



Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año

Datos generales del Proyecto

Código del proyecto: 7896			
Título del proyecto: Síntesis electroquímica y caracterización de polímeros conductores como sensores químicos basados en impresión molecular			
Facultad o Instituto Académico: Ciencias Naturales y Exactas			
Departamento o Escuela: Química			
Grupo (s) de investigación: Electroquímica			
Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Fernando Larmat González	10	10
Coinvestigadores	Walter Torres	5	5
	Jaime Restrepo	5	5
Otros participantes	Cesar Arizabaleta, Simón Grueso, Allan Montenegro, Yina Carolina Ruiz, María Juliana Restrepo, María Alejandra Marín, Carolina Infante	N/A	N/A

1. Resumen ejecutivo:

Se espera que describa el proyecto, planteamiento del problema, objetivos, metodología, principales resultados obtenidos y las conclusiones. La extensión debe ser de máximo de 500 palabras (en español y en inglés).

VERSIÓN EN ESPAÑOL:

Uno de los propósitos de la química analítica moderna es producir sistemas de análisis que permitan la detección y cuantificación de varias especies en forma simultánea. Dentro de las alternativas para lograr estos objetivos está el desarrollo de sensores electroquímicos con características de desempeño y costo que compitan con las de técnicas analíticas

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.
F-04-MP-06-02-02
V-02-2013

convencionales. Los materiales utilizados en la construcción de sensores electroquímicos deben poseer propiedades de reconocimiento molecular tal como el que se presenta en las plantillas moleculares impresas en polímeros (MIP). El objetivo de este proyecto fue desarrollar sensores electroquímicos basados en el concepto de impresión de plantilla molecular en polímeros conductores para la determinación de moléculas de interés bioquímico como los aminoácidos, L-tirosina (L-Tyr) y L-triptófano (L-Trp), y los metabolitos de las purinas, xantina (XA), hipoxantina (HX) y ácido úrico (AU). Para el desarrollo de los sensores se sintetizó electroquímicamente (sobre de electrodos de disco de oro y/o carbón vítreo) el polímero conductor polipirrol en medios acuosos que contenían el monómero pirrol, el buffer y/o electrolito soporte y los compuestos escogidos como analitos. La síntesis y caracterización de los sensores se realizó por técnicas electroquímicas como cronopotenciometría, voltametría cíclica, voltametría diferencial de pulsos y voltametría de onda cuadrada.

Los resultados mostraron el desarrollo de electrodos de oro y carbón vítreo modificados electroquímicamente con una película de polipirrol sobreoxidado en la cual se generan las cavidades moleculares (MIPs) capaces de reconocer de forma selectiva los analitos seleccionados. Los sensores individuales demostraron un buen rango lineal y límites de detección de 0.19, 0.15 y 40 μM para L-Tyr, L-Trp y HX respectivamente. La investigación permitió aportar al entendimiento del proceso de reconocimiento molecular y los factores a tener en cuenta en la fabricación un sensor electroquímico basado en el concepto MIP. Las condiciones óptimas encontradas para los sensores individuales sirvieron para la fabricación de un multisensor con la capacidad de responder selectivamente a los dos aminoácidos aun en presencia de sus respectivos enantiómeros. También se obtuvo respuesta cuantitativa frente a muestras reales (orina humana) comparable con otros métodos analíticos establecidos. En el caso de las xantinas se logró la síntesis electroquímica de un sensor voltamperométrico para la detección de HX. El sensor desarrollado mostró un desempeño aceptable mostrando señales de oxidación de HX, XA y AU con los usos consecutivos, hecho que puede atribuirse a una extracción incompleta de HX de la plantilla en el proceso de sobreoxidación de polipirrol, indicando preconcentración de las formas oxidadas XA y AU en la plantilla de HX. Durante el desarrollo de esta investigación se trató de sintetizar sensores con cavidades moleculares para

detección de XA y AU. Sin embargo, no se pudo lograr este objetivo debido a la baja solubilidad de estos analitos y a las limitaciones de pH en la síntesis electroquímica de polipirrol.

VERSIÓN EN INGLÉS:

One purpose of modern analytical chemistry is to produce systems of analysis that allow the detection and quantification of multiple species simultaneously. Among the alternatives to achieve these objectives is the development of electrochemical sensors with characteristics of performance and cost that compete with conventional analytical techniques. The materials used in the construction of electrochemical sensors must have properties such as molecular recognition that occurs in the templates in molecular imprinted polymers (MIP). The objective of this project was to develop electrochemical sensors based on the concept of molecular imprinting in conducting polymers for the determination of biochemical molecules like the amino acids, L-tyrosine (L-Tyr) and L-tryptophan (L-Trp), and the purine metabolites, xanthine (XA), hypoxanthine (HX) and uric acid (UA). For the development of the sensors, the conducting polymer polypyrrole was synthesized electrochemically (over gold and/or glassy carbon disk electrodes) in aqueous media containing the pyrrole monomer, buffer and/or supporting electrolyte and the compounds chosen as analytes. The synthesis and characterization of the sensors was done by electrochemical techniques such as chronopotentiometry, cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and square wave voltammetry.

The results show the development of gold and glassy carbon electrodes modified electrochemically with an overoxidized polypyrrole film in which the molecular cavities (MIPs) generated were capable of selectively recognize the chosen analytes. Individual sensors showed a good linear range and detection limits of 0.19, 0.15 and 40 μ M for L-Tyr, L-Trp and HX respectively. The research contributes to the understanding of the molecular recognition process and the factors to consider when manufacturing an electrochemical sensor based on the MIP concept. The optimal conditions found for the individual sensors were used for the manufacture of a multi-sensor with the capability to respond selectively to the two amino acids even in the presence of their respective enantiomers. Quantitative response was also obtained for real samples (human urine) comparable with other established analytical methods.

For xanthines, it was achieved the electrochemical synthesis of a voltammetric sensor for detecting HX. The developed sensor showed acceptable performance showing signs of oxidation of HX, XA and UA with consecutive uses, a fact that can be attributed to incomplete removal of HX from the template in the process of over-oxidation of polypyrrole, indicating pre-concentration of the oxidized form (XA) in the template of HX. During the development of this research it was attempted to synthesize molecular sensors with cavities for detection of XA and UA. However, it was not possible to achieve this goal due to the low solubility of these analytes and the limitations of pH in the electrochemical synthesis of polypyrrole.

Síntesis del proyecto:

En una extensión máxima de 5 páginas, se debe mostrar el cumplimiento de los objetivos del proyecto y debe incluir:

TEMA

Sensores electroquímicos basados en impresión molecular para moléculas de interés bioquímico.

OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar sensores electroquímicos basados en el concepto de impresión de plantilla molecular para la determinación de moléculas de interés bioquímico (aminoácidos y xantinas).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Sintetizar electroquímicamente (sobre electrodos de disco de oro y/o carbón vítreo) polipirrol sobreoxidado en medios acuosos que contienen el monómeros pirrol, electrolito soporte y los analitos (los aminoácidos L-Tyr y L-Trp, y la xantinas XA, HX y AU).
- 2) Optimizar los parámetros de síntesis para obtener las mejores respuestas electroquímicas de los sensores.
- 3) Evaluar la respuesta electroquímica amperometrica de estos sensores en soluciones acuosas que contienen los compuestos seleccionados.
- 4) Evaluar la estabilidad, reproducibilidad, sensibilidad y selectividad de los sensores para la

determinación simultanea de los compuestos seleccionados.

- 5) Utilizar las mejores condiciones de electrosíntesis encontradas en los sensores individuales como punto de partida para la síntesis del multisensor.

METODOLOGIA

Instrumentación

Todos los experimentos electroquímicos fueron realizados en un analizador electroquímico CHI INSTRUMENTS 760B. Las medidas electroquímicas fueron realizadas en celdas de vidrio (capacidad de 20 y 10 mL) con tapa de teflón y con electrodos de trabajo (disco de oro área experimental de trabajo 2.01 mm²) para el sensor de los aminoácidos y de carbón vítreo (1 mm de diámetro) para el sensor de hipoxantina, electrodo de referencia, (Ag/AgCl/KCl 3.0 M) y electrodo auxiliar (alambre de platino de 3 cm de largo).

Limpieza del sistema electroquímico

El electrodo auxiliar se limpió mediante calcinación en llama durante 15 segundos, y posterior brillando con una lija número 400. El electrodo de trabajo de oro se limpió con brillo mecánico contra una felpa con alúmina de 0.10 µm de tamaño de partícula, se lavó con agua tipo dos y se sometió a un tratamiento de limpieza electroquímico en una solución de H₂SO₄ 0.1 M, ciclando el potencial en el rango de -1.0 a 1.5 V. Luego, el electrodo fue lavado con agua tipo dos en un baño ultrasonido por tres minutos y finalmente, lavado con abundante agua. Los electrodos de carbón vítreo (GCE) se pulieron sobre almohadillas de nylon con suspensiones acuosas de alumina de 1.0, 0.3 y 0.05 µm por espacio de cinco minutos, seguido de lavado con abundante agua destilada. Posteriormente, los electrodos se sometieron a tratamiento con ultrasonido por 20 minutos. Finalmente, el electrodos se sometió a limpieza electroquímica con solución de buffer reguladora de fosfatos (BPS) pH=7.0, barriendo el potencial de electrodo en el rango entre -1.0 V y 1.5 V. Se realizaron experimentos de control con soluciones de los analitos sobre los electrodos correspondientes para verificar la ausencia de interferencias

Síntesis electroquímica de los sensores impresos

Para el sensor de los aminoácidos, los MIPs fueron preparados mediante electropolimerización de pirrol sobre el electrodo de oro en presencia de la molécula molde a potencial constante de 0.80 V. La celda contenía pirrol 0.10 M, NaCl 0.50 M y la molécula objetivo (L-Trip o L-Tyr 1.0 µM), a pH controlado con temperatura y presión ambiente. La solución se mantuvo libre de

oxígeno mediante burbujeo de nitrógeno y manteniendo una corriente de nitrógeno sobre la superficie de la solución durante el experimento. La densidad de carga se controló para obtener películas poliméricas con espesor aproximado entre 0.10 y 10 μm respectivamente. El procedimiento anterior produjo electrodos modificados con una película de polipirrol y la molécula molde, Au/PPy+L-Trp o Au/PPy+L-Tyr. Los sensores formados fueron sometidos a un proceso de sobreoxidación para inducir entrecruzamiento de las cadenas poliméricas y facilitando además la extracción de los analitos atrapados en el material polimérico mesoporoso, generando así un polímero (polipirrol sobreoxidado, OPPy) con las cavidades complementarias, encargadas del proceso de reconocimiento molecular en análisis posteriores. El procedimiento de sobreoxidación consistió en someter los electrodos modificados (Au/PPy+L-Trp o Au/PPy+L-Tyr) a un potencial de 1.0 V en una solución de KOH 0.10 M por 20 s. Los sensores obtenidos se designan como Au/OPPy-L-Trp o Au/OPPy-L-Tyr. Para el sensor de HX, el pirrol fue destilado antes de la polimerización. La solución para la preparación del MIP fue una mezcla de pirrol 0.1 M, KNO_3 0.1 M en BPS 0.1 M a pH=7. La solución también se burbujeó con nitrógeno durante el experimento. La electropolimerización se realizó por medio de cronocolumbimetría a potencial constante, aplicando un escalón de potencial de 0.0 a 0.9 V por 150 s para obtener películas de un espesor de 1 μm aproximadamente. Posteriormente, el electrodo modificado se lavó con agua desionizada y se sometió a sobreoxidación. Finalmente, los electrodos modificados (GCE/OPPy-HX) se lavaron con agua desionizada para realizar los ensayos electroquímicos de reconocimiento molecular.

Reconocimiento molecular de los sensores y el multisensor

Los electrodos Au/OPPy-L-Trp o Au/OPPy-L-Tyr fueron sumergidos en una solución acuosa de L-Tyr o L-Trp 10.0 μM respectivamente, en NaCl 0.1 M, pH controlado, por 10 min en condiciones de circuito abierto para permitir la difusión de los aminoácidos hacia las cavidades generadas en el sensor. La capacidad de reconocimiento se evaluó soluciones patrón de diferentes concentraciones de L-Tyr y L-Trp que contenían NaCl 0.1 M a pH=6.0 observando la intensidad de los picos de corriente en experimentos de voltametría cíclica y de pulso diferencial. En otros experimentos, los sensores Au/OPPy-L-Trp o Au/OPPy-L-Tyr fueron sumergidos en soluciones de los enantiómeros correspondientes (D-Tyr o D-Trp) para evaluar la enantioselectividad de los sensores. La respuesta electroquímica de los sensores fue evaluada en función de los parámetros críticos de síntesis: concentración de pirrol y de analito,

método de electrosíntesis, método de sobreoxidación del polímero y condiciones de almacenamiento de los sensores. Usando las mejores condiciones de síntesis encontradas para los sensores de cada aminoácido, se procedió a sintetizar un multisensor con capacidad de reconocimiento molecular enantioselectivo a L-Tyr y L-Trp. Para el multisensor se realizó el mismo procedimiento que para los sensores individuales solo que las soluciones patrón contenían ambos aminoácidos. En el sensor de HX, la respuesta electroquímica fue evaluada en soluciones patrón de HX + BPS 0.1 M a pH=7.0. Los experimentos de voltamperometría cíclica y voltamperometría de onda cuadrada fueron realizados entre 0.0 y 1.5 V con una velocidad de barrido de a 100 mV/s, 10 minutos después de sumergido el electrodo de trabajo en la solución en condiciones de circuito abierto.

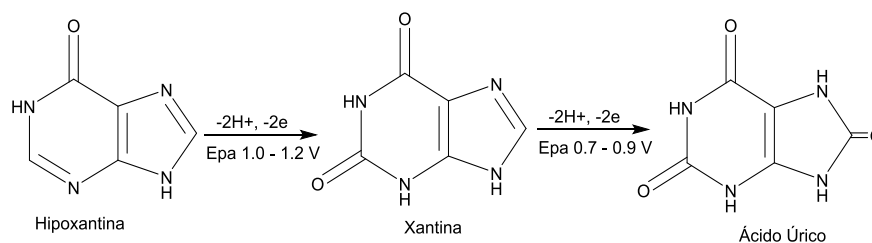
Determinación de L-triptófano y L-tirosina libre en orina humana

Las muestras de orina se recolectaron durante 12 horas y se preservaron a 3 °C hasta el momento de su análisis donde se llevaron a temperatura ambiente. Se realizó una curva de calibración igual que en la sección anterior para interpolar las corrientes obtenidas en la ecuación de la recta y calcular la concentración de aminoácidos libres.

RESULTADOS

Experimentos de control

Los voltamogramas de los aminoácidos sobre un electrodo de Au sin modificar presentaron los picos de oxidación irreversible esperados a 0.51 y 0.72 V para L-Tyr y L-Trp, respectivamente. En el caso de las xantinas se presentan picos de oxidación en el electrodo GCE a 0.7, 0.8 y 1.1 V para HA, XA y AU respectivamente de acuerdo a las reacciones siguientes:



Influencia de las condiciones de sobreoxidación de PPy en la respuesta voltamétrica de los sensores

La sobreoxidación de PPy cumple las funciones de extraer las moléculas del aminoácido que quedan atrapadas durante la polimerización y el entrecruzar las cadenas de PPy y generar las cavidades complementarias del aminoácido que serán las responsables del reconocimiento

molecular posterior. Además del entrecruzamiento, la sobreoxidación también induce la formación de enlaces covalentes C=O en el esqueleto polimérico. Los picos de oxidación de L-Tyr y L-Trp muestran máximos de corriente cuando los tiempos de sobreoxidación son aproximadamente 20 y 15 s. Lo anterior demuestra que durante la sobreoxidación, los procesos que ocurren en la película de PPy en presencia de cada aminoácido permiten que la película adquiera la selectividad hacia los analitos atrapados generando cavidades que son las responsables del reconocimiento molecular ya que de lo contrario no se observaría una respuesta de corriente diferente entre los electrodos Au/OPPy y los Au/OPPy-L-Trp o Au/OPPy-L-Tyr.

Reconocimiento molecular de los sensores

Los sensores Au/OPPy-L-Trp o Au/OPPy-L-Tyr se sometieron a un barrido de potencial entre 0.0 y 0.8 V en presencia de los respectivos aminoácidos. Las respuestas electroquímicas obtenidas aparecen en la Figura 1.

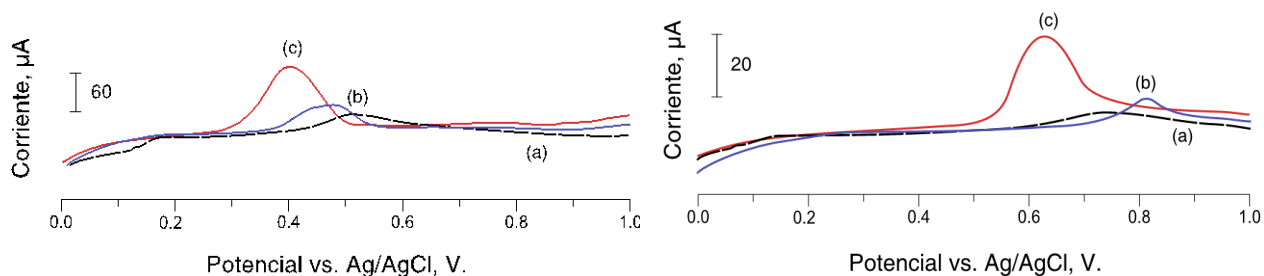


Figura 1. Respuesta voltamétrica típica de sensores (a 25 mV/s) en solución de L-Tyr o L-Trp 10.0 µM en NaCl 0.1 M y pH 6.0. Electrodo: (a) Au, (b) Au/OPPy, (c) Au/OPPy-L-Tyr o Au/OPPy-L-Trp.

Las corrientes de pico anódico que se obtienen con cada sensor (curvas c en las figuras) demuestran una marcada preferencia de estos sensores hacia sus L-aminoácidos en comparación con el electrodo de oro y el sensor modificado con polipirrol sobreoxidado pero que no tiene impresiones moleculares. En el caso del sensor para HX, la respuesta voltamétrica del sensor con plantilla GCE/OPPy-HX se presenta en la figura 2. Se encontró un efecto electrocatalítico en el comportamiento voltamperométrico del GCE/OPPy-HX, causado esencialmente por la presencia de las cavidades moleculares presentes en la película que además ejerce un efecto de membrana de preconcentración, este efecto se evidenció en el aumento de la corriente y mejorando la definición del pico de oxidación de HX e indicando un

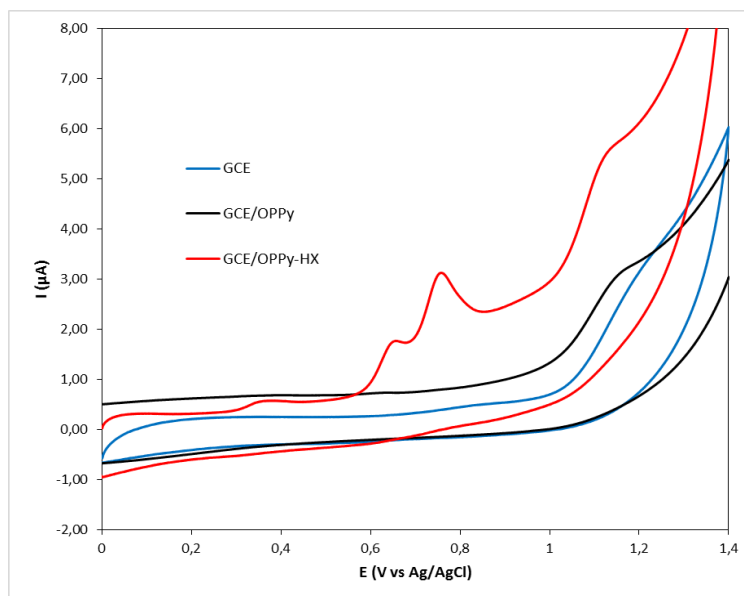


Figura 2. Respuesta voltamperométrica de GCE, GCE-OPPy y GCE/OPPy-HX en una solución de HX 4 mM en BPS 0.1M, pH=7 a 50 mV/s después de 10 minutos de equilibración.

fenómeno de adsorción en la interface GCE/OPPy-HX/solución. Además, es importante mencionar que el GCE/OPPy-HX muestra un par de ondas de oxidación cerca de la zona entre 0.7 y 0.8 V correspondientes a la oxidación de XA y AU, ya que parte de las moléculas de HX en el paso de sobreoxidación electroquímica no se difunden hacia el seno de la solución debido al espesor de la película (1 μm) y son oxidadas a XA y AU. El hecho de que, en presencia de una solución de HX, el electrodo de GCE/OPPy-HX muestre picos de oxidación de AU, XA y HX en un mismo barrido (lo cual no se observa sobre los electrodos de GCE sin modificar), implica que hay un efecto de acumulación de XA (producto de oxidación de HX) y AU (producto de oxidación de XA) en la película de OPpy-HX durante la sobreoxidación o durante los barridos iniciales de oxidación de GCE/OPPy-HX en presencia del analito HX. No es claro si durante la polimerización o posterior sobreoxidación de polipirrol ocurre la formación simultánea de plantillas para HX, XA y AU en la película.

Optimización de los parámetros de síntesis para obtener las mejores respuestas electroquímicas de los sensores.

La dependencia de la respuesta de los sensores fue evaluada en función del pH, la concentración de pirrol, la concentración de los analitos en el proceso de electrosíntesis, el

tiempo de preconcentración de los analitos y el espesor de la película. Los resultados indican que el pH óptimo para la polimerización es el punto isoeléctrico (pI) de los aminoácidos (L-Tyr= 5.65 y L-Trp=5.88) y cuando la especie predominante de estos es neutra (zwitterión). Las zwitteriones tienen la ventaja de poseer cargas positivas (NH_4^+) y negativas (CO_2^-) dentro de la misma molécula, lo cual les permite interactuar durante el proceso de polimerización sobre los grupos $\beta\text{-CO}^-$ y NH^+ del polímero que se forman durante el proceso de polimerización y sobreoxidación y tener mínimo tres puntos de unión necesarios para un reconocimiento molecular básico. En cuanto a la concentración de pirrol en la solución de polimerización, se encontró que cuando es mayor a 0.1 M, la corriente de pico anódica se vuelve independiente de la concentración del monómero. El efecto en la respuesta electroquímica debida a la concentración de los analitos en el proceso de electropolimerización indico que en las soluciones de síntesis después de 4 μM de los aminoácidos, los picos de corriente anódicos pierden dependencia de la concentración, generando una respuesta electroquímica similar para los sensores de L-Tyr y de L-Trp. Se observa también que en soluciones con concentraciones menores de 3 μM , la cantidad de aminoácidos que alcanzan a oxidarse sobre la superficie de oro no es significativa con relación a las que interactúan con el polímero para generar las cavidades del reconocimiento molecular. Respecto al tiempo de preconcentración se encontró que un tiempo de 10 minutos es necesario para que las moléculas de analito penetren hasta los sitios de adsorción selectiva dentro del medio polimérico. Finalmente, el espesor óptimo de las películas poliméricas está alrededor de 2-3 μm para estos aminoácidos, lo que concuerda con lo reportado, ya que generalmente las películas gruesas o voluminosas de polímeros con plantillas moleculares exhiben cinéticas y capacidades de reconocimiento bajas. Para el sensor de hipoxantina se estudió la dependencia de la respuesta del sensor en función del pH, el tiempo de preconcentración de los analitos y el espesor de la película. Los resultados indican que el pH óptimo para la polimerización es a pH neutro, con un tiempo de preconcentración de 15 minutos y espesor de la película de 1 μm . Puesto que en la oxidación de HX, XA y AU, la transferencia de electrones está acompañada por transferencia de protones, es probable que la especie limitante sea el ión H^+ porque en la solución analítica la concentración de HX es varios ordenes de magnitud por encima de $[\text{H}^+] \sim 10^{-7} \text{ M}$.

Estabilidad de los sensores

Para estudiar efectos del tiempo de almacenamiento, los sensores fueron almacenados en: (a)

solución de cloruro de sodio 0.1 M, pH 6.0 con moléculas plantillas 10.0 μM , (b) solución de NaCl 0.1 M, pH 6.0 y (c) al aire libre. Antes de su uso, todos los electrodos se lavaron en agua desionizada. Para efectos prácticos, los tiempos de vida de todos los sensores son extremadamente cortos (menos de 10 horas), el método de almacenamiento más efectivo es en una solución 10 μM la molécula plantilla.

Curvas de calibración de los sensores para L-tirosina y L-triptófano

Para la evaluación del rango lineal se tomaron soluciones de concentraciones de cada analito entre 0,10 y 100 μM , esta evaluación se efectuó utilizando las mejores condiciones encontradas de electrosíntesis mencionadas anteriormente. Las figura 3 muestran los resultados de este estudio. Los límites de detección encontrados son 0.19 y 0.15 μM para L-Tyr y L-Trp respectivamente. Valores comparables con los reportados por otros autores para la determinación de estos dos analitos en diferentes matrices y con diferentes técnicas de análisis. Para la caracterización preliminar del sensor de HX se estudió la respuesta en función de la concentración del analito, tal como se presenta en la Figura 4 para soluciones de HX 40, 200 y 400 μM con voltametría de onda cuadrada. El potencial del pico de oxidación se corre a valores menos positivos a medida que [HX] disminuye, lo cual es consistente con la afirmación de que la especie que limita la velocidad de transferencia electrónica es la difusión de ión H^+ hacia el

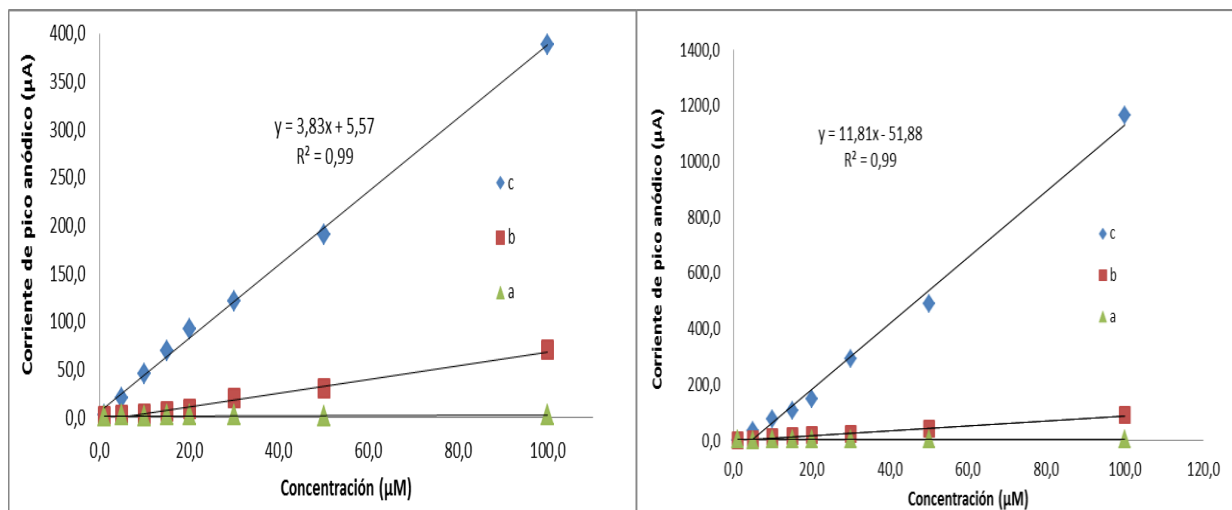


Figura 3. Curvas de calibración de los sensores de L-triptófano y L-tirosina en NaCl 0.1 M y pH 6.0; corrientes anódicas de pico a una velocidad de barrido de 25 mV/s. (a) electrodo de oro, (b) electrodo con polipirrol sobreoxidado y (c) electrodo modificado con polipirrol sobreoxidado e impresiones moleculares.

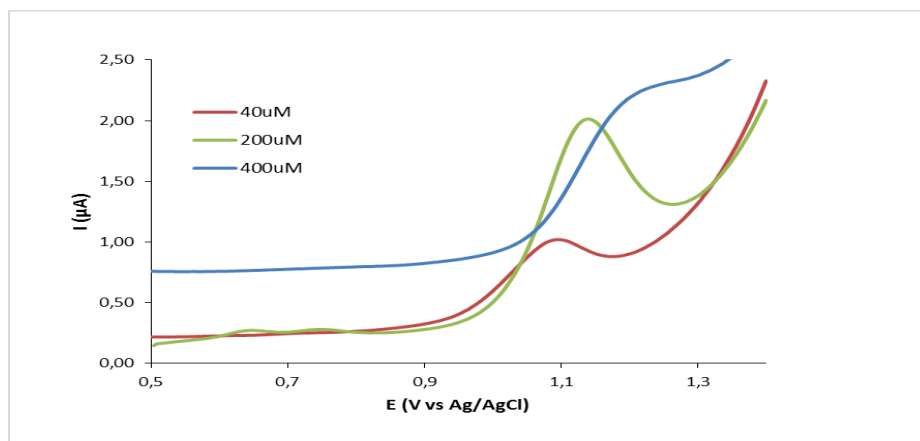


Figura 4. Voltamperogramas de onda cuadrada del GCE/OPPy-Hx en soluciones de HX de diferentes concentraciones después de 10 minutos de equilibración.

electrodo. En este trabajo intentamos también construir sensores basados en GCE/OPPy con plantillas de XA y AU. Sin embargo, estas metas no se pudieron lograr con la metodología planteada ya que en medio neutro, tanto la XA como AU tienen solubilidades del orden 10^{-4} M, la solubilidad tampoco mejora en micelas de dodecilsulfato de sodio y además la polimerización de pirrol no ocurre en las condiciones altamente básicas requeridas para solubilizar XA y AU.

Estudio de la enantioselectividad de los sensores para los aminoácidos

Los sensores de Au/OPPy-L-Tyr y Au/OPPy-L-Trp muestran alta enantioselectividad en soluciones del enantiomero correspondiente D-Tyr y D-Trp respectivamente, tal como se muestra en la figura 5. Se observa claramente la selectividad de los sensores hacia cada uno de los L-aminoácidos para los cuales fueron desarrollados.

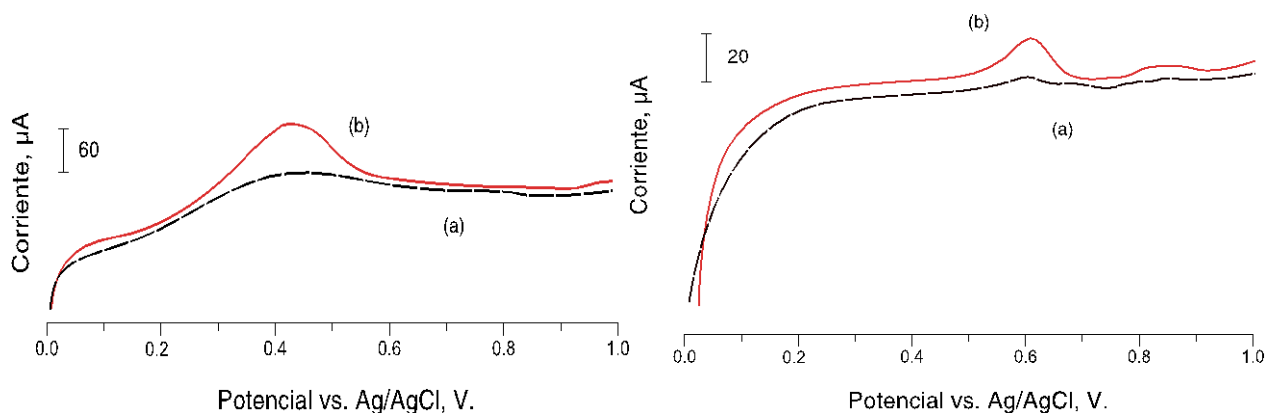


Figura 5. Voltamogramas de barrido lineal para un electrodo de Au/OPPy-L-Tyr y Au/OPPy-L-Trp en soluciones 10.0 μ M de (a) D-Tyr y D-Trp, (b) L-Tyr y L-Trp, ambas en NaCl 0.1 M, pH=6.0. Velocidad de barrido=25 mV/s.

Síntesis del multisensor

El voltamograma y las curvas de calibración para el sensor sintetizado con las condiciones óptimas se presentan en figura 6 y confirma la generación de cavidades complementarias para el reconocimiento simultáneo de los dos analitos (generación de un multisensor).

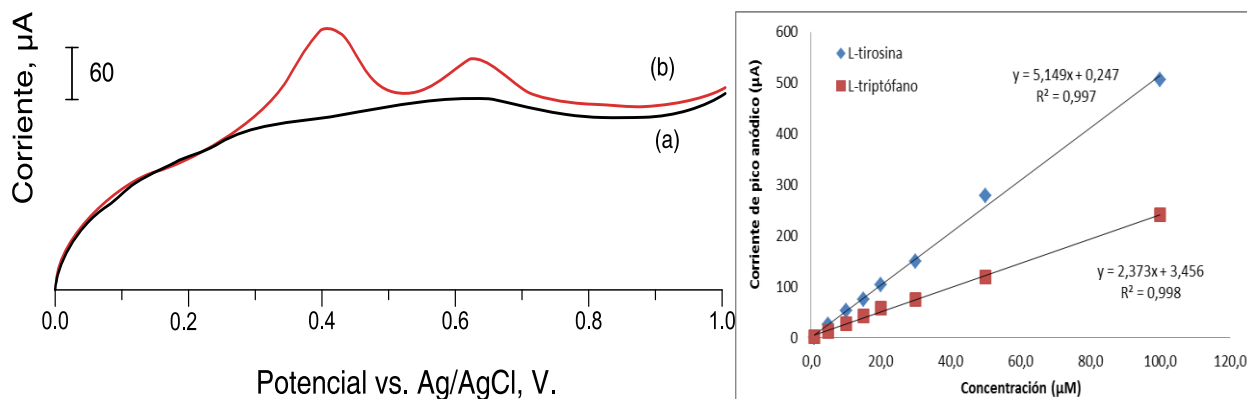


Figura 6. Enantioselectividad del multisensor de L-Tyr y L-Trp. (a) Solución de D-Tyr y D-Trp 10.0 µM en NaCl 0.1 M y pH 6.0; a velocidad de barrido de 25 mV/s. (b) Solución de L-Tyr y L-Trp 10.0 µM en NaCl 0.1 M y pH 6.0; a velocidad de barrido 25 mV/s.

En estos resultados se observa que las señales son mayores para L-tirosina que para L-triptófano, lo cual significa que en una misma solución las moléculas de tirosina viajan más rápido, forman un complejo de prepolimerización más estable y presenta una transferencia electrónica más efectiva que las moléculas de triptófano. La pérdida de sensibilidad del multisensor con respecto a los sensores individuales se debe a que ahora sobre la misma superficie se van a formar dos cavidades para diferentes moléculas, generando la disminución de “sitios de unión” disponibles para cada analito y por consiguiente las corrientes de pico anódico.

Determinación de L-tirosina y L-triptófano libre en orina humana

El multisensor se evaluó en muestras reales (orina humana), los resultados obtenidos se compararon contra los arrojados por la técnica implementada y validada en análisis clínico. Los datos obtenidos muestran que se tiene una buena correlación entre las concentraciones encontradas por ($R^2 > 0.995$ para ambos analitos) sin diferencias significativas con los métodos establecidos.

CONCLUSIONES Y/O RECOMENDACIONES

El fenómeno de reconocimiento molecular en polímeros conductores es un campo bastante

prometedor en el desarrollo de sensores útiles en las industrias alimenticia, farmacéutica, clínica y en análisis ambiental. El pH de la solución de síntesis es quizás el parámetro más importante del presente estudio, ya que dependiendo de este valor se podría estar analizando una especie totalmente diferente. El fenómeno de sobreoxidación llevado a cabo sobre el polipirrol no se da completamente, dejando al polímero con capacidad conductora iónica y eléctrica para poder generar las señales de oxidación de los aminoácidos. La síntesis de un multisensor es prometedora ya que se observa claramente como en un mismo electrodo se pueden generar ambas cavidades, sin embargo la presencia de los dos aminoácidos en el momento de la polimerización hacen que el sensor disminuya su sensibilidad. Los sensores fabricados demostraron tener buenos límites de detección que permite su utilización en muestra con concentraciones relativamente bajas. La cadena lateral de los aminoácidos aquí estudiados juega un papel importante al momento de generar la cavidad quiral en el polímero. Los análisis en muestras reales (orina humana) para la determinación de estas dos especies dejan al descubierto la verdadera posibilidad de realizar análisis clínicos con instrumentación sencilla. Con el desarrollo de este trabajo se corroboró que la concentración de las moléculas escogidas como plantillas y su capacidad para formar interacciones no covalentes con los polímeros sobre los cuales pretenden ser implantados son factores fundamentales para el desarrollo de sensores basados en el concepto MIP sobre polímeros conductores. También se observó que la sobreoxidación electroquímica no es un método muy eficiente para la extracción completa de la hipoxantina de la matriz de polipirrol, observándose con el tiempo que la película empieza a acumular sus especies oxidada xantina y ácido úrico.

Este primer estudio en nuestro grupo de investigación deja las puertas abiertas a futuras investigaciones en esta área con el compromiso de aportar un poco más a la discusión del reconocimiento molecular.

2. Productos:

Tabla No. 1. **Cantidad y tipo de productos pactados en el Acta de Trabajo y Compromiso y productos finalmente presentados**

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Productos de nuevos conocimientos				
Artículo completo publicado en revistas A1 o A2	1		1 (el manuscrito está en proceso de terminación para enviarlo a una revista internacional)	
Artículo completo publicados en revistas B	0		0	
Artículo completo publicados en revistas C	0		1	
Libros de autor que publiquen resultados de investigación	0		0	
Capítulos en libros que publiquen resultados de investigación	0		0	
Productos o procesos tecnológicos patentados o registrados	0		0	
• Prototipos y patentes	0		0	
• Software	0		0	
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial	0		0	
Normas basadas en resultados de investigación	0		0	
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis	No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis
Estudiantes de pregrado	2	1	6	1
Semillero de Investigación	1	0	4	0
Estudiantes de maestría	0	0	1	1
Estudiantes de doctorado	0	0	0	0
Productos de divulgación				



TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Publicaciones en revistas no indexadas	0		0	
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
	1	0	5	1 (Aceptada en Conferencia de Pittsburgh 2015)
Presentación de resultados en eventos de orden institucional	1		2	
Propuesta de investigación				
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.	1		1 (Convocatoria Colciencias, código del proyecto 42450)	

Tabla No. 2. Detalle de productos.

Para cada uno de los productos obtenidos y relacionados en la tabla anterior, indique la información solicitada para cada uno, anexando copia de las respectivas constancias. Como anexo a esta guía encontrará el instructivo para instructivo para la revisión de informes finales y productos

Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Por definir revista internacional
Nombre Particular:	Síntesis de sensores electroquímicos basados en el concepto de impresión molecular para la detección selectiva de los aminoácidos L-tirosina y L-triptofano
Ciudad y fechas:	Por definir
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Allan Montenegro, Simón Grueso, Jaime Restrepo, Fernando E. Larmat, Walter Torres
Sitio de información:	Por definir



Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Revista de Investigaciones, Universidad del Quindío
Nombre Particular:	Síntesis y caracterización electroquímica de polipirrol como sensor químico basado en el concepto de impresión molecular para la detección de moléculas de interés biológico
Ciudad y fechas:	Armenia, 24, 1 (suplemento), 247-248 (2013)
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Simón Grueso, Allan Montenegro, Fernando E. Larmat, Walter Torres
Sitio de información:	riuq@uniquindio.edu.co
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Memorias Congreso
Nombre General:	I Congreso Colombiano de Electroquímica
Nombre Particular:	Síntesis electroquímica de sensores basados en el concepto de impresión molecular
Ciudad y fechas:	Bogotá, 9-10 de octubre de 2014
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Allan Montenegro, Walter Torres,
Sitio de información:	Memorias del evento (los resúmenes del evento se adjuntan en la versión digital del presente informe)
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Memorias Congreso
Nombre General:	I Congreso Colombiano de Electroquímica



Nombre Particular:	Síntesis y caracterización electroquímica de polipirrol impreso molecularmente para la detección electroquímica de derivados purínicos
Ciudad y fechas:	Bogotá, 9-10 de octubre de 2014
Participantes:	Walter Torres, Fernando E. Larmat, Jaime Restrepo, Simón Grueso
Sitio de información:	Memorias del evento (los resúmenes del evento se adjuntan en la versión digital del presente informe)
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Memorias Simposio
Nombre General:	VIII Simposio Colombiano de Catálisis
Nombre Particular:	Síntesis y caracterización electroquímica de polipirrol como sensor químico basado en el concepto de impresión molecular para la detección selectiva de moléculas de interés biológico
Ciudad y fechas:	Armenia, 11-13 de septiembre de 2013
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Simón Grueso, Allan Montenegro, Fernando E. Larmat, Walter Torres
Sitio de información:	Memorias del evento (los resúmenes del evento se adjuntan en la versión digital del presente informe)
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Memorias Simposio
Nombre General:	III Simposio de Química 2013
Nombre Particular:	Síntesis y caracterización de polipirrol impreso molecularmente para la detección electroquímica de derivados purínicos
Ciudad y fechas:	Cali, 29 de octubre -1 de noviembre de 2013
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Simón Grueso, Allan Montenegro, Fernando E. Larmat, Walter Torres



Sitio de información:	Memorias del evento (los resúmenes del evento se adjuntan en la versión digital del presente informe)
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Memorias Simposio
Nombre General:	II Simposio de Química 2012
Nombre Particular:	Síntesis electroquímica y caracterización de polímeros conductores como sensores químicos basados en impresión molecular
Ciudad y fechas:	Cali, 1-2 de noviembre de 2012
Participantes:	Cesar Arizabaleta, Simón Grueso, Jaime Restrepo, Fernando E. Larmat, Walter Torres
Sitio de información:	Memorias del evento (los resúmenes del evento se adjuntan en la versión digital del presente informe)
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica
Tipo de producto:	Trabajo de Investigación
Nombre General:	Trabajo de investigación de maestría del estudiante de posgrado en Ciencias-Química Cesar Alberto Arizabaleta Ibarbo (2014)
Nombre Particular:	Uso de polímeros conductores como sensores químicos basados en el concepto de impresión molecular.
Ciudad y fechas:	Cali (defensa por parte del estudiante se realizara en noviembre 5 de 2014)
Participantes:	Cesar Arizabaleta y Walter Torres (Director)
Sitio de información:	Posgrado en Ciencias-Química, Departamento de Química, Universidad del Valle
Formas organizativas:	Electroquímica
Tipo de producto:	Trabajo de Grado



Nombre General:	Trabajo de grado del estudiante de pregrado en Química Simón Grueso Casquete (2014)
Nombre Particular:	Detección de hipoxantina con un sensor electroquímico basado en el concepto de impresión molecular sobre polipirrol
Ciudad y fechas:	Cali (Defensa por parte del estudiante se realizó el 17 de octubre de 2014)
Participantes:	Simón Grueso Casquete y Walter Torres (Director)
Sitio de información:	Departamento de Química, Universidad del Valle
Formas organizativas:	Grupo de Electroquímica

3. Impactos actual o potencial:

Haga una descripción y/o relacione los impactos que tenga el proyecto en los diferentes ámbitos: académico, productivo, social, educativo, entre otros.

Si posee información acerca de los impactos actuales o potenciales de la investigación, preséntela en máximo una página. Se refiere a los aportes que ofrece en el campo de investigación al que corresponde. Incluye las tecnologías y resultados de IDi que puedan transferirse a los sectores productivos y de servicios, tanto nacionales como internacionales.

Impactos científicos: Se generaron 2 artículos: uno publicado en revista nacional y el otro será enviado a una revista internacional. Se presentaron 5 ponencias en congresos nacionales y se presentará una en un congreso internacional.

Impactos tecnológicos: El fenómeno de reconocimiento molecular en polímeros conductores es un campo bastante prometedor para la industrias alimenticia, farmacéutica y clínica, y en análisis ambiental. La síntesis de un multisensor es prometedora ya que se observa claramente como en un mismo electrodo se puede generar reconocimiento simultáneo de analitos similares. Los sensores fabricados demostraron tener buenos límites de detección y cuantificación que permite su utilización en muestras con concentraciones relativamente bajas. Los análisis en muestras reales (orina humana) para la determinación de estas dos especies dejan al descubierto la verdadera posibilidad de realizar análisis clínicos con instrumentación básica sencilla

Potenciales beneficios para la sociedad: Se demostró que los sensores basados en el



concepto MIP pueden llevar a una alternativa óptima para la determinación de moléculas de interés bioquímico.

La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones