

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
Facultad de Ingeniería  
Ingeniería en Nanotecnología

**Desarrollo de un biosensor electroquímico basado en  
cobaltonanoestructurado para la detección de ácido úrico**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

**Ingeniero en Nanotecnología**

Presenta:

Carlos Daniel Ruiz Guerrero

Director:

M.C. Dulce Victoria Estrada Osorio

Co-Director:

Dra. Janet Ledesma García

**M.C. Dulce Victoria Estrada Osorio**

Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dra. Janet Ledesma García**

Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando**

Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dr. Alejandro Gutiérrez Aguilar**

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

**Dr. Luis Arturo Godínez Mora-Tovar**

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Centro Universitario Querétaro, Qro. México

Abril, 2024

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

## **AGRADECIMIENTOS**

*Esta tesis es dedicada a mi familia a quienes debo todo, no habría llegado hasta aquí sin su apoyo. Gracias mamá, papá y hermana, los amo con todo mi corazón. Por siempre estar en todo momento y ser mi soporte, apoyándome en todos mis sueños y proyectos. Son los más importante y valioso que tengo.*

*Agradezco profundamente a mis compañeros LABMYN Ame, Ale, Pau, Dani, Yon, Yael por convertirse en una familia más y compartir tantos momentos inolvidables, especialmente Ari, quien fue vital para la elaboración de esta tesis, su apoyo y amistad me mantuvieron a flote estos 2 años.*

*A los doctores Ricardo Escalona, Alejandro Gutiérrez y Fabiola Espinoza por compartirme su conocimiento y resolver siempre las dudas que presentaba con sosiego y amabilidad.*

*A mis amigos y compañeros de la carrera, Karla, Ángeles, Dani, Alex, Julio, Moni, por tantos momentos, experiencias, aprendizajes, proyectos, desveladas, los llevaré siempre en mi corazón.*

*A las dos personas que más quiero; Andrea por apoyarme y estar conmigo todos estos años y Luis Armando por siempre darme tu apoyo y comprensión en los momentos más oscuros, por acompañarme en esta vida.*

*A todos los maestros que durante toda mi formación académica han permeado en mí su conocimiento, apoyo y amistad, les estaré infinitamente agradecido.*

*A la Universidad Autónoma de Querétaro por ser mi Alma Mater desde el bachillerato siempre te llevaré con orgullo y gratitud.*

*Agradezco a la Dra. Janet Ledesma por recibirme en su laboratorio y la M.C. Dulce Victoria por aceptarme en este proyecto como su tesista.*

*Al CONAHCYT por el financiamiento mediante la convocatoria CIENCIA DE FRONTERA propuesta 845732.*

*Especial agradecimiento al Laboratorio Nacional de Micro y Nanofluídica.*



*"Lo único predecible de la vida,  
es que es impredecible"*

*-Ratatouille*

A mis padres Rosa, Carlos  
y mi hermana Fer

## RESUMEN

---

En este trabajo se explica detalladamente la metodología utilizada para la síntesis de nanoestructuras de óxido de cobalto por método de coprecipitación para su potencial aplicación en sistemas de detección y cuantificación de ácido úrico. Además, se presenta la evaluación de diferentes nanoestructuras de cobalto (aerogeles de Co, Ni-Co y Pd-Co) para obtener información comparativa respecto a las nanopartículas de óxido de cobalto sintetizadas. La caracterización electroquímica se realizó en media celda con electrolitos de buffer de fosfatos (PBS) 0.1M a pH 7.4 y 5.6, con diferentes concentraciones de ácido úrico, en rangos similares a los reportados en diferentes fluidos biológicos (sudor, sangre y lágrimas). Las tintas electrocatalíticas mostraron una reducción en el potencial de oxidación de 0.50 V en la enzima urato oxidasa (UOx), hasta el más bajo encontrado con la tinta de Pd-Co/UOx de 0.31 V en PBS pH 7.4, demostrando una sinergia entre los nanomateriales y la enzima. La tinta de Pd-Co/UOx presentó una alta sensibilidad en presencia de AU en PBS pH 7.4 con  $11.0 \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$  así se obtuvieron los parámetros del sensor con un límite de detección de  $5.4 \pm 0.3 \mu\text{M}$ , con una rango lineal de 0-250  $\mu\text{M}$  para las pruebas en pH 5.6 la tinta de Ni-Co/UOx presentó el mejor desempeño con un LOD  $4.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ , sensibilidad de  $10.9 \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$  y un rango lineal de 0-100  $\mu\text{M}$ . Finalmente se realizaron pruebas de interferencia a las tintas de Ni-Co/UOx y  $\text{Co}_3\text{O}_4$  para validar su selectividad, utilizando urea, glucosa, ácido láctico y ácido ascórbico en concentraciones encontradas en fluidos biológicos.

## ABSTRACT

---

This work explains in detail the methodology used for the synthesis of cobalt oxide nanostructures by coprecipitation method for their potential application in detection and quantification systems of uric acid. Additionally, the evaluation of different cobalt nanostructures (Co, Ni-Co, and Pd-Co aerogels) is presented to obtain comparative information regarding the synthesized cobalt oxide nanoparticles. Electrochemical characterization was carried out in a half-cell with phosphate buffer electrolytes (PBS) 0.1M at pH 7.4 and 5.6, with different concentrations of uric acid, in ranges similar to those reported in various biological fluids (sweat, blood, and tears). Electrocatalytic inks showed a reduction in the oxidation potential of 0.50 V in urate oxidase (UOx) enzyme, up to the lowest found with the Pd-Co/UOx ink of 0.31 V in PBS pH 7.4, demonstrating synergy between nanomaterials and the enzyme. The Pd-Co/UOx ink showed high sensitivity in the presence of AU in PBS pH 7.4 with  $11.0 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$ , thus obtaining sensor parameters with a detection limit of  $5.4 \pm 0.3 \mu\text{M}$ , with a linear range of 0-250  $\mu\text{M}$  for tests at pH 5.6, the Ni-Co/UOx ink showed the best performance with a LOD of  $4.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ , sensitivity of  $10.9 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$ , and a linear range of 0-100  $\mu\text{M}$ . Finally, interference tests were performed on Ni-Co/UOx and  $\text{Co}_3\text{O}_4$  inks to validate their selectivity, using urea, glucose, lactic acid, and ascorbic acid at concentrations found in biological fluids.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Estructura del AU (Wang et al., 2020). .....	9
Fig. 2 Reacción de UOx y AU (Y. Zhao et al., 2009).....	13
Fig. 3 Esquema de principio analítico para biosensores electroquímicos basados en nanomateriales de carbono y no carbono (Cho et al., 2020).....	14
Fig. 4 Celda unitaria (izquierda) y celda primitiva (derecha) de Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . Las bolas de color cian claro y azul marino indican iones Co <sup>2+</sup> y Co <sup>3+</sup> , las bolas rojas indican iones O <sup>2-</sup> (Chen et al., 2011). .....	16
Fig. 5 Representación esquemática de una celda electroquímica para experimentos (Elgrishi et al., 2018). .....	18
Fig. 6 Esquema de la primera parte de la síntesis de óxido de cobalto por medio de coprecipitación.....	25
Fig. 7 Polvos obtenidos de la síntesis por coprecipitación de las NP's Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . .....	25
Fig. 8 Procedimiento de obtención de aerogeles mediante la metodología sol-gel (Martinez-Lazaro et al., 2022). .....	26
Fig. 9 Aerogeles de Co, Co-Ni y Co-Pd utilizados.....	26
Fig. 10 Arreglo de 3 electrodos empleado para las pruebas electroquímicas. ....	28
Fig. 11.- Difracción de rayos X de nanoestructuras de Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	32
Fig. 12 Análisis por XPS <b>a)</b> análisis general de Co <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , <b>b)</b> análisis elemental de Co 2p de Co <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . .....	33
Fig. 13 Imagen SEM del Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> <b>a)</b> 3µm, <b>b)</b> 50µm, <b>c)</b> 1µm, <b>d)</b> 300nm. ....	34
Fig. 14 Voltamperometrías cíclicas con adición 500 µM de AU a <b>a)</b> aerogel de Co, <b>b)</b> aerogel Ni-Co, <b>c)</b> aerogel Pd-Co y <b>d)</b> nanopartículas de Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , en GCE vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 a 10 mVs <sup>-1</sup> .....	36
Fig. 15 Voltamperometría cíclica en GCE de aerogeles de Co, Ni y Pd, nanopartículas de Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> con UOx y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 a 10 mVs <sup>-1</sup> con concentraciones de 0 y 500µM de AU.....	37
Fig. 16 Voltamperometría cíclica en GCE de aerogeles de Co, Ni y Pd, nanopartículas de Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 10 mVs <sup>-1</sup> con concentraciones de 0 y 500µM de AU.....	38

Fig. 17 DCPA a 0.3V en GCE de <b>a)</b> Nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ , <b>b)</b> $\text{Co}/\text{UOx}$ ; vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones AU en estático. ....	40
Fig. 18 DCPA a 0.3V en GCE de <b>a)</b> Aerogel $\text{Co}/\text{UOx}$ , <b>b)</b> Aerogel $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ , <b>c)</b> Aerogel $\text{Pd-Co}/\text{UOx}$ y <b>d)</b> Nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ ; en PBS pH 7.4 con adiciones AU en agitación. ....	40
Fig. 19 DCPA a 0.3V en GCE de <b>a)</b> Aerogel $\text{Co}/\text{UOx}$ , <b>b)</b> Aerogel $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ , <b>c)</b> Aerogel $\text{Pd-Co}/\text{UOx}$ y <b>d)</b> Nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ ; en PBS pH 5.6 con adiciones AU en agitación. ....	41
Fig. 20 Curvas de calibración obtenidas de las amperometrías (x3) a los aerogeles de $\text{Co}/\text{UOx}$ , $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ y $\text{Pd-Co}/\text{UOx}$ , $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ y $\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con diferentes concentraciones de AU. ....	42
Fig. 21 Curvas de calibración obtenidas de las amperometrías escalonadas (x3) de los aerogeles de $\text{Co}/\text{UOx}$ , $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ y $\text{Pd-Co}/\text{UOx}$ , nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ y $\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 5.6 con adiciones de AU. ....	43
Fig. 22 Prueba de repetibilidad (x3) en GCE de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones de AU. ....	47
Fig. 23 Prueba de estabilidad de 1, 3 y 10 días (x3) en GCE de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones de AU. ....	48
Fig. 24 Prueba de estabilidad de 1, 3 y 10 días (x3) en GCE de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones de AU. ....	48
Fig. 25 Cronoamperometría (x3) en GCE de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones de AU. ....	49
Fig. 26 Curva de calibración de estabilidad con cronoamperometría (x3) en GCE de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ vs $\text{Ag}/\text{AgCl}$ en PBS pH 7.4 con adiciones de AU. ....	50
Fig. 27 Prueba de interferentes de nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ en GCE. Se agregó ácido úrico (UA), glucosa (GLU), urea (UR), ácido láctico (AL) y ácido ascórbico (AA) y para finalizar, de nuevo UA. ....	51
Fig. 28 Porcentaje de interferencia de nanopartículas de $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ . ....	51
Fig. 29 Prueba de interferentes del aerogel de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ en GCE. Se agregó ácido úrico (UA), glucosa (GLU), urea (UR), ácido láctico (AL) y ácido ascórbico (AA) y para finalizar, de nuevo UA. ....	52
Fig. 30 Porcentaje de interferencia de nanopartículas de $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ . ....	52

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 1 Concentraciones de AU reportada en diferentes fluidos biológicos .....	12
Tabla 2 Detección de ácido úrico con diferentes sensores reportados. ....	14
Tabla 3 Recopilado de biosensores basados en aerogeles obtenido de Yang et al., 2019. ....	17
Tabla 4 Concentración de sustancias interferentes con el sensor. ....	31
Tabla 5 Potenciales de oxidación y densidad de corriente a 0.3 V de tintas de nanoestructuras de cobalto y UOx en PBS pH 7.4.....	37
Tabla 6 Potenciales de oxidación y densidad de corriente a 0.3 V de tintas de nanoestructuras de cobalto y UOx en PBS pH 5.6.....	39
Tabla 7 Ecuación de la recta y coeficiente de determinación de las curvas de calibración obtenidas en PBS pH 7.4 .....	42
Tabla 8 Ecuación de la recta y coeficiente de determinación de las curvas de calibración obtenidas en PBS pH 5.6 .....	44
Tabla 9 Valores de $V_{m\acute{a}x}$ , $K_m$ , LOD y LOQ de las tintas electrocatalíticas obtenidas a partir de las curvas de calibración en PBS pH 7.4 y 5.6.....	45
Tabla 10 Comparación de nanoestructuras de cobalto y UOx con otros trabajos de sensores electroquímicos para la detección de AU. ....	45

## CONTENIDO GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>5</b>
<b>CONTENIDO GENERAL</b> .....	<b>6</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>8</b>
1. INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....	9
1.1. Generalidades del ácido úrico .....	9
1.1.1. Enfermedades relacionadas a niveles anormales de ácido úrico .....	9
1.1.2. Métodos convencionales para la detección de ácido úrico .....	10
1.1.3. Cuantificación de ácido úrico en fluidos biológicos .....	11
1.2. Detección enzimática de ácido úrico .....	13
1.2.1. Urato oxidasa .....	13
1.2.2. Detección por peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	13
1.3. Electrodo modificado con nanomateriales conductores .....	14
1.4. Nanoestructuras de cobalto para la detección de ácido úrico .....	15
1.4.1. Óxido de Cobalto .....	16
1.4.2. Aerogeles .....	16
1.5. Pruebas electroquímicas .....	17
1.5.1. Voltamperometría cíclica .....	17
1.5.2. Cronoamperometrías .....	18
1.5.3. Celda electroquímica .....	18
JUSTIFICACIÓN .....	20
DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	21
HIPÓTESIS .....	22
OBJETIVOS .....	23
1.6. Objetivo general .....	23
1.7. Objetivos específicos .....	23
2. METODOLOGÍA .....	24
2.1. Preparación de soluciones .....	24
2.2. Síntesis de nanoestructuras de cobalto .....	24
2.2.1. Síntesis de nanopartículas de óxido de cobalto (Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) .....	24
2.2.2. Síntesis de aerogeles de cobalto .....	25
2.3. Caracterización fisicoquímica .....	27
2.3.1. Difracción de Rayos X (XRD) .....	27
2.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) .....	27
2.3.3. Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) .....	27
2.4. Caracterización electroquímica .....	28
2.4.1. Preparación de tintas electrocatalíticas .....	28
2.4.2. Voltamperometrías cíclicas .....	29

2.4.3. Amperometrías.....	29
2.4.4. Pruebas de estabilidad.....	30
2.4.5. Prueba de interferentes.....	31
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
3.1. Caracterización de nanoestructuras de cobalto.....	32
3.1.1. Caracterización fisicoquímica.....	32
3.1.2. Caracterización electroquímica.....	35
3.2. Caracterización electroquímica a tintas enzimáticas.....	36
3.2.1. Amperometrías.....	39
3.2.2. Pruebas de estabilidad.....	46
3.2.3. Interferentes.....	50
4. CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS .....	53
ANEXO 1.- Participación en Congresos/Eventos .....	55
ANEXO 2.- Asistencia Congresos/Eventos.....	57
5. REFERENCIAS.....	60

## ABREVIATURAS

AA	-	Ácido ascórbico
AU	-	Ácido úrico
CE	-	Contraelectrodo
CGE	-	Electrodo de carbono vítreo
CHFS	-	Síntesis de flujo hidrotermal continuo
DCPA	-	Amperometría de potencial CC
DRX	-	Difracción de rayos X
EtOH	-	Etanol
GLU	-	Glucosa
Km	-	Constante Michaelis Menten
LOD	-	Límite de detección
LOQ	-	Límite de cuantificación
MS	-	Espectroscopía de masas
MT	-	Metales de transición
NFC	-	Nanofibras de carbono
NMOM	-	Nanomateriales de óxidos metálicos
NTC	-	Nanotubos de carbono
PBS	-	Buffer salino de fosfatos
RE	-	Electrodo de referencia
RGO	-	Óxido de grafeno reducido
S	-	Sensibilidad
SEM	-	Microscopía de barrido
UOx	-	Urato oxidasa
VC	-	Voltamperometría cíclica
V <sub>máx</sub>	-	Velocidad Máxima
WE	-	Electrodo de trabajo
XPS	-	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

## 1. INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1. Generalidades del ácido úrico.

El ácido úrico (2,6,8-trihidroxipurina, AU) es el principal producto final del metabolismo de las purinas (Lakshmi et al., 2011). La estructura química del AU se muestra en la Fig. 1, cuenta con un peso molecular de 168,1116 g/mol, es una sustancia cristalina blanca e insípida que es difícilmente soluble en agua o etanol y es débilmente alcalina, por lo que puede formar sal con un ácido fuerte (Q. Wang et al., 2020).

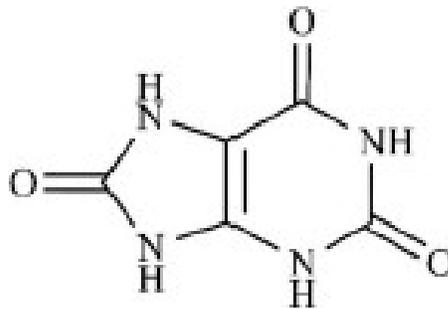


Fig. 1 Estructura del AU (Wang et al., 2020).

El AU se produce a partir de purinas por la enzima xantina oxidasa a través de la ruta del metabolismo de las purinas. Alrededor de 350 mg de AU se producen diariamente por síntesis endógena, mientras que unos 300 mg/día se ingieren en los alimentos (Lakshmi et al., 2011).

#### 1.1.1. *Enfermedades relacionadas a niveles anormales de ácido úrico.*

Las altas concentraciones de AU en el cuerpo humano se han relacionado con muchas enfermedades, como la gota, la hiperuricemia, la enfermedad de Lesch-Nyan, la obesidad, la diabetes, el colesterol alto, la presión arterial alta, la enfermedad renal y la enfermedad cardíaca (Lakshmi et al., 2011).

Las concentraciones séricas de ácido úrico en niños se encuentran aproximadamente de 3 a 4 mg/dl, y se incrementarán en 1 a 2 mg/dl en los hombres durante la pubertad y en las mujeres durante la menopausia (Academia Nacional de Medicina, 2014). Los niveles normales de ácido úrico en orina se han establecido entre 2,4 y 6 mg/dL (161 y 403  $\mu$ M) en las mujeres, y entre 3,4 y 7mg/dL (228 y 470  $\mu$ M) en los hombres. Un

nivel superior a 7mg/dL (470  $\mu$ M) se relaciona a la hiperuricemia (Álvarez-Ponce V. et al., 2018). En otros estudios la hiperuricemia también se ha utilizado como factor predictor de complicaciones materno-fetales y de secuelas maternas del posparto tardío. Diversos estudios han demostrado su influencia en la génesis de la preeclampsia-eclampsia (Vázquez-Rodríguez JG & Rico-Trejo E., 2011).

Debido a que la hiperuricemia es un paso clave inicial en la etiopatogenia de la gota, aumentando drásticamente el riesgo de padecer gota a medida que lo hace la uricemia (Álvarez-Lario, 2014). La gota es una forma compleja de artritis, caracterizada por una acumulación de cristales de urato en las articulaciones. Esto último la coloca como una de las enfermedades más dolorosas y molestas, además que el tratamiento empleado no alivia la sintomatología al instante.

#### 1.1.2. *Métodos convencionales para la detección de ácido úrico.*

La metodología convencional para la evaluación de los niveles de ácido úrico consiste en el análisis de una prueba comúnmente de sangre, aunque también se puede realizar en orina. La muestra de sangre se obtiene utilizando una aguja para la extracción a través de una vena en el brazo, implicando riesgos en el sangrado como infecciones, moretones, dolor e incomodidad al paciente. Además, como afecciones posteriores se encuentran sensaciones de dolor en la zona. Estos problemas pueden acrecentarse cuando la toma de muestra es en infantes, aunado a esto la obtención de los resultados puede llevar de 1 a 2 días (Torres-Arce & Vallejo-Samaniego, 2014).

La determinación de ácido úrico en suero juega un papel importante en la medicina de laboratorio y, por lo tanto, se determina de forma rutinaria en el laboratorio clínico. Los métodos comunes para el ensayo de ácido úrico en suero incluyen el método fotométrico que se basa en la reducción del ácido fosfotúngstico por ácido úrico para dar azul de tungsteno, la cromatografía líquida de alto rendimiento en columnas de fase reversa junto con detección por absorbancia UV o espectrometría de masas (MS), y los métodos basados en uricasa que utilizan la oxidación enzimática específica del ácido úrico por oxígeno para producir peróxido de hidrógeno, alantoína y dióxido de carbono (Y. Zhao et al., 2009). Cada uno de estos métodos emplean múltiples pasos de reacción

química que incluyen la preparación del suero, varios pasos de preparación de la muestra y eventualmente el uso de métodos espectroscópicos para identificar el producto o una técnica de cascada enzimática que determina indirectamente la concentración del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intercalado. También en estos ensayos, la muestra de sangre debe convertirse en suero desnaturalizado, ya que las partículas de sangre coagulada tienden a crear señales de detección erróneas. El proceso de desnaturalización de la sangre requiere tiempo e impide un análisis rápido y los métodos de detección requieren procesos operativos complejos, instrumentos costosos y una disposición previa estricta (Lakshmi et al., 2011). Por lo cual se busca simplificar y eficientizar los procesos en el análisis de ácido úrico.

### 1.1.3. *Cuantificación de ácido úrico en fluidos biológicos.*

#### **a) Sangre.**

En la actualidad la mayoría de las enfermedades se diagnostican por medio de la detección de sustancias químicas en la sangre. La concentración de UA encontrada para suero en un estudio realizado por Shibasaki et al., 2012 en  $6.31 \pm 0.24$  mg/dl mientras que según indica Aafria et al., 2022 el rango normal de AU en el suero sanguíneo humano debe estar entre 0,130 y 0,46 mM.

#### **b) Saliva.**

La saliva es uno de los fluidos para análisis de metabolitos más empleado debido a que la toma de muestra es no invasiva y fácil. Los marcadores químicos en la saliva incluyen metabolitos (por ejemplo, ácido úrico, glucosa), una variedad de proteínas (por ejemplo, lactato deshidrogenasa (LDH),  $\alpha$ -amilasa, albúmina) y hormonas (por ejemplo, cortisol, testosterona. Un estudio realizado por Shibasaki et al., 2012, registra la concentración de AU en saliva en  $3.38 \pm 0.21$  mg/dl.

#### **c) Sudor.**

El sudor representa un biofluido importante y valioso utilizado para sensores portátiles no invasivos. Los sensores de sudor portátiles permiten con éxito el monitoreo no invasivo, rápido y continuo. Se reporta que el pH normal del sudor oscila entre 4.0 y 7,0 (Xu et al., 2021)(Promphet et al., 2019). El análisis de este biomarcador presenta

la dificultad para producir suficiente sudor para el análisis, la evaporación de la muestra, la falta de dispositivos de muestreo apropiados, la necesidad de un personal capacitado, así como la normalización del volumen de muestreo (Sonner et al., 2015). Según un estudio realizado por Huang et al., 2002 muestran que la concentración de ácido úrico en el sudor es de 24,5  $\mu\text{mol/L}$ . Esto evidencia la dificultad de su detección debido a la mínima concentración.

Un estudio realizado por Al-Tamer et al., en 1997 a pacientes urémicos donde se midió la concentración de ácido úrico en sangre, orina y sudor, mostró que la concentración de AU entre los pacientes estaba entre 0.02 y 0.06 mmol/L.

**d) Orina.**

La orina es un líquido transparente, estéril y de color ámbar generado por los riñones. Los principales marcadores químicos de la orina incluyen metabolitos (por ejemplo, urea, ácido úrico, creatinina, bilirrubina, glucosa) y proteínas (por ejemplo, N-acetil-bD-glucosaminidasa, IL18, albúmina, lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos, proteína fijadora de ácidos grasos de tipo hepático, cistatina C) (Broza et al., 2019). En el mismo estudio de Huang et al., 2002 se encontró que la concentración media de ácido úrico en la orina y suero son 3.7 mmol/L y 0.3894 mmol/L respectivamente. El rango de referencia clínico para el pH se reporta entre 4.5 y 8 (con un promedio de 5 a 6) (Cook et al., 2007).

A continuación, la Tabla 1 muestra diferentes fluidos biológicos y su pH así como las concentraciones de ácido úrico reportadas.

Tabla 1 Concentraciones de AU reportada en diferentes fluidos biológicos.

Fluido	Concentración ( $\mu\text{M}$ )	pH	Referencia
Sangre	90 - 420	7.4	Maiuolo et al., 2016
Orina	1400 - 4400	4.5 - 8.0 (5-6)	Erden & Kılıç, 2013, Cook et al., 2007
Sudor	24.5	4.0 - 6.8	Huang et al., 2002 , Xu et al., 2021, Promphet et al., 2019,

<b>Saliva</b>	201.1 ±2.5	6.7 - 7.5	Shibasaki et al., 2012, Caridad, 2008
<b>Lágrimas</b>	107.2 - 118.9	7.0- 7.7	Georgakopoulos et al., 2009, Horwath-Winter et al., 2009, Carney et al., 1989

**1.2. Detección enzimática de ácido úrico.**

1.2.1. *Urato oxidasa.*

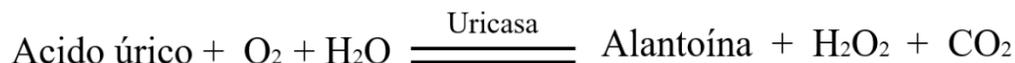
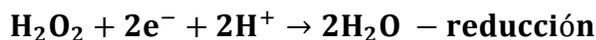
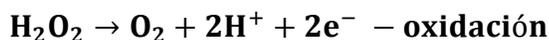


Fig. 2 Reacción de UOx y AU (Y. Zhao et al., 2009).

El urato oxidasa, o uricasa es una enzima peroxisomal que cataliza la oxidación del ácido úrico en la mayoría de los mamíferos. Sin embargo, en humanos y en otras alantoínas de primates, la enzima se ha perdido por algún mecanismo desconocido (Wu et al., 1989). Esta enzima homotetramérica que cataliza la reacción de oxidación del AU para producir alantoína y peróxido de hidrógeno, ha demostrado ser inmensamente fructífera para su detección selectiva (Verma et al., 2019).

1.2.2. *Detección por peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).*

El peróxido generado enzimáticamente se puede detectar electroquímicamente utilizando electrodos amperométricos. Esta detección implica medir la respuesta anódica o catódica, que surge de la oxidación o reducción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> respectivamente en la superficie del electrodo de trabajo.



La oxidación electroquímica del peróxido exige potenciales elevados > 0,40 V, sin embargo, a estos potenciales elevados existen otras especies electroactivas como el ácido ascórbico las cuales también pueden sufrir una oxidación, causando interferencias potenciales con el análisis. Para los biosensores amperométricos de ácido úrico, un inconveniente importante es la posible oxidación del propio ácido úrico, junto

con otros elementos electroactivos de la muestra, cuando entran en contacto con la superficie del electrodo, particularmente el platino (Erden & Kılıç, 2013).

### 1.3. Electrodos modificados con nanomateriales conductores.

Un biosensor electroquímico es un dispositivo analítico que transduce eventos bioquímicos como la reacción enzima-sustrato en señales eléctricas. En este tipo de sensor, un electrodo es un componente clave que se emplea como soporte sólido para la inmovilización de biomoléculas y el movimiento de electrones (Cho et al., 2020), la Fig. 3 muestra un esquema del principio del biosensor. En los últimos años, la modificación del transductor con nanomateriales se ha estudiado cada vez más y ofrece muchas ventajas. La sensibilidad y el rendimiento general de los biosensores enzimáticos han mejorado enormemente como resultado de la incorporación de nanomateriales en su fabricación (Putzbach & Ronkainen, 2013).

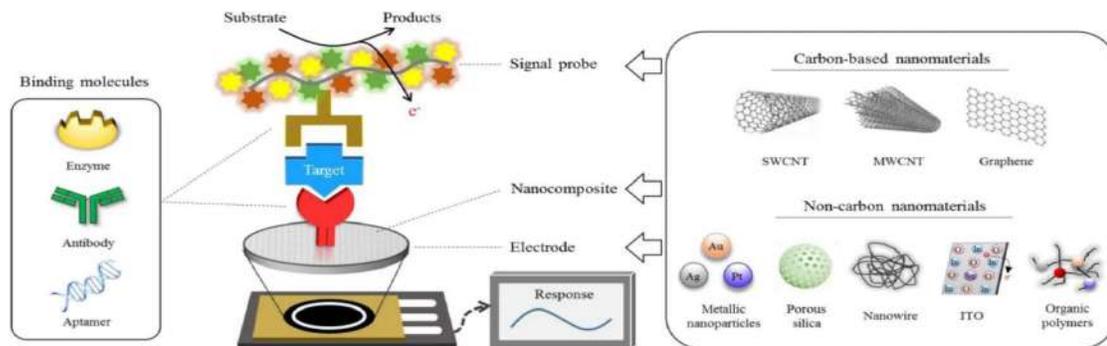


Fig. 3 Esquema de principio analítico para biosensores electroquímicos basados en nanomateriales de carbono y no carbono (Cho et al., 2020).

Varios nanomateriales han proporcionado un sustrato sólido innovador para un análisis *in situ* de alta sensibilidad mediante la amplificación de señales en biosensores electroquímicos. Se introdujeron varios tipos de nanomateriales funcionales (nanotubos de carbono, grafeno, nanopartículas metálicas, de sílice, nanocables, óxido de indio y estaño y polímeros orgánicos), que se usan comúnmente para la construcción de matrices de soporte de electrodos muy efectivas debido a su alta conductividad eléctrica, enorme área superficial, etc (Cho et al., 2020).

Tabla 2 Detección de ácido úrico con diferentes sensores reportados.

Muestra	Elemento de reconocimiento	Soporte	Límite de detección	Sensibilidad	Rango lineal	Referencia
Sudor	UOx/PSS	PEDOT Hidrogel	LDD 1.2 $\mu\text{M}$	0.875 $\mu\text{A}/\text{mM cm}^2$	2,0 a 250 $\mu\text{M}$	Xu et al., 2021
Orina	Uox	Membrana de teflón	0.1 $\mu\text{M}$	-	0.1 – 0.5 $\mu\text{M}$	Akyilmaz, 2003
Fluidos biológicos	Uox	Matriz sol-gel	20 nM	-	1 $\mu\text{M}$	Martinez-Pérez et al., 2003
Orina	Uox	Carbono poroso	4 $\mu\text{M}$	2.5 $\mu\text{A}/\text{mM cm}^2$	10.0 – 400.0 $\mu\text{M}$	Uchiyama&Sakamoto, 1997
Sangre	Uox	Electrodo Au	-	143.0 nA/ $\mu\text{M cm}^2$	Hasta 6.0 $\mu\text{M}$	Kuwabata et al., 1998
Sangre	Uox	Vidrio recubierto de Pt/Ti/NiO	0.11 mM	1278.48 $\mu\text{A}/\text{mM cm}^2$	0.05 – 1.0 mM	Arora et al., 2011
Sangre	Uox	Película de polianilina	0.01 mM	47.2 mA/mM 10.66mA/mM	0.01 – 0.05 mM 0.1 – 0.6 mM	Arora et al., 2007
Orina	Uox	Quitosano	0.85 $\mu\text{M}$	29.5 $\mu\text{A}/\text{mM cm}^2$	2.0 – 30.0 $\mu\text{M}$	ZHAO et al., 2009
Orina	Uox	Electrodo de carbono	0.015 mM	2.10 $\mu\text{A}/\text{mM cm}^2$	0.015–0.25 mM	Kanyong et al., 2012
Orina	Uox	Electrodo modificado NP's de ZnO y MWCNT	2.0 mM	393.0 mA/mM $\text{cm}^2$	5.0 $\mu\text{M}$ –1 mM	Y. Wang et al., 2009

#### 1.4. Nanoestructuras de cobalto para la detección de ácido úrico.

Un valor esencial para la explicación de las características eléctricas de los materiales es el valor de la banda prohibida, la cual nos señala la existencia de un rango prohibido de energía (band-gap) entre las bandas de valencia y de conducción, en el caso de los nanomateriales de óxidos metálicos les permite ser utilizados en sensores electroquímicos, además sus propiedades de detección dependen del tipo de semiconductor; los semiconductores de tipo n y tipo p como el óxido de cobalto ( $\text{CoO}_x$ ) se comportan de manera diferente en términos de funciones de receptor, caminos de conducción y mecanismos de detección debido a los diferentes tipos de portadores de carga mayoritarios (Sahin & Kaya, 2019).

#### 1.4.1. Óxido de Cobalto.

El óxido de cobalto ( $\text{CoO}_x$ ) ha recibido mucha atención debido a sus propiedades electrocatalíticas, estabilidad química y bajo costo. Se ha demostrado que muestra una excelente actividad electrocatalítica frente a varios compuestos, como la glucosa, el glutatión, los carbohidratos, los nitritos, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el arsénico (III) (S.-J. Li et al., 2014). La Fig. 4 muestra la estructura presente en la espinela del  $\text{Co}_3\text{O}_4$ .

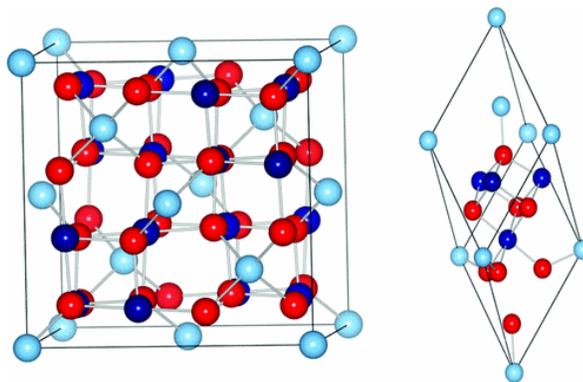


Fig. 4 Celda unitaria (izquierda) y celda primitiva (derecha) de  $\text{Co}_3\text{O}_4$ . Las bolas de color cian claro y azul marino indican iones  $\text{Co}^{2+}$  y  $\text{Co}^{3+}$ , las bolas rojas indican iones  $\text{O}^{2-}$  (Chen et al., 2011).

#### 1.4.2. Aerogeles.

Los aerogeles son materiales que exhiben propiedades únicas debido a su estructura altamente porosa y liviana. Estos materiales sólidos están formados por una red tridimensional interconectada de nanopartículas o materiales nanoestructurados, estando compuesta una parte importante de su volumen por aire o gas. Los aerogeles de cobalto, en particular, han atraído la atención por sus posibles aplicaciones en varios campos, como la catálisis (Martinez-Lazaro et al., 2022), el almacenamiento de energía (J. Zhao et al., 2019) y la detección (Gao & Wen, 2021).

Generalmente, la síntesis de aerogeles contiene principalmente tres pasos: 1) la preparación de una solución precursora uniformemente dispersa, 2) el proceso de gelificación y 3) el proceso de secado. El proceso de gelificación es uno de los pasos clave en la preparación de aerogeles, durante el cual el gel con red interconectada formada a partir de la solución y el aerogel con red casi sin cambios como gel se obtiene

después de reemplazar el solvente en gel con aire por las técnicas especiales de secado (Yang et al., 2019).

Los aerogeles con una estructura porosa altamente interconectada y una alta superficie específica pueden proporcionar canales rápidos de transporte de masa y transferencia de electrones, y abundantes superficies para la adsorción de analitos, y son excelentes materiales para biosensores como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3 Recopilado de biosensores basados en aerogeles obtenido de Yang et al., 2019.

Material	Analito	Tipo sensor	Límite de detección (M)	Sensibilidad	Rango lineal (M)
Cu <sub>2</sub> O-CuO/ Quitosano/ Aerogel NTC multipared	Glucosa	Electroquímico (Amperometría)	$0.0003 \times 10^{-6}$	$68.5 \mu\text{A}$ $(\text{mM cm}^2)^{-1}$	0 – $40\,000 \times 10^{-6}$
Au/Aerogel de grafeno	Glucosa	Electroquímico (Amperometría)	$4 \times 10^{-6}$	$2.6862 \mu\text{A}$ $\text{mM}^{-1}$	10 – $16\,000 \times 10^{-6}$
Pd-Au/ Aerogel grafeno funcionalizado N, S	Dopamina	Electroquímico (DPV)	$0.00036 \times 10^{-6}$	$39.5 \mu\text{A}$ $(\mu\text{M cm}^2)^{-1}$	0.001 – $40 \times 10^{-6}$
Grafeno/ Aerogel NTC	AU	Electroquímico (DPV)	$0.1 \times 10^{-6}$	$64.5 \mu\text{A}$ $(\mu\text{M cm}^2)^{-1}$	2.5 – $65 \times 10^{-6}$
Ag/Aerogel de grafeno	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Electroquímico (Amperometría)	$6.8 \times 10^{-6}$	$419.7 \mu\text{A}$ $(\text{mM cm}^2)^{-1}$	16 – $27\,000 \times 10^{-6}$

## 1.5. Pruebas electroquímicas.

La electroquímica es una herramienta poderosa para investigar reacciones que involucran transferencias de electrones. La electroquímica relaciona el flujo de electrones con los cambios químicos. En química inorgánica, el cambio químico resultante suele ser la oxidación o reducción de un complejo metálico.

### 1.5.1. Voltamperometría cíclica.

La voltamperometría cíclica (VC) es una técnica electroquímica poderosa y popular comúnmente empleada para investigar los procesos de reducción y oxidación de

especies moleculares. VC también es invaluable para estudiar reacciones químicas iniciadas por transferencia de electrones, que incluye la catálisis (Elgrishi et al., 2018).

### 1.5.2. *Cronoamperometrías.*

Métodos electroquímicos que utilizan un paso de potencial y tienen lecturas de corriente de salida en función del tiempo (Zoski, 2007).

### 1.5.3. *Celda electroquímica.*

El recipiente utilizado para un experimento de voltamperometría cíclica se llama celda electroquímica. En la figura Fig. 5 se presenta una representación esquemática de una celda electroquímica. Las secciones siguientes describirán la función de cada componente y cómo ensamblar una celda electroquímica para recopilar datos durante los experimentos de VC.

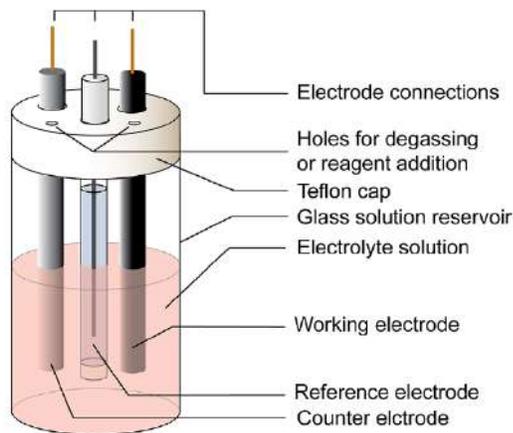


Fig. 5 Representación esquemática de una celda electroquímica para experimentos (Elgrishi et al., 2018).

### **Preparación de solución electrolítica.**

A medida que los electrones se transfieren del electrodo al analito, los iones se mueven en la solución para compensar la carga y cerrar el circuito eléctrico. Se disuelve una sal, llamada electrolito de soporte, en el disolvente para ayudar a disminuir la resistencia de la solución. La mezcla del disolvente y el electrolito de soporte se denomina comúnmente solución de electrolito.

**Electrodo de trabajo (WE).**

El electrodo de trabajo lleva a cabo el evento electroquímico de interés. Se utiliza un potenciostato para controlar el potencial aplicado del electrodo de trabajo en función del potencial del electrodo de referencia. El aspecto más importante del electrodo de trabajo es que está compuesto de material redox-inerte en el rango de potencial de interés. (Elgrishi et al., 2018).

**Electrodo de Referencia (RE).**

Un electrodo de referencia tiene un potencial de equilibrio estable y bien definido. Se utiliza como punto de referencia contra el cual se puede medir el potencial de otros electrodos en una celda electroquímica. Por lo tanto, el potencial aplicado normalmente se informa de acuerdo a una referencia específica. Algunos electrodos de referencia comunes utilizados en medios acuosos incluyen el electrodo de calomelanos saturados (SCE), el electrodo de hidrógeno estándar (SHE) y el electrodo de AgCl/Ag (Elgrishi et al., 2018).

**Contraelectrodo (CE).**

Cuando se aplica un potencial al electrodo de trabajo de manera que pueda ocurrir la reducción (u oxidación), la corriente comienza a fluir. El propósito del contraelectrodo es completar el circuito eléctrico. La corriente se registra a medida que los electrones fluyen entre WE y CE. Para garantizar que la cinética de la reacción que ocurre en el contraelectrodo no inhiba las que ocurren en el electrodo de trabajo, el área de superficie del contraelectrodo es mayor que el área de superficie del electrodo de trabajo. Normalmente se utiliza un alambre o disco de platino como contraelectrodo, aunque también se encuentran disponibles contraelectrodos a base de carbono (Elgrishi et al., 2018).

## JUSTIFICACIÓN

Se han asociado elevadas concentraciones de ácido úrico (AU) en el organismo humano con diversas enfermedades como: la gota, la hiperuricemia, enfermedad de Lesch-Nyhan, obesidad, diabetes, hipertensión arterial, enfermedades renales y problemas cardíacos colocándolo como un biomarcador potencial(Lakshmi et al., 2011).

Los biosensores electroquímicos son populares debido a su bajo costo y tiempos de respuesta relativamente bajos (Putzbach & Ronkainen, 2013). Por lo cual, en la actualidad su desarrollo orientado a la detección y cuantificación de metabolitos se encuentra en auge. La identificación de eventos bioquímicos en la superficie del electrodo en un biosensor requiere una matriz transductora adecuada que pueda permitir la transferencia de carga rápida, la fácil inmovilización de la enzima y proporcionar un microambiente homeostático para la actividad y estabilidad de la enzima (Verma et al., 2019). Se han propuesto biosensores basados en diferentes matrices transductoras, como polímeros conductores (Bayramoğlu et al., 2010), materiales de carbono (Omar et al., 2016), nanopartículas metálicas o de óxido metálico (Zhang et al., 2004), que demuestran una sensibilidad razonablemente buena hacia el AU.

Sin embargo, la baja actividad enzimática, la lenta cinética de los electrodos, la interferencia debida a los altos sobrepotenciales y el complicado proceso de fabricación presentan algunos de los principales inconvenientes. Por lo tanto, es de gran importancia desarrollar una matriz altamente eficiente con el fin de lograr una mayor precisión para detectar y cuantificar AU en concentraciones muy bajas a una velocidad más rápida y sin ninguna interferencia (Verma et al., 2019).

## DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

En la actualidad, la mayoría de los métodos para la detección de niveles de ácido úrico como la espectrofotometría, la cromatografía iónica, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la espectrometría de masas, la quimioluminiscencia, la electroforesis-amperometría capilar, la colorimetría y los kits de prueba enzimáticos, son costosos, complejos y requieren mucho tiempo (Ahmad et al., 2017), debido a la metodología se requiere de personal médico y de equipo especializado de laboratorio. El AU es un biomarcador, presente en diferentes fluidos biológicos, de enfermedades como la gota, la hiperuricemia, la enfermedad de Lesch-Nyan, la obesidad, la diabetes, el colesterol alto, la presión arterial alta, la enfermedad renal y la enfermedad cardíaca (Lakshmi et al., 2011). Es por ello que se propone el desarrollo de un biosensor electroquímico empleando la enzima urato oxidasa y funcionalizado con nanoestructuras cobalto para la detección de ácido úrico a través soluciones que simulen las concentraciones de AU presentes en fluidos biológicos como sangre, sudor y saliva.

## **HIPÓTESIS**

El desarrollo de un biosensor basado en estructuras de cobalto con depósitos de una tinta basada en la enzima urato oxidasa inmovilizada, mejorará el desempeño en la detección y cuantificación de ácido úrico en soluciones controladas en concentraciones similares a las presentes en fluidos biológicos como sangre, sudor y saliva en comparación con otros sensores reportados.

## OBJETIVOS

### 1.6. Objetivo general

Desarrollar un biosensor electroquímico basado en la enzima UOx inmovilizada en nanoestructuras de cobalto, para detectar y cuantificar ácido úrico en soluciones con concentraciones similares a las presentes en sangre, sudor y orina.

### 1.7. Objetivos específicos

1. Sintetizar nanoestructuras de cobalto por método de coprecipitación.
2. Caracterizar las nanoestructuras de cobalto por métodos fisicoquímicos, microscópicos y electroquímicos como SEM, XRD, XPS y voltamperometría cíclica.
3. Evaluar las nanoestructuras de cobalto como biosensores electroquímicos de ácido úrico empleando la enzima UOx inmovilizada mediante tratamiento de entrecruzamiento.
4. Sintetizar y caracterizar los materiales obtenidos como desarrollar los bioelectrodos para el sensor de ácido úrico utilizando la enzima urato oxidasa sintetizada con nanoestructuras de cobalto.
5. Determinar los límites de cuantificación y de detección de los electrodos en pruebas con soluciones sintéticas que simulen las concentraciones de AU en fluidos biológicos como sangre, sudor y saliva.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Preparación de soluciones.

Se preparó un buffer de Tris-HCl a un pH 8.8 empleando tris(hidroximetil) aminometano (Sigma-Aldrich), agua desionizada como disolvente y se ajustó el pH con ácido clorhídrico (HCL). Para la simulación de fluidos biológicos se prepararon 2 buffers de fosfato salino, uno a pH 7.4 y otro a pH 5.6, para su preparación se utilizaron fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , Macron), fosfato de sodio dibásico dodecahidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , J.T. Baker) y como disolvente agua desionizada, se ajustó el pH con HCl y NaOH según fue el caso. También se preparó una solución de glutaraldehído (Sigma-Aldrich) al 5%.

### 2.2. Síntesis de nanoestructuras de cobalto.

#### 2.2.1. *Síntesis de nanopartículas de óxido de cobalto ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ).*

Se utilizó una metodología similar a la propuesta por (Nallusamy & Sujatha, 2021), se preparó una disolución de cloruro de cobalto (II) hexahidratado (Sigma-Aldrich) de 1 M en agua destilada con agitación constante, posteriormente se agregó una solución de hidróxido de potasio de grado analítico (Karal) 2 M mediante goteo constante y se mantuvo la agitación durante 3h a temperatura ambiente ( $\approx 22^\circ\text{C}$ ) (Fig. 6). Posteriormente se centrifugó la solución a 1500 rpm durante 30 min, para obtener un precipitado de hidróxido de cobalto. Se lavó 3 veces con agua destilada y etanol y finalmente el precipitado se dejó secar a  $80^\circ\text{C}$  durante 5 h.

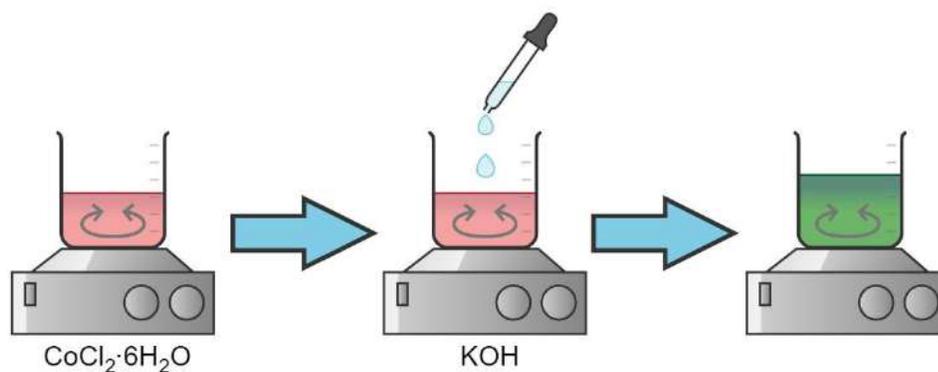


Fig. 6 Esquema de la primera parte de la síntesis de óxido de cobalto por medio de coprecipitación.

En la Fig. 7 se muestra una fotografía del polvo obtenido a partir de la síntesis antes descrita.



Fig. 7 Polvos obtenidos de la síntesis por coprecipitación de las NP's  $\text{Co}_3\text{O}_4$ .

### 2.2.2. Síntesis de aerogeles de cobalto.

El procedimiento de síntesis de los aerogeles utilizados fue el desarrollado por Martínez-Lazaro et al., 2022 (Fig. 8). Los aerogeles de Co-TM se sintetizaron mediante la adición de 20 mL de una solución de 2 mg mL<sup>-1</sup> de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich) y la sal con MT de acuerdo a cada aerogel,  $\text{PdCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich),  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich), (relación volumen 4:1), que se redujo en una solución de carbonato de sodio (JT. Baker R) y ácido glioxílico monohidrato (Sigma-Aldrich) (relación volumen 6:1) en agua desionizada. La fuente de calor utilizada fue el calentamiento por microondas (MW) y la temperatura se fijó en 67 °C y se controló introduciendo un

termopar, conectado con un controlador PID, en la mezcla de precursores. El tiempo de síntesis para la formación de nanopartículas (NPs) y el proceso de gelificación se fijó en 7 horas a presión atmosférica, dentro de un sistema cerrado. En la Fig. 9 se muestran los aerogeles empleados.

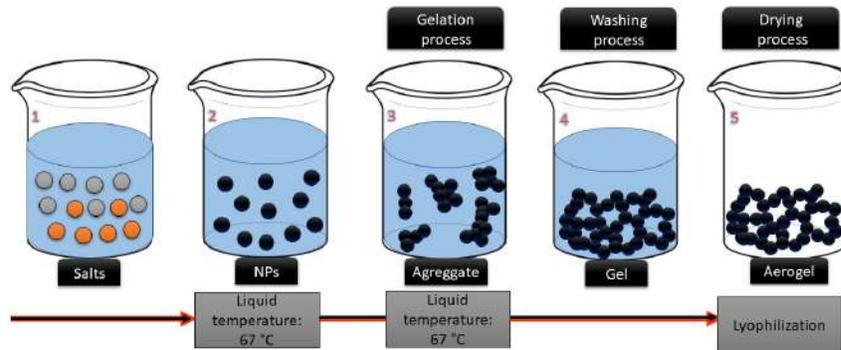


Fig. 8 Procedimiento de obtención de aerogeles mediante la metodología sol-gel (Martinez-Lazaro et al., 2022).



Fig. 9 Aerogeles de Co, Co-Ni y Co-Pd utilizados.

### 2.3. Caracterización fisicoquímica.

#### 2.3.1. *Difracción de Rayos X (XRD).*

Cuando una fuente de rayos X es difundida por el entorno ordenado de un cristal, hay interferencias tanto constructivas como destructivas entre los rayos dispersados porque las distancias entre los centros de difusión son del mismo orden de magnitud que la longitud de la radiación dando como resultado la difracción. La difracción de rayos X proporciona un medio adecuado y práctico para la identificación cualitativa de compuestos cristalinos y puesto que cada sustancia cristalina presenta un patrón de difracción único, los métodos de rayos X de polvo cristalino son los adecuados para la identificación cualitativa (Skoog, 2008).

#### 2.3.2. *Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).*

Para obtener una imagen por microscopía electrónica de barrido, se enfoca un haz de electrones muy fino sobre la superficie de la muestra sólida. Con instrumentos análogos, el haz de electrones se pasa por la muestra en un barrido de trama mediante bobinas de barrido. Para el patrón de barrido el haz de electrones 1) barre la superficie en línea recta en la dirección x, 2) vuelve a la posición inicial y 3) se desplaza hacia abajo en la dirección y un incremento estándar. El proceso se repite hasta que el área deseada de la superficie ha sido barrida (Skoog, 2008).

#### 2.3.3. *Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS).*

En la espectroscopia fotoelectrónica de rayos X se registra la energía cinética de los elementos emitidos, Por consiguiente, el espectro es una gráfica de la cantidad de electrones emitidos o de la potencia del haz de electrones en función de la energía (o de la frecuencia o de la longitud de onda) de los electrones emitidos. Esta técnica proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la composición elemental de la materia, en particular de superficies de sólidos además a menudo proporciona información estructural de gran utilidad (Skoog, 2008).

#### 2.4. Caracterización electroquímica.

Se realizaron las pruebas electroquímicas con un potenciostato/galvanostato Epsilon BASi, se utilizó un sistema de tres electrodos: Ag/AgCl como electrodo de referencia (RE), grafito como contraelectrodo (CE) y como electrodo de trabajo (WE) se emplearon electrodos de carbón vítreo (GCE). La celda empleada se muestra en la Fig. 10.

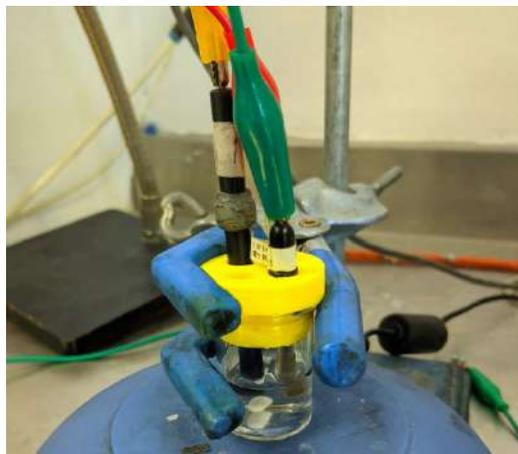


Fig. 10 Arreglo de 3 electrodos empleado para las pruebas electroquímicas.

##### 2.4.1. Preparación de tintas electrocatalíticas.

Se realizaron tintas utilizando dos disoluciones; la primera fue la disolución de la enzima urato oxidasa de *Candida sp.* (Sigma-Aldrich) en Buffer TRIS- HCl pH 8.8, etanol y glutaraldehído, la disolución se sonó entre la adición de cada reactivo y se agitó. Para la segunda disolución se utilizó catalizador (nanoestructuras de cobalto), agua desionizada, el ionómero Nafion® (Sigma-Aldrich) y de igual forma se sonó entre cada adición y al final se agregó la disolución del catalizador en la disolución de la enzima, al último se sonó la tinta por 30 min.

Así mismo se prepararon tintas utilizando diferentes catalizadores (aerogeles de Co, Ni-Co, Pd-Co y nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4$ ), para las pruebas se utilizaron tintas con y sin enzima como blancos realizando las pruebas juntando la tinta de la enzima y sin unirla.

2.4.2. *Voltamperometrías cíclicas.*

Se realizaron primero voltamperometrías cíclicas a las tintas compuestas solo por nanoestructuras de cobalto sin enzima para conocer la capacidad catalítica de estos materiales en la oxidación de ácido úrico, para ellos se evaluaron en media celda en PBS pH 7.4 y 5.6, se depositó 10 $\mu$ L de tinta en cada GCE y se dejaron secar por 24 h, utilizando una ventana de potencial de -0.2 a 0.65 V, a una velocidad de barrido de 10mVs<sup>-1</sup>, realizando pruebas con las concentraciones 0 y 500  $\mu$ M de AU. Posteriormente se evaluaron las tintas enzimáticas con los nanomateriales y se compararon blancos de enzima y material catalizador.

2.4.3. *Amperometrías.*

Las amperometrías se trabajaron con el arreglo de electrodos ya mencionado, en media celda, en electrolitos de PBS pH 7.4 y 5.6, adicionando las concentraciones de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 250, 400 y 500  $\mu$ M, estas pruebas se realizaron en estático. Se repitieron las pruebas ahora en agitación las mismas adiciones con las mismas adiciones (0 a 500  $\mu$ M), por triplicado para todas las tintas, entre cada adición se esperó que la corriente se estabilizara para continuar las adiciones.

**Michaelis Menten.**

Con las curvas de calibración de cada material se calcularon las constantes de Michaelis-Menten (Km), que nos describe la relación entre la velocidad inicial de la reacción y la concentración del sustrato bajo las condiciones de estado estacionario. El método para determinar los valores de V<sub>máx</sub> y Km fue el de Lineweaver-Burk que utiliza la forma recíproca de la ecuación de Michaelis-Menten:

$$\frac{1}{v} = \left( \frac{Km}{V_{máx}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}}$$

Donde:

$V_{máx}$  = *Velocidad máxima que puede alcanzar la reacción.*

$[S]$  = *Sustrado*

$K_m = \text{Constante de Michaelis – Menten}$

Esta ecuación lineal que se obtuvo con los recíprocos de las corrientes y las concentraciones de AU.

### **Límites de detección y cuantificación.**

Se calcularon los límites de detección y cuantificación a cada una de las tintas evaluadas a partir de las siguientes ecuaciones:

$$LOD = \frac{3\sigma_B}{b}$$

$$LOQ = \frac{10\sigma_B}{b}$$

$\sigma_B = \text{Desviación estándar}$

$b = \text{Pendiente de curva de calibración}$

$LOD = \text{Límite de detección}$

$LOQ = \text{Límite de cuantificación}$

Los resultados se presentan a continuación en la Tabla 9 Valores de  $V_{\text{máx}}$ ,  $K_m$ , LOD y LOQ de las tintas electrocatalíticas obtenidas a partir de las curvas de calibración en PBS pH 7.4 y 5.6. Tabla 9.

#### 2.4.4. Pruebas de estabilidad.

De acuerdo con los resultados de las pruebas electroquímicas de cada tinta, se realizaron pruebas de estabilidad a las tintas que usaban Ni-Co/UOx y Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx, como catalizadores, todas en PBS pH 7.4., todas las pruebas se realizaron por triplicado. Se hicieron amperometrías para evaluar las concentraciones de AU y el comportamiento de la corriente a lo largo de 3 pruebas continuas, para lo cual, entre cada una se hizo un ligero lavado del electrodo con agua desionizada y se dejó secar el electrodo aproximadamente 15min.

Posteriormente se realizaron los análisis necesarios para comparar las amperometrías de los electrodos al 1er, 3er y 10mo día posteriores al depósito, al finalizar cada prueba se hizo un pequeño lavado con agua desionizada para remover cualquier resto de AU.

Finalmente se realizaron cronoamperometrías para medir la estabilidad en la corriente con las concentraciones de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 100, 200, 300, 350, 400, 500  $\mu\text{M}$ , entre cada adición se hizo una breve agitación de 10s para luego detenerla y correr la prueba por 3 min.

#### 2.4.5. Prueba de interferentes.

Para las pruebas de interferencia se realizaron amperometrías con pruebas a media celda en PBS pH 7.4 empleando: ácido ascórbico, glucosa, urea y ácido láctico, para lo cual se consideraron las concentraciones presentes en la sangre mostradas en la Tabla 4. Se realizaron las pruebas de interferencia a las tintas de Ni-Co/UOx y Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

Tabla 4 Concentración de sustancias interferentes con el sensor.

<b>Interferente</b>	<b>Concentración en sangre</b>	<b>Concentración utilizada</b>	<b>Referencia</b>
<b>Ac. Úrico</b>	90 - 420 $\mu\text{M}$	200 $\mu\text{M}$	Maiuolo et al., 2016
<b>Ac. Ascórbico</b>	45 - 118 $\mu\text{M}$	60 $\mu\text{M}$	Evans et al., 1982
<b>Glucosa</b>	1.4 - 6.2 mM	6 mM	Güemes et al., 2016
<b>Urea</b>	1.7 - 8.3 mM	6 mM	Eggenstein et al., 1999
<b>Ac. Láctico</b>	1.6 - 3.0 mM	2 mM	Sakharov et al., 2010

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Caracterización de nanoestructuras de cobalto.

##### 3.1.1. Caracterización fisicoquímica.

##### Análisis difracción de rayos X (XRD).

Se realizó una medición de difracción de rayos X en polvo (XRD) para evaluar la cristalinidad de las muestras de nanoestructuras de  $\text{Co}_3\text{O}_4$ . La Fig. 11 muestra el patrón de XRD del material sintetizado al inicio de la experimentación (luego de 1 año de haber sido sintetizado) (Antes) y en el segundo patrón la muestra de un material sintetizado luego de 2 semanas (Después). En este patrón podemos observar que existen 5 picos de difracción principales en los valores  $2\theta$  de aproximadamente  $36.5^\circ$ ,  $44.4^\circ$ ,  $59.1^\circ$ ,  $64.9^\circ$  y  $77.2^\circ$ , los cuales se les atribuyen a los planos de reflexión (311), (400), (511), (440) y (533) (JCPDS No. 65-3103) (Su et al., 2014), respectivamente. Los 5 planos obtenidos a partir de análisis corresponden a la estructura de espinela de  $\text{Co}_3\text{O}_4$  mismos que observamos en otros análisis como los mostrados por Cardenas-Flechas et al., 2022.

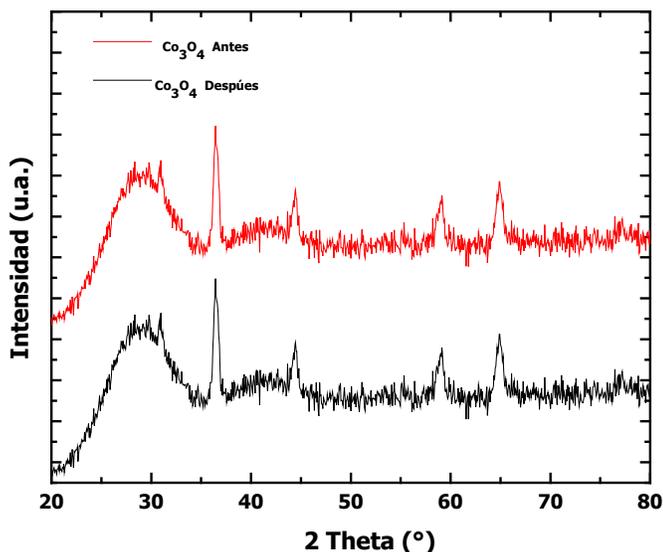


Fig. 11.- Difracción de rayos X de nanoestructuras de  $\text{Co}_3\text{O}_4$

No se observan cambios significativos en el análisis entre difractograma del  $\text{Co}_3\text{O}_4$  antes y después por lo que nos muestra estabilidad en el material, partiendo de la estructura cristalina.

**Análisis de espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS).**

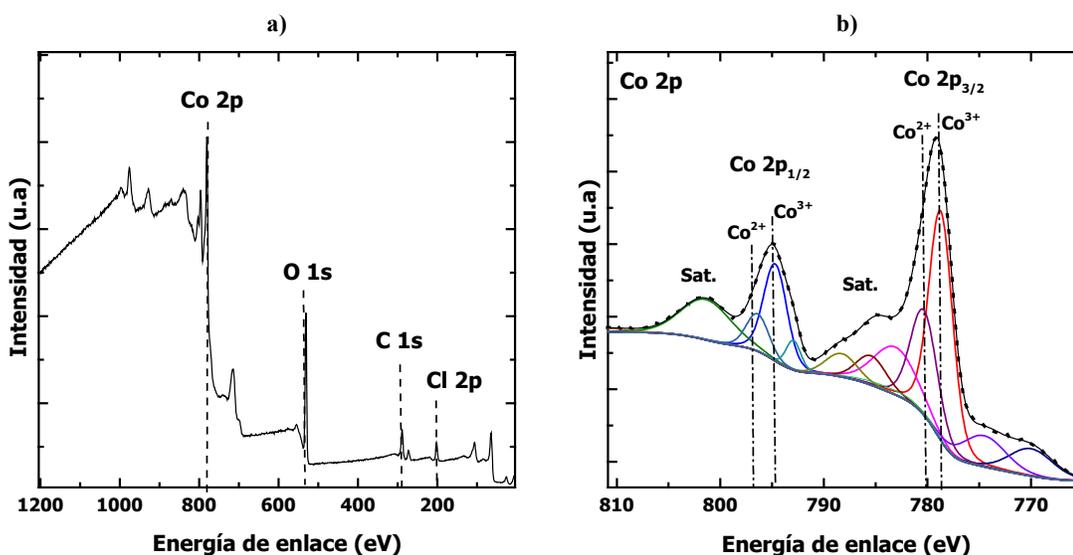


Fig. 12 Análisis por XPS a) análisis general de  $\text{Co}_2\text{O}_3$ , b) análisis elemental de Co 2p de  $\text{Co}_2\text{O}_3$ .

El estado químico superficial del catalizador se analizó mediante espectro XPS. En la Fig. 12a, El espectro del análisis general de XPS muestra que los elementos principales de los catalizadores son C, O, Co y Cl, los cuales son característicos de la síntesis.

Como se muestra en la Fig. 12b, se encontraron picos triples ajustados en el espectro de alta resolución de Co 2p. El pico de Co 2p<sub>3/2</sub> a 781,96 eV y el pico de Co 2p<sub>1/2</sub> a 797,16 eV pertenecen al Co (III), mientras que el pico de Co 2p<sub>1/2</sub> a 801,31 eV y el pico de Co 2p<sub>3/2</sub> a 785,52 eV corresponden a Co (II) (Wu et al., 2023). Además, hay dos picos satélites ubicados en 802,8 y 785,8 eV, verificando aún más la presencia de Co (II). Los picos de Co se deconvolucionaron para reducir la energía de enlace, lo que demuestra los cambios en el estado electrónico del Co y sugiere que el Co tendrá una energía de activación más baja para la reacción química. La relación Co (II)/Co (III)

fue de 0,67:1. El diferencial de la relación Co (II)/Co (III) confirma la distribución electrónica reequilibrada durante el proceso de donación-aceptación de electrones.

**Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).**

La morfología de las nanoestructuras de  $\text{Co}_3\text{O}_4$  preparadas se caracterizó por micrografía SEM mostrada en la Fig. 13.

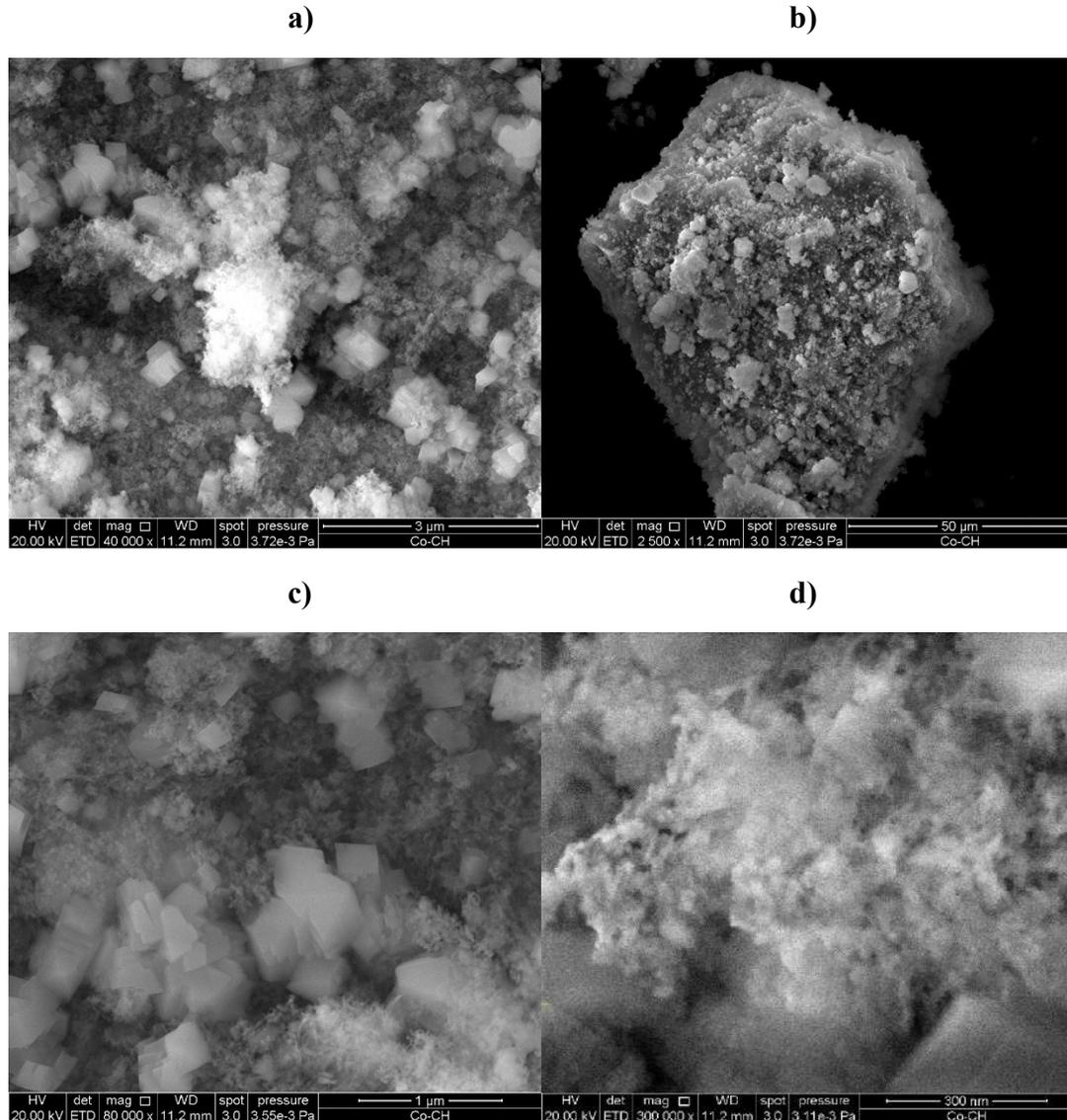


Fig. 13 Imagen SEM del  $\text{Co}_3\text{O}_4$  a) 3 μm, b) 50 μm, c) 1 μm, d) 300nm.

El análisis se realizó en diferentes zonas para la caracterización morfológica de las nanoestructuras de Co. En las muestras a) y c) podemos observar estructuras en forma

de láminas irregulares mayormente cuadradas, rodeadas de una red porosa tridimensional a) y d), que puede deberse al material que no se terminó de formar como en algunos estudios en donde sintetizaron nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4$  (Karuppiah et al., 2021).

El tamaño de la arista de las hojuelas cuadradas tuvo mayor frecuencia entre los 154 y 250 nm, obteniendo una mayor acumulación con tamaño de 249nm. En la imagen b) podemos observar un aglomerado del polvo  $\text{Co}_3\text{O}_4$ . Se observa además que en algunas zonas que componen el material las estructuras no son homogéneas y se encuentran aglomeradas.

### 3.1.2. Caracterización electroquímica.

En la Fig. 14 se muestran las voltamperometrías cíclicas de las tintas de los aerogeles de a) Co, b) Ni-Co, c) Pd-Co y d) nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , en una ventana de potencial de -0.2 y 0.65 V, para estas tintas, al agregar una alícuota de 500  $\mu\text{M}$  de AU no se observa un pico de oxidación característico.

La voltamperometría cíclica del aerogel de Pd-Co (c)) muestra el perfil electroquímico del material donde se puede observar la reducción óxido de Pd (II) (Martínez-Lázaro et al., 2022), pero como en los materiales anteriores no se observa una respuesta electroquímica en presencia del analito.

En el caso de las nanopartículas de óxido de cobalto en la figura el perfil electroquímico observa un pico de oxidación aproximadamente en 0.4V (vs Ag/AgCl).

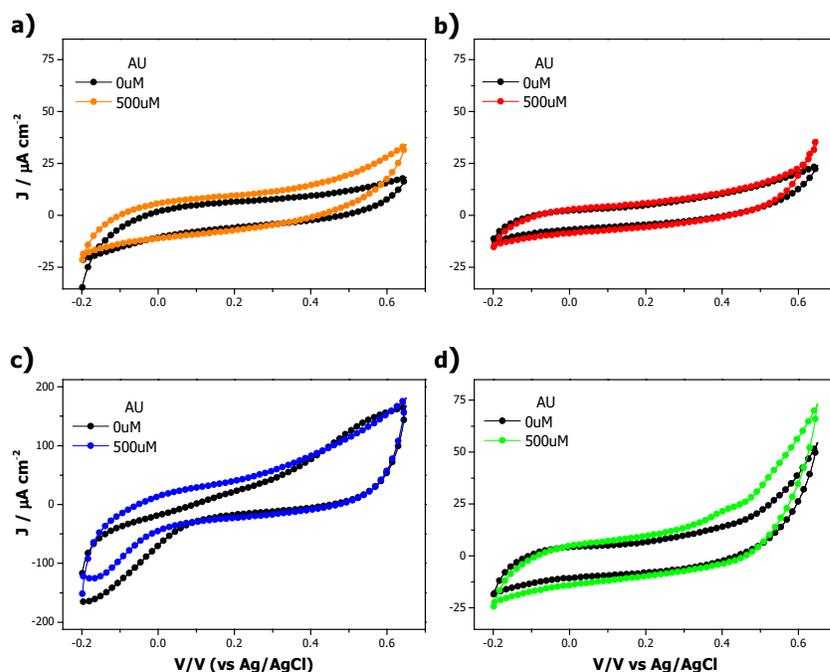


Fig. 14 Voltamperometrías cíclicas con adición 500  $\mu\text{M}$  de AU a **a)** aerogel de Co, **b)** aerogel Ni-Co, **c)** aerogel Pd-Co y **d)** nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , en GCE vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 a  $10 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 3.2. Caracterización electroquímica a tintas enzimáticas.

Las Fig. 15 y Fig. 16 muestran la comparación entre las tintas de la enzima inmovilizada en las diferentes nanoestructuras de cobalto utilizadas, para evaluar su comportamiento electroquímico utilizando una concentración de  $500 \mu\text{M}$  de ácido úrico. En la Fig. 15 se muestran las pruebas con PBS pH 7.4 y la Fig. 16 en PBS pH 5.6, se eligen estos pH debido a que son los encontrados en fluidos biológicos, específicamente en sangre y sudor.

Las tintas en el PBS pH 7.4 muestran el comportamiento electroquímico de la enzima inmovilizada en cada una de ellas, se puede observar que las nanoestructuras de cobalto potencian la actividad respecto a la generada por la enzima pura mostrando el inicio del pico de oxidación del peróxido generado en 0.5V con una densidad de corriente máxima de  $22.4 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

Se encontró que la tinta que tiene un menor potencial de oxidación es la de Pd-Co/UOx en aproximadamente 0.31 V con 34.6  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , seguida de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$  con 0.37 V (36.4  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ), aerogel de Co 0.45 V (18.0  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ), aerogel Ni-Co con 0.47 V (51.2  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) y finalmente la UOx con 0.5 V (22.3  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ), mostrando que todas las nanoestructuras disminuyen en menor o mayor medida el potencial de oxidación. Además, se observó que el proceso oxido-reducción se encuentra en el mismo potencial. Con respecto a la densidad de corriente, se encontró que el material con mayor intensidad es el Ni-Co/UOx con el punto máximo en aproximadamente 51.2  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , muy distanciada de la siguiente tinta con 36.4  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  correspondiente al  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ .

En la Tabla 5 se muestra la densidad de corriente de todas las tintas en 0.3 V, así como el potencial de inicio de la oxidación de cada tinta.

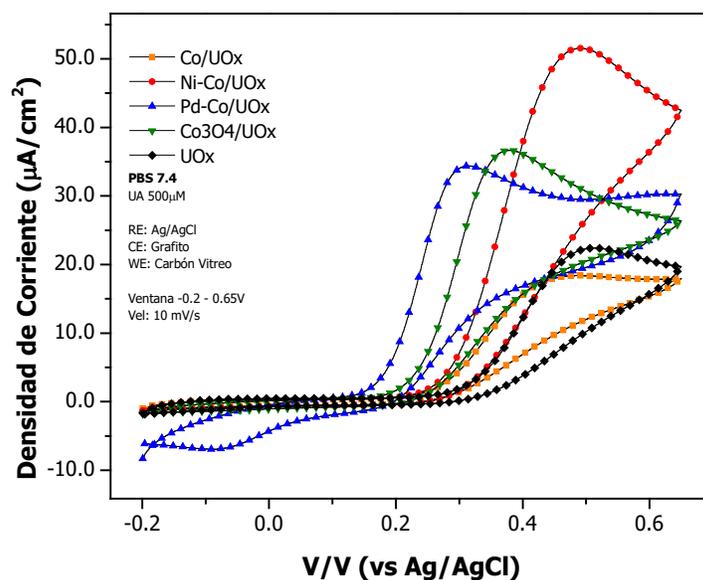


Fig. 15 Voltamperometría cíclica en GCE de aerogeles de Co, Ni y Pd, nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4$  con UOx y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 a  $10 \text{ mVs}^{-1}$  con  $500\mu\text{M}$  de AU.

Tabla 5 Potenciales de oxidación y densidad de corriente de tintas de nanoestructuras de cobalto y UOx en PBS pH 7.4.

Potenciales de oxidación de tintas en pH 7.4		
Material	$E_{\text{ox}}(\text{V})$	$I(\mu\text{A}/\text{cm}^2)$
UOx	0.50	22.3

<b>Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx</b>	0.37	36.4
<b>Aerogel Co/UOx</b>	0.45	18.0
<b>Aerogel Ni-Co/UOx</b>	0.47	51.2
<b>Aerogel Pd-Co/UOx</b>	0.31	34.6

Para la segunda comparación, en PBS pH 5.6, no se presenta gran diferencia en el potencial de oxidación entre las tintas como se muestra en la Tabla 6, los potenciales rondaron entre 0.32 y 0.37 V, sin embargo, la tinta basada en Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx en comparación con las demás tintas tiene mayor corriente la tinta de óxido de cobalto en una magnitud cercana a 15.0  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , tomando como referencia el potencial a 0.34 V.

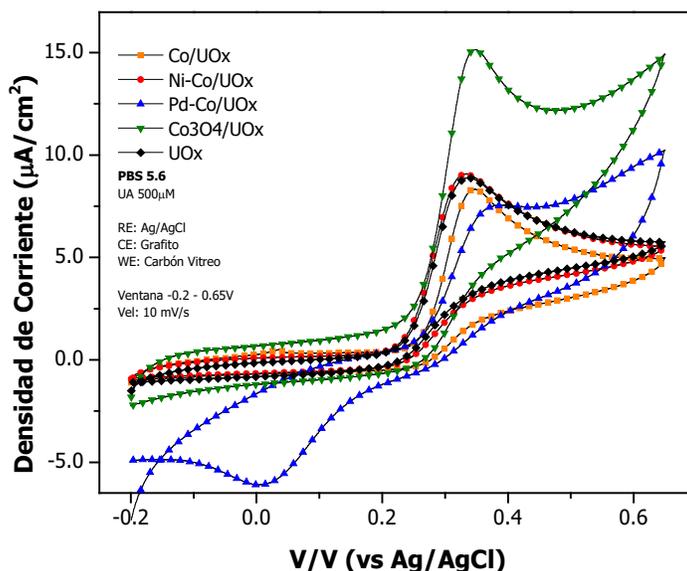


Fig. 16 Voltamperometría cíclica en GCE de aerogel de Co, Ni y Pd, nanopartículas de Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 10  $\text{mVs}^{-1}$  con 500 $\mu\text{M}$  de AU.

Se muestra una clara diferencia en los potenciales de oxidación de peróxido generado entre los PBS pH 7.4 y 5.6, en este último los materiales no disminuyen el potencial de oxidación en comparación de la tinta de UOx pura, además las densidades de corriente caen hasta un 90% como en la tinta de Pd-Co en comparación del PBS pH 7.4.

Tabla 6 Potenciales de oxidación y densidad de corriente de tintas de nanoestructuras de cobalto y UOx en PBS pH 5.6.

Potenciales de oxidación de tintas en pH 5.6		
Material	E <sub>ox</sub> (V)	I (μA/cm <sup>2</sup> )
UOx	0.33	8.9
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /UOx	0.34	15.0
Aerogel Co/UOx	0.34	8.3
Aerogel Ni-Co/UOx	0.33	9.1
Aerogel Pd-Co/UOx	0.37	7.6

3.2.1. Amperometrías.

La Fig. 17 muestra las amperometrías escalonadas del Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx (a) y Co/UOx (b) respectivamente en PBS pH 7.4, con adiciones de AU de 0 a 500 μM sin agitación en 0.3 V, en donde se puede observar que existe un aumento en la corriente respecto a la concentración de AU, sin embargo, no se observa que se alcance una estabilidad en la corriente posterior al aumentar la concentración de AU y en algunos casos se observan aumentos con mucha inestabilidad como en el aerogel de Co, esto posiblemente porque no se tiene una disolución homogénea del ácido úrico en la solución, debido a la falta de agitación después de agregar la alícuota de AU. Las amperometrías se hicieron con todos los materiales y se observó un comportamiento similar.

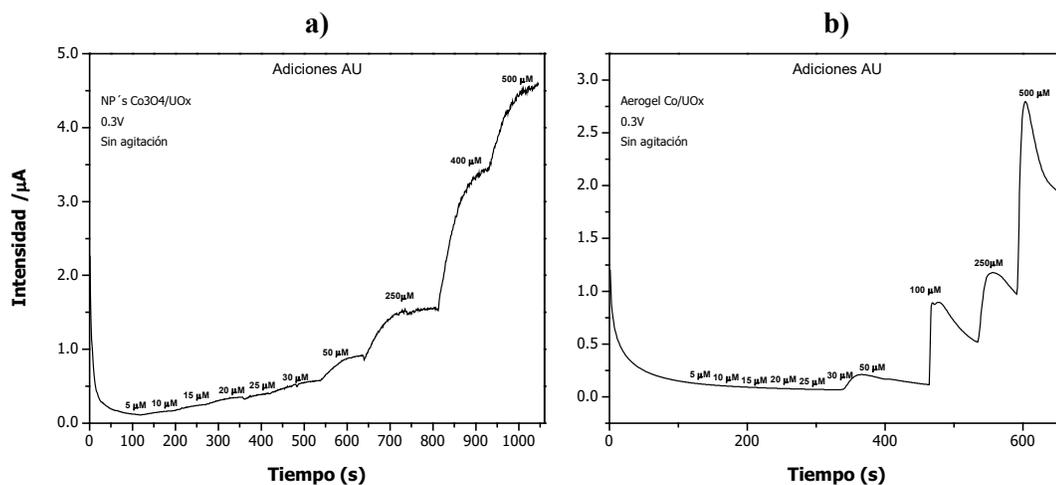


Fig. 17 DCPA a 0.3V en GCE de **a)** Nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ , **b)**  $\text{Co}/\text{UOx}$ ; vs  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  en PBS pH 7.4 con adiciones AU en estático.

Posteriormente se realizaron pruebas en agitación de igual forma en 0.3 V para corroborar la promoción electrónica por efecto de difusión en la solución, estos resultados se observan en las Fig. 18 y Fig. 19, en estas los materiales muestran una excelente estabilidad durante todas las adiciones de AU, así como una buena actividad electroquímica desde la primera adición. Este comportamiento se repitió en todos los materiales.

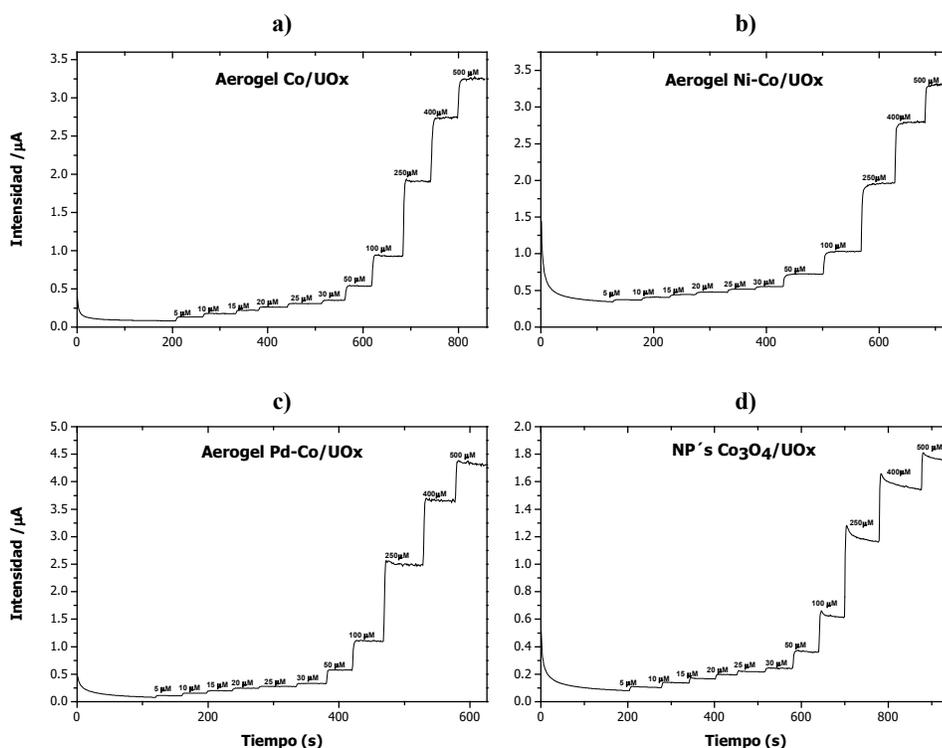


Fig. 18 DCPA a 0.3V en GCE de **a)** Aerogel  $\text{Co}/\text{UOx}$ , **b)** Aerogel  $\text{Ni-Co}/\text{UOx}$ , **c)** Aerogel  $\text{Pd-Co}/\text{UOx}$  y **d)** Nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ ; en PBS pH 7.4 con adiciones AU en agitación.

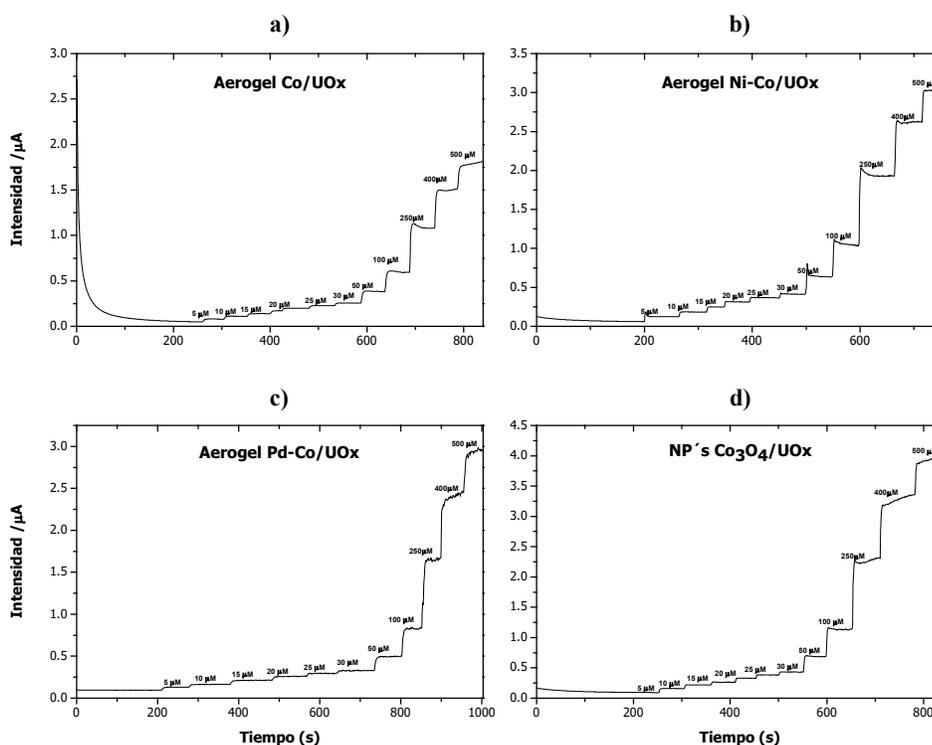


Fig. 19 DCPA a 0.3V en GCE de **a)** Aerogel Co/UOx, **b)** Aerogel Ni-Co/UOx, **c)** Aerogel Pd-Co/UOx y **d)** Nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ ; en PBS pH 5.6 con adiciones AU en agitación.

Se realizó un análisis estadístico para determinar las curvas de calibración mostradas en las Fig. 20 y Fig. 21 utilizando los resultados obtenidos en pruebas por triplicado de los materiales. En ellas se puede observar que los materiales caracterizados presentan distintos comportamientos con respecto al rango lineal y pendiente, mismos que se muestran en las Tablas Tabla 7 y Tabla 8. Los resultados muestran que la corriente (variable dependiente  $y$ ) generada por la interacción electroquímica aumenta de forma continua respecto al aumento de la concentración de AU (variable independiente  $x$  o predictor) en el electrolito, pero algunos materiales mostraron un grado de saturación a altas concentraciones, perdiendo la linealidad con respecto a las bajas concentraciones.

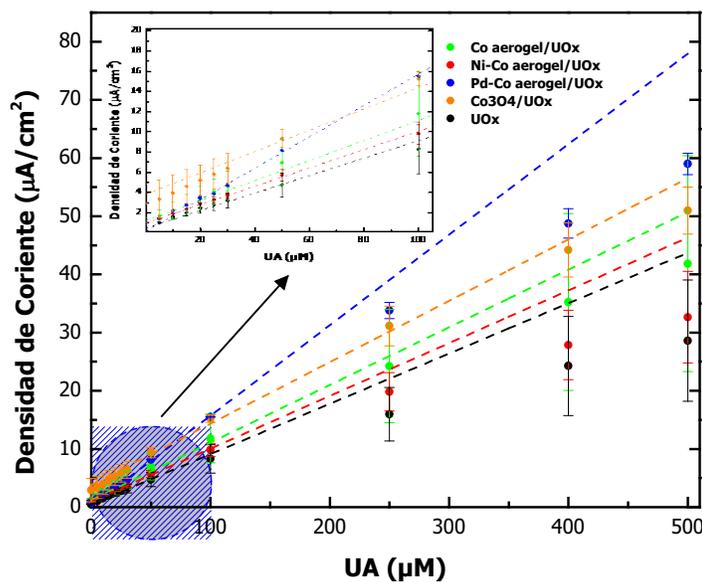


Fig. 20 Curvas de calibración obtenidas de las amperometrías (x3) a los aerogeles de Co/UOx, Ni-Co/UOx y Pd-Co/UOx, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con diferentes concentraciones de AU.

A continuación, se muestran las tablas con la ecuación de la recta, la R<sup>2</sup> y el rango lineal de cada material en ambos buffers, Tabla 7 para el PBS pH 7.4 y Tabla 8 para PBS pH 5.6.

Tabla 7 Ecuación de la recta y coeficiente de determinación de las curvas de calibración obtenidas en PBS pH 7.4

Material	Ecuación	R <sup>2</sup>	R. Lineal (µM)
Aerogel Co/UOx	$y = 0.0073x + 0.0839$	0.98	0 - 400
Aerogel Ni-Co/UOx	$y = 0.0066x + 0.0688$	0.99	0 - 250
Aerogel Pd-Co/UOx	$y = 0.0110x + 0.011$	0.99	0 - 250
NP's Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /UOx	$y = 0.0074x + 0.2710$	0.98	0 - 500
UOx	$y = 0.0069x + 0.0338$	0.98	0 - 100

En el gráfico de la Fig. 20 se puede observar que la tinta basada en Pd-Co/UOx tiene mejor desempeño respecto a las demás tintas al tener una densidad de corriente más elevada (59.0 µA/cm<sup>2</sup> a 500µM AU) especialmente a mayores concentraciones además de una mejor sensibilidad (11.0 µA·mM<sup>-1</sup>), aunque se observa que pierde el

comportamiento lineal, mostrando a concentraciones mayores a 100  $\mu\text{M}$  otra pendiente con respecto a las bajas concentraciones. Las nanoestructuras de  $\text{Co}_3\text{O}_4$  con enzima presenta la mejor sensibilidad después del Pd-Co/UOx con  $7.4 \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$  y presenta un mejor rango lineal, manteniéndose hasta los 500  $\mu\text{M}$  en este buffer.

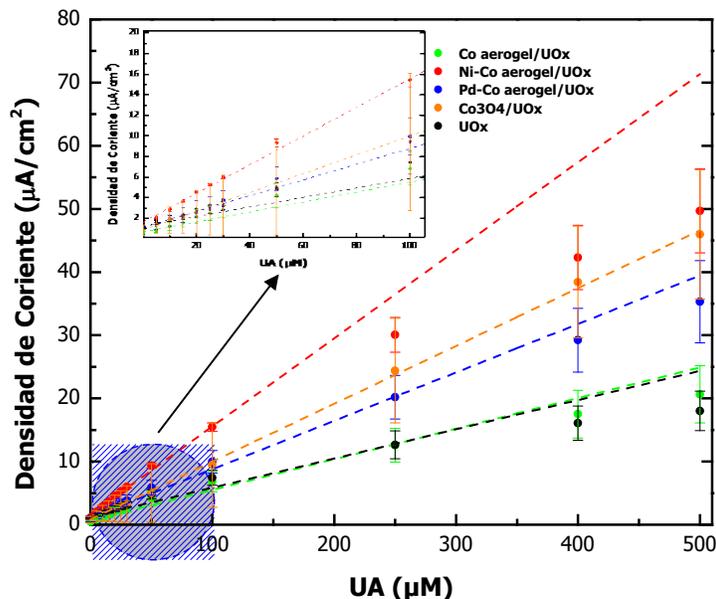


Fig. 21 Curvas de calibración obtenidas de las amperometrías escalonadas (x3) de los aerogeles de Co/UOx, Ni-Co/UOx y Pd-Co/UOx, nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$  y UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 con adiciones de AU.

Partiendo de la Fig. 21 se observa que para el PBS pH 5.6 el comportamiento de las tintas electrocatalíticas se modifica respecto a las utilizadas en pH 7.4, empezando porque la magnitud de la densidad de corriente disminuye en todas las tintas, tomando como referencia la tinta de Pd-Co/UOx, que fue la de mayor corriente, en esta prueba la corriente disminuyó en un 60% (respecto a la corriente obtenida en la concentración de 500  $\mu\text{M}$ ).

Para esta comparación la tinta con mejor comportamiento tanto a bajas (0-100  $\mu\text{M}$ ) como a altas concentraciones (hasta 500  $\mu\text{M}$ ) es la basada en Ni-Co/UOx con una mayor densidad de corriente de  $49.7 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (500  $\mu\text{M}$  AU) y una elevada sensibilidad en comparación con las demás tintas de  $10.9 \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$ , aunque muestra un rango lineal hasta 100  $\mu\text{M}$ , en comparación del  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ , que tiene un desempeño ligeramente

menor al del aerogel con una densidad de corriente máxima de  $46.0 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  y sensibilidad de  $6.5 \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$ , sin embargo, se sigue manteniendo el comportamiento lineal hasta las altas concentraciones de AU.

Tabla 8 Ecuación de la recta y coeficiente de determinación de las curvas de calibración obtenidas en PBS pH 5.6

Material	Ecuación	R <sup>2</sup>	R. Lineal (μM)
Aerogel Co/UOx	$y = 0.005x + 0.0364$	0.98	0 - 100
Aerogel Ni-Co/UOx	$y = 0.0109x + 0.0948$	0.99	0 - 100
Aerogel Pd-Co/UOx	$y = 0.0056x + 0.1509$	0.98	0 - 400
NP's Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /UOx	$y = 0.0065x + 0.0596$	0.99	0 - 500
UOx	$y = 0.0051x + 0.0755$	0.97	0 -100

En la Tabla 9 se muestran los valores de las características de los materiales sensores para AU observadas en las tintas con la Km, S, LOD y LOQ. Resalta que la tinta con mayor afinidad con el analito de acuerdo con la constante Km calculada en PBS de pH 7.4 es la de Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx y en PBS pH 5.6 es la UOx pura. De las nanoestructuras con enzima el Aerogel de Co presenta el LOD más bajo con  $4.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$  en PBS pH 7.4 y la tinta de Ni-Co/UOx con  $4.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$  para el buffer más ácido. En ambos buffers, se destaca que las nanoestructuras de Co, en la mayoría de las situaciones, mejoran la actividad electroquímica de la enzima.

Se encuentra que la tinta del aerogel Ni-Co/UOx en ambos buffers presenta buenas características en cuanto a la cuantificación de AU, por medio de sus LOD y LOQ además de una excelente sensibilidad especialmente en un pH ácido. Se observa que las nanoestructuras de óxido de cobalto con enzima en comparación con los aerogeles desempeño un mejor comportamiento tanto a altas como bajas concentraciones manteniendo el rango lineal mayor (0-500 μM) en ambos buffers sin perder características en el sentido de AU.

Tabla 9 Valores de  $V_{m\acute{a}x}$ ,  $K_m$ , LOD y LOQ de las tintas electrocatalíticas obtenidas a partir de las curvas de calibración en PBS pH 7.4 y 5.6.

Material	Electrolito	$K_m$ ( $\mu M$ )	S ( $\mu A\ mM^{-1}$ )	LOD ( $\mu M$ )	LOQ ( $\mu M$ )	R. Lineal ( $\mu M$ )
NP's $Co_3O_4/UOx$	PBS pH 7.4	20.7	7.4	$56.9 \pm 0.2$	189.6	0 - 500
	PBS pH 5.6	30.9	6.5	$16.4 \pm 0.5$	54.8	0 - 500
Aerogel Co/UOx	PBS pH 7.4	29.7	7.3	$4.4 \pm 0.2$	14.7	0 - 400
	PBS pH 5.6	30.9	5.0	$8.3 \pm 0.2$	27.8	0 - 100
Aerogel Ni-Co/UOx	PBS pH 7.4	23.8	6.6	$5.6 \pm 0.2$	18.5	0 - 250
	PBS pH 5.6	24.8	10.9	$4.4 \pm 0.2$	14.6	0 - 100
Aerogel Pd-Co/UOx	PBS pH 7.4	43.0	11.0	$5.4 \pm 0.3$	18.0	0 - 250
	PBS pH 5.6	29.3	5.6	$16.4 \pm 0.4$	54.6	0 - 400
UOx	PBS pH 7.4	27.4	6.9	$0.8 \pm 0.02$	2.5	0 - 100
	PBS pH 5.6	10.8	5.1	$4.7 \pm 0.1$	15.6	0 - 100

En la Tabla 10 se comparan las 2 tintas con mejor desempeño ( $Co_3O_4/UOx$  y Ni-Co/UOx) en PBS pH 7.4 y 5.6 con otros sensores enzimáticos y materiales nanoestructurados reportados para la detección de ácido úrico.

Tabla 10 Comparación de nanoestructuras de cobalto y UOx con otros trabajos de sensores electroquímicos para la detección de AU.

Material	Medio	$K_m$ ( $\mu M$ )	LOD ( $\mu M$ )	LOQ ( $\mu M$ )	S ( $\mu A\ mM^{-1}$ )	Rango L. ( $\mu M$ )	Referencia
NP's $Co_3O_4/UOx$	PBS pH 7.4	20.7	$56.9 \pm 0.2$	189.6	7.4	0 - 500	Este trabajo
	PBS pH 5.6	30.9	$16.5 \pm 0.5$	54.8	6.5	0 - 500	Este trabajo
Aerogel Ni-Co/UOx	PBS pH 7.4	23.8	$5.6 \pm 0.2$	18.5	6.6	0 - 250	Este trabajo
	PBS pH 5.6	24,8	$4.4 \pm 0.2$	14.6	10.9	0 - 100	Este trabajo

UOx/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /rGO /Ag/ITO	Suero sanguíneo humano	14.2	5.2	-	7.61	10 - 800	Abdul Majeed Abed Mohammed et al., 2021
UOx/ZnO- QD	Orina	-	22.9	-	4.0	100 - 1000	Ali et al., 2018
UOx/Au-Rgo	Suero sanguíneo humano	51.8	7.3 ± 0.21	-	86.62 ± 0.19	50 - 800	Verma et al., 2019
UOx/ MWCNT /Carboximeti l-celulosa/AU	PBS pH 7.4	0.63mM	2.8	9.3	233	20 - 2700	Fukuda et al., 2020
Polydimethyl siloxane/ polyimide/ PtNPs	PBS pH 7.0	-	0.018	-	156.56	5 - 480	Faruk Hossain & Slaughter, 2021
Chi-Cryogel - Grafeno/Azul Prusia	PBS pH 7.0	0.23 mM	2.5	-	-	2.5 - 400	Jirakunakorn et al., 2020
Nanozima Au-Co NPsNP's/ Carbono nanoporoso	PBS pH 7.4	-	0.023	-	48.4x10 <sup>2</sup>	0.1 - 25	K. Wang et al., 2020
MWCNT- COOH/ Nafion	PBS pH 7.4	-	3.58	-	-	0 - 1600	Z. Li et al., 2023
PEDOT/ Hidrogel PSS	Sudor	-	1.2	-	875	0 - 250	Xu et al., 2021
Estructuras organometálic as hidrofílicas /UOx	Sudor artificial	-	0.34	-	-	2 - 70	Xiao et al., 2022

### 3.2.2. Pruebas de estabilidad.

De acuerdo con las características electroquímicas de cada material, se eligieron las tintas de Ni-Co/UOx y Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx para las pruebas de estabilidad y reproducibilidad, miasmas que se realizaron todas en PBS pH 7.4.

#### Repetibilidad

Las pruebas de reproducibilidad mostradas en la Fig. 22 muestran que existe una caída de corriente considerable de la primera prueba al de la segunda en un 28.1% (tomando como referencia 500  $\mu$ M), esto puede ser por el lavado natural de la tinta que no se pega correctamente al electrodo, esto puede confirmarse si se compara la segunda prueba contra la tercera, en la que prácticamente no existe una caída de corriente.

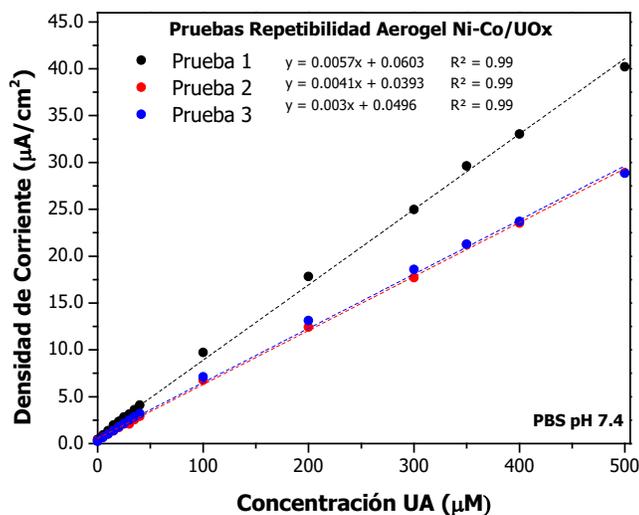


Fig. 22 Prueba de repetibilidad (x3) en GCE de Ni-Co/UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con adiciones de AU.

### Estabilidad

En la Fig. 23 se analiza el comportamiento de las tintas y su actividad a lo largo de 10 días, tomando los días posteriores al depósito de la tinta en el electrodo de GCE, en ésta se observa que en la tinta del primer al tercer día existe una disminución de corriente de aproximadamente 24.7% y del 18.8% entre el tercer y décimo día, lo cual es esperable debido a la estabilidad natural de la enzima al mantenerse a una temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C.

En el caso del  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$  en la Fig. 24 se presenta un comportamiento similar a la prueba anterior, entre el primer y tercer día existe una caída del 41.4% significativamente mayor a la tinta anterior, y entre el tercer y décimo día del 21.4%. Lo cual muestra que existe un menor tiempo de vida para la tinta con este material.

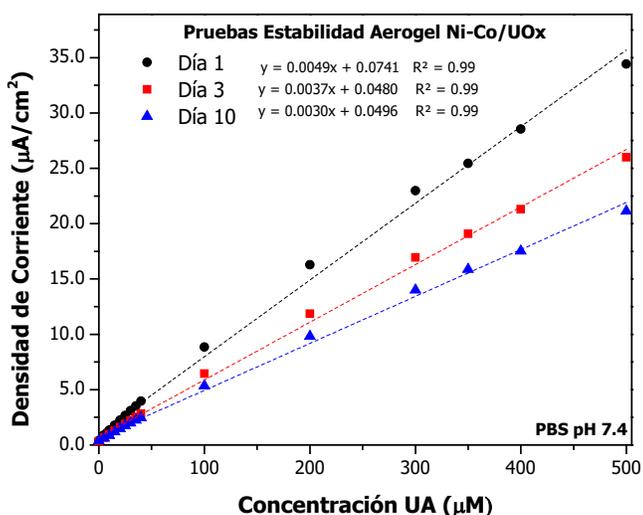


Fig. 23 Prueba de estabilidad de 1, 3 y 10 días (x3) en GCE de Ni-Co/UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con adiciones de AU.

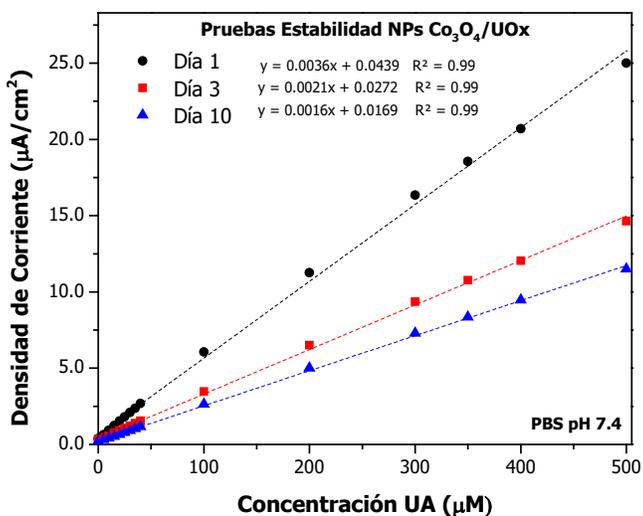


Fig. 24 Prueba de estabilidad de 1, 3 y 10 días (x3) en GCE de Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con adiciones de AU.

### Cronoamperometría

Las cronoamperometrías de la Fig. 25 muestran la estabilidad en la corriente de la tinta de Ni-Co/UOx con cada adición de AU. Durante los primeros 100 s la prueba, se observa una caída de la intensidad de corriente debido a la estabilización del sistema, pero se exhibe un comportamiento constante después de aproximadamente los 120 s. También se muestra que hay un comportamiento lineal entre la concentración evaluada

y la corriente obtenida en cada adición, esto se puede constatar en la Fig. 26 donde en el promedio de los 3 electrodos se observa un comportamiento lineal de la tinta ya no sólo en agitación sino también en estático, lo cual es importante al momento de la detección y cuantificación en condiciones reales.

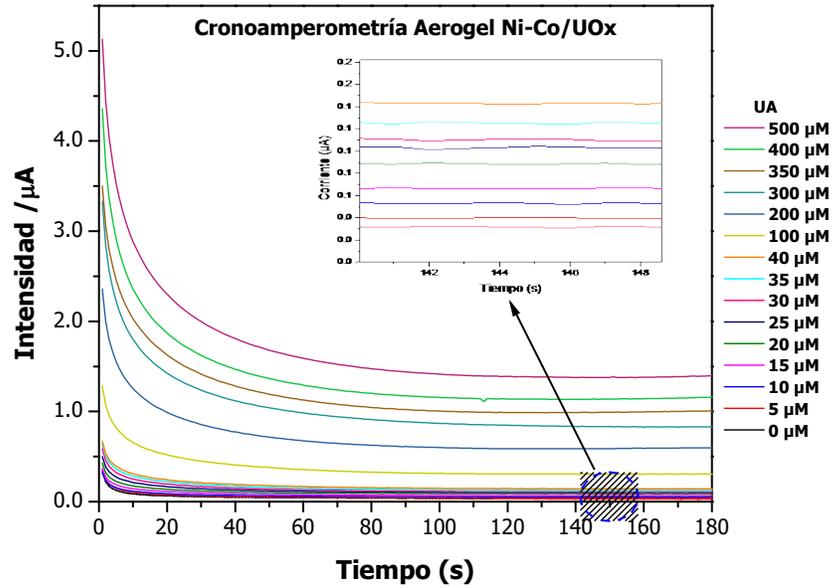


Fig. 25 Cronoamperometría (x3) en GCE de Ni-Co/UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con adiciones de AU.

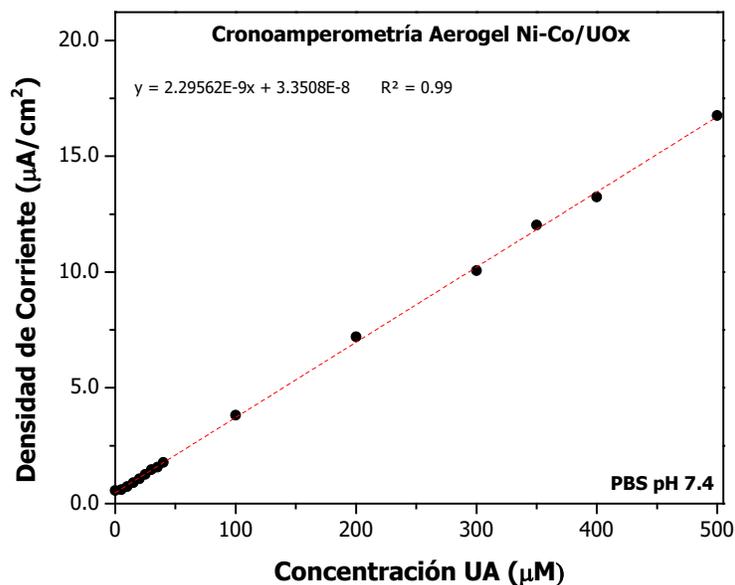


Fig. 26 Curva de calibración de estabilidad con cronoamperometría (x3) en GCE de Ni-Co/UOx vs Ag/AgCl en PBS pH 7.4 con adiciones de AU.

### 3.2.3. Interferentes.

Las pruebas de interferencia realizadas al Ni-Co/UOx y Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx son mostradas en las Fig. 27 y Fig. 29 respectivamente, donde para ambos materiales se observa estabilidad para la mayoría de interferentes como: glucosa (5.8%), urea (7.5%), ácido láctico (1.6%) para la tinta de Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx y con la tina de Ni-Co/UOx se observan 6.8, 8.5 y 2.2% respectivamente, en los cuales el porcentaje de interferencia no rebasó el 10%. Se encontró que existe un aumento de corriente marcado en el ácido ascórbico porque llega a un porcentaje de interferencia de 20% en ambas tintas, esto puede afectar la selectividad del sensor en condiciones reales, pero se necesitan pruebas en fluidos reales o sintéticos para comprobar esto. Los porcentajes de interferencia de ambos materiales se presentan en las Fig. 28 y Fig. 30.

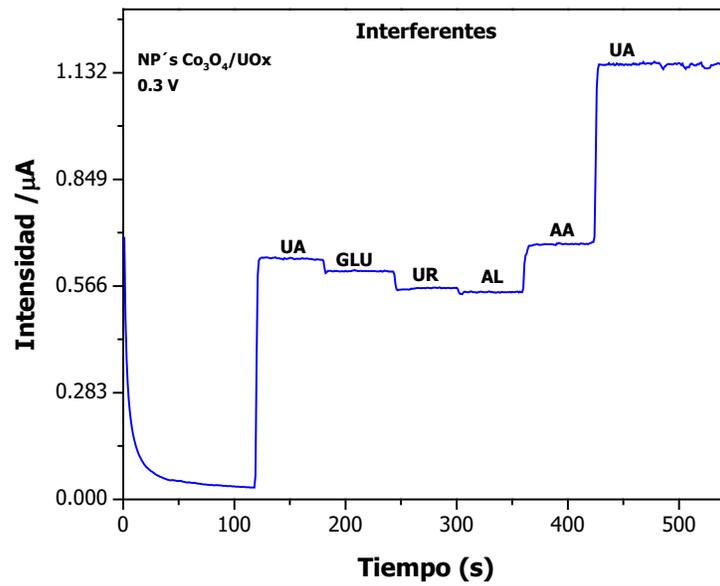


Fig. 27 Prueba de interferentes de nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$  en GCE. Se agregó ácido úrico (UA), glucosa (GLU), urea (UR), ácido láctico (AL) y ácido ascórbico (AA) y para finalizar, de nuevo UA.

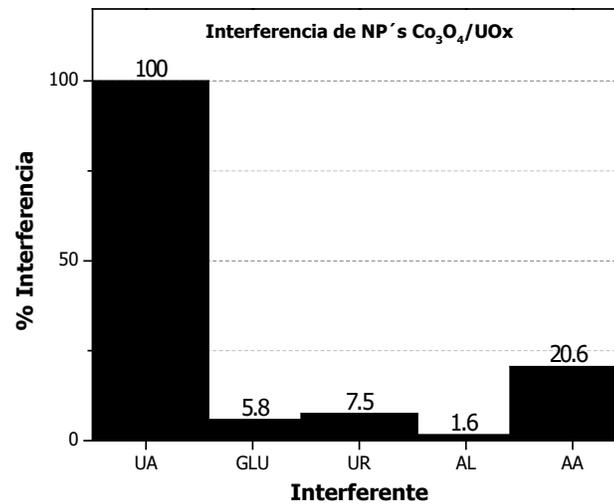


Fig. 28 Porcentaje de interferencia de nanopartículas de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$ .

En cuanto a la interferencia de la medición en el ácido úrico al inicio de la prueba con respecto a la segunda adición de AU en la subida de corriente final, se observa una caída de corriente de 21.8 y 24.6% entre la tinta de Ni-Co/UOx y la de  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UOx}$  respectivamente, lo que deja ver que si existe una disminución en la oxidación que se

puede deber a un bloqueo en los sitios activos o a una interferencia en la oxidación del peróxido.

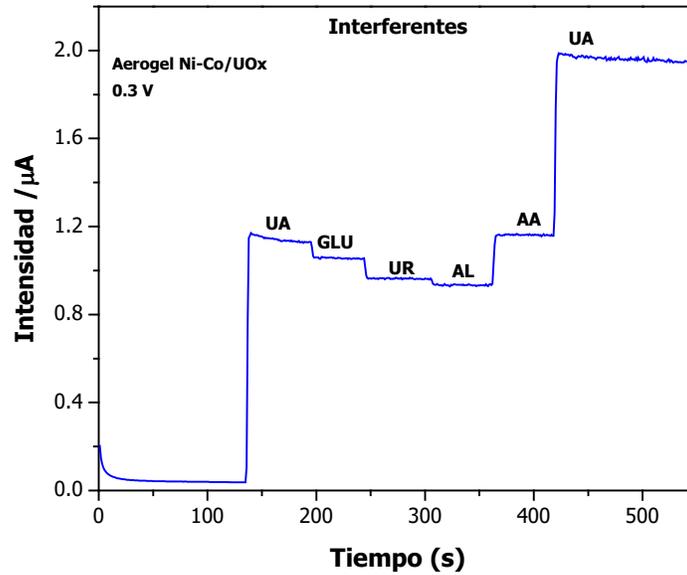


Fig. 29 Prueba de interferentes del aerogel de Ni-Co/UOx en GCE. Se agregó ácido úrico (UA), glucosa (GLU), urea (UR), ácido láctico (AL) y ácido ascórbico (AA) y para finalizar, de nuevo UA.

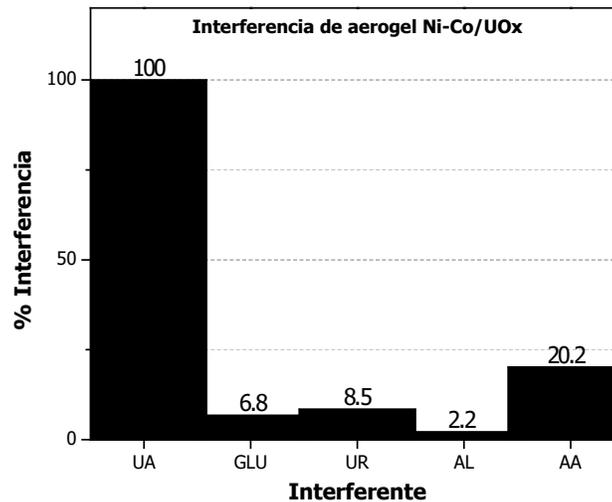


Fig. 30 Porcentaje de interferencia de nanopartículas de Ni-Co/UOx.

#### 4. CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

En este trabajo se sintetizaron nanoestructuras de óxido de cobalto por medio de una técnica de coprecipitación y se caracterizaron de manera fisicoquímica y electroquímica. Estas nanoestructuras se compararon con aerogeles basados en cobalto sintetizados a través de una ruta de sol-gel.

Se evaluaron tintas electrocatalíticas elaboradas a partir de nanoestructuras de cobalto en conjunción con la enzima urato oxidasa, estas tintas mostraron una reducción en el potencial de oxidación y un aumento de corriente oxidación, así como una excelente linealidad para la identificación y cuantificación de ácido úrico en comparación con la tinta producidas únicamente de enzima urato oxidasa para el PBS pH 7.4.

El rango lineal y límites de detección de las tintas son los adecuados para su uso en la detección y cuantificación de ácido úrico en concentraciones similares a las reportadas en fluidos como sudor, sangre y lágrimas.

La tinta de Pd-Co/UOx mostró un mejor comportamiento electrocatalítico en el PBS pH 7.4 mostrando una alta sensibilidad con respecto a las demás tintas y mayores corrientes como se mostró en las curvas de calibración con ácido úrico, así mismo las tintas óxido de cobalto con enzima y el aerogel Ni-Co/UOx se encontraron con el mejor comportamiento en el buffer con pH más ácido, especialmente a bajas concentraciones con una alta sensibilidad.

Las tintas de Ni-Co/UOx y Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/UOx se evaluaron con pruebas de estabilidad e interferentes encontrando que pierden corriente después un primer uso, las pruebas de estabilidad en cuanto al tiempo de vida del sensor, muestran una caída considerable del 40% aproximadamente desde el día 3 en que se evalúan, afectando el tiempo la vida del sensor. En las pruebas de interferentes se registran bajas corrientes para la mayoría de analitos, no así con el ácido ascórbico que muestra un porcentaje de interferencia considerable afectando la selectividad del sensor.

Durante el desarrollo de esta tesis se realizó la presentación de 2 posters científicos, uno en el “Coloquio de Posgrado de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro” cuya constancia se encuentra en el Anexo 1 así como la constancia de participación en la “10ma Semana de las Ciencia de la Facultad de Ingeniería del Campus Aeropuerto” en la categoría de cartel científico y la participación en el programa fomento a las vocaciones científicas en el programa “Chavas en la ciencia UAQ 2024”. En el Anexo 2 se adjuntan las participaciones en congresos y eventos científicos como el “Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Membranas” y “Simposium de Ciencia y tecnología de biosensores y biomateriales”.

Se espera continuar el trabajo de estas tintas electrocatalíticas para la cuantificación electroquímica de ácido úrico utilizando como soporte electrodos de papel Toray orientados a su anclaje en un dispositivo multisensor de analitos por medio del sudor, así como la publicación de un artículo en una revista indexada a partir de los resultados obtenidos en este trabajo.

## ANEXO 1.- Participación en Congresos/Eventos





UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
DE QUERÉTARO

**FI** FACULTAD  
DE INGENIERÍA



SOCIEDAD DE ALUMNOS FACULTAD DE INGENIERÍA  
CAMPUS AEROPUERTO



La FACULTAD DE INGENIERÍA a través de la SOCIEDAD DE  
ALUMNOS FACULTAD DE INGENIERÍA CAMPUS AEROPUERTO

Otorga el presente

**RECONOCIMIENTO** a:

**Carlos Daniel Ruiz Guerrero**

Por su participación en el CONCURSO de  
CARTEL CIENTÍFICO en la categoría

**NANOTECNOLOGÍA**  
en la 10ª SEMANA DE LA CIENCIA,  
celebrada del 13 al 17 de febrero de 2023.

"El ingenio para crear, no para destruir"

Querétaro, Qro.  
a 17 de febrero de 2023

Dr. Manuel Toledano Ayala  
DIRECTOR  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
 Dirección de Igualdad de Género y No Discriminación

Otorga la presente

# CONSTANCIA

A

**CARLOS DANIEL RUIZ GUERRERO**

Por su destacada participación en el FOMENTO A LAS VOCACIONES CIENTÍFICAS en el programa “Chavas en la ciencia UAQ” en el periodo febrero-marzo 2024



  
 Dra. Silvia Lofeno Amaya Llano  
 rectora de la Universidad Autónoma de Querétaro  
  
 María Michelle Villanueva Moreno  
 Titular de la DIGyND  
  
 Dra. Teresa García Gasco  
 Investigadora, Programa Ciencia y Sociedad UAQ  
 UAQ | CRECER EN LA DIVERSIDAD

## ANEXO 2.- Asistencia Congresos/Eventos



# XI CONGRESO ANUAL

17, 18 y 19 octubre 2022  
Zacatecas, México.

LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS  
 Otorga la presente:

# CONSTANCIA

A:

## Carlos Daniel Ruiz Guerrero

Por su asistencia al XI Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Membranas.

  
 Dra. Jayet Ledesma García  
 Presidente de la SMCyTM

  
 Dr. Sergio Miguel Durón Torres  
 Presidente Comité Organizador





UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
DE QUERÉTARO



FACULTAD  
DE INGENIERÍA



Laboratorio  
Nacional de  
Micro y Nano  
Fluídica



CONACYT  
CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



otorgan la presente  
**CONSTANCIA** a:

**Carlos Daniel Ruíz Guerrero**

Por su participación en el

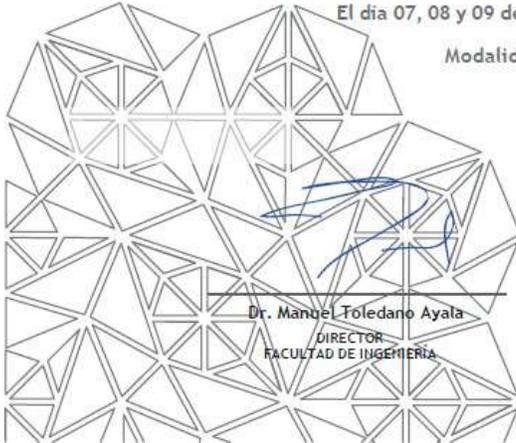
2DO SIMPOSIUM DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE BIOSENSORES Y BIOMATERIALES:  
PERSPECTIVAS, DESAFÍOS Y APLICACIONES.  
Y REUNIÓN ANUAL DEL  
LABORATORIO NACIONAL DE MICRO Y NANOFLUÍDICA LABMYN

como parte del comité organizador

Campus UAQ Aeropuerto

El día 07, 08 y 09 de septiembre de 2022.

Modalidad híbrida



Dr. Manuel Toledano Ayala  
DIRECTOR  
FACULTAD DE INGENIERÍA

Dra. Janet Ledesma Garcia  
LÍDER DEL LABMYN  
SEDE UAQ



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

Otorga la presente

# CONSTANCIA

a:

**CARLOS DANIEL RUIZ**

Estudiante de Licenciatura UAQ  
Por su apoyo en la organización del

*3er Simposium de "Ciencia y tecnología de biosensores y biomateriales: perspectivas, desafíos y aplicaciones"*

Septiembre de 2023  
Querétaro Qro

*"El ingenio para crear, no para destruir"*

Dr. Manuel Toledano Ayala  
DIRECTOR  
FACULTAD DE INGENIERÍA

Dra. Janet Ledesma García  
LÍDER DE LABMYN  
SEDE UAQ

## 5. REFERENCIAS

- Aafria, S., Kumari, P., Sharma, S., Yadav, S., Batra, B., Rana, J. S., & Sharma, M. (2022). Electrochemical biosensing of uric acid: A review. *Microchemical Journal*, 182, 107945. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107945>
- Abdul Majeed Abed Mohammed, O., Abid Saleh, K., & Abdul Wadood AL-Shammaree, S. (2021). WITHDRAWN: Fabrication and evaluation of uric acid biosensor using nano-composites. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.073>
- Academia Nacional de Medicina. (2014). Gota. *Revista de La Facultad de Medicina*, 57(4), 58–60.
- Ahmad, R., Tripathy, N., Ahn, M.-S., & Hahn, Y.-B. (2017). Solution Process Synthesis of High Aspect Ratio ZnO Nanorods on Electrode Surface for Sensitive Electrochemical Detection of Uric Acid. *Scientific Reports*, 7(1), 46475. <https://doi.org/10.1038/srep46475>
- Akyilmaz, E. (2003). A biosensor based on urate oxidase–peroxidase coupled enzyme system for uric acid determination in urine. *Talanta*, 61(2), 73–79. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00239-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00239-X)
- Ali, M., Shah, I., Kim, S. W., Sajid, M., Lim, J. H., & Choi, K. H. (2018). Quantitative detection of uric acid through ZnO quantum dots based highly sensitive electrochemical biosensor. *Sensors and Actuators A: Physical*, 283, 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2018.10.009>
- Al-Tamer, Y. Y., Hadi, E. A., & Al-Badrani, I. eldin I. (1997). Sweat urea, uric acid and creatinine concentrations in uraemic patients. *Urological Research*, 25(5), 337–340. <https://doi.org/10.1007/BF01294662>
- Álvarez-Lario, B. (2014). Hiperuricemia y gota: el papel de la dieta. *Alonso-Valdivielso J. L.*, 29(4).
- Álvarez-Ponce V., Rodríguez-Baquero M., Pardo-Mederos J., & Rodríguez-Llobera A. (2018). El ácido úrico como factor predictor de la preeclampsia. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 44.
- Arora, K., Sumana, G., Saxena, V., Gupta, R. K., Gupta, S. K., Yakhmi, J. V., Pandey, M. K., Chand, S., & Malhotra, B. D. (2007). Improved performance of polyaniline-uricase biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 594(1), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.068>

- Arora, K., Tomar, M., & Gupta, V. (2011). Highly sensitive and selective uric acid biosensor based on RF sputtered NiO thin film. *Biosensors and Bioelectronics*. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.09.026>
- Bayramoğlu, G., Metin, A. Ü., & Arıca, M. Y. (2010). Surface modification of polyacrylonitrile film by anchoring conductive polyaniline and determination of uricase adsorption capacity and activity. *Applied Surface Science*, *256*(22), 6710–6716. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.04.077>
- Broza, Y. Y., Zhou, X., Yuan, M., Qu, D., Zheng, Y., Vishinkin, R., Khatib, M., Wu, W., & Haick, H. (2019). Disease Detection with Molecular Biomarkers: From Chemistry of Body Fluids to Nature-Inspired Chemical Sensors. *Chemical Reviews*, *119*(22), 11761–11817. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00437>
- Cardenas-Flechas, L. J., Barba-Ortega, J. J., & Joya, M. R. (2022). Analysis and evaluation of structural properties of Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> microparticles obtained at low temperature. *Cerámica*, *68*(385), 52–59. <https://doi.org/10.1590/0366-69132022683853152>
- Caridad, C. (2008). ODOUS científica. *1315-2823*, 25–32.
- Carney, L. G., Mauger, T. F., & Hill, R. M. (1989). Buffering in human tears: pH responses to acid and base challenge. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *30*(4), 747–754.
- Chen, J., Wu, X., & Selloni, A. (2011). Electronic structure and bonding properties of cobalt oxide in the spinel structure. *Physical Review B*, *83*(24), 245204. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.83.245204>
- Cho, I.-H., Kim, D. H., & Park, S. (2020). Electrochemical biosensors: perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. *Biomaterials Research*, *24*(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0181-y>
- Cook, J. D., Strauss, K. A., Caplan, Y. H., LoDico, C. P., & Bush, D. M. (2007). Urine pH: the Effects of Time and Temperature after Collection. *Journal of Analytical Toxicology*, *31*(8), 486–496. <https://doi.org/10.1093/jat/31.8.486>
- Eggenstein, C., Borchardt, M., Diekmann, C., Bernd Gründig, Dumschat, C., Cammann, K., Knoll, M., & Friedrich Spener. (1999). A disposable biosensor for urea determination in blood based on an ammonium-sensitive transducer. *Biosensors and Bioelectronics*, *14*(1), 33–41. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(98\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(98)00103-1)

- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, *95*(2), 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- Erden, P. E., & Kılıç, E. (2013). A review of enzymatic uric acid biosensors based on amperometric detection. *Talanta*, *107*, 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.01.043>
- Evans, R. M., Currie, L., & Campbell, A. (1982). The distribution of ascorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and its relation to the plasma concentration. *British Journal of Nutrition*, *47*(3), 473–482. <https://doi.org/10.1079/BJN19820059>
- Faruk Hossain, M., & Slaughter, G. (2021). Flexible electrochemical uric acid and glucose biosensor. *Bioelectrochemistry*, *141*, 107870. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107870>
- Fukuda, T., Muguruma, H., Iwasa, H., Tanaka, T., Hiratsuka, A., Shimizu, T., Tsuji, K., & Kishimoto, T. (2020). Electrochemical determination of uric acid in urine and serum with uricase/carbon nanotube /carboxymethylcellulose electrode. *Analytical Biochemistry*, *590*, 113533. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113533>
- Gao, W., & Wen, D. (2021). Recent advances of noble metal aerogels in biosensing. *VIEW*, *2*(3). <https://doi.org/10.1002/VIW.20200124>
- Georgakopoulos, C. D., Lamari, F. N., Karathanasopoulou, I. N., Gartaganis, V. S., Pharmakakis, N. M., & Karamanos, N. K. (2009). Tear analysis of ascorbic acid, uric acid and malondialdehyde with capillary electrophoresis. *Biomedical Chromatography*, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/bmc.1376>
- Güemes, M., Rahman, S. A., & Hussain, K. (2016). What is a normal blood glucose? *Archives of Disease in Childhood*, *101*(6), 569. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2015-308336>
- Horwath-Winter, J., Kirchengast, S., Meinitzer, A., Wachswender, C., Faschinger, C., & Schmut, O. (2009). Determination of uric acid concentrations in human tear fluid, aqueous humour and serum. *Acta Ophthalmologica*, *87*(2), 188–192. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2008.01215.x>
- Huang, C.-T., Chen, M.-L., Huang, L.-L., & Mao, I.-F. (2002). Uric acid and urea in human sweat. *The Chinese Journal of Physiology*, *45*(3), 109–115.

- Jirakunakorn, R., Khumngern, S., Choosang, J., Thavarungkul, P., Kanatharana, P., & Numnuam, A. (2020). Uric acid enzyme biosensor based on a screen-printed electrode coated with Prussian blue and modified with chitosan-graphene composite cryogel. *Microchemical Journal*, *154*, 104624. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104624>
- Kanyong, P., Pemberton, R. M., Jackson, S. K., & Hart, J. P. (2012). Development of a sandwich format, amperometric screen-printed uric acid biosensor for urine analysis. *Analytical Biochemistry*, *428*(1), 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.05.027>
- Karuppiyah, C., Thirumalraj, B., Alagar, S., Piraman, S., Li, Y.-J. J., & Yang, C.-C. (2021). Solid-State Ball-Milling of Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nano/Microspheres and Carbon Black Endorsed LaMnO<sub>3</sub> Perovskite Catalyst for Bifunctional Oxygen Electrocatalysis. *Catalysts*, *11*(1), 76. <https://doi.org/10.3390/catal11010076>
- Kuwabata, S., Nakaminami, T., Ito, S., & Yoneyama, H. (1998). Preparation and properties of amperometric uric acid sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *52*(1–2), 72–77. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(98\)00258-5](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(98)00258-5)
- Lakshmi, D., Whitcombe, M. J., Davis, F., Sharma, P. S., & Prasad, B. B. (2011). Electrochemical Detection of Uric Acid in Mixed and Clinical Samples: A Review. *Electroanalysis*, *23*(2), 305–320. <https://doi.org/10.1002/elan.201000525>
- Li, S.-J., Du, J.-M., Zhang, J.-P., Zhang, M.-J., & Chen, J. (2014). A glassy carbon electrode modified with a film composed of cobalt oxide nanoparticles and graphene for electrochemical sensing of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Microchimica Acta*, *181*(5–6), 631–638. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1164-2>
- Li, Z., Wang, Y., Fan, Z., Sun, Y., Sun, Y., Yang, Y., Zhang, Y., Ma, J., Wang, Z., & Zhu, Z. (2023). A Dual-Function Wearable Electrochemical Sensor for Uric Acid and Glucose Sensing in Sweat. *Biosensors*, *13*(1), 105. <https://doi.org/10.3390/bios13010105>
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., & Mollace, V. (2016). Regulation of uric acid metabolism and excretion. *International Journal of Cardiology*, *213*, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.08.109>
- Martínez-Lázaro, A., Ramírez-Montoya, L. A., Ledesma-García, J., Montes-Morán, M. A., Gurrola, M. P., Menéndez, J. A., Arenillas, A., & Arriaga, L. G. (2022). Facile Synthesis of Unsupported Pd Aerogel for

- High Performance Formic Acid Microfluidic Fuel Cell. *Materials*, 15(4), 1422. <https://doi.org/10.3390/ma15041422>
- Martinez-Lazaro, A., Rodriguez-Barajas, M. H., Rey-Raap, N., Espinosa-Lagunes, F. I., Ledesma-García, J., Arenillas, A., & Arriaga, L. (2022). Novel and High Electrocatalytic Activity Aerogel Pd-Tm (Tm=Co, Ni, Fe). *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4292891>
- Martinez-Pérez, D., Ferrer, M. L., & Mateo, C. R. (2003). A reagent less fluorescent sol–gel biosensor for uric acid detection in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, 322(2), 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2003.08.018>
- Nallusamy, S., & Sujatha, K. (2021). Experimental analysis of nanoparticles with cobalt oxide synthesized by coprecipitation method on electrochemical biosensor using FTIR and TEM. *Materials Today: Proceedings*, 37, 728–732. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.735>
- Omar, M. N., Salleh, A. B., Lim, H. N., & Ahmad Tajudin, A. (2016). Electrochemical detection of uric acid via uricase-immobilized graphene oxide. *Analytical Biochemistry*, 509, 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.06.030>
- Promphet, N., Rattanawaleedirojn, P., Siralertmukul, K., Soatthiyanon, N., Potiyaraj, P., Thanawattano, C., Hinestroza, J. P., & Rodthongkum, N. (2019). Non-invasive textile based colorimetric sensor for the simultaneous detection of sweat pH and lactate. *Talanta*, 192, 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.086>
- Putzbach, W., & Ronkainen, N. (2013). Immobilization Techniques in the Fabrication of Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors: A Review. *Sensors*, 13(4), 4811–4840. <https://doi.org/10.3390/s130404811>
- Sahin, B., & Kaya, T. (2019). Electrochemical amperometric biosensor applications of nanostructured metal oxides: a review. *Materials Research Express*, 6(4), 042003. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aafa95>
- Sakharov, D. A., Shkurnikov, M. U., Vagin, M. Yu., Yashina, E. I., Karyakin, A. A., & Tonevitsky, A. G. (2010). Relationship between Lactate Concentrations in Active Muscle Sweat and Whole Blood. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 150(1), 83–85. <https://doi.org/10.1007/s10517-010-1075-0>

- Shibasaki, K., Kimura, M., Ikarashi, R., Yamaguchi, A., & Watanabe, T. (2012a). Uric acid concentration in saliva and its changes with the patients receiving treatment for hyperuricemia. *Metabolomics*, 8(3), 484–491. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0334-z>
- Shibasaki, K., Kimura, M., Ikarashi, R., Yamaguchi, A., & Watanabe, T. (2012b). Uric acid concentration in saliva and its changes with the patients receiving treatment for hyperuricemia. *Metabolomics*, 8(3), 484–491. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0334-z>
- Skoog, D. A. (2008). *Principios de análisis instrumental*. 6e.
- Sonner, Z., Wilder, E., Heikenfeld, J., Kasting, G., Beyette, F., Swaile, D., Sherman, F., Joyce, J., Hagen, J., Kelley-Loughnane, N., & Naik, R. (2015). The microfluidics of the eccrine sweat gland, including biomarker partitioning, transport, and biosensing implications. *Biomicrofluidics*, 9(3), 031301. <https://doi.org/10.1063/1.4921039>
- Su, D., Dou, S., & Wang, G. (2014). Single Crystalline Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocrystals Exposed with Different Crystal Planes for Li-O<sub>2</sub> Batteries. *Scientific Reports*, 4(1), 5767. <https://doi.org/10.1038/srep05767>
- Torres-Arce, M. A., & Vallejo-Samaniego, M. J. (2014). *La importancia en la detección del ácido Úrico en el diagnóstico y pronóstico de las Hiperuricemias en adultos mayores que acuden al hospital Carlos Elizalde de Cuenca en el período Septiembre 2003- Febrero 2014*. Universidad Nacional de Chimborazo.
- Uchiyama, S., & Sakamoto, H. (1997). Immobilization of uricase to gas diffusion carbon felt by electropolymerization of aniline and its application as an enzyme reactor for uric acid sensor. *Talanta*, 44(8), 1435–1439. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00023-4)
- Vázquez-Rodríguez JG, & Rico-Trejo E. (2011). Papel del ácido úrico en la preeclampsia-eclampsia. *Ginecol Obstet Mex*, 292–297.
- Verma, S., Choudhary, J., Singh, K. P., Chandra, P., & Singh, S. P. (2019). Uricase grafted nanoconducting matrix based electrochemical biosensor for ultrafast uric acid detection in human serum samples. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 333–341. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.121>
- Wang, K., Wu, C., Wang, F., Liao, M., & Jiang, G. (2020). Bimetallic nanoparticles decorated hollow nanoporous carbon framework as nanozyme biosensor for highly sensitive electrochemical sensing of uric

- acid. *Biosensors and Bioelectronics*, 150, 111869. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111869>
- Wang, Q., Wen, X., & Kong, J. (2020). Recent Progress on Uric Acid Detection: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 50(4), 359–375. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1637711>
- Wang, Y., Yu, L., Zhu, Z., Zhang, J., & Zhu, J. (2009). Novel Uric Acid Sensor Based on Enzyme Electrode Modified by ZnO Nanoparticles and Multiwall Carbon Nanotubes. *Analytical Letters*, 42(5), 775–789. <https://doi.org/10.1080/00032710802677159>
- Wu, W.-T., Huang, Z., Liu, Y., Hong, J., & Zhang, Q. (2023). Novel Co-MOF/GO triggered peroxymonosulfate activation: Insight into singlet oxygen generation mechanism from peroxymonosulfate self-decomposition and secondary radical conversion. *Chemical Engineering Journal*, 476, 146365. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146365>
- Xiao, J., Luo, Y., Su, L., Lu, J., Han, W., Xu, T., & Zhang, X. (2022). Hydrophilic metal-organic frameworks integrated uricase for wearable detection of sweat uric acid. *Analytica Chimica Acta*, 1208, 339843. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339843>
- Xu, Z., Song, J., Liu, B., Lv, S., Gao, F., Luo, X., & Wang, P. (2021). A conducting polymer PEDOT:PSS hydrogel based wearable sensor for accurate uric acid detection in human sweat. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 348, 130674. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130674>
- Yang, J., Li, Y., Zheng, Y., Xu, Y., Zheng, Z., Chen, X., & Liu, W. (2019). Versatile Aerogels for Sensors. *Small*, 15(41). <https://doi.org/10.1002/sml.201902826>
- Zhang, F., Wang, X., Ai, S., Sun, Z., Wan, Q., Zhu, Z., Xian, Y., Jin, L., & Yamamoto, K. (2004). Immobilization of uricase on ZnO nanorods for a reagentless uric acid biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 519(2), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.05.070>
- ZHAO, C., WAN, L., WANG, Q., LIU, S., & JIAO, K. (2009). Highly Sensitive and Selective Uric Acid Biosensor Based on Direct Electron Transfer of Hemoglobin-encapsulated Chitosan-modified Glassy Carbon Electrode. *Analytical Sciences*, 25(8), 1013–1017. <https://doi.org/10.2116/analsci.25.1013>
- Zhao, J., Pan, R., Sun, R., Wen, C., Zhang, S.-L., Wu, B., Nyholm, L., & Zhang, Z.-B. (2019). High-conductivity reduced-graphene-

oxide/copper aerogel for energy storage. *Nano Energy*, 60, 760–767.  
<https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2019.04.023>

Zhao, Y., Yang, X., Lu, W., Liao, H., & Liao, F. (2009). Uricase based methods for determination of uric acid in serum. *Microchimica Acta*, 164(1–2), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00604-008-0044-z>

Zoski, C. G. (2007). *Handbook of Electrochemistry*. Elsevier.