

# Híbrido de nanotubos de carbono/materiales similares al grafeno para la determinación electroquímica de biomoléculas

Fernando Francisco Muñoz<sup>1,2</sup>, María Celina Bonetto<sup>2,3</sup>

*1 Departamento de Investigaciones en Sólidos, UNIDEF, CONICET, MINDEF, CITEDEF; J.B. de La Salle 4397, B1603ALO, Villa Martelli, Pcia. de Buenos Aires, Argentina*

*2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Godoy Cruz 2290, C1425FQB, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina*

*3 Instituto de Química y Fisicoquímica Biológica (IQUIFIB-CONICET) Junín 954, C1113 AAD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina*

*celinatt@yahoo.com.ar*

*Recibido 26 de enero 2021, aprobado en febrero 2021*

## Resumen

En este trabajo, electrodos de carbón vítreo (GC) fueron modificados con nanotubos de carbono multipared (CNT/GC) y se trataron electroquímicamente para obtener un material híbrido, CNT/material similar al grafeno; que fue caracterizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía Raman, espectroscopía de energía dispersiva (EDS), y técnicas electroquímicas. Estos electrodos modificados mostraron una capacidad electroquímica selectiva para la determinación de dopamina (DA) y serotonina (5HT) en presencia de ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (UA).

**PALABRAS CLAVE:** NANOTUBOS DE CARBONO - TRATAMIENTO ELECTROQUÍMICO - MATERIAL HÍBRIDO - BIOMOLÉCULAS

## Abstract

In this work, glassy carbon electrodes (GC) were modified with multiwalled carbon nanotubes (CNT/GC) and were electrochemically treated to obtain a CNT/graphene-like hybrid material characterized via scanning electron microscopy (SEM), Raman spectroscopy, energy dispersive spectroscopy (EDS), and electrochemical techniques. These modified electrodes showed selective electrochemical determination for dopamine (DA) and serotonin (5HT) in the presence of ascorbic acid (AA) and uric acid (UA).

**KEYWORDS:** CARBON NANOTUBES – ELECTROCHEMICAL TREATMENT – HYBRID MATERIAL - BIOMOLECULES

## Introducción

Los dispositivos electroquímicos, para cualquiera sea su aplicación, requieren electrodos con altas conductividad eléctrica, área superficial específica, estabilidad mecánica y estabilidad química; además de un costo de producción a gran escala que sea razonable. Debido a estas razones, los nanotubos de carbono (CNTs) y el grafeno son algunos de los alótopos del carbono más intensamente explorados en la ciencia de materiales para la determinación de biomoléculas (Magdesieva *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2015; Nardecchia *et al.*, 2013).

El grafeno es una lámina bidimensional de un solo átomo de espesor, constituida por átomos de carbono en hibridación  $sp^2$ , empaquetados densamente en una red cristalina hexagonal tipo panal de abejas. Debido a su estructura, todos sus átomos están en su superficie, dándole un excelente potencial en el ámbito del biosensado en la nanoescala (Rahman *et al.*, 2016). Su propiedad más importante es su excelente conductividad eléctrica, ya que se trata de un semiconductor que presenta salto de banda cero en su estructura electrónica de bandas (Pandikumar *et al.*, 2014; Sreeprasad *et al.*, 2013) y cualquier modificación en su red cristalina tendrá como efecto una alteración en dicha estructura de bandas y/o variaciones en la hibridación de los átomos de carbono del grafeno; otros átomos o moléculas, distintos del carbono, incorporados a su red cristalina y otros defectos pueden afectar particularmente sus propiedades electrónicas (Elias *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2009). Las modificaciones electrónicas debido a estados asociados a bordes y el confinamiento cuántico, que introducen restricciones estructurales como las que se encuentran en las nanocintas, los *quantum dots*, o las nanomallas (Mohanty *et al.*, 2012) también modificarán la estructura electrónica de bandas del grafeno.

Los CNTs son cintas de grafeno enrolladas formando un tubo ordenado y cerrado longitudinalmente; teniendo en cuenta esto, Shinde *et al.* (2011) presentaron una vía electroquímica para obtener un material similar al grafeno transformando CNTs multipared (MWCNTs según su sigla en inglés) en nanocintas de grafeno reducidas (rGNRs según su sigla en inglés) mediante la apertura longitudinal de los CNTs, ofreciendo un método de condiciones experimentales de producción de grafeno simple y minimizando el tan importante tratamiento de efluentes comúnmente asociado a síntesis químicas (Kosynkin *et al.*, 2009).

A continuación, se expone brevemente el método experimental sugerido por Shinde: mediante una oxidación electroquímica se obtiene óxido de grafeno (GO según su sigla en inglés) que se convertirá en rGNRs luego de un paso de reducción electroquímica (Sharma, 2016; Shinde *et al.*, 2011). Durante la oxidación de los CNTs, los carbonos  $sp^2$  se ven continuamente modificados con grupos funcionales de oxígeno, de acuerdo a lo expuesto por Chang *et al.* (2019), transformándose en carbonos  $sp^3$ . La reducción del GO restablece parcialmente el carácter  $sp^2$ , mejorando la conducción, y proveyendo entonces de un material de características similares al grafeno (Sreeprasad *et al.*, 2013).

La determinación de dopamina (DA) y serotonina (5HT) es importante para la identificación temprana de enfermedades tales como depresión, Parkinson, epilepsia, esquizofrenia o demencia senil y reducir sus efectos nocivos (De Deurwaerdère *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2014). La capacidad de monitorear sus cambios fisiológicos podría a su vez propiciar el diseño de terapias con mejores resultados para los pacientes, en menor tiempo. Debido al comportamiento redox de DA y 5HT, es viable su determinación electroquímica; sin embargo, existen interferentes electroactivos, tales como el ácido ascórbico (AA) y el ácido úrico (UA), que suelen solaparse con los picos de potencial anódico de DA y 5HT, entre 0.2 y 0.35 V usando por ejemplo electrodos de pasta de carbono (Xu *et al.*, 2014; Robinson *et al.*, 2008).

En este trabajo presentamos la fabricación y caracterización de electrodos modificados con un material híbrido 2D CNT/material similar al grafeno (rGNR/CNT/GC) y su

aplicación para la determinación simultánea de DA y 5HT en presencia de interferentes como el AA y el UA.

## Parte experimental

### Reactivos e instrumentación

Todos los reactivos, de grado analítico, fueron usados sin modificaciones. Los MWCNTs usados presentaban un porcentaje de carbono >98%, 10 nm de diámetro externo, 4,5 nm de diámetro interno y 3,5  $\mu\text{m}$  de longitud. La solución tampón de fosfato  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$  (PB en inglés) fue preparada con agua MilliQ (17.6 M $\Omega$  cm).

Las medidas electroquímicas se realizaron usando un potenciostato/galvanostato/ZRA (Series G 300TM e Interface 1000 de Gamry Instruments Inc. USA) con un sistema estándar de tres electrodos en soluciones frescas, hasta 2 horas luego de ser preparadas con agua MilliQ, burbujeadas con  $\text{N}_2$  de alta pureza, a temperatura ambiente de aproximadamente 25°C. Electrodo de GC (Structure Probe, Inc. PA, USA) desnudos o modificados, fueron estudiados como electrodos de trabajo. Una lámina de platino fue usada como contraelectrodo y se utilizaron dos electrodos de referencia (RE),  $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (Velicky *et al.*, 2012) o  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$  (su uso se detalla a lo largo del texto, dependiendo su aplicación).

Las sonicaciones se realizaron mediante un baño ultrasónico Cole-Parmer. Las imágenes SEM fueron tomadas usando un microscopio electrónico de barrido Carl Zeiss NTS SUPRA 40 (Carl Zeiss NTS GmbH, Alemania). Las medidas de EDS se llevaron a cabo con un espectrómetro Apollo X EDAX (AMETEK, USA). Las determinaciones de espectroscopía Raman se hicieron con un equipo Confocal Horiba Jobin Yvon Dilor XY 800 (HORIBA Ltd, Japón).

### Tratamiento electroquímico de los CNT/GC y oCNT/GC

Los electrodos de GC (1 mm de diámetro) fueron previamente tratados mediante un pulido con polvo de alúmina adicionado a un trapo mojado (0,3  $\mu\text{m}$ ), y lavados con abundante agua. A continuación, los electrodos se sonicaron durante 5 min en agua MilliQ y 5 min en etanol, para finalmente ser secados 15 min a 50 °C antes de ser utilizados como electrodos de trabajo o de ser modificados.

Una dispersión de MWCNT (0,5 mg mL<sup>-1</sup> de MWCNTs en etanol absoluto) fue sonicada durante 120 min; 5  $\mu\text{L}$  de esta dispersión se depositaron en un electrodo de GC pretratado, seguido de un paso de secado a 50 °C.

El electrodo de CNT/GC resultante fue tratado en primera instancia mediante la aplicación de un potencial fijo de +0,72 V durante 6 horas en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol L<sup>-1</sup>, continuamente burbujeadado con  $\text{N}_2$ , para obtener finalmente un electrodo modificado oCNT/GC. El segundo paso consistió en el tratamiento del oCNT/GC aplicándole un potencial fijo de -0,75 V por 6 horas en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 mol L<sup>-1</sup>, también continuamente burbujeadado, para obtener a su vez un electrodo modificado rGNR/CNT/GC.

Un RE de  $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{SO}_4$  fue utilizado durante estos pasos de tratamiento electroquímico de CNT/GC y oCNT/GC, usando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para evitar la presencia del anión Cl<sup>-</sup> que podría interferir negativamente en la modificación de los electrodos (Velicky *et al.*, 2012).

### Caracterización electroquímica de los electrodos

Las caracterizaciones electroquímicas se efectuaron mediante las técnicas de voltametría cíclica (CV) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS), usando un RE de  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ . Las medidas de CV se realizaron en PB conteniendo 5 mmol L<sup>-1</sup> de la cupla redox

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , realizando un barrido de potencial entre -0,3 y 0,7 V, con una velocidad de barrido de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ ; o en PB conteniendo  $1 \text{ mmol}^{-1}$  de la cupla redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , en este caso con un barrido de potencial entre -0,5 y 0,2 V a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Se realizaron mediciones de EIS de soluciones de  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  en PB aplicando un potencial AC de  $5 \text{ mV}$  y un potencial DC de  $0,24 \text{ V}$ , entre  $0,1$  y  $10^5 \text{ Hz}$ , tomando 10 puntos por década. Las áreas superficiales electroquímicas (ECSA) se calcularon por CV a través de una solución  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  en  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de KCl, con un barrido de potencial entre -0,3 y 0,7 V y una velocidad de barrido de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

## Medidas de DPV de 5HT, AA, DA y UA

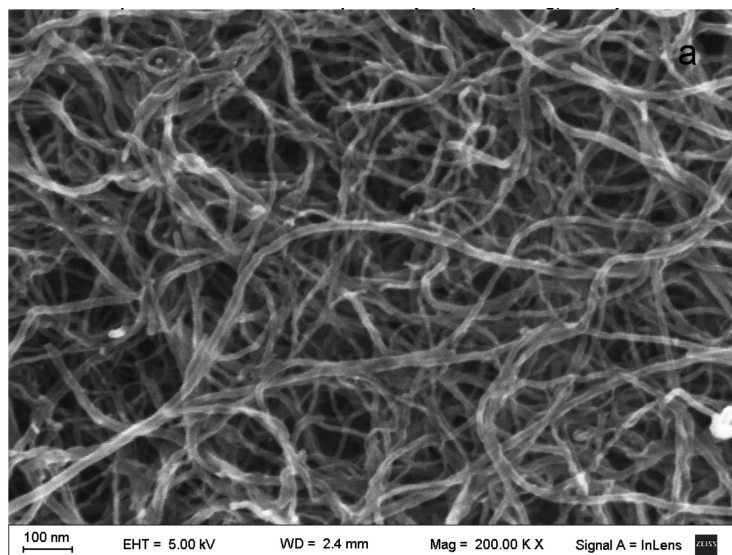
Las voltametrías diferenciales de pulsos (DPV) fueron realizadas con electrodos de GC tanto modificados como desnudos, en muestras con concentraciones diferentes de 5HT, AA, DA y UA (siempre en PB) usando un RE de  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ , con un pulso de barrido de potencial de  $50 \text{ mV}$  de magnitud, aumentando gradualmente  $5 \text{ mV}$  (altura de pulso) cada  $0,05 \text{ s}$  (tiempo de pulso), el tiempo de toma de datos fue cada  $0,35 \text{ s}$ .

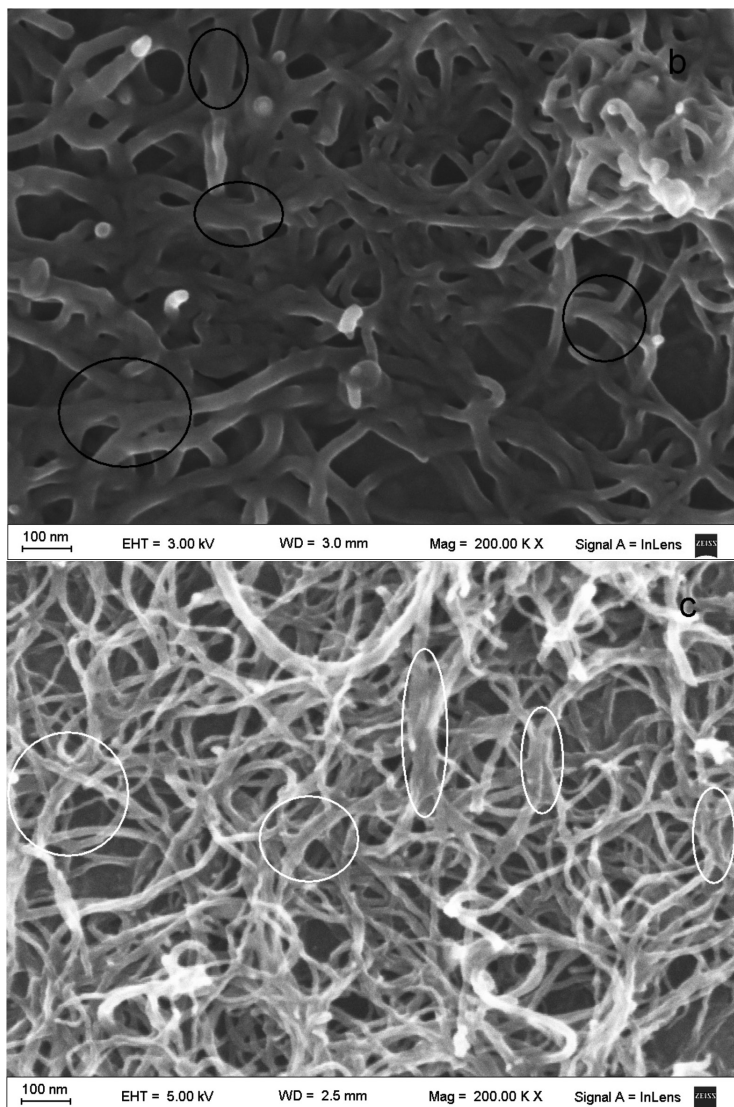
## Resultados y discusión

### Caracterización por SEM

La morfología de los CNTs cerca de la superficie del electrodo de GC (Figuras 1b y c) muestran algunos CNTs fusionados (resaltados con círculos negros), y algunos CNTs correctamente abiertos (resaltados con círculos blancos) en los electrodos sometidos a tratamiento electroquímico (oCNT/GC y rGNR/CNT/GC); pero no en los electrodos sin tratar de CNT/GC (Figura 1a), lo cual pone de relieve la importancia del tratamiento electroquímico aplicado. También se aprecia una diferencia significativa en el diámetro de los CNTs de los electrodos oCNT/GC (Figura 1b, sin considerar los CNTs fusionados) respecto de los presentes en los rGNR/CNT/GC (Figura 1c) debido al contenido de grupos funcionales de oxígeno en superficie; dado que los rGNR/CNT/GC fueron sometidos a una reducción electroquímica, presentarían menor contenido de grupos funcionales de oxígeno en superficie y por lo tanto los CNTs observados presentan menor diámetro.

Esta disminución en el diámetro de los CNTs después del tratamiento reductor es usado por algunos autores como criterio de reducción efectiva (Pei y Cheng, 2012; Krasheninnikov y Banhart, 2007). La fusión de CNTs puede haberse debido a un aumento localizado de la temperatura cuando el electrodo es sometido al potencial de oxidación aplicado (Yoon y Cheong, 2012).





**Fig. 1.** Imágenes SEM de los electrodos de GC modificados con CNT sin tratamiento (a), con oCNT (b) o con rGNR/CNT (c)

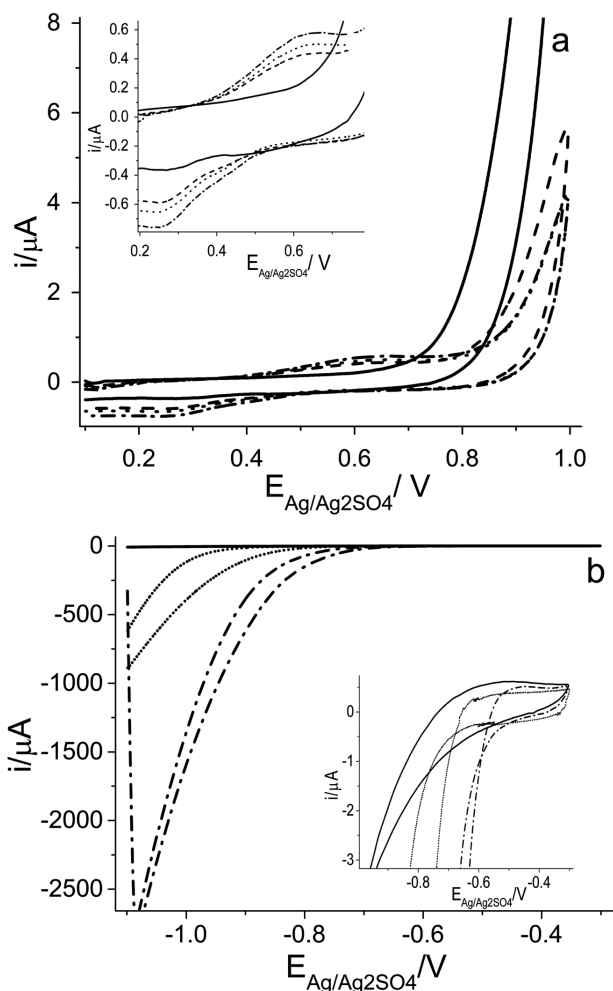
### Oxidación electroquímica de CNT/GC y subsiguiente reducción de oCNT/GC

Los procesos electroquímicos de oxidación y reducción se verificaron a través de CV. Puede verse un pico de oxidación cuasireversible a 0,63 V (vs RE Ag/Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sub>sat</sub>) que aumenta su altura a medida que avanza la oxidación de los CNTs (Figura 2a), mostrando un electrodo modificado versátil, que posee propiedades redox. La Figura 2b muestra un incremento en la corriente inicial en la CV (en valores absolutos) a medida que el potencial de reducción es aplicado (-0,75 V vs RE Ag/Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sub>sat</sub>), lo que pone en evidencia una muy probable reducción efectiva durante el proceso.

### Análisis mediante espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman reveló que la densidad de defectos aumentó yendo de CNT/GC a rGNR/CNT/GC después de la serie de tratamientos electroquímicos, como se muestra en la Figura 2. La intensidad de los defectos (hibridización sp<sup>3</sup>) relacionada al pico D en 1350 cm<sup>-1</sup>, versus la intensidad del pico G relacionada a la hibridización sp<sup>2</sup> (y entonces característica de los materiales tipo grafito, como lo son el grafeno y sus derivados) a 1560





**Fig. 2. (a) CV después de la oxidación de CNT/GC. (b) CV después de la reducción de oGNC/GC, a 0 (línea entera), 2 (guiones), 3 (puntos), 4 (puntos separados) y 6 (guiones y puntos) horas, a 100 mV s<sup>-1</sup>. En las imágenes insertadas se muestran zonas magnificadas**

cm<sup>-1</sup>, son una herramienta común entre las determinaciones Raman aplicadas a derivados del carbono para evaluar la presencia de carácter de grafeno. La relación ID/IG en la Figura 3 aumentó de 1 a 1,3 después de la oxidación electroquímica de los CNTs, y la subsiguiente reducción bajó esa relación hasta 1,1 para el electrodo rGNR/CNT/GC. Dicha proporción (ID/IG) aumenta con la oxidación del CNT/GC debido a la mencionada apertura de los CNTs, que trae aparejada la generación de un gran número de defectos (aumentando la intensidad del pico D) combinado con la funcionalización de CNTs con grupos oxigenados (puede apreciarse que el pico G en rGNR/CNT/GC y oCNT/GC son prácticamente equivalentes). Debe recalcar que los dos procesos (apertura de los CNTs y aumento de grupos funcionalizados con oxígeno) no están necesariamente acoplados, ni las variaciones en los picos son proporcionales, por lo tanto, la disminución de 1,3 a 1,1 durante la reducción sugiere una restitución claramente presente, pero solamente parcial, del carácter sp<sup>2</sup>.

Complementariamente, el claro pico 2D a 2700 cm<sup>-1</sup> está presente solamente en materiales grafiticos (es decir, materiales que presentan el alto orden y la asociación entre capas que presenta el grafito), y es una prueba contundente de las características de los materiales similares al grafeno (Wang *et al.*, 2009). En nuestro caso, el pico 2D aumenta tanto en los electrodos oxidados como en los reducidos respecto de los CNTs, consistente con uno de los objetivos del trabajo, la transformación a un material similar al grafeno.

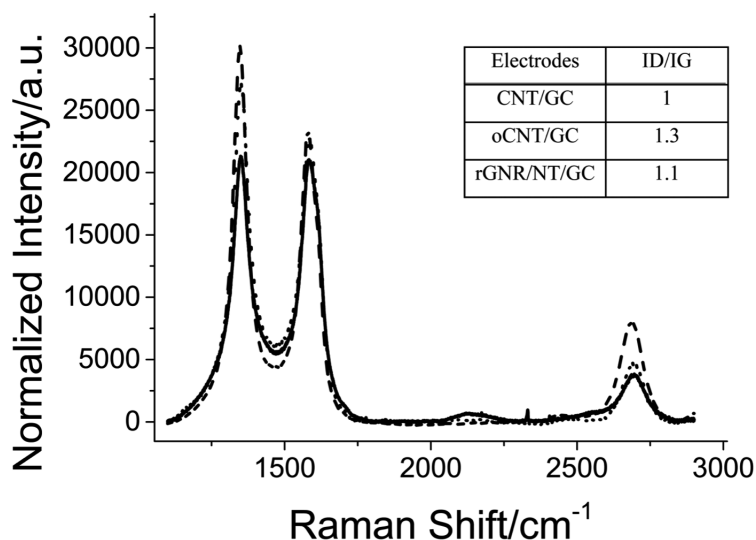


Fig. 3. Comparaciones de los espectros Raman de CNT/GC (línea entera), oCNT/GC (guiones) y rGNR/CNT/GC (puntos). Las diferentes relaciones ID/IG se muestran en la figura inserta

### Estudios por EDS

Los espectros EDS adquiridos muestran que el contenido de O en los oCNT/GC fue de  $(3,89 \pm 0,18)$  at%, mientras que los electrodos rGNR/CNT/GC contenían  $(2,05 \pm 0,12)$  at% de O. Hubo diferencias mínimas entre el contenido de O en los CNT/GC,  $(1,72 \pm 0,21)$  at%, y aquel encontrado para rGNR/CNT/GC, pero hubo grandes diferencias en las imágenes SEM entre ambos electrodos modificados (Figura 1), como se mencionó en la sección correspondiente, lo que demuestra la importancia de mirar a las determinaciones fisicoquímicas aplicadas como complementarias entre sí.

El análisis por EDS fue usado para confirmar la relación C/O en los diferentes electrodos modificados (debe recalarse que ni el grafeno ideal ni el grafito contienen oxígeno en sus estructuras, de ahí la medida de la relación C/O), de acuerdo con Krasheninnikov y Banhart (2007), esta proporción C/O es usada como una herramienta complementaria para monitorear el grado de grafitización de los materiales (es decir, el grado de restauración de las características ordenadas relativas al grafito y a sus materiales derivados, particularmente el grafeno). La evaluación de este parámetro muestra una proporción C/O de 25:1 en los oCNT/GC y un aumento de dicha proporción a 48:1 en los rGNR/CNT/GC, confirmando un alto grado de grupos funcionales oxigenados después del tratamiento electroquímico oxidativo, y su deseada eliminación parcial luego del tratamiento electroquímico reductor.

Estos resultados, combinados con el aumento en el pico D comparado con CNT/GC en Raman, apuntan fuertemente a que la presencia de un pico cuasireversible de oxidación en la Figura 4a constituye una firme evidencia de la oxidación de los CNTs luego de la aplicación de un potencial oxidativo de 0,72 V (vs RE de  $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{SO}_{4\text{sat}}$ ), así como el corrimiento de las curvas en la Figura 4b hacia potenciales menos negativos a lo largo del tiempo de aplicación del potencial reductor indica una reducción de los oCNTs.

### Estudios electroquímicos: $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ y cálculo de $k_{\text{eff}}^0$

La cupla redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  se utilizó para evaluar el desempeño de los electrodos, debido a que su reversibilidad asegura que cualquier proceso medible será atribuible a procesos electroquímicos redox que presente la cupla en la superficie de los electrodos.

La Tabla 1 muestra valores de  $\Delta E_p$  bastante altos, particularmente más altos que el valor teórico de  $\Delta E_p$  esperado de 59 mV para una reacción reversible en donde se intercambie 1

electrón, muy probablemente debido a que el  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  es una cupla de esfera interna que puede quedar adsorbida a la superficie de un electrodo de carbono al interactuar con éste durante la reacción redox, y por lo tanto puede verse atenuada su capacidad como sonda, disminuyendo su idoneidad para una correcta caracterización de los materiales.

Aun así, se puede apreciar claramente que el electrodo de rGNR/CNT/GC muestra una mejora en la reversibilidad de la reacción redox (es decir, posee el  $\Delta E_p$  más bajo), y también en la conductividad (menor resistencia a la transferencia de carga,  $R_{CT}$ ) si se compara con los demás electrodos modificados (Tabla 1 y Figura 4).

Los valores del área superficial electroquímica (ECSA) fueron calculados mediante la ecuación de Randles-Sevcik (1), a través de la medida de la intensidad de pico  $I_p$ , asumiendo que el transporte de masa se debe exclusivamente a procesos de difusión ya que como se mencionó, una cupla redox reversible solamente tendrá procesos limitantes asociados al transporte de masa y no a limitaciones de origen cinético (Wang *et al.*, 2009), ver Tabla 1.

$$I_p = 0,4463 A c \gamma^{1/2} D^{1/2} RT^{-1/2} n^{3/2} F^{3/2} \quad (1)$$

Donde A es el área del electrodo (que es el dato que se desea obtener), c la concentración de la solución ( $\text{mol cm}^{-3}$ ),  $\gamma$  es la velocidad de barrido de potencial utilizada ( $\text{V s}^{-1}$ ), D el coeficiente de difusión de la cupla ( $6,7 \pm 0,02 \text{ 10}^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ), R la constante de los gases, T la temperatura, n el número de electrones intercambiados en la reacción, y F la constante de Faraday.

La constante de velocidad de la transferencia heterogénea efectiva del electrón (HET, acorde a su sigla en inglés),  $k_{\text{eff}}^{\circ}$ , aplicable a sistemas cuasirreversibles, fue calculada para cada electrodo modificado graficando  $\psi$  contra  $[\pi D n \nu F / (RT)]^{-1/2}$ , teniendo en cuenta las sugerencias de Brownson *et al.* (2015), donde  $\psi$  es un parámetro cinético, D el coeficiente de difusión para el  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$  (que es la cupla reversible usada exclusivamente para esta determinación), n es el número de electrones implicado en la reacción, F es la constante de Faraday, R la constante de gases, T la temperatura, y X es el  $\Delta E_p$  encontrado con la velocidad de barrido en cuestión (en nuestro caso, un rango entre 0,025 y 0,15 V). De esta manera, el parámetro cinético  $\psi$  fue calculado según la ecuación 2:

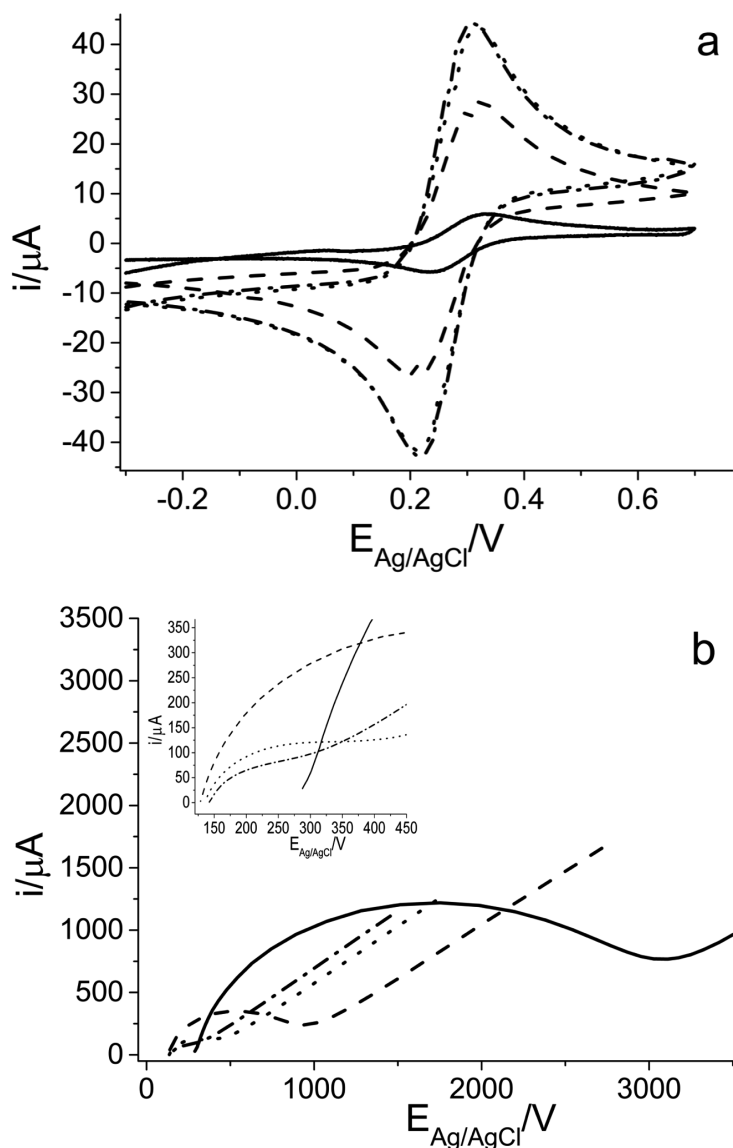
$$\psi = (-0,6288 + 0,0021 X) / (1 - 0,017 X) \quad (2)$$

El valor de  $k_{\text{eff}}^{\circ}$  calculado para los electrodos desnudos de GC fue  $3,17 \text{ 10}^{-2}$ , valor comparable con el resultado obtenido por Brownson *et al.* (2015). Nuestros electrodos de rGNR/CNT/GC presentaron un valor de  $k_{\text{eff}}^{\circ}$  de  $3,2 \text{ 10}^{-1}$ , un valor mayor que el calculado por Brownson para el electrodo de grafito pirolítico de plano de borde (con los bordes de las

**TABLA 1. Valores de ECSA,  $\Delta E_p$  y  $R_{CT}$  usando  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ . La desviación estándar relativa calculada, RSD, se informa en % en paréntesis ( $n=3$ )**

Cupla Redox	Electrodo	ECSA / $\text{cm}^2$	$\Delta E_p$ / mV	$R_{CT}$ / $\Omega$
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$	GC	0,0073±0,0006 (8,2)	100±9 (9)	1582±506 (31,9)
	CNT/GC	0,087±0,006 (6,9)	110±10 (9,3)	346±91 (26,3)
	oCNT/GC	0,071±0,005 (7)	110±6 (5,4)	132±9 (6,8)
	rGNR/CNT/GC	0,080±0,006 (7,5)	89±1 (1,1)	69±5 (7,2)





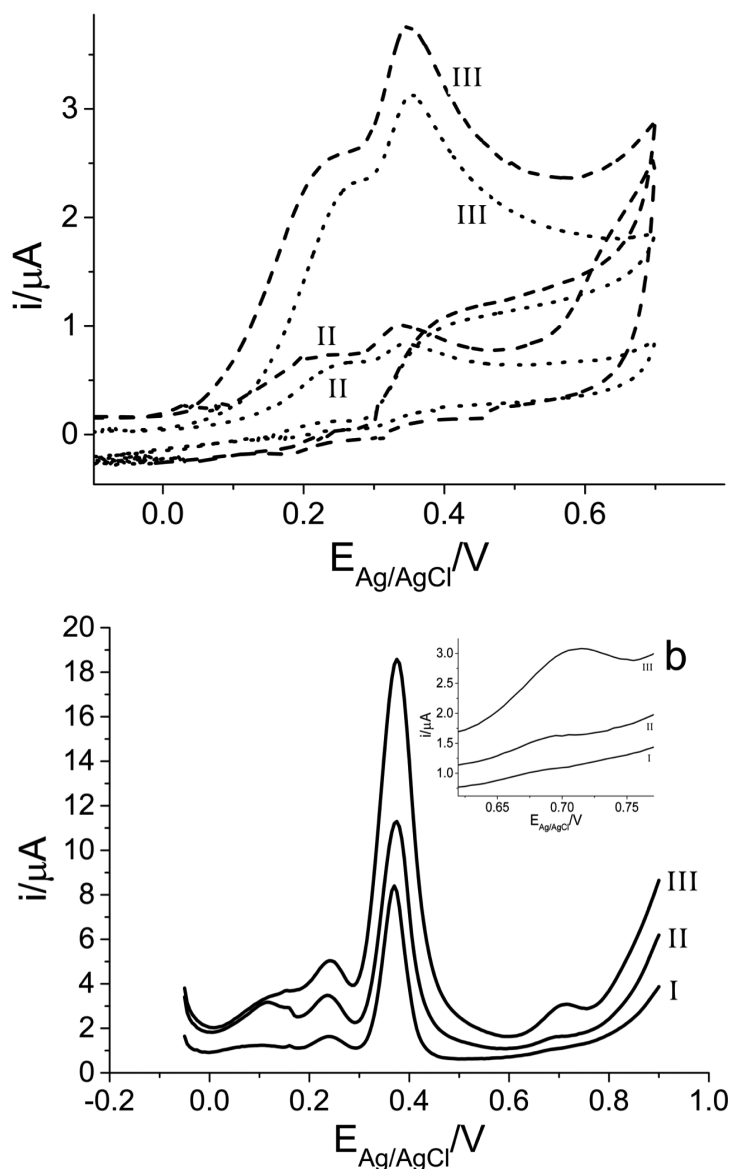
**Fig. 4. (a) CV de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , (b) gráficos Nyquist de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ , (la figura insertada muestra la magnificación de la zona de altas frecuencias). Electrodo de GC (línea entera), CNT/GC (guiones), oCNT/GC (puntos) o rGNR/CNT/GC (guiones y puntos)**

hojas del grafeno expuestas perpendicularmente a la solución), EPPG (por sus siglas en inglés); de este modo, acoplado y complementando este resultado con los de secciones previas (Raman, EDS,  $\Delta E_p$ ,  $R_{CT}$ ), nuestros electrodos híbridos basados en materiales similares al grafeno y CNTs exhiben propiedades electroquímicas favorables para ser exploradas en la determinación de moléculas biológicas de interés clínico.

### Medidas electroquímicas de AA, DA, UA y 5HT

Los electrodos de GC modificados solamente con CNT, o los modificados con oCNT, presentaron una selectividad pobre en presencia de los cuatro compuestos de interés, es decir AA, DA, UA, y 5HT (Figura 5a), evidenciado por la presencia de solamente dos picos en lugar de cuatro (debe agregarse que usando el electrodo de GC desnudo, se observó sólo un pico para los cuatro analitos).

En amplio contraste, cuatro picos bien definidos se observaron cuando fue usado el electrodo de rGNR/CNT/GC, picos correspondientes a AA, DA, UA y 5HT en la Figura



**Fig. 5. a)** Curvas de CV de 2 muestras distintas conteniendo AA, UA, DA y 5HT usando CNT/GC (puntos), oCNT/GC (guiones). **b)** Curvas de DPV de tres muestras distintas conteniendo AA, UA, DA y 5HT, usando rGNR/CNT/GC (línea entera). Concentraciones de las muestras medidas: 4.6; 5; 50; 60 mol L<sup>-1</sup> (I); 25, 25, 96; 120 mol L<sup>-1</sup> (II) y 90; 50; 245; y 240 mol L<sup>-1</sup> (III) de 5HT, DA, UA y AA respectivamente (n=3). La figura insertada en b) muestra la determinación de 5HT magnificada.

5b asignados respectivamente a los picos que aparecen en la figura de izquierda a derecha.

El hecho de que el electrodo de rGNR/CNT/GC pueda resolver estos cuatro picos es una fuerte evidencia de su selectividad mejorada frente a estos compuestos. El carácter sp<sup>2</sup> restablecido en el electrodo rGNR/CNT/GC, combinado con los defectos no recuperados y entonces persistentes de grupos funcionales oxigenados y sumados a la presencia de CNTs, constituyen entonces un electrodo modificado con un material híbrido que claramente favorece la oxidación selectiva de las cuatro biomoléculas analizadas.

En la técnica de DPV, tanto la forma de los picos como sus respectivas alturas constituyen criterios para elucidar las cuestiones cinéticas intrínsecas a las reacciones, donde picos más altos y simétricos corresponden a cinéticas de electrodo reversibles o cuasirreversibles (Bard y Faulkner, 2001; Brett y Oliveira Brett, 1993).

El límite de detección (LOD) usando al electrodo de rGNR/CNT/GC se calculó mediante la fórmula  $3SD b^{-1}$  (donde SD es la desviación estándar de 4 mediciones consecutivas del blanco, y b es la pendiente de la curva de calibración de DA o 5HT). El LOD para DA se calculó así en 235 nmol L<sup>-1</sup>, y en 460 nmol L<sup>-1</sup> para 5HT. Estos límites de detección son mayores que otros reportados según Han y colaboradores (2007); Xu et al. (2014); Qi et al. (2015), pero con la importante salvedad de que muchos de ellos no informan la detección simultánea de DA y 5HT en presencia de AA y UA.

## Conclusiones

En el presente trabajo, se aplicó un tratamiento electroquímico a electrodos de GC modificados con un híbrido de CNT/material similar al grafeno (rGNR/CNT/GC), con el fin de determinar simultáneamente DA y 5HT en presencia de AA y UA. Estos electrodos modificados, caracterizados mediante SEM, EDS, espectroscopía Raman, y sondas electroquímicas ( $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ ,  $Ru(NH_3)_6^{2+/3+}$ ), probablemente exponen diferentes morfologías a una muestra, debido a su superficie modificada con grupos funcionales de oxígeno y defectos no recuperados luego del paso de reducción electroquímica lo que garantiza el transporte de masa y, como consecuencia, un desempeño mejorado, aumentando la conductividad y la selectividad hacia la determinación de DA y 5HT en presencia de AA y UA (Nardecchia y colaboradores, 2013). Como trabajo futuro, se realizará un enfoque en la caracterización profunda de los electrodos modificados, los procesos de electrodo, y la mejora en la sensibilidad de la determinación de DA y 5HT para determinaciones clínicas; y, eventualmente, la determinación y sensado de otras biomoléculas.

## Agradecimientos

Este trabajo fue respaldado por la Universidad de Buenos Aires (IQUIBICEN-CONICET), el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, PIP 112-200801-00502), y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (Préstamo BID, PICT 2014-3407 y PICT 2014-0402).

## Referencias

- BARD, A. J. y FAULKNER, L.R., (2001) *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*; John Wiley & Sons.
- BRETT, C. M. A. y OLIVEIRA BRETT, A. M., (1993) *Electrochemistry Principles, Methods, and Applications*; Oxford University Press.
- BROWNSON, D. A. C.; KELLY, P. J. y BANKS, C.E., (2015) *RSC Adv.* 5, 37281.
- CHANG, X.; DONG, F.; TANG, Z. y ZHA, F., (2019) *Int. J. Hydrog. Energy* 44, 27445.
- DE DEURWAERDÈRE, P. y DI GIOVANNI, G., (2017) *Prog. Neurobiol.* 151, 175.
- ELIAS, D.C.; NAIR, R.R.; MOHIUDDIN, T.M.G.; MOROZOV, S.V.; BLAKE, P.; HALSALL, M.P.; FERRARI, A.C.; BOUKHVALOV, D.W.; KATSNELSON, M.I.; GEIM, A.K. y NOVOSELOV, K.S., (2009) *Science* 323, 610.
- HAN, H.S.; LEE, H.K.; YOU, J.-M.; JEONG, H. y JEON, S., (2014) *Sens. Actuators B* 190, 886.
- KOSYNKIN, D.V.; HIGGINBOTHAM, A.L.; SINITSKII, A.; LOMEDA, J.R.; DIMIEV, A.; PRICE, B.K.; TOUR, J.M., (2009) *Nature* 458, 872.
- KRASHENINNIKOV, A.V. y BANHART, F., (2007) *Nat. Mater.* 6, 723.
- MAGDESIEVA, T.V.; SHVETS, P.V.; NIKITIN, O.M.; OBRAZTSOVA, E.A.; TUYAKOVA, F.T.; SERGEYEV, V.G.; KHOKHLOV, A.R. y OBRAZTSOV, A.N., (2016) *Carbon* 105, 96.
- MOHANTY, N.; MOORE, D.; XU, Z.; SREEPRASAD, T.S.; NAGARAJA, A.; RODRIGUEZ, A.A. y BERRY, V., (2012) *Nat. Commun.* 3, 1. y DEL MONTE, F., (2013) *Chem. Soc. Rev.* 42, 794.

- PANDIKUMAR, A.; HOW, G.T.S.; SEE, T.P.; OMAR, F.S.; JAYABAL, S.; KAMALI, K.Z.; YUSOFF, N.; JAMIL, A.; RAMARAJ, R.; JOHN, S.A.; LIM, H.N.; HUANG, N.M. (2014) RSC Adv. 4, 63296.
- PEI, S. y CHENG, H.-M., (2012) Carbon 50, 3210.
- QI, S.; ZHAO, B.; TANG, H. y JIANG, X., (2015) Electrochim. Acta 161, 395.
- RAHMAN, M.; BEG, S.; AHMAD, M.Z.; ANWAR, F. y KUMAR, V., (2016) Graphene and its diverse applications in healthcare systems, Graphene Science Handbook, p. 399, CRC Press Taylor & Francis Group.
- ROBINSON, D.L.; HERMANS, A.; SEIPEL, A.T. y WIGHTMAN, R.M., (2008) Chem. Rev. 108, 2554.
- SHARMA, K.R., (2016) Synthesis methods for graphene, Graphene Science Handbook, p. 31, CRC Press Taylor & Francis Group.
- SHINDE, D.B.; DEBGUPTA, J.; KUSHWAHA, A.; ASLAM, M. y PILLAI, V.K., (2011) J. Am. Chem. Soc. 133, 4168.
- SREEPRASAD, T.S. y BERRY, V., (2013) Small 9, 341.
- VELICKY, M.; TAM, K.Y. y DRYFE, R.A.W., (2012) Anal. Methods 4, 1207.
- WANG, L.; YAMAUCHI, Y. (2009) Chem. Mater. 21, 3562.
- WEI, D.; LIU, Y.; WANG, Y.; ZHANG, H.; HUANG, L. y YU, G., (2009) Nano. Lett. 9, 1752.
- XU, T-Q.; ZHANG, Q-L.; ZHENG, J-N.; LV, Z-Y.; WEI, J.; WANG, A-J. y FENG, J-J., (2014) Electrochim. Acta 115, 109.
- YANG, C.; DENNO, M.E.; PYAKUREL, P. y VENTON, B.J., (2015) Anal. Chim. Acta. 887, 17.
- YOON, D. y CHEONG, H., (2012) Raman spectroscopy for characterization of graphene, Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization, p. 191, Springer.