).

## 3.5 Caracterización Fisicoquímica de los materiales

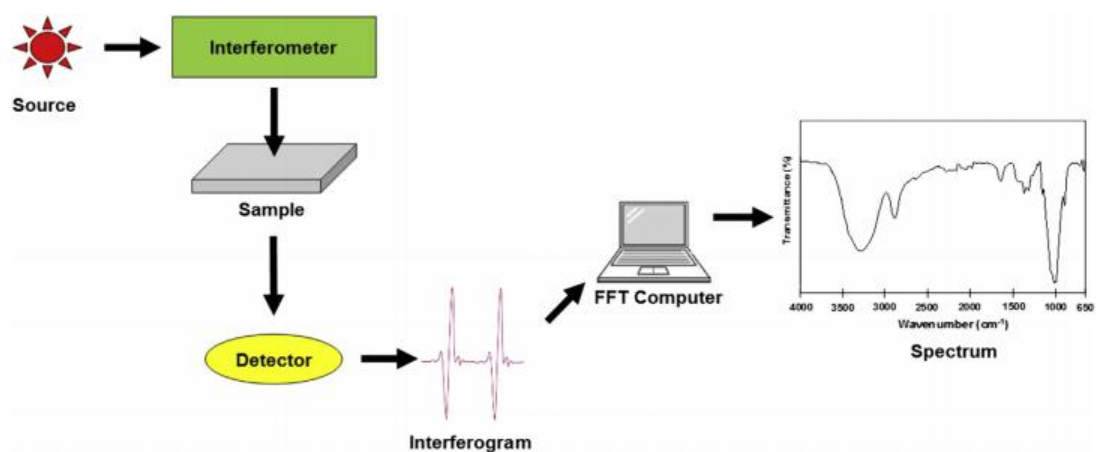
### 3.5.1 Microscopía Electrónica de Barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM) utiliza un haz enfocado de electrones que interaccionan con la muestra para producir una imagen topológica y una composición relativa. Al entrar en contacto con la muestra, el haz de electrones enfocado producirá electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X, que posteriormente se detectan con los respectivos detectores y finalmente ya traducidos se muestran en un monitor . Los componentes típicos de un SEM incluyen la fuente de electrones, columna que tiene lentes electromagnéticas, detector de electrones, cámara de muestra y la pantalla de la computadora. (Abd Mutalib, 2017)

### 3.5.2 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier

El instrumento que determina el espectro de absorción para un compuesto se llama espectrofotómetro. La siguiente **figura 3.1** ilustra esquemáticamente los componentes de un espectrofotómetro FTIR simple. El instrumento produce un haz de irradiación IR, que se emite desde un cuerpo brillante negro, posteriormente, el haz pasa por un interferómetro donde tiene lugar la

codificación espectral, el haz después ingresa al compartimiento de la muestra, y ésta absorbe frecuencias específicas de energía, que son características únicas de la muestra del interferograma, luego el detector mide la señal especial de interferograma en energía versus tiempo para todas las frecuencias simultáneamente. El espectro se obtiene después de que el interferograma restó automáticamente el espectro de fondo del espectro de la muestra mediante el software de transformada de Fourier. El IR obtenido se encuentra en la región media del IR que se encuentra entre  $4000$  y  $666\text{ cm}^{-1}$  y es donde los estados de energía vibracional para muchos grupos funcionales se lleva a cabo. (Mohamed, 2017)



**Figura 3.1 Ilustración esquemática de los componentes para un FTIR.** (Mohamed, 2017)

### 3.5.3 Cristalografía de Rayos X

La cristalografía de rayos X es una de las técnicas más utilizadas para determinar la estructura tridimensional de las moléculas. Esta técnica consiste en pasar un haz de rayos X a través del cristal, los rayos X interactúan con las nubes de electrones de los átomos en el cristal y su disposición atómica regular y repetitiva da lugar a un patrón complejo de haces difractados que un detector registra como puntos (patrón de difracción), codificando este patrón hay información sobre las posiciones de los átomos en el cristal.

El cristal de la muestra actúa como una rejilla tridimensional que difracta el haz incidente de rayos X solo en ciertas direcciones. Estas direcciones dependen de la orientación del cristal y sus dimensiones de celda unitaria. El patrón de difracción es un registro de las direcciones e intensidades de todos los rayos X difractados por un cristal, las ondas dispersas se suman, aumentando la señal a un nivel medible y cancelarse unos a otros en todas las demás direcciones, es por eso que el patrón de difracción de un cristal consiste en un número discreto de haces difractados. (Brito, 2013)

### **3.5.4 Espectroscopía Raman**

La espectroscopía Raman se usa ampliamente como una herramienta no destructiva para obtener información valiosa sobre la composición molecular. Se basa en el examen de la luz dispersada por un material al incidir sobre él un haz monocromático. La luz dispersada inelásticamente, conocida como espectro Raman, comprende modos característicos vibracionales de moléculas que generalmente son excitadas por radiación láser. Las transiciones de energía que implican cambios en los estados vibracionales de las moléculas se denominan transiciones vibracionales y se describen mediante espectroscopía vibratoria Raman y absorción IR.

La espectroscopía Raman e IR son técnicas complementarias, si bien la absorción de la radiación IR está condicionada por la existencia de un momento dipolar asociado por una vibración molecular, la dispersión Raman depende de la modificación de la polarización de una molécula y posteriormente dispersión de fotones. Los espectros resultantes ofrecen una huella química única para la muestra investigada y estos métodos vibratorios pueden detectar modificaciones sensibles a niveles moleculares, la región de la huella digital de las moléculas orgánicas está en el rango de 500 a 2000  $\text{cm}^{-1}$ . (Cîntă Pînzaru, 2018)

### **3.5.5 Espectroscopía de UV vis**

La espectroscopía UV-vis utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones; visible, ultravioleta cercano, infrarrojo cercano, es decir entre 380 nm y 780 nm.

La radiación absorbida por las moléculas de esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas.

La espectroscopía UV-vis se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de las moléculas. El principio involucra la excitación, donde una molécula absorbe luz, que se transfiere a un estado excitado electrónicamente, lo que significa que un electrón va de un estado basal a uno de mayor energía, seguido de una relajación vibracional, donde la molécula experimenta un estado de transición de un estado excitado electrónicamente superior a uno inferior, liberando energía. (Karoui, 2018)

### 3.6 Evaluación Electroquímica

Los experimentos electroquímicos fueron llevados a cabo en una celda convencional de tres electrodos **figura 3.2**. Una barra de grafito fue usada como contra electrodo (área de  $3.7 \text{ cm}^2$ ). Los potenciales fueron medidos con respecto al electrodo estándar de plata/cloruro de plata saturado con KCl ( $\text{Ag/ClAg}$ ) y un electrodo de trabajo que será modificado con los diferentes nanomateriales sintetizados y en el que se inmovilizará la enzima glucosa oxidasa.



**Figura 3.2 Celda electroquímica de tres electrodos.**



### 3.6.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)

La espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIS) es una técnica no destructiva, y consiste en la aplicación de una perturbación senoidal de potencial eléctrico de frecuencia variable al material estudiado y el registro de la respuesta en corriente dentro de una celda electroquímica. En muchos materiales y sistemas electroquímicos la impedancia varía con la frecuencia del potencial aplicado en una forma que está relacionada con las propiedades de dichos materiales. A partir de las mediciones de desfase y de amplitud de la respuesta, es posible obtener la impedancia de transferencia electroquímica del material estudiado (Ec. 2)

La corriente resultante tiene la misma frecuencia que el potencial aplicado pero diferente magnitud y fase

$$Z^* = \frac{E_0}{I_0} = \frac{E_0 \cdot \text{sen}(\omega \cdot t)}{I_0 \cdot \text{sen}(\omega \cdot t + \phi)} = Z_0 \cdot \frac{\text{sen}(\omega \cdot t)}{\text{sen}(\omega \cdot t + \phi)}$$

**Ec. 2**

Donde  $E_0$  es el potencial,  $I_0$  es la intensidad,  $\omega$  es la frecuencia y  $\phi$  es el desfase. De este modo, la impedancia puede expresarse en función de una magnitud  $Z_0$  y un desfase  $\phi$ .

La EIS es una técnica de gran importancia debido a los datos que se pueden obtener, habitualmente se usa para la caracterización de recubrimientos, baterías, celdas de combustible y fenómenos de corrosión. (Chakraborty, 2019)

### 3.6.2 Voltamperometría Cíclica

La Voltamperometría cíclica es una de las técnicas electroquímicas de barridos en potenciales más utilizadas que permite la caracterización cualitativa y cuantitativa de las reacciones electroquímicas, junto con la determinación de la

actividad de un catalizador, esta técnica se ha utilizado para definir las reacciones electroquímicas que ocurren en ambos electrodos, para determinar el área de superficie electroquímicamente activa y la presencia de especies absorbidas indeseables en la superficie del electrodo.

Las mediciones de CV se pueden realizar en diferentes rangos de voltaje, que deben ser cuidadosamente elegidos para garantizar que cubra las diferentes reacciones del electrodo. El barrido, generalmente utilizado en sistemas de celdas de combustible, es de alrededor de 10–50mV / s. (Pinto, 2018)

### **3.7 Determinación de la actividad enzimática para la Glucosa Oxidasa.**

La actividad enzimática es una medida de la cantidad de enzima activa presente y del nivel de actividad de la misma, se expresa en Unidades Internacionales (UI) por unidad de volumen (UI/ml, UI/L...) siendo una UI la cantidad de enzima que transforma un micromol de sustrato por minuto en condiciones estándar previamente establecidas.

Todos los ensayos enzimáticos miden el sustrato consumido o el producto que genera la reacción durante un tiempo, existen diferentes maneras de medir la actividad enzimática, generalmente se evalúa mediante ensayos espectrofotométricos, por tanto, necesitamos seguir la evolución de alguno de los elementos que participan en la reacción y que, por supuesto, deben absorber luz a una determinada longitud de onda, así podemos evaluar la formación del producto analizando con el incremento de absorbancia a dicha longitud de onda, o bien si el sustrato absorbe luz a una longitud de onda determinada podemos evaluar el consumo del sustrato analizando la disminución de absorbancia a dicha longitud de onda. (Schnell, 2006)

La determinación de la actividad de la glucosa oxidasa se hizo según las especificaciones del fabricante (sigma Aldrich), el cual es a partir del cambio de la absorbancia medida en el rango UV-vis a 500 nm.

# Capítulo 4

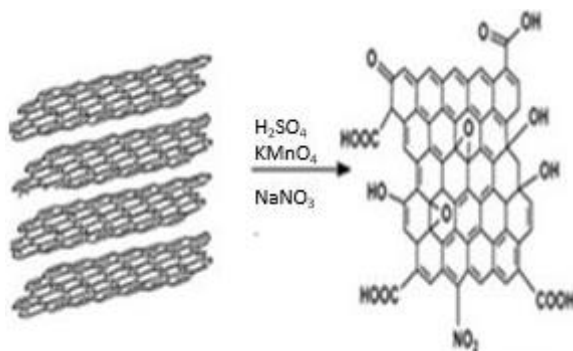
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Caracterización de los Materiales

#### 4.1.1 Óxido de Grafeno (GO)

La síntesis de óxido de grafito se hizo por el método de Hummer. Seguido de la oxidación el material resultante fue sonificado para romper las fuerzas de Van der Waals y así separar las láminas y obtener el óxido de grafeno **figura. 4.1**.

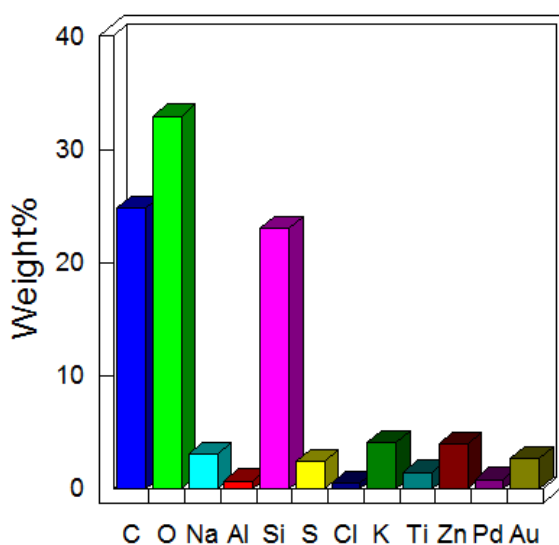
La incorporación de oxígeno en la red cristalina del grafito fue evaluada mediante la determinación de la relación carbono/Oxígeno a través del análisis elemental, los análisis de los grupos funcionales formados mediante la oxidación fueron evaluados por FTIR y patrón de difracción de rayos X, la observación de la morfología del material resultante fue analizada por microscopía electrónica de barrido de alta resolución (HRSEM).



ura. 4.1 Oxidación de la estructura cristalina del grafito mediante el método de Hummers. En donde se introducen grupos funcionales en la estructura cristalina del grafito y por sonicación se separan las láminas de grafeno oxidado.

#### 4.1.1.1 Análisis Elemental

Para investigar la incorporación de grupos oxigenados en la red cristalina del grafito, se hizo un análisis elemental por microscopía electrónica de barrido, para medir las proporciones en masa de carbono y oxígeno. Los resultados se pueden observar en el **Figura 4.2**, donde se destaca la cantidad de oxígeno (33%) presente en la muestra y es más alta que la cantidad de carbono (26%) debido a la incorporación de agua (ya que, aunque se hicieron secados en el liofilizador, es imposible eliminar el agua del ambiente). La presencia de azufre es debida a trazas que no son eliminadas en los lavados de los restos de aniones provenientes del oxidante o del producto de reducción del mismo ( $SO_4^{2-}$ ).



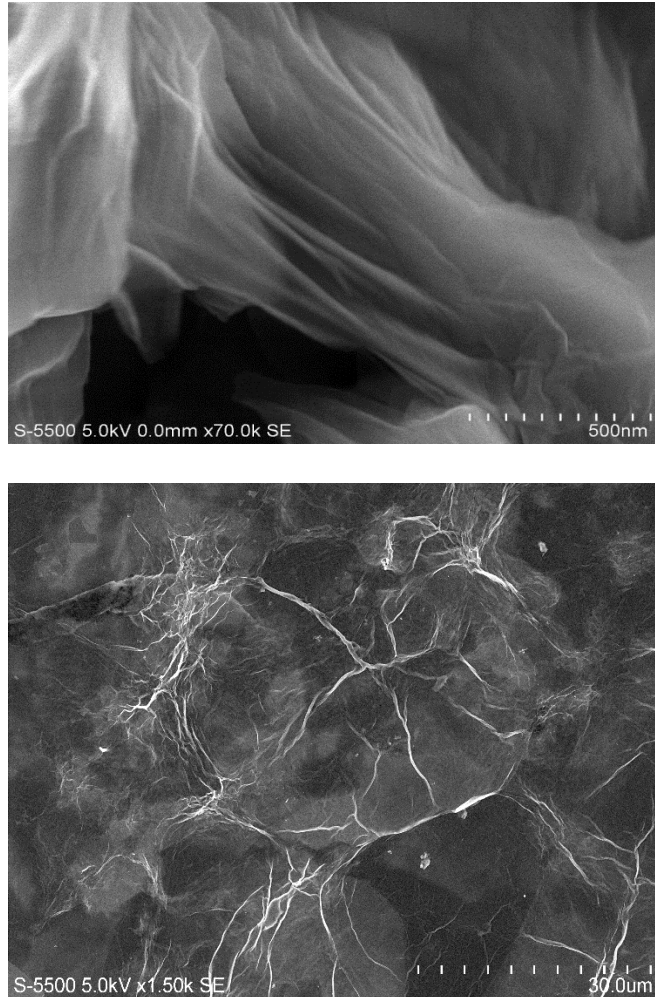
**Figura. 4.2 Análisis elemental del óxido de grafeno, se observa el alto grado de oxidación del mismo.**

#### **4.1.1.2 Microscopia Electrónica de barrido de alta resolución (HRSEM)**

La microscopía electrónica de barrido, puede operar en el modo de alta resolución (HRSEM por sus siglas en inglés), para obtener detalles finos de una muestra cuya escala se encuentra en un rango nanométrico.

La morfología del óxido de grafeno (GO) fue estudiada en el microscopio electrónico de barrido operado a 30 kV. Para la preparación de las muestras el GO se sometió a un proceso de sonicación en una suspensión de etanol durante 10 min y se depositó mediante goteo a una rejilla para su análisis.

En las imágenes de la **figura 4.3** se muestran a) láminas de óxido de grafeno cuya morfología se observa arrugada y con dobleces, b) se detalla láminas de óxido de grafeno que presenta la propiedad óptica de transparencia.

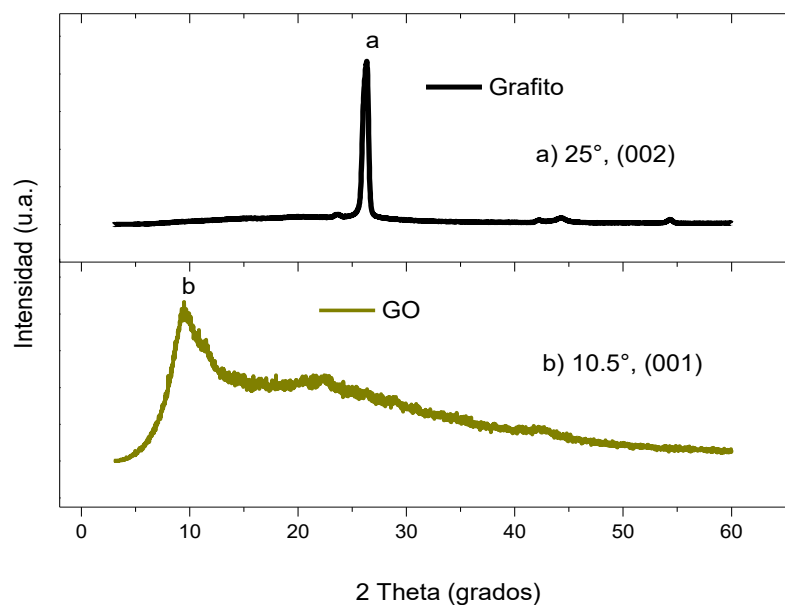


**Figura 4.3** Imágenes obtenidas por HRSEM del óxido de grafeno a) laminas GO arrugadas y con dobleces, b) Imagen donde puede observarse la transparencia del material al encontrarse con pocas láminas de GO.

En este estudio de caracterización óptica se puede concluir que el óxido de grafeno sintetizado está altamente oxidado, lo cual es muy conveniente para la introducción de cadenas poliméricas sobre los grupos funcionales de la red cristalina del óxido de grafeno.

#### 4.1.1.3 Difracción de rayos X (RXD)

Se obtuvieron difractogramas de rayos X (RXD por sus siglas en inglés), para el grafito, y para el óxido de grafeno. En la **figura 4.4** se muestran a) el patrón de difracción de rayos X del grafito y en él se observa un pico intenso el cual es atribuido a un alto ordenamiento en su red cristalina, con un ángulo de difracción de  $2\theta$  de  $26^\circ$  y con una reflexión basal de (002), que indican una distancia entre planos ( $d$ )  $d = 0.35$  nm, basado en la ecuación de la ley de Bragg. Después de la oxidación química e intercalación de las láminas de grafeno, los picos se desplazaron a un plano de reflexión de ángulo inferior (001) a  $2\theta = 10.5^\circ$ . lo que indica una separación de  $d = 0.84$  nm, este aumento del espaciamiento en la distancia interplanar ( $d$ ) es atribuido a la intercalación de moléculas de agua y por la generación de grupos funcionales oxigenados, tales como epoxi e hidroxilo, el ensanchamiento del pico es indicativo del desorden que se genera entre las láminas del óxido grafeno.

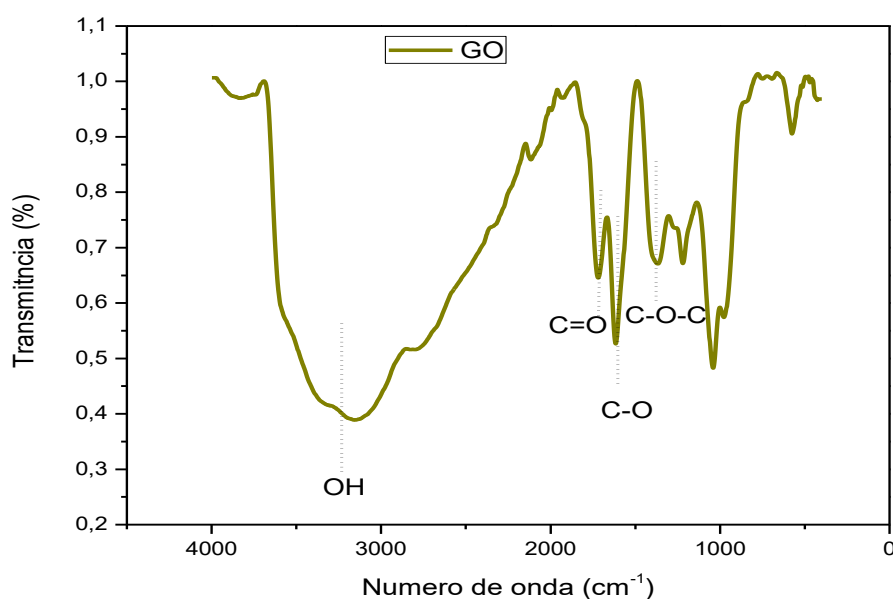


**Figura. 4.4** Difractogramas de rayos X a) de grafito y b) de óxido de grafeno.

#### 4.1.1.4 Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier

La espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier es una herramienta útil para elucidar y confirmar el anclaje covalente de grupos funcionales, es decir muy útil para seguir paso a paso una reacción química.

La **Figura 4.5** representa el espectro de absorción por FTIR del GO el cual muestra bandas características de absorción a  $3200\text{ cm}^{-1}$ , las cuales son atribuidas a la vibración de los grupos O-H. También muestra la banda característica de la vibración del enlace C=O a  $1734\text{ cm}^{-1}$  para la molécula enlazada de COOH. Además, se observan bandas alrededor de  $1605$  y  $1376\text{ cm}^{-1}$  las cuales son debidas a la intercalación del agua y vibraciones de deformación de los grupos C-O en C-OH y C-O-C, estos valores concuerdan con los encontrados en la bibliografía (Yang. Xu 2009, Fang Hu, 2014), por lo cual se comprueba la incorporación de grupos funcionales anclados a la red cristalina del grafeno.



**Figura 4.5** Espectro de absorción FTIR del óxido de grafeno.

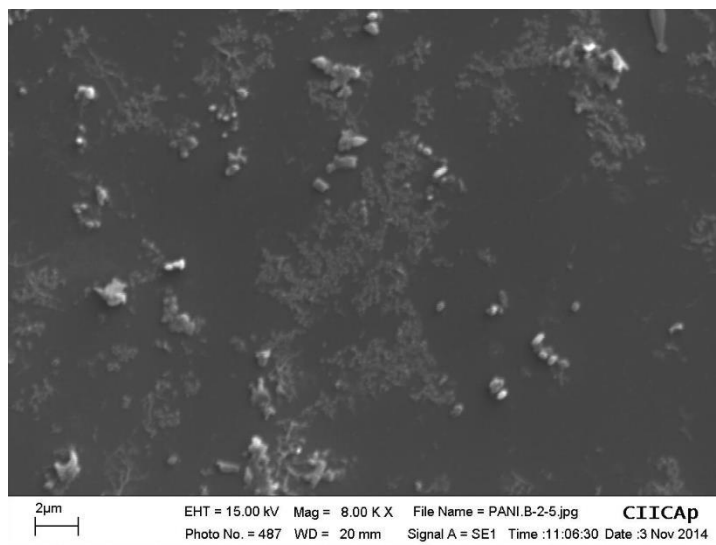


### **4.1.2 Polianilina (PANI)**

Para seguir paso a paso la reacción química usamos las herramientas de FTIR y XRD que nos ayudan a elucidar la efectiva polimerización, además se observó el polímero en el microscopio electrónico de barrido (SEM) para observar su morfología.

#### **4.1.2.1 Microscopía electrónica de Barrido**

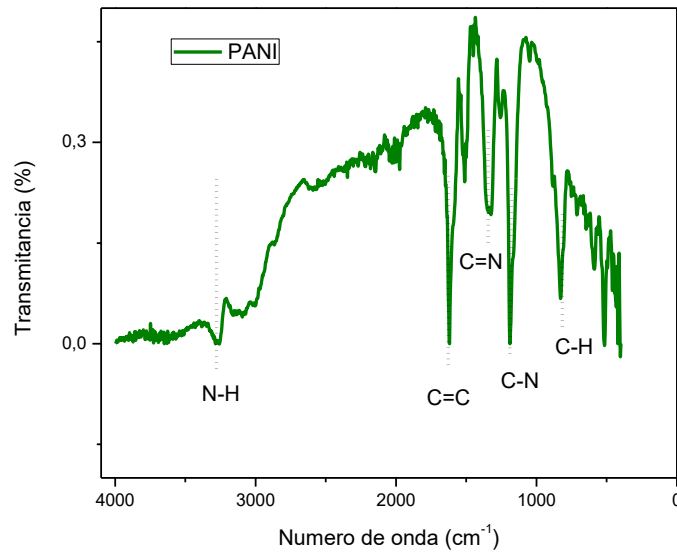
Como se ha mencionado anteriormente las características y comportamiento de cada material, no solo depende de su naturaleza química, el tamaño y forma juegan un papel muy importante en los materiales nanométricos, ya que de esto depende su área superficial, área de contacto y anclaje con otras moléculas, por eso se enfatiza el estudio de la forma y tamaño, para evaluar estos parámetros en la polianilina se utilizó la herramienta de microscopía electrónica de barrido, en la cual en la **figura 4.6** se observan nanofibras de polianilina menores a 100 nm.



**Figura 4.6 Imagen de microscopía electrónica de barrido de la polianilina donde se observa la morfología de nanofibras menores a 100 nm**

#### **4.1.2.2 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier**

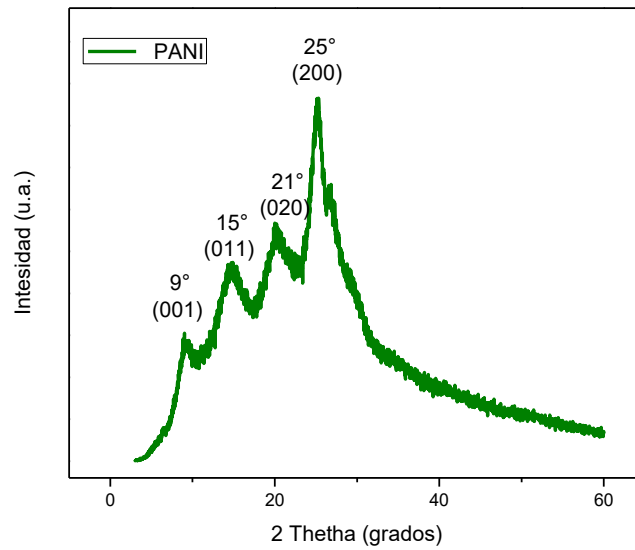
Para el polímero polianilina se observan su espectro de absorción **figura 4.7** con picos o bandas de absorción *stretching* a 1630 y 1394  $\text{cm}^{-1}$  para los grupos C=C y C=N correspondientes a la deformación del grupo quinoide y de la amina aromática secundaria, estos picos de absorción revelan la presencia del estado de sal de Emeraldina en PANI (Shiyong Wang, 2015, vol 299). Las bandas a 1184 y 805  $\text{cm}^{-1}$  son correspondientes a la vibración *stretching* de -C-N y vibración bending fuera del plano para el grupo C-H del benceno correspondientemente (Mukesh Kumar, 2013). Alrededor de 3281  $\text{cm}^{-1}$  se observa la banda de absorción *stretching* para el N-H del grupo amino.



**Figura 4.7 Espectro de absorción por FTIR del polímero polianilina, con sus respectivas bandas de absorción.**

#### **4.1.2.3 Difracción de rayos X (RXD) PANI**

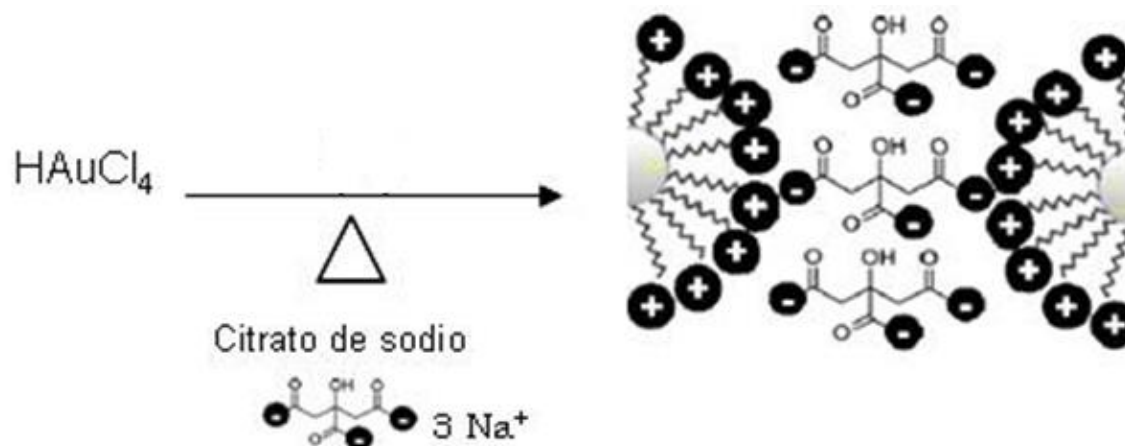
Los patrones cristalográficos correspondientes a sal de emeraldina de la polianilina podemos observarlos en la **figura 4.8** donde se exhiben los ángulos cristalográficos a  $2\Theta = 25^\circ$ ,  $21^\circ$ ,  $15^\circ$  y  $9^\circ$  los cuales corresponden a los planos de reflexión (200), (020), (011) y (001) respectivamente para la polianilina amorfa (Min Zhao, vol. 113).



**Figura 4.8 Patrones cristalográficos para la polianina y sus respectivos planos de reflexión.**

### 4.1.3 Nanopartículas de Oro

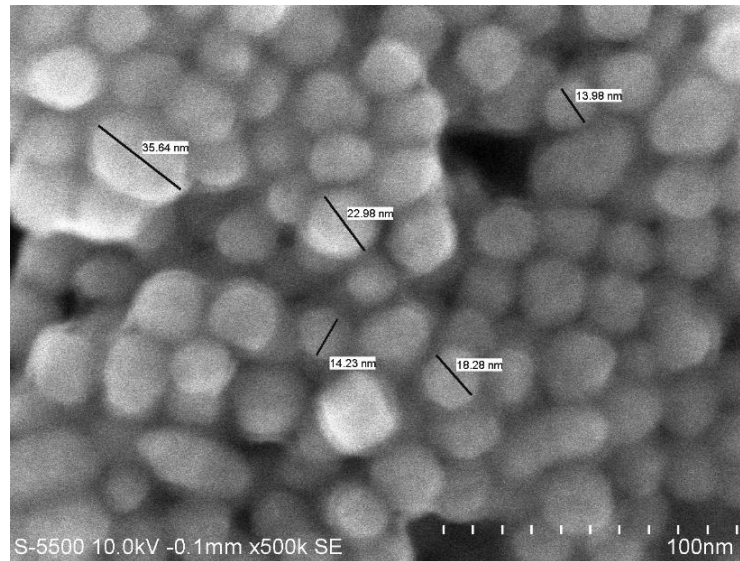
La síntesis de nanopartículas de oro, se realizó siguiendo el método clásico introducido por Turkevich en 1951 (Han- Wen Cheng, 2014) **figura 4.9**



**Figura 4.9 Ilustración del método de síntesis de NpAu mediante la reducción del  $\text{AuCl}_4^-$  en solución acuosa, con el agente oxidante/estabilizante citrato de sodio.**

#### 4.1.3.1 Microscopía Electrónica de barrido

Debido a que el tamaño y la forma de las NpAu son dependientes de las propiedades superficiales que éstas presenten, se hizo un estudio de éstos parámetros por microscopía electrónica de barrido de alta resolución **figura 4.10**, donde se estudió su estructura morfológica, encontrándose que todas las NpAu tienen forma esférica y tamaños promedio de entre 10- 40 nm de diámetro.

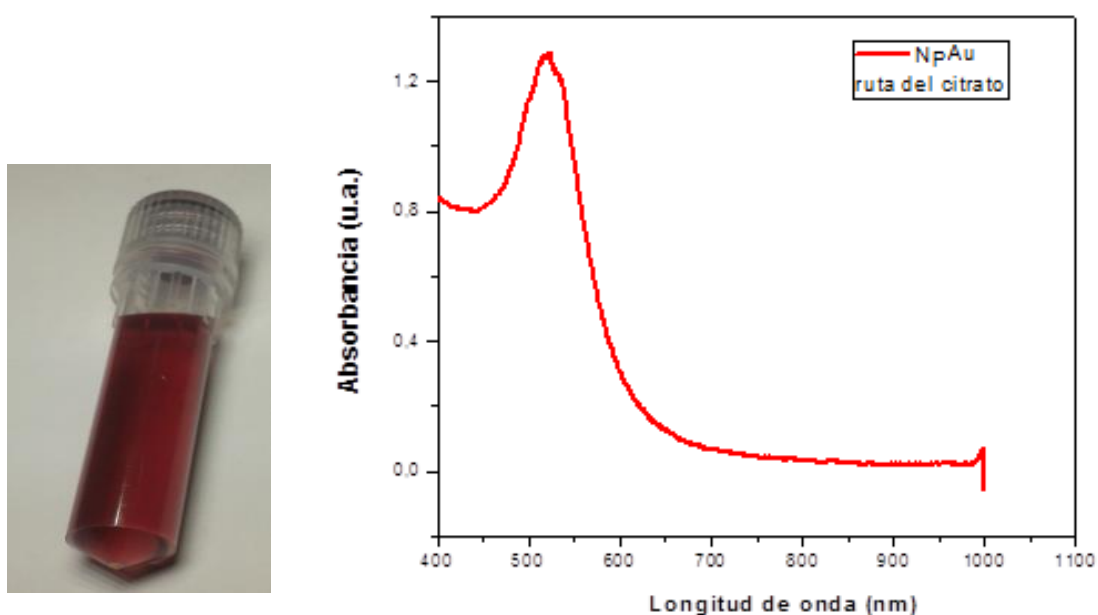


**Figura 4.10 Imagen de HRSEM de nanopartículas de oro, con forma esférica de tamaños que van de 10 a 40 nm de diámetro.**

#### **4.1.3.2 Espectroscopía Ultravioleta- visible**

Las propiedades ópticas de las nanopartículas de metales nobles como el Au dependen de su forma y tamaño. Cuando las dimensiones de las nanopartículas empiezan a ser más pequeñas que la longitud de onda de la luz incidente, la energía puede ser confinada en pequeñas regiones a través de la excitación de la resonancia de la superficie plasmon (SPR). (Ratan Das, 2015). La resonancia plasmon es el movimiento coherente de todos los electrones libres de la banda de conducción causado por la interacción con un campo electromagnético. El campo eléctrico de una onda luminosa entrante induce una polarización de electrones con respecto al núcleo iónico más pesado de las nanopartículas, esto induce una oscilación dipolar de todos los electrones libres con la misma fase. Cuando la frecuencia de la onda luminosa incidente llega a resonar con el movimiento coherente de los electrones de la banda de conducción se produce una fuerte absorción, que es el origen del color observado de los coloides (Ratan Das, 2015). Para

pequeñas nanopartículas metálicas (diámetros menores a 20 nm) el espectro de absorción depende únicamente de la oscilación dipolo, es por eso que se observa el cambio de color debido a la reacción de las sales de Au (amarillo pálido) con el citrato dando la formación a nanopartículas de oro (coloide color rojo), en el que exhibe la banda máxima de absorción de la resonancia de la superficie plasmon a 520 nm en respuesta característica de los núcleos de las NpAu **figura 4.11**.

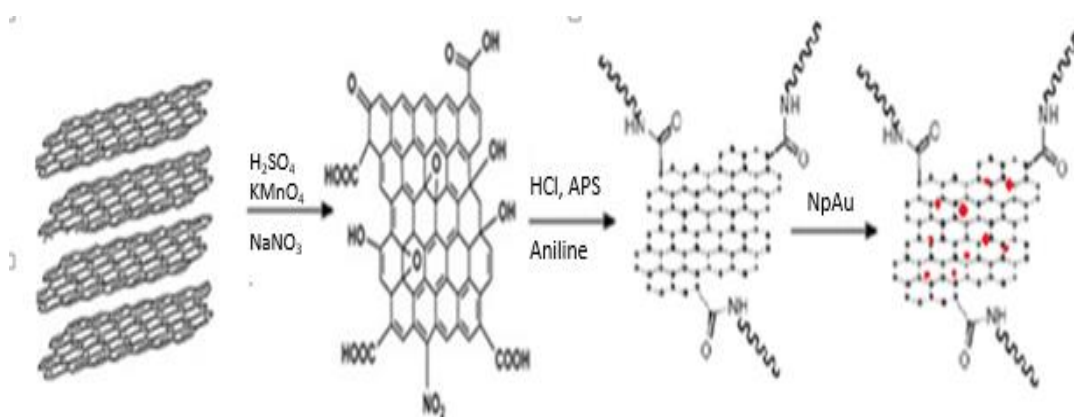


**Figura 4.11.** Izq. Se observa el coloide color rojo de las NpAu y derecha el espectro de absorción UV-Vis con un máximo de absorción a 520 nm debido a la resonancia plasmon de la superficie característica de las NpAu.

## 4.2 Caracterización de los materiales híbridos GO/PANI y GO/PANI/NpAu

Como se mencionó anteriormente en el capítulo 3.2.2 la síntesis de los materiales híbridos se hizo mediante una polimerización *in situ*

con el monómero Anilina y láminas de grafeno, y por último se agregaron NpAu, como lo describe la siguiente **Figura 4.12**.



**Figura 4.12** Polimerización química in situ de grafeno y polianilina para formar el compuesto híbrido GO/PANI y GO/PANI/NpAu con la incorporación de las NpAu sobre la matriz.

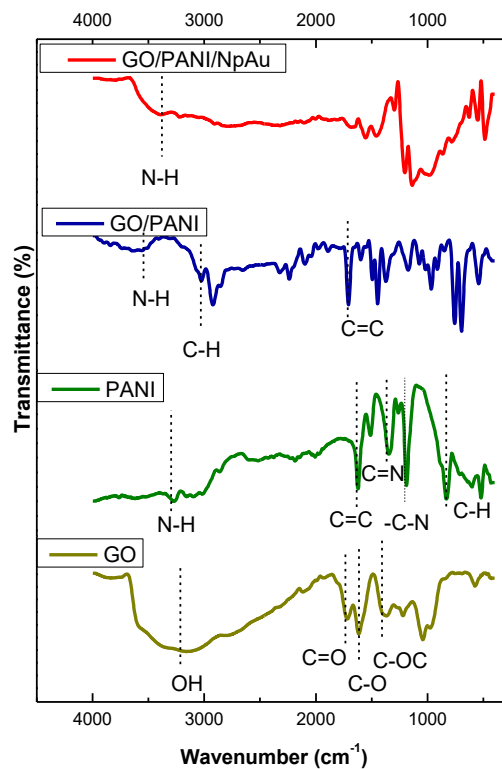
#### 4.2.1 Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier

Para evaluar cada paso en la reacción llevada a cabo en la síntesis del material híbrido, se muestra a continuación **figura 4.13** el espectro de absorción de infrarrojo FTIR de cada etapa de síntesis, GO, PANI, síntesis *in situ* GO/PANI, y GO/PANI/NpAu para así confirmar el cambio de los grupos funcionales durante cada síntesis.

Para el espectro del óxido de grafeno y la polianilina (GO Y PANI) fueron descritas las bandas de absorción de los grupos funcionales en la sección 4.1.1.4 y 4.1.2.2, las cuales se ilustran en esta sección para su comparación, para el caso del material GO/PANI las bandas de absorción son muy similares a las encontradas en PANI, sin embargo no se observan bandas o picos en  $3200\text{ cm}^{-1}$  y  $1734\text{ cm}^{-1}$  las correspondientes a las vibraciones ( $-OH$ ,  $C=O$ ), indicando la



efectiva reducción del óxido de grafeno debido a la polimerización de la Anilina (Mukesh Kumar, 2013). Además, el desplazamiento de las bandas FTIR indican que la PANI fue unida covalentemente a la superficie de las hojas de GO, esto es debido a un nuevo ordenamiento estructural que sufre la molécula. En el caso del espectro de absorción FTIR del material GO/PANI/NpAu lo que se estudia son los grupos funcionales encargados de la estabilización de las nanopartículas de oro, el cual es observado en la banda a  $3300\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración del grupo N-H (Wael H. Eisa. Mervat F. Zayed, 2014).



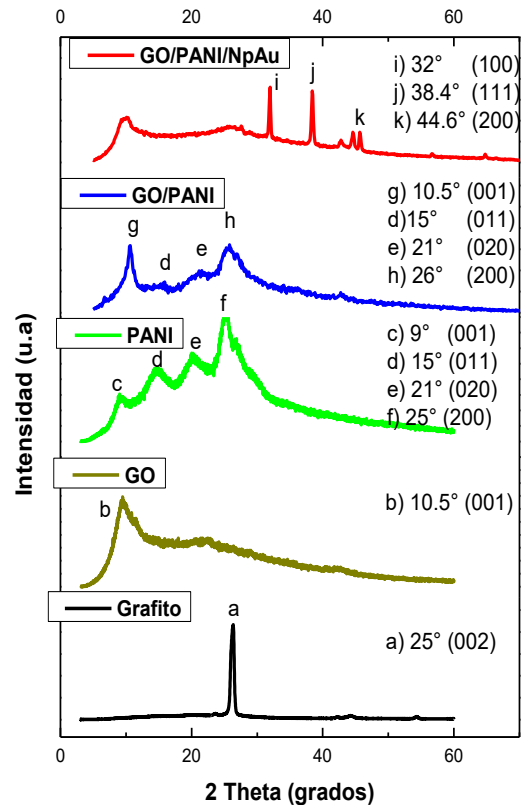
**Figura 4.13** Espectro de absorción FTIR para cada material GO, PANI, GO/PANI y el material híbrido GO/PANI/NpAu, en el cual se observan los grupos funciones presentes.

### 4.2.2 Difracción de rayos X (RXD)

Los estudios de los cambios estructurales de cada producto obtenido fueron estudiados por difracción de rayos X (RXD), En la **figura 4.14** se ilustran los patrones cristalográficos analizados de cada material; Grafito (como material precursor), GO, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu.

Los patrones cristalográficos del grafito, GO y PANI se describen en la sección 4.1.1.3 y 4.1.2.3 ilustrados aquí para una mejor comparación y entendimiento de cada etapa de la reacción.

Los patrones XRD correspondiente al GO/PANI **Figura 4.14** presentan picos cristalinos similares a los de PANI. El pico alrededor de  $2\theta = 26^\circ$  es correlacionado al espaciamiento interlaminar entre las hojas de grafeno las cuales se traslapan con la difracción de PANI (Yuhong Jin, 2014), también es posible observar la reducción del óxido de grafeno por la interacción con la Polianilina, el cual se demuestra con la disminución de la intensidad del ángulo del plano de reflexión (001) ( $2\theta = 10.5^\circ$ ) (Nali Chen, 2017). Los picos de las nanopartículas de oro fueron observados a  $2\theta = 32^\circ$ ,  $38.4^\circ$  y  $44.6^\circ$  correspondientes a los planos (100), (111) y (200) de la estructura cúbica centrada de las NpAu (T. Ghodselahi, 2015).



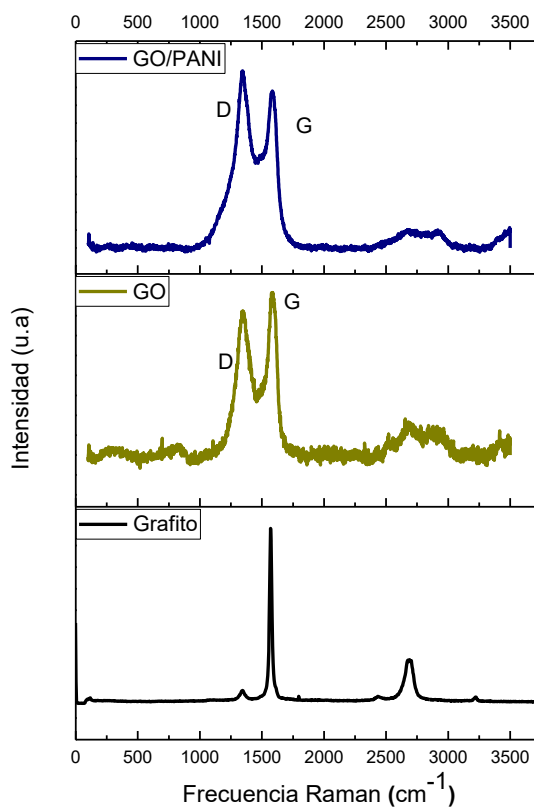
**Figura 4.14** Difracción de rayos X (XRD) de Grafito, GO, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu con sus respectivos patrones cristalográficos.

#### 4.2.3 Caracterización por Espectroscopía Raman

La espectroscopia Raman es una de las técnicas más importantes para caracterizar el grafeno. Este puede proveer información muy valiosa como el número de capas, bordes y defectos. La evaluación de los defectos es muy importante ya que estos, transforman las propiedades del grafeno, tales como los defectos intrínsecos en la estructura de la banda del grafeno modifican las propiedades eléctricas y magnéticas del mismo (Yuhong Jin M. F., 2014).

En la **Figura 4.15** se observan el espectro de absorción Raman, el pico G es característico de la estructura de carbono  $sp^2$  que indica simetría y cristalinidad, mientras que el pico 2D proviene de la dispersión inelástica de fonones.

Cada espectro exhibe una banda G alrededor de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , y surge una banda D, que surge del modo inducido resonante a  $1350\text{ cm}^{-1}$ , sin embargo la banda D está ausente en el espectro del grafito, debido a que existe un alto ordenamiento en su estructura, los espectros para GO, GO/PANI muestran un pico D prominente, indicativo de un trastorno estructural significativo, creado debido a la presencia de grupos funcionales de oxígeno. Después de la polimerización in situ para la formación del compuesto GO/PANI se observa un pico D aún más prominente, lo que indica que hubo cambios estructurales en la molécula.



**Figura 4.15** Espectro de absorción Raman para; grafito, GO y GO/PANI.

### 4.3 Actividad de la Glucosa Oxidasa

Medir la actividad de la Glucosa Oxidasa es un estudio básico para cualquier electrodo enzimático, ya que nos da información de la estabilidad del electrodo, además de descartar la inactividad de la enzima.

La actividad de la glucosa oxidasa se midió según las especificaciones del fabricante Sigma Aldrich (Bergmeyer, 1974), con la siguiente ecuación. Ec.1, en la cual se puede observar una gráfica lineal, de la concentración de GOx versus las moles de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . El resultado obtenido es satisfactorio con el anunciado por el fabricante.

$$\text{Actividad GOx} = \frac{B}{t \cdot V} DF = \text{mmol H}_2\text{O}_2/\text{min} \quad \text{EC. 1}$$

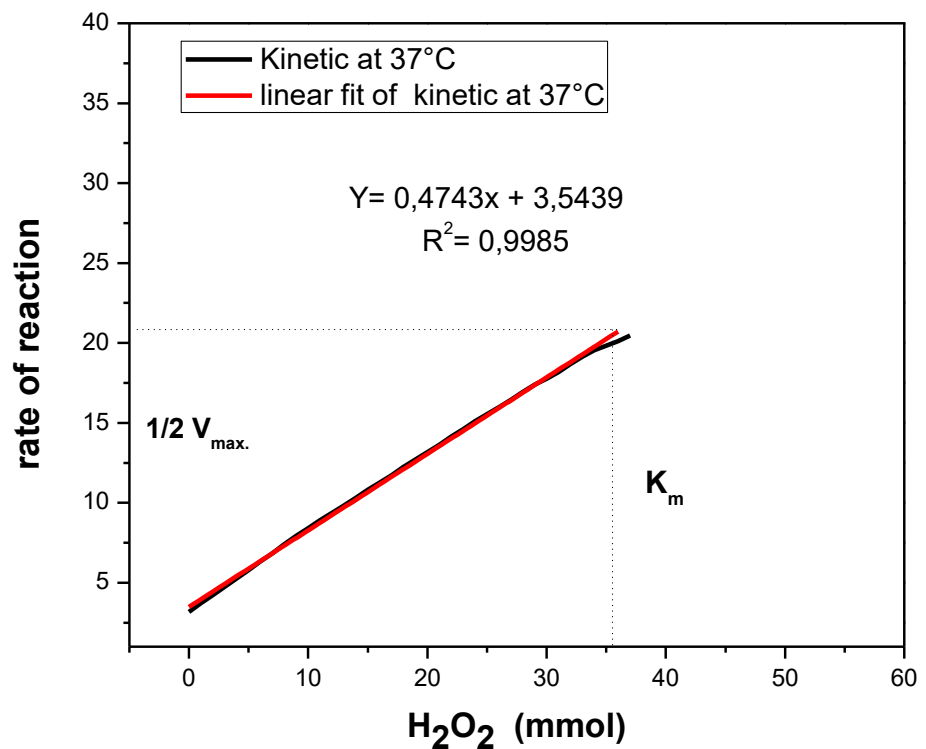
B= Cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> calculada desde la curva (mmol).

t= Tiempo de incubación (min).

V= Volumen adicionado a la reacción (ml).

DF= Factor de dilución.

**Actividad GOx= 133 100 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min**



**Figura. 4.16** Medición de la actividad de la glucosa oxidasa, mediante espectrofotometría UV-Vis a 480nm.

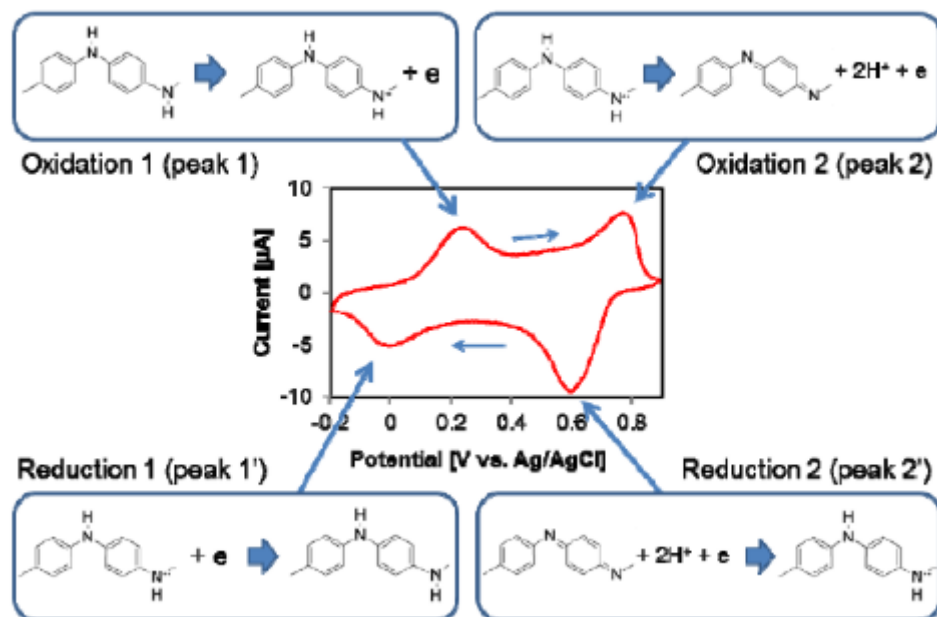
#### 4.4 Evaluación electroquímica de los nanomateriales

Sin duda una de las pruebas más importantes al sintetizar materiales conductores, es la evaluación electroquímica, ya que con ayuda de ésta podemos evaluar la resistencia a la transferencia de carga, resistencia interna del material, reacciones de óxido reducción que se llevan a cabo en la superficie del electrodo, así como procesos de difusión de cada material, para medir estos parámetros utilizamos las técnicas de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS por sus siglas en inglés) y Voltamperometría Cíclica (VC).

##### 4.4.1 Evaluación electroquímica de la Polianilina

La técnica de Voltamperometría cíclica es muy útil para identificar los estados de óxido-reducción de la polianilina. A continuación, podemos observar en la **Figura 4.17** los procesos redox de la polianilina, En la que encontramos que en una ventana de potencial de -0.2V a 1V se observan los picos característicos de los tres estados de oxidación de la Polianilina.

- 1) Leucoemeraldina - blanco/claro y sin color  $(C_6H_4NH)_n$
- 2) Emeraldina - verde para la sal emeraldina, azul para la base emeraldina  $([C_6H_4NH]_2[C_6H_4N]_2)_n$
- 3) Pernigranilina - azul/violeta  $(C_6H_4N)_n$



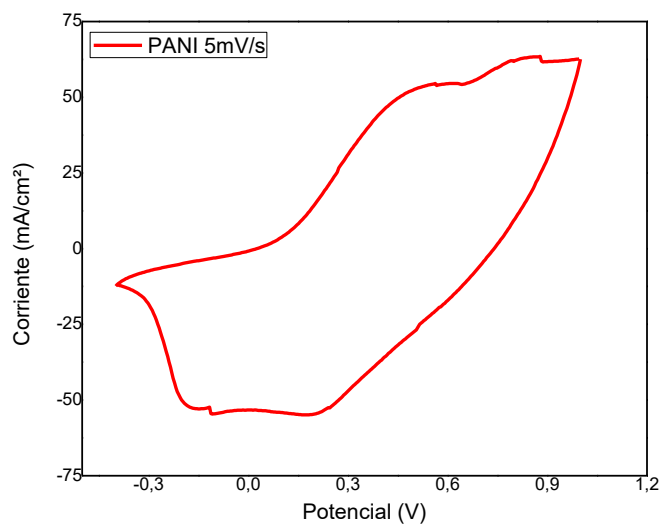
**Figura 4.17 Voltamperometría cíclica de la polianilina y sus estados redox. (Song, 2013)**

En nuestro caso sintetizamos polianilina de coloración verde, el cual es correspondiente a la sal de emeraldina, como puede apreciarse en la siguiente imagen. **Figura 4.18** y a continuación, se ilustra el voltamperograma cíclico obtenido de la síntesis oxidativa vía química de la Anilina, **Figura 4.19** en éste se observan los tres estados de oxidación de la polianilina en una ventana de potencial de -0.4 V a 1 V, con una velocidad de barrido de 5mV/s.



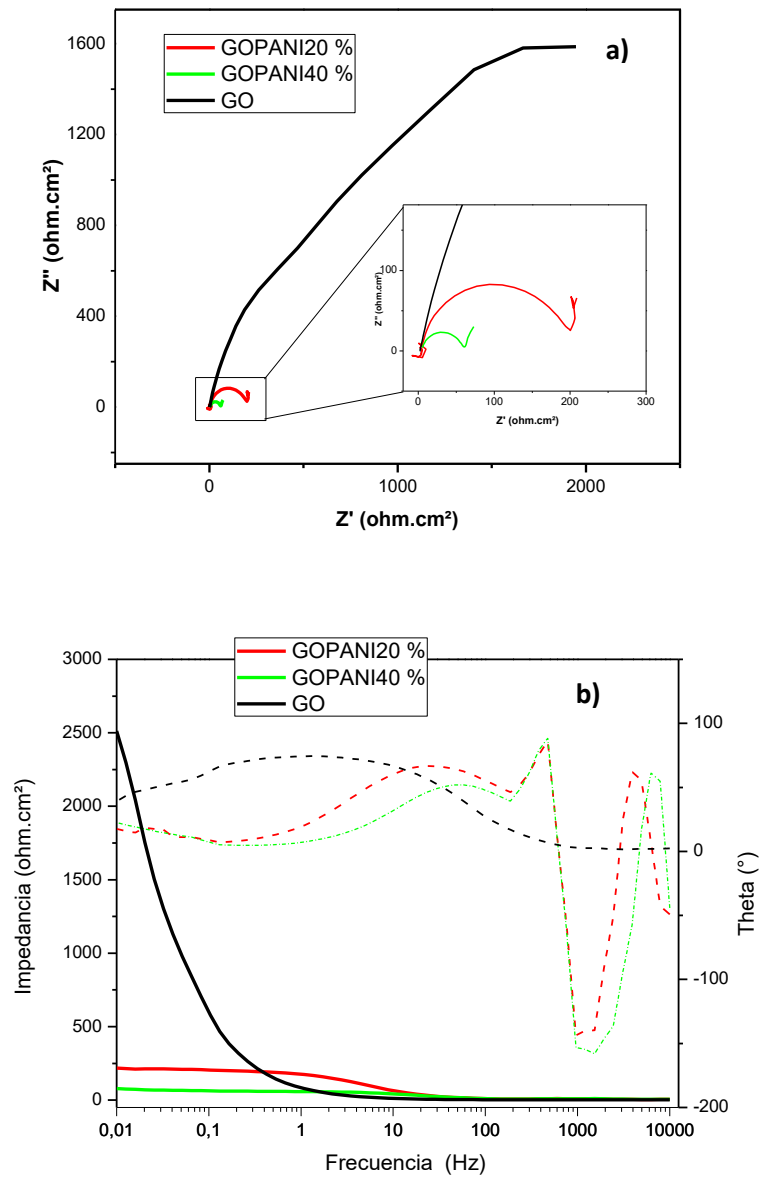


**Figura 4.18** Fotografía del producto de síntesis de la polimerización de la PANI, en el cual se obtiene el producto de color verde, característico de la sal de emeraldina (forma conductora de la polianilina).



**Figura 4.19** Voltamperograma cíclico de la PANI, a una velocidad de barrido de 5 mV/s, donde se observan los picos característicos de Leucoemeraldina/ Emeraldina y Emeraldina/ Pernigranilina.

Se estudiaron dos parámetros de síntesis en proporción 80:20 y 60:40 W/W de óxido de grafeno y Polianilina correspondientemente para determinar la cantidad a utilizar para llevar a cabo la efectiva reducción de óxido de grafeno. Se utilizó la técnica de VC para evaluar sus propiedades conductoras. En la **figura 4.20** se observan los gráficos de Impedancia electroquímica representados por diagramas de Nyquist y Bode para las dos concentraciones utilizadas de GO:PANI, de 20% Y 40 % PANI, en ellos se puede apreciar como el óxido de grafeno pasa de ser un material altamente capacitivo, a un material conductor después de haberse reducido mediante la polimerización *in situ*. La concentración de PANI que nos resulta más efectiva por su menor impedancia electroquímica (70 ohm.cm<sup>2</sup>) es la de la concentración del 40%, mientras que la de concentración 20% PANI su  $Z' = 219$  ohm.cm<sup>2</sup>.

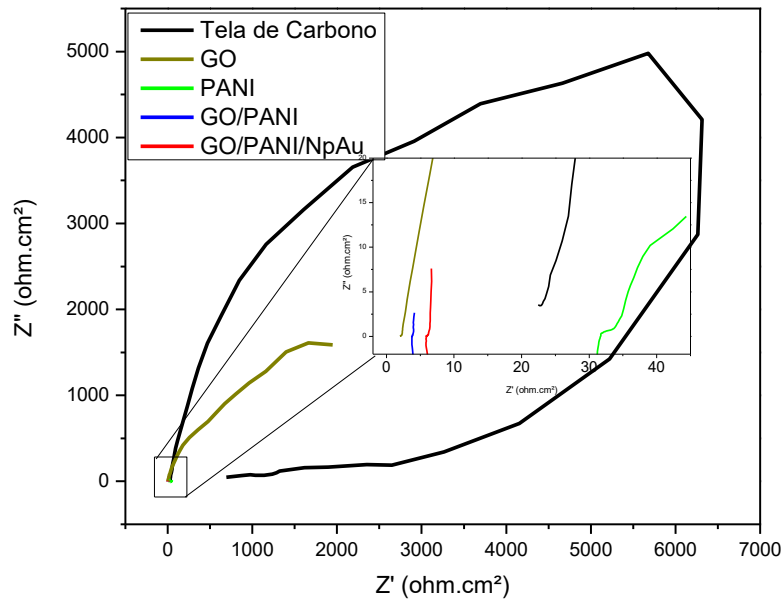


**Figura 4.20 Gráficos de a) Nyquist y b) Bode para 2 concentraciones de PANI en la polimerización *in situ* con GO, del 20% y 40 % W/W.**

#### 4.4.2 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica

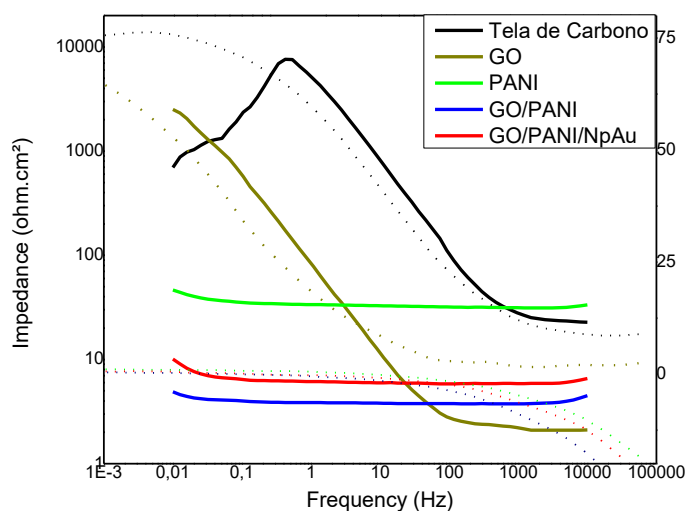
La Espectroscopia de Impedancia Electroquímica nos sirve para evaluar la resistencia a la transferencia de carga, resistencia interna y los procesos de difusión de cada electrodo. En la **Figura 4.21** se observan el gráfico de Nyquist el cual consiste en un semicírculo en la región de altas frecuencias y una parte lineal en bajas frecuencias, (Tamas Pajkossy 2017, vol 1). Donde el diámetro del semicírculo se relaciona con la resistencia de transferencia de carga interfacial, que usualmente representa la reacción electroquímica sobre el electrodo (Resistencia Faradaica) (Hang Sun P. S. 2015). Una línea recta representa la resistencia a la difusión (Impedancia de Warburg, W), que refleja una difusión de las especies redox en el electrolito y una línea más empinada ( $45^\circ$ ) usualmente indica una difusión iónica más rápida.

En la **Figura 4.21** se hizo la evaluación de cada material sobre el material de soporte tela de carbono (la cuál se evaluó de la misma manera para conocer sus parámetros electroquímicos), el electrolito soporte para esta evaluación fue ácido sulfúrico 1 M ( $H_2SO_4$ ). Los resultados demuestran resistencias a la transferencia de carga muy pequeñas en el orden de  $> 35 \text{ ohm.cm}^2$  para los materiales de PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu lo que demuestra ser materiales altamente conductores. El caso particular de la respuesta de óxido de Grafeno el cual exhibe en el gráfico una mayor resistencia a la transferencia de carga se debe a que se encuentra en su estado oxidado (donde su conductividad se ve afectada por la adición de grupos funcionales y esto a su vez por la pérdida de la continuidad de sus enlaces  $\pi$ ), con esto se demuestra la buena sinergia formada por el material GO/PANI, en el cual queda demostrada la reducción del GO por la polimerización *in situ* con el monómero anilina. El gráfico de la tela de carbono nos indica una inductancia esto debido a que es un material poroso, pero con buena conductividad de  $718 \text{ 35 ohm.cm}^2$ .



**Figura 4.21** Gráfico de Nyquist para el material de soporte Tela de Carbono y cada uno de los materiales sintetizados; GO, PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu.

A continuación, se representa el mismo comportamiento electroquímico de cada material, pero en diagrama de Bode, el cual es una forma diferente de representar la respuesta de nuestro sistema en un régimen permanente ante una entrada sinusoidal. En el diagrama de Bode es posible observar dos gráficos, donde se representan el diagrama de fase (en grados) y el diagrama del logaritmo del módulo de una transferencia sinusoidal ambos representados en función de la frecuencia en escala logarítmica.



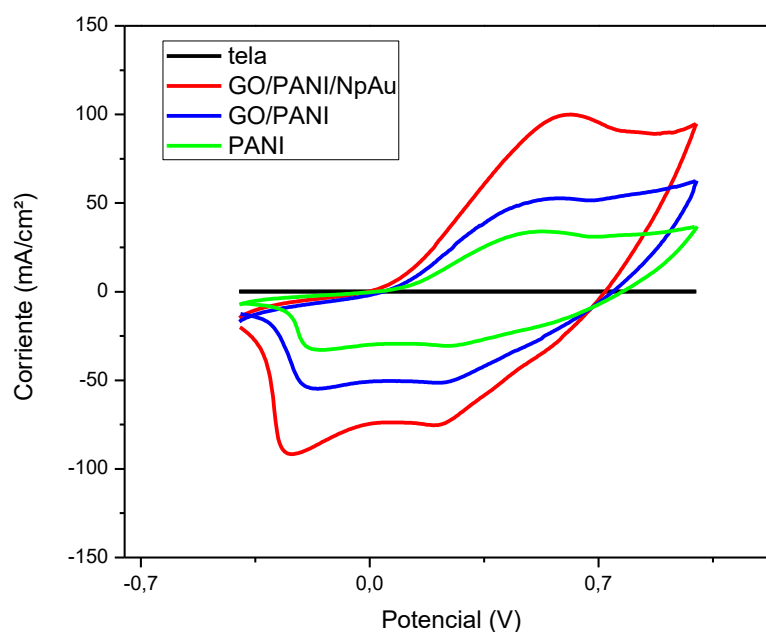
**Figura 4.22 Diagrama de Bode para cada material utilizado, tela de carbono, GO, PANI, GO/PANI Y GO/PANI/NpAu.**

Al igual que en la representación anterior con el diagrama de Nyquist, en el diagrama de Bode se demuestra que los materiales sintetizados PANI, GO/PANI y GO/PANI/NpAu tienen propiedades conductoras al poseer tan bajos niveles de impedancia electroquímica menores de una década para el caso del GO/PANI y GO/PANI/NpAu. En este gráfico también se observa el comportamiento capacitivo de la tela de carbono, y de óxido de grafeno (GO), como se explicó anteriormente esto se debe a que se encuentra aún en su forma oxidada.

#### 4.4.3 Voltamperometría cíclica de los materiales

La voltamperometría es una técnica muy útil para elucidar lo que pasa electroquímicamente sobre la superficie del electrodo, es decir tanto los procesos Farádicos como los no Farádicos que se llevan a cabo sobre el electrodo, es decir en la superficie de nuestro material.

A continuación, se muestra el voltamperograma obtenido **Figura 4.23** para cada uno de nuestros sistemas, el blanco (o material soporte) utilizado es la tela de Carbono. En este gráfico se observa como al incorporar en nuestra matrix la PANI al GO la corriente aumenta alrededor de 63 mA/cm<sup>2</sup> como pico máximo para corriente anódica ( $i_a$ ), y aumento aún más alrededor de 100 mA/cm<sup>2</sup> como pico máximo para la  $i_a$  del híbrido GO/PANI/NpAu, lo que sugiere buena sinergia del material, así como un buen material conductor. En el gráfico se observan los picos de oxidación de la polianilina alrededor de 0.5 y 0.96 V, mientras que los picos de reducción se observan alrededor de -0.2 y 0.2 V, la separación entre estos picos es mayor a 0.2 V lo que indica que se trata de una reacción cuasireversible. El estudio se realizó en una solución electrolítica de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1M.



**4.23 Voltamperograma cíclico de cada material, PANI, GO/PANI y GO/PANI/Npau donde se observa la repuesta electroquímica de cada electrodo y sus picos redox.**

#### **4.5 Incorporación de la Enzima Glucosa Oxidasa a los electrodos PANI y GO/PANI**

La glucosa oxidasa es una enzima con un amplio uso de aplicaciones, es por ello que se enfatiza mucho su estudio, sin embargo presenta inconvenientes como su incapacidad de donar con facilidad los electrones y seguir llevando las reacciones enzimáticas, es por eso que uno de nuestros principales objetivos es la síntesis de materiales con excelentes propiedades conductoras, así como el uso del polímero conductor Polianilina que también actúa como mediador electroquímico al sistema, la evaluación Física y electroquímica de los materiales sintetizados es de gran importancia para evaluar el un diseño del electrodo de trabajo.

Una vez evaluados los materiales sintetizados se hizo la adición de la GOx a cada sistema para evaluar las propiedades electroquímicas de los mismos.

##### **4.5.1 Evaluación Electroquímica PANI/GOx**

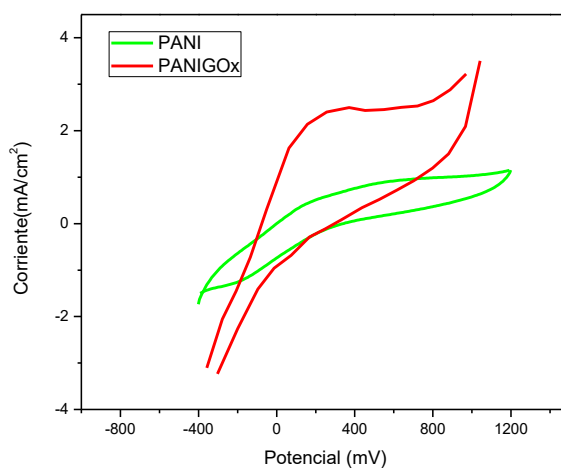
Como se ha mencionado anteriormente el estudio por Voltamperometría cíclica es una excelente técnica de elucidación de los procesos electroquímicos (como reacciones Faradaicas y no Faradaicas) que se llevan a cabo en la superficie del electrodo, es por eso que para la determinación de la reacción enzimática se lleva a cabo mediante esta técnica.

Para corroborar actividad de la Glucosa Oxidasa (GOx) en el electrodo, se midió un blanco en este caso un electrodo de PANI y

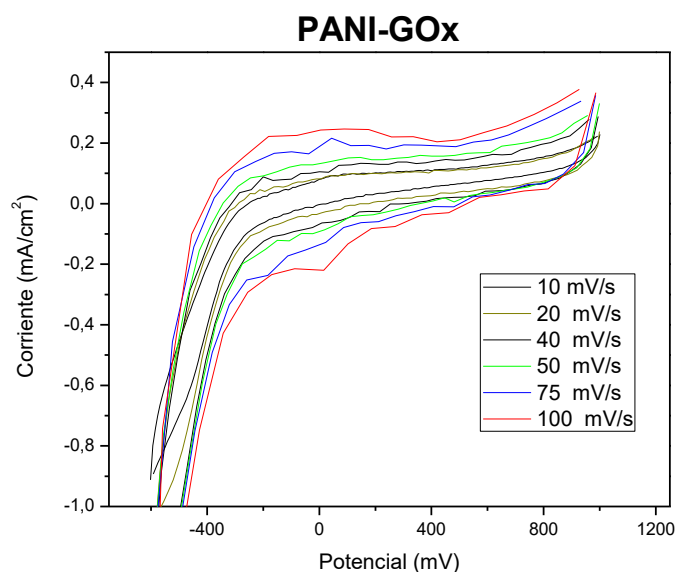


un electrodo con la enzima incorporada PANI-GOx **Figura 4.24**. En el gráfico se puede observar como el electrodo que contiene la enzima incrementa su corriente comparada con el gráfico de la PANI que muestra una respuesta casi nula a la transferencia de carga. La medición se realizó con solución buffer de fosfatos (APS) pH 7, y solución electrolítica de Glucosa 100mM.

Una vez que se demuestra la actividad de la GOx sobre el electrodo de PANI, se hizo un estudio para evaluar la velocidad de barrido en la cual se aprecia una mayor respuesta a la reacción redox de la GOx, como se observa en la **figura 4.25** a velocidades mayores se obtiene mayores parámetros de corriente, por lo cual se escoge trabajar a la velocidad de barrido de 100 mV/s en una ventana de potencial de -400 mV a 1000 mV.

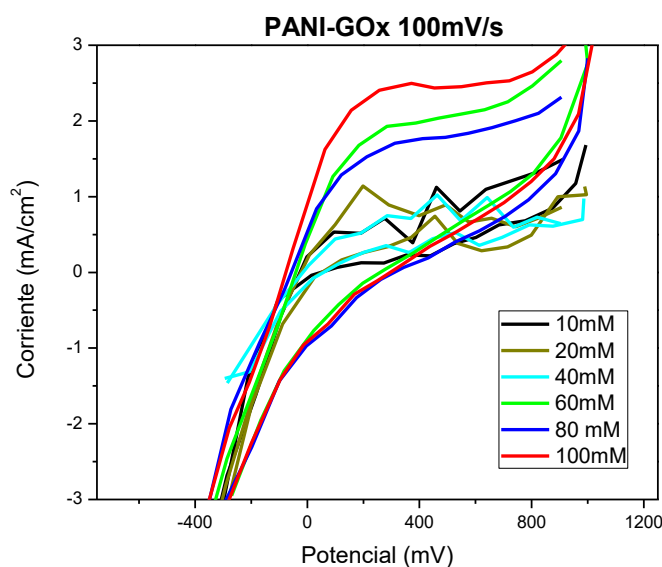


**Figura 4.24 Voltamperograma Cíclico de los electrodos PANI (como blanco) y PANI-GOx en una solución buffer APS pH7, con glucosa 100 mM como electrolito.**



**Figura 4.25** Relación del efecto de la velocidad de barrido sobre la densidad de corriente para el electrodo PANI-GOx.

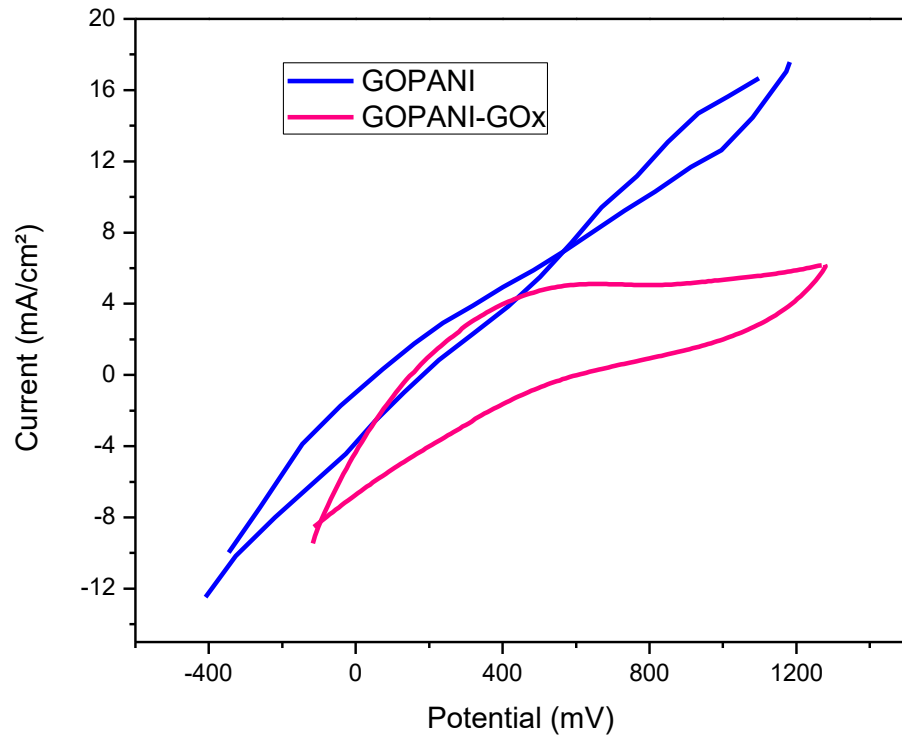
Una vez llevados a cabo los estudios para demostrar la actividad de la GOx y escoger los parámetros óptimos para la evaluación del electrodo de PANI-GOx. **Figura 4.26** se hizo un estudio a diferentes concentraciones del electrolito Glucosa para evaluar su respuesta electroquímica, en el cual se puede apreciar como al incrementar el sustrato (en este caso Glucosa) aumenta de manera proporcional su respuesta en densidad de corriente. Este es un parámetro muy importante ya que es el principio básico para el posterior desarrollo de sensores electroquímicos basados en GOx.



**Figura 4.26 Efecto de la concentración de Glucosa sobre el electrodo PANI-GOx a una velocidad de barrido de 100 mV/s, en solución buffer de Fosfatos pH 7.**

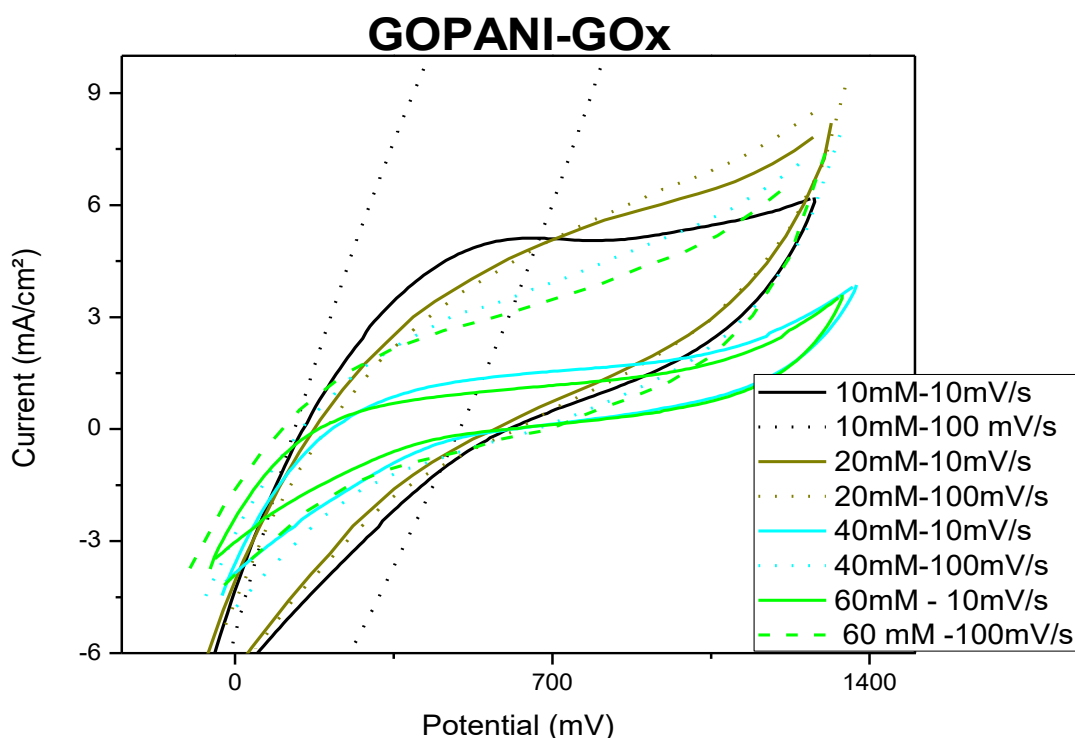
#### 4.5.2 Evaluación Electroquímica GO/PANI-GOx

De igual manera la evaluación electroquímica del electrodo GO/PANI-GOx se realizó mediante la técnica de voltamperometría cíclica con los mismos parámetros de solución buffer de fosfatos (APS) pH 7, y solución electrolítica de Glucosa 100mM, se midió un blanco (electrodo de GO/PANI) y se comparó con el electrodo GO/PANI-GOx para observar la actividad de la GOx sobre el electrodo, en la **Figura 4.27** Se observan corrientes demasiado bajas, lo que hace suponer que la GOx no lleva a cabo los mecanismos Redox, es decir está de manera inactiva.



**Figura 4.27 Voltamperograma de los electrodos GO/PANI y GO/PANI-GOX, a una velocidad de barrido de 100 Mv/s, con una concentración de glucosa de 100 Mm.**

Aunque no se observó actividad de la GOx sobre el electrodo GO/PANI-GOX se llevaron a cabo mediciones a diferentes concentraciones de glucosa de 10, 20, 40 Y 60 Mm con una velocidad de barrido de 100 mV/s tal cual se observa en la **figura 4.28** los barridos de potencial en una ventana de -400 a 1200 mV se observan corrientes demasiado bajas, por lo cual no se observa una actividad de la GOx.



**Figura 4.28 Voltamperometría cíclica del electrodo GO/PANI-GOx a diferentes concentraciones de glucosa 10,20,40 y 60 mM, con una velocidad de barrido de 100Mv/s en el cual se observa que no hay actividad de la enzima.**

Se hicieron varios electrodos GO/PANI-GOx en donde se observaron las mismas respuestas en corriente, es decir la inactividad de la GOx. Al material GO/PANI se le hicieron lavados exhaustivos para remover todo el ácido que pudiera tener por el método de obtención del grafeno, recordando que las enzimas son muy delicadas y solo tienen actividad en un rango de pH de 5 a 7. Al no encontrar actividad de la GOx en el material GO/PANI se piensa que los grupos funcionales del óxido de grafeno reducido, afectan la actividad de la enzima. Porque, aunque es óxido de grafeno reducido, no está completamente reducido, si no que cuenta con grupos funcionales oxigenados y que probablemente afectan el sitio activo de la enzima, ya

que como se mencionó en el capítulo 2, las enzimas son muy susceptibles a cambios de pH, temperatura ó impedimento estérico.

El electrodo a base de GO/PANI-NpAu con la inmovilización de la enzima GOx también fue evaluada mediante la técnica de voltamperometría cíclica, dando como resultado gráficas como la **figura 4.27**, en donde no se observa una respuesta en corriente, por lo que es concluyente, que la enzima estaba inactiva.

Para poder mejorar los resultados, se puede trabajar con grafeno sintetizado a partir de otro método donde no se tenga tantas impurezas que puedan afectar la actividad de la enzima, como por ejemplo el método de CVD. Aunque un electrodo a partir de PANI/GOx es una excelente opción para sensores de glucosa, como actuador o electrodo en una celda de combustible.

# Capítulo 5

## Conclusiones

- Se hizo una síntesis exitosa del óxido de grafeno por el método de Hummers, de pocas láminas de grafeno esto de acuerdo a las imágenes de microscopía electrónica. La polimerización in situ con óxido de grafeno resultó ser una técnica eficaz para poder reducir al GO, volviéndolo a su forma conductora con enlaces  $\pi$  en sus anillos aromáticos, como lo podemos corroborar en los análisis de FTIR, Raman y también a través de las técnicas electroquímicas de impedancia.
- A través de la polimerización in situ con óxido de grafeno, se logró sintetizar nanomateriales con enlaces covalentes, en donde el polímero Polianilina se ancló a los grupos oxigenados del óxido de grafeno, para así reducirlos y formar los enlaces covalentes, los resultados de FTIR y XRD comprueban la buena sinergia de los materiales.
- El método de Turkevich resultó en una síntesis de nanopartículas de oro muy estable, de un intervalo de tamaños de entre 10 y 40 nm de diámetro, el cual en espectrometría UV-vis reportó la banda de absorción de resonancia de plasmones a 560 nm.
- El material híbrido GO/PANI con la concentración de 60/40 % respectivamente, resultó ser menos resistivo, comparado con el

híbrido GO/PANI 80/20 % respectivamente, por lo cual se escoge trabajar con la concentración 60/40 % de GO/PANI.

- Se sintetizó la polianilina en su forma conductora de sal de emeraldina. Se observó su comportamiento redox en la voltamperometría cíclica a bajas velocidades de barrido de 2, 5 y 10 mV/s, en el cual se observa una reacción cuasi reversible.
- Se determinó la actividad enzimática de la GOx mediante la técnica de espectrometría UV-Vis dando un valor de 133 100 U/g.
- Los diseños de los electrodos fueron exitosos según los valores de impedancia electroquímica, porque los materiales híbridos GO/PANI/NpAu, GO/PANI obtuvieron excelente conductividad eléctrica con una impedancia de 10 y 1000 ohm.cm<sup>2</sup> respectivamente.
- La incorporación de la enzima glucosa oxidasa se realizó de manera exitosa en el electrodo a base de polianilina, el cual incrementó su potencial al incrementar la concentración de la glucosa actuando como un sensor de concentración de glucosa. La velocidad de barrido óptima para observar acabo la reacción en la superficie del electrodo es de 100 mV/s.
- Los electrodos GO/PANI y GO/PANI-NpAu con la inmovilización de la enzima GOx, no se aprecia corriente en la voltamperometría cíclica por lo que ésta no lleva a cabo las reacciones redox, lo que se puede pensar al ocurrir está situación es que la enzima esta inactiva y se puede deber a varios factores entre ellos que los grupos funcionales oxigenados del óxido de grafeno afectan la actividad de la enzima, aunque esto no lo pudimos comprobar en esta tesis.
- Se hicieron Voltamperogramas a dos diferentes velocidades de barrido 10 y 100 mV/s con 4 diferentes concentraciones de glucosa para ver si al incrementar el sustrato se podría obtener una



respuesta en corriente, pero se confirma que la enzima glucosa oxidasa esta de manera inactiva.

- El diseño y síntesis del electrodo a base de grafeno, polianilina y nanopartículas de oro (GO/PANI/NpAu) en base a los resultados obtenidos es un excelente material para la conducción eléctrica, sin embargo, no se pudo inmovilizar la enzima GOx en el, por lo cual es necesario probar otros anclajes para evaluarlo como un electrodo para aplicaciones bioenergéticas.
- Para el caso del diseño y síntesis del electrodo a base de Polianilina con la inmovilización de Glucosa Oxidasa resulto ser un electrodo para su uso en sensores de glucosa, y con potenciales aplicaciones para bioceldas de combustible.

## 5.2 Bibliografía

- Anju M., R. N. (2019). Graphene-dye hybrid optical sensors. *Nano-Structures and Nano-Objects*, 194-217.
- Chauhan, N. P. (2018). Approaches and Challenges of Polyaniline–Graphene Nanocomposite for Energy Application. *Carbon-Based Polymer Nanocomposites for Environmental and Energy applications*, 415-436.
- Chauhan, N. P. (2019). Functionalized polyaniline and composites. *Chauhan, N. P. S. (2019). Functionalized polyaniline and composites. Fundamentals and Emerging Applications of Polyaniline, 177–201. doi:10.1016/b978-0-12-817915-4.00011-7, 177–201.*
- Domingo, P. A. (2010). *¿Que sabemos de? La nanotecnología*. Madrid: Catarata.

- Lai, J. Y. (2016). Polyaniline-based glucose biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 782, 138–153. doi:10.1016/j.jelechem.2016.10.033 , 138–153.
- Lori Ann Polette-Niewold, L. M. (2007). Organic/inorganic complex pigments: Ancient colors Maya Blue. *Polette-Niewold, L. A., Manciu, F. S., Torres, B., Alvarado, M., & Chianelli, R. R. (2007). Organic/inorganic complex pigments: Ancient colors Maya Blue. Journal of Inorganic Biochemistry*, 1958-1973.
- N.Mano. (2019). Engineering glucose oxidase for bioelectrochemical applications. *Bioelectrochemistry*, , doi:10.1016/j.bioelechem.2019.04.015 .
- Raji, M. Z. (2019). Chemical Preparation and Functionalization Techniques of Graphene and Graphene Oxide. *Functionalized Graphene Nanocomposites and Their Derivatives*, 1-20.
- Raji, M. Z. (2019). Raji, M., Zari, N., Chemical Preparation and Functionalization Techniques of Graphene and Graphene Oxide. *Functionalized Graphene Nanocomposites and Their Derivatives*, 1–20. doi:10.1016/b978-0-12-814548-7.00001-5 .
- Ramalingam. (2019). Multifunctionality of gold nanoparticles: plausible and convincing properties. *Advances in colloid and interface science*.
- Abd Mutalib, M. R. (2017). Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy-Dispersive X-Ray (EDX) Spectroscopy. *Membrane Characterization*, 161–179. doi:10.1016/b978-0-444-63776-5.00009-7 .
- Brito, J. A. (2013). X-ray Crystallography. *Practical Approaches to Biological Inorganic Chemistry*, 217–255. doi:10.1016/b978-0-444-56351-4.00009-9 .

- Chakraborty, A. T. (2019). Impedance-based biosensors. *Bioelectronics and Medical Devices* , 97–122. doi:10.1016/b978-0-08-102420-1.00005-4.
- Cîntă Pînzaru, S. F. (2018). Raman Spectroscopy; A Key Analytical Tool for New Drugs Research and Development. *Studies in Natural Products Chemistry*, 211–250. doi:10.1016/b978-0-444-64183-0.00006-3 .
- Karoui, R. (2018). Spectroscopic Technique: Fluorescence and Ultraviolet-Visible (UV-Vis) Spectroscopies. *Modern Techniques for Food Authentication*, 219–252. doi:10.1016/b978-0-12-814264-6.00007-4.
- Mohamed, M. A. (2017). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. . *Membrane Characterization* , 3–29. doi:10.1016/b978-0-444-63776-5.00001-2 .
- Pinto, A. M. (2018). Experimental methods of characterization. . *Direct Alcohol Fuel Cells for Portable Applications*, 113–155. doi:10.1016/b978-0-12-811849-8.00004-8 .
- Schnell, S. C. (2006). The mechanism distinguishability problem in biochemical kinetics: The single-enzyme, single-substrate reaction as a case study. . *Comptes Rendus Biologies* , 329, 51-61. DOI: 10.1016/j.crv.20.
- Aldrich, S. (s.f.). <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-glucose-oxidase.html>. Obtenido de Enzymatic assay of glucose oxidase: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-glucose-oxidase.html>
- Bergmeyer. (1974). *Enzymatic assay of glucose oxidase*. Obtenido de <https://www.sigmaaldrich.com/technical->

documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-glucose-oxidase.html

- Cauca. (2018). *Síntesis de polianilina mediante métodos electroquímicos*. Obtenido de <https://www.studocu.com/en/document/universidad-del-cauca/electroquimica/summaries/sintesis-de-polianilina-mediante-metodos-electroquimicos/5257415/view>
- Han- Wen Cheng, Z. R. (2014). Synthesis of Gold Nanoparticles. En *Comprehensive Analytical Chemistry* (págs. 3-622).
- Manero, P. J. (2011). *Materiales nanoestructurados basados en polianilina, nanotubos de carbono y grafeno*. Universidad Zaragoza.
- Min Zhao, X. W. (vol. 113). Polyaniline nanofibers: synthesis, characterization and applications to Direct Electron Transfers of Glucose Oxidase. *American chemical society*, 4987-4996.
- Nali Chen, Y. R. (2017). In situ one-pot preparation of reduced grapheneoxide/polyaniline composite for high-performance electrochemical capacitors. *Applied Surface Science* 392, 71-79.
- Ratan Das, S. S. (2015). Two peak luminescence from linoleic acid protected gold nanoparticles. *Journal of luminescence*, 325-329. vol. 168.
- Shiyong Wang, L. M. (2015, vol 299). Free-standing 3D graphene/polyaniline composite film electrodes for high-performance supercapacitors. *Journal of Power Sources*, 347-355.
- T. Ghodselahi, N. A. (2015). Fabrication and characterization and biosensor application of gold nanoparticles on the carbon nanotubes. *Applied Surface Science* 355, 1175-1179.

- Yuhong Jin, M. F. (2014). In situ one-pot synthesis of graphene - polyaniline nanofiber composite for high-performance electrochemical capacitors. *Applied Surface* 308, 333-340.
- Yuhong Jin, M. F. (2014). In situ one-pot synthesis of graphene-polyaniline nanofiber composite for high- performance electrochemical capacitors. *Applied Surface Science* 308, 333-340.



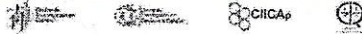


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Jefatura de Posgrado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas



Cuernavaca, Morelos, 20 de enero de 2020.

DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ  
DR. RENÉ GUARDIÁN TAPIA  
DRA. MARÍA ELENA NICHÓ DÍAZ  
DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS  
DR. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA SÁNCHEZ (UAM-I)  
DR. JORGE URUCHURTU CHAVARÍN  
DRA. ELSA CARMINA MENCHACA CAMPOS  
**P R E S E N T E S**

Por este conducto me permito comunicarles que han sido designados miembros del COMITÉ REVISOR de la TESIS titulada "MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE GRAFENO, POLIANILINA Y NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA BIOCELDA DE COMBUSTIBLE" que presenta la alumna ELSA PEREYRA LAGUNA, para obtener el título de DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS con opción terminal en TECNOLOGÍA DE MATERIALES.

Se les recuerda que por reglamento se tiene un plazo de 20 días hábiles (a partir de la fecha de recepción del documento) para la revisión del manuscrito, por lo que le solicitamos no exceder el plazo señalado.

Sin otro particular aprovecho la ocasión para enviarles un cordial saludo.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*



JEFATURA DE POSGRADO E  
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

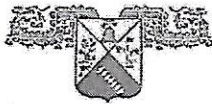
  
DR. ROSENBERG JAVIER ROMERO DOMÍNGUEZ  
COORDINADOR DEL POSGRADO EN  
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

ECMC\*RSU/nmc

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209  
Tel. (777) 329 70 00, ext. 6208 / raquel.sotelo@uaem.mx

Una universidad de excelencia

UA  
EM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Defensa de Tesis de Posgrado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas



Cuernavaca, Morelos, a 20 enero de 2020.

**DR. ROSENBERG JAVIER ROMERO DOMÍNGUEZ**  
COORDINADOR DEL POSGRADO EN  
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS  
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada "MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE GRAFENO, POLIANILINA Y NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA BIOCELDAS DE COMBUSTIBLE" que presenta la alumna ELSA PEREYRA LAGUNA, para obtener el título de DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS con opción terminal en TECNOLOGÍA DE MATERIALES.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ	Aprobado	
DR. RENÉ GUARDIÁN TAPIA	Aprobado	
DRA. MARÍA ELENA NICHÓ DÍAZ	Aprobada	
DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS	Aprobada	
DR. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA SÁNCHEZ (UAM-I)	Aprobar	
DR. JORGE URUCHURTU CHAVARÍN	Aprobada	
DRA. ELSA CARMINA MENCHACA CAMPOS	Aprobada	

PLAZO PARA LA REVISIÓN 20 DÍAS HÁBILES (A PARTIR DE LA FECHA DE RECEPCIÓN DEL DOCUMENTO)

NOTA. POR CUESTION DE REGLAMENTACIÓN LE SOLICITAMOS NO EXCEDER EL PLAZO SEÑALADO, DE LO CONTRARIO LE AGRADECEMOS SU ATENCIÓN Y NUESTRA INVITACIÓN SERÁ CANCELADA.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Instituto de  
Investigación en  
Ciencias  
Básicas y  
Aplicadas

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Defensa de Tesis de Posgrado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas



Cuernavaca, Morelos, a 20 enero de 2020.

**DR. ROSENBERG JAVIER ROMERO DOMÍNGUEZ**  
**COORDINADOR DEL POSGRADO EN**  
**INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS**  
**P R E S E N T E**

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada "MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE GRAFENO, POLIANILINA Y NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA BIOCELDA DE COMBUSTIBLE" que presenta la alumna ELSA PEREYRA LAGUNA, para obtener el título de DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS con opción terminal en TECNOLOGÍA DE MATERIALES.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ	Aprobado	
DR. RENÉ GUARDIÁN TAPIA	Aprobado	
DRA. MARÍA ELENA NICHÓ DÍAZ	Aprobada	
DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS	Aprobada	
DR. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA SÁNCHEZ (UAM-I)		
DR. JORGE URUCHURTU CHAVARÍN	Aprobado	
DRA. ELSA CARMINA MENCHACA CAMPOS	Aprobado	

PLAZO PARA LA REVISIÓN 20 DÍAS HÁBILES (A PARTIR DE LA FECHA DE RECEPCIÓN DEL DOCUMENTO)

NOTA. POR CUESTION DE REGLAMENTACIÓN LE SOLICITAMOS NO EXCEDER EL PLAZO SEÑALADO, DE LO CONTRARIO LE AGRADECEMOS SU ATENCIÓN Y NUESTRA INVITACIÓN SERÁ CANCELADA.