

**UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN
POLÍMEROS Y MATERIALES**

C. J. N. G.
286

**“PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
PELÍCULAS DE POLIANILINA
ELECTROCONDUCTORA CON APLICACIÓN
POTENCIAL EN BIOSENSORES PARA ÁCIDO ÚRICO
Y UREA”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN POLÍMEROS Y
MATERIALES**

**Presenta:
DORA EVELIA RODRÍGUEZ FÉLIX**

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



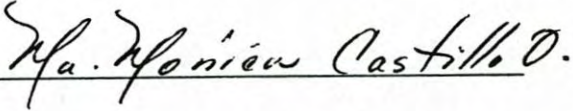
"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

CARTA DE APROBACION

Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de maestría de Dora Evelia Rodríguez Félix, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, en el programa de Maestría en Polímeros y Materiales



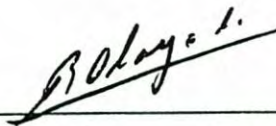
Dra. María Mónica Castillo Ortega
Presidente



Dra. Rosa Elena Navarro Gautrín
Secretaria



M.C. Heriberto Grijalva Monteverde
Vocal



Dr. Roberto Olayo González
Vocal externo

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos
Por el apoyo brindado

A mi novio Guillermo
Por acompañarme en mi camino

AGRADECIMIENTOS

A Dios: por haberme dado vida y salud y con ello la oportunidad de terminar una etapa importante en mi vida.

Al Centro de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora: por haberme recibido durante estos dos años.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: por la ayuda otorgada para la realización de mis estudios de posgrado, así como en la realización de mi Tesis de Maestría dentro del proyecto 31334-U.

A la Dra. María Mónica Castillo Ortega: por su acertada dirección y asesoría otorgadas para la realización de esta tesis.

Al Dr. Roberto Olayo González: de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa por las asesorías brindadas para la realización de este trabajo.

A M.C. José Carmelo Encinas: por haber realizado las propiedades mecánicas

Al Laboratorio Clínico del Hospital Infantil del Estado de Sonora y al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado: Por la aportación de las muestras de sueros sanguíneos

Finalmente quiero agradecer a mis maestros, compañeros y a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron en la realización de este trabajo.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABLAS.....	vi
OBJETIVOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
I INTRODUCCIÓN.....	1
II ASPECTOS TEÓRICOS	6
2.1 POLÍMEROS SEMICONDUCTORES	6
2.1.1 POLIANILINA	8
2.2 MATERIALES COMPUESTOS, COMPOSITOS	12
2.3 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	13
2.4 PROPIEDADES MECÁNICAS	19
2.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	22
2.6 BIOSENSOR	26
2.6.1 TIPOS DE BIOSENSORES BASADOS EN EL TRANSDUCTOR.....	31
2.6.2 IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO Y UREA	33
III EXPERIMENTAL	38
3.1 SÍNTESIS DE PERCLORATO DE POLIANILINA (PAnClO ₄)	38
3.2 PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS	38
3.2.1 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS CON VARIACIÓN EN LA CANTIDAD DE POLIANILINA EMPLEADA	40
3.2.2 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIANILINA CON VARIACIÓN EN LA CANTIDAD DE DISPERSANTE UTILIZADO	40
3.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS	45
3.3.1 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	45
3.3.2 PROPIEDADES MECÁNICAS	45
3.3.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	46
3.3.3.1 POLIANILINA EN POLVO	46
3.3.3.2 PELÍCULAS	46
3.4 APLICACIÓN	46
3.4.1 SENSIBILIDAD AL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H ₂ O ₂)	46

3.4.2	SENSIBILIDAD AL HIDRÓXIDO DE AMONIO (NH ₄ OH)	47
3.4.3	BIOSENSOR PARA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO.	47
3.4.4	BIOSENSOR PARA DETERMINACIÓN DE UREA	47
3.4.5	DETERMINACIÓN DEL VALOR DE ÁCIDO ÚRICO SÉRICO	48
3.4.6	DETERMINACIÓN DEL VALOR DE UREA SÉRICA	48
3.4.7	REUSO DE LAS PELÍCULAS DE POLIANILINA	49
3.4.8	DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ERROR EN LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN	49
IV	RESULTADOS	50
4.1	SÍNTESIS DE PAnClO ₄	50
4.2	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	50
4.2.1	DISMINUCIÓN DE LA CANTIDAD DE POLIANILINA EN LA PREPARACIÓN DE PELÍCULAS	50
4.2.2	PELÍCULAS ELABORADAS CON DIFERENTES CANTIDADES DE DISPERSANTE	51
4.3	PROPIEDADES MECÁNICAS	54
4.4	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	57
4.5	APLICACIONES	61
4.5.1	SENSOR DE H ₂ O ₂ E NH ₄ OH	61
4.5.2	BIOSENSOR PARA ÁCIDO ÚRICO Y UREA	69
4.5.3	COMPARACIÓN DE LOS VALORES OBTENIDOS DE ÁCIDO ÚRICO Y UREA EN SUEROS SANGUÍNEOS	72
4.6	REUSO DE LAS PELÍCULAS DE POLIANILINA	77
4.7	PORCENTAJE DE ERROR EN LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN	80
	CONCLUSIONES	85
	BIBLIOGRAFÍA	87

LISTA DE FIGURAS

1	Polímeros electroconductores mas estudiados	7
2	Mecanismo propuesto para la síntesis de polianilina	9
3	Formas de la polianilina a distintos niveles de oxidación	10
4	Teoría simple de bandas	16
5	Teoría de bandas para polímeros	18
6	Representación esquemática de: a)Prueba esfuerzo-deformación, b)Experimento a carga constante, c)Experimento de relajación del esfuerzo	21
7	Partes básicas del microscopio electrónico de barrido	24
8	Representación esquemática de un biosensor	27
9	a) Reacción enzimática del ácido úrico, b) Reacción enzimática de la urea	29
10	Efectos sobre la cadena de polianilina. a) H ₂ O ₂ , b) NH ₄ OH	30
11	Catabolismo de los nucleósidos purínicos	34
12	Sistema de síntesis de la polianilina	39
13	Preparación de las películas. Método de "Casting"	41
14	Micrografía por SEM del polvo de polianilina	58
15	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn sin dispersante	59
16	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn sin dispersante	60
17	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn y con proporción PVME/PAn de 0.1	62
18	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn y con proporción PVME/PAn de 0.1.....	63
19	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn y una proporción PVEE/PAn de 0.1	64
20	Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn y una proporción PVEE/PAn de 0.1	65
21	Cambio en resistencia eléctrica a diferente concentración de solución de H ₂ O ₂ (mM) en películas al 33% de polianilina y proporción de PVME/PAn igual a 0.1	66
22	Cambio en resistencia eléctrica para diferente concentración de solución de NH ₄ OH (mM) en películas al 13% de PAn y una razón PVME/PAn igual a 0.1	68

23	Cambio en resistencia eléctrica para concentración diferente de solución de ácido úrico (mg/dl) en películas al 33% de PAn y proporción PVME/PAn de 0.1	70
24	Cambio en resistencia eléctrica para diferente concentración de solución de urea (mg/dl) en películas al 13% de PAn y proporción PVME/PAn de 0.1	71
25	Comparación de los valores de ácido úrico (mg/dl) del método propuesto y el método de referencia	74
26	Comparación de los valores de urea (mg/dl) del método propuesto y el método de referencia	76
27	Cambio de resistencia eléctrica en películas al 13% de PAn y 0.1 de PVME, por tratamientos sucesivos en NH_4OH 13mM y HCl 1M	78
28	Resistencia eléctrica presentada por la película después de cada exposición a HCl 1M	79
29	Cambio en resistencia eléctrica a diferente concentración de solución de H_2O_2 (mM), con porcentaje de error incluido	81
30	Cambio en resistencia eléctrica para diferente concentración de solución de NH_4OH (mM), con porcentaje de error incluido	82
31	Cambio en resistencia eléctrica para concentración diferente de solución de ácido úrico (mg/dl), con porcentaje de error incluido	83
32	Cambio en resistencia eléctrica para diferente concentración de solución de urea (mg/dl), con porcentaje de error incluido	84

LISTA DE TABLAS

1	Ejemplos de compositos preparados en estudios recientes	14
2	Comparación entre microscopio de luz, microscopio electrónico de barrido y de transmisión	25
3	Tipos de transductores	32
4	Cantidades empleadas en la elaboración de películas con disminución en el % en peso de polianilina	42
5	Cantidades utilizadas en la preparación de películas al 13% en peso de polianilina con variación de la cantidad de dispersante	43
6	Cantidades utilizadas en la preparación de películas al 33% en peso de polianilina con variación de la proporción de dispersante/PAn	44
7	Conductividad eléctrica en S/cm de películas de PAn-PBMA con una proporción de dispersante/PAn igual a 0.1	52
8	Conductividad eléctrica en S/cm en películas de PAn-PBMA con 13% de PAn	53
9	Conductividad eléctrica en S/cm para películas de PAn-PBMA con 33% de PAn	55
10	Propiedades mecánicas en películas de PAn-PBMA, Dispersante-PBMA, y PAn-PBMA-Dispersante, preparadas con una proporción dispersante/PAn de 0.1	56
11	Valores de ácido úrico (mg/dl), obtenidos en muestras séricas analizadas por el método de referencia y por nuestro método	73
12	Valores de urea (mg/dl), obtenidos en muestras séricas analizadas por el método de referencia y por nuestro método	75

OBJETIVOS

Elaboración de mezclas homogéneas de polianilina con termoplásticos que presenten buenas propiedades eléctricas y mecánicas.

Utilizar las películas elaboradas como sensores químicos de peróxido de hidrógeno e hidróxido de amonio.

Utilizar las películas elaboradas en la determinación de ácido úrico y urea en muestras séricas

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizó perclorato de polianilina mediante polimerización química oxidativa de la anilina para llevar a cabo la preparación de películas de mezclas de polianilina-poli(n-butilmetacrilato) (PBMA) con Poli (vinil metil éter) (PVME) y polianilina-poli(n-butilmetacrilato) con poli (vinil etil éter) (PVEE). El PVME y el PVEE se utilizaron como dispersantes. El porcentaje en peso de la polianilina se varió del 4 al 33% en las películas preparadas con poli (vinil metil éter), y del 3 al 33% en las películas con poli(vinil etil éter). La proporción dispersante/polianilina utilizada fue igual a 1. Tomando como base un trabajo anterior donde se hizo un barrido de porcentajes de polianilina y se encontró que los porcentajes igual a 13 y 33 proporcionan las propiedades eléctricas y mecánicas adecuadas para los siguientes estudios, se elaboraron películas al 13 y 33% en peso de polianilina y se varió la proporción dispersante/polianilina desde 1 a 0.05. Se determinó la conductividad eléctrica de todas las películas preparadas.

Se llevaron a cabo estudios de esfuerzo a la ruptura y porcentaje de deformación a la ruptura de las películas al 13 y 33% en peso de polianilina, con proporción dispersante/polianilina igual a 0.1.

Mediante microscopía electrónica de barrido se analizaron la polianilina en polvo, la sección transversal de películas al 13 y 33% en peso de polianilina sin dispersantes, con poli(vinil metil éter) y con poli(vinil etil éter).

Basados en los cambios de la resistencia eléctrica de las películas. al 13 y 33% en peso de polianilina con proporción poli(vinil metil éter)/polianilina igual a 0.1, se llevó a cabo el estudio de sensibilidad al peróxido de hidrógeno y al hidróxido de amonio, respectivamente,

Midiendo los cambios en la resistencia eléctrica de las películas al 33% en peso de polianilina se determinó la sensibilidad hacia soluciones estándar de ácido úrico en presencia de la enzima uricasa. Posteriormente se analizaron sueros sanguíneos proporcionados por el laboratorio clínico del Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES); los valores de ácido úrico obtenidos por nuestro método fueron comparados con los valores obtenidos por el método PAP, reportados por el HIES.

El estudio de sensibilidad de las películas al 13% en peso de polianilina hacia soluciones estándar de urea en presencia de la enzima ureasa, se llevó a cabo tomando como base el cambio en resistencia eléctrica de la película. Posteriormente se analizaron sueros proporcionados por el laboratorio clínico del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) en Hermosillo; los valores de urea sérica obtenidos por nuestro método fueron comparados con valores obtenidos por el método estándar enzimático, reportados por el ISSSTE.

Se determinó el porcentaje de error de las pruebas de sensibilidad al peróxido de hidrógeno, hidróxido de amonio, ácido úrico y urea.

Finalmente, se realizó un estudio del reuso de las películas al 13% en peso de polianilina en la prueba de sensibilidad al hidróxido de amonio; para lo cual se trataron primero con hidróxido de amonio y enseguida con ácido clorhídrico, durante 8 ciclos.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

A partir del descubrimiento de las películas conductoras de poliacetileno en 1977, en la comunidad científica e ingenieril ha surgido un gran interés en el estudio de los polímeros intrínsecamente conductores [1].

Todos los polímeros conjugados son semiconductores con bandas anchas de energías prohibidas superiores a 2 eV. Algunos de ellos presentan conductividades pequeñas de origen extrínseco debido a agentes externos, pero la mayoría son aislantes. Únicamente se transforman en conductores al “introducir” o “extraer” electrones de las cadenas, lo cual viene acompañado de una intercalación simultánea de contraiones dentro de la cadena que compensan el exceso de carga. A lo anterior se le denomina proceso de dopaje. Este proceso, generalmente reversible, puede provocar variaciones en la conductividad eléctrica del orden de 1 a 1×10^5 S/cm dependiendo del material [2].

Polímeros conductores como poliacetileno, poli(p-fenileno), poli(fenileno vinileno) y poli(2,5-piridina) pueden ser dopados química o electroquímicamente mediante una oxidación (tipo p) o una reducción (tipo n) de sus películas delgadas y polvos. Estos polímeros dopados en general son insolubles en solventes orgánicos [3].

La polianilina, el polipirrol, el politiofeno, el poliacetileno, el poli(p-fenileno) y el poli(p-sulfuro de fenileno), son polímeros altamente intratables e infusibles por su naturaleza altamente aromática, los enlaces de hidrógeno intercadena y los efectos de deslocalización de la carga que presentan.

La insolubilidad e infusibilidad de los polímeros conductores representa una gran desventaja en el área de aplicaciones, este problema se logra resolver

elaborando mezclas de polímeros conductores con polímeros convencionales, las cuales presentan buenas propiedades eléctricas y mecánicas.

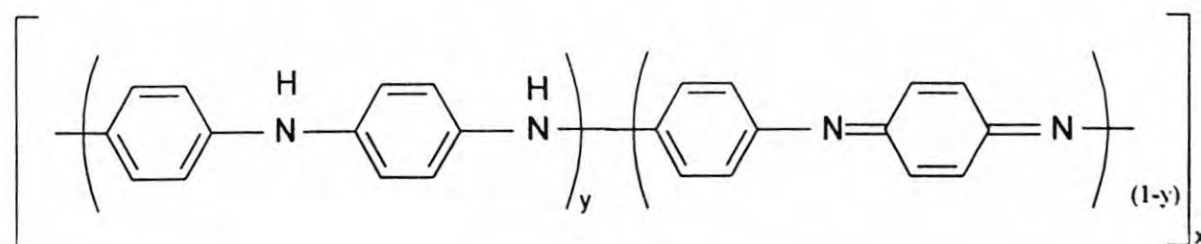
Una de las áreas activas de investigación de importancia científica e industrial ha sido elaborar polímeros eléctricamente conductores, procesables, fusibles o solubles en solventes comunes [1].

La preparación de materiales compuestos ó compositos formados entre polímeros conductores y polímeros procesables no conductores ha sido ampliamente considerado como una solución potencial al problema de procesabilidad de los polímeros conductores. Un camino para elaborar esos compositos incluye la síntesis de polímeros conductores dentro de matrices de polímeros convencionales, utilizando tanto el método de polimerización química como electroquímica [4].

En el presente trabajo de investigación se prepararon compositos con polianilina ya que es uno de los polímeros conductores más intensamente estudiados en los últimos 15 años, debido a sus propiedades químicas, ópticas, electrónicas y estabilidad ambiental [5,6].

La polianilina está compuesta de unidades repetidas de anilina conectadas para formar una cadena de átomos de nitrógeno y anillos benceno alternados [7]. Puede ser dopada por protonación con un ácido protónico o por transferencia de carga con un agente oxidante. Ambos métodos de dopaje conducen a una polianilina dopada tipo p con un incremento de conductividad de 10^{-9} hasta alrededor de 1 S/cm [3].

La forma base de los polímeros de polianilina llamada también emeraldina pueden en principio ser descrita por la fórmula general:



El estado de oxidación de la polianilina, en donde se encuentra constituida por igual número de unidades oxidadas y reducidas, $(1 - y) = 0.5$, se le conoce como emeraldina base [8].

Entre las principales aplicaciones de los polímeros conductores se encuentra la construcción de biosensores, diodos de emisión de luz, dispositivos moleculares, ventanas inteligentes, transistores, baterías recargables y anticorrosión [9]. El presente trabajo se enfoca en la aplicación de sensores y biosensores.

En años recientes, se han estudiado materiales poliméricos nuevos para ser utilizados como sensores en los campos de la química, ingeniería y la biomedicina. Estos materiales trabajan principalmente basándose en el cambio de sus propiedades eléctricas, las cuales son moduladas por interacción con diversas sustancias químicas [10].

Los polímeros conductores dopados funcionan como sensores basados en el cambio de sus propiedades eléctricas bajo exposición al ambiente sensor [10].

Entre los principales componentes biológicos de biosensores se encuentran: anticuerpos, antígenos, microorganismos y enzimas. En este trabajo se estudió la construcción de biosensores enzimáticos.

Los biosensores enzimáticos han obtenido gran importancia, por tanto, investigaciones recientes en diversos laboratorios han llevado a cabo el desarrollo de biosensores amperométricos basados en enzimas, para diferentes sustratos [11].

El ensayo enzimático de sustratos ofrece algunas ventajas sobre los métodos químicos, principalmente especificidad y reducción de interferencias. Un elevado número de enzimas está siendo aislado y purificado, y el uso de enzimas con fines analíticos se está expandiendo continuamente.

Desafortunadamente las ventajas de los métodos enzimáticos están condicionadas por el costo y la inestabilidad de los reactivos requeridos.

Progresos recientes en la química de enlaces de enzimas permiten la preparación de reactores de enzimas inmovilizadas, los cuales pueden ser usados repetidamente. Además de proporcionar ventajas económicas, el uso de enzimas inmovilizadas reduce algunos problemas de inestabilidad de las enzimas en solución [12].

Es muy importante encontrar nuevas rutas de reactores versátiles de enzimas. El acoplamiento de la especificidad del proceso de reconocimiento bioanalítico con la alta sensibilidad de transductores amperométricos produce métodos electroquímicos prácticos basados en enzimas para aplicaciones de rutina clínica e industrial [13].

Existen una gran variedad de biosensores para determinación de analitos como glucosa, creatinina, urea y ácido úrico; estos dos últimos analitos forman parte del presente trabajo.

La construcción de un biosensor para determinación de urea mediante la enzima ureasa ha sido de continuo interés, desde que Guilbault y col elaboraron el primero [14].

La importancia en la construcción de un biosensor para urea radica en que valores elevados de urea sérica permiten detectar problemas como glomerulonefritis aguda, nefritis crónica, riñón poliquístico, nefrosclerosis, nefrosis tubular y obstrucción del tracto urinario.

Se ha propuesto, también, la construcción de varios biosensores para determinación de ácido úrico en muestras biológicas tomando como base que la uricasa (EC 1.7.3.3) cataliza la oxidación selectiva del ácido úrico, [15].

La determinación de ácido úrico es importante ya que se ha reportado una asociación entre los niveles elevados de ácido úrico sérico y preeclampsia

[16], la preeclampsia es un síndrome que se presenta a partir de la vigésima semana de gestación que se caracteriza principalmente por hipertensión arterial y proteinuria [17]. Se sugiere que la concentración de ácido úrico sérico es el indicador más sensible de preeclampsia utilizado en clínicas [16].

En el Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales se realizó un estudio retrospectivo de 100 pacientes con hipertensión inducida por el embarazo atendidas en el Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES) de 1996 a 1997; donde se encontró que en el 33% de los casos se presentaron niveles elevados de ácido úrico; de esta población el 96.9% presentó preeclampsia severa o eclampsia. Tomando los casos anteriores el 84.3% presentó preeclampsia severa y el 15.6% eclampsia.[17].

A partir de los datos anteriores y de la importancia que tiene la detección de metabolitos específicos en el presente trabajo se llevó a cabo la elaboración de películas de polianilina electroconductora con aplicación potencial en la construcción de biosensores conductimétricos para determinación de urea y ácido úrico en suero sanguíneo.

CAPÍTULO II

ASPECTOS TEÓRICOS

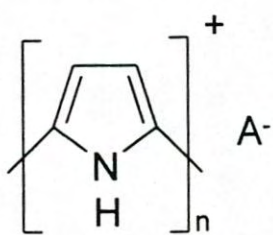
2.1 POLÍMEROS SEMICONDUCTORES

Un polímero es una molécula grande compuesta de muchas moléculas pequeñas (los monómeros) que se repiten y se unen entre sí [18].

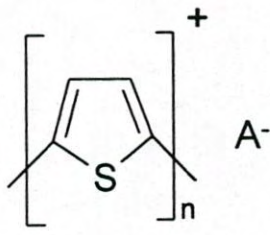
Los polímeros con electrones π conjugados en su estructura presentan propiedades electrónicas inusuales tales como transiciones ópticas de baja energía, bajos potenciales de ionización y alta afinidad electrónica. Representan una clase de polímeros que pueden ser oxidados o reducidos reversiblemente de manera más fácil que los polímeros convencionales. Determinados agentes de transferencia de carga (dopantes) efectúan esta oxidación o reducción para convertir un polímero aislante a un polímero conductor con valores de conductividad eléctrica cercana a la metálica en muchos casos [16].

Los polímeros conductores mas estudiados son polipirrol, politiofeno y polianilina, los cuales se muestran en la Figura 1 [19].

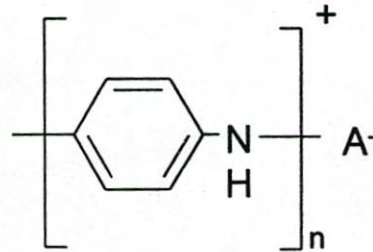
Es posible crear polímeros conductores con un abanico muy amplio de propiedades. Por ejemplo, las propiedades químicas pueden ser manipuladas para producir materiales capaces de atrapar aniones simples o para casos bioactivos. Las propiedades eléctricas también pueden ser manipuladas para obtener materiales con diferentes conductividades y diferentes propiedades redox. La aplicación de estímulos eléctricos puede provocar un cambio drástico en las propiedades químicas, eléctricas y mecánicas de los polímeros conductores. Estas propiedades complejas podrán ser controladas únicamente si se entiende, primero la naturaleza del proceso que se determina durante la síntesis y segundo, la extensión con que esas propiedades son cambiadas por



Polipirrol



Politiofeno



Polianilina

Figura 1. Polímeros electroconductores mas estudiados

la aplicación del estímulo. Estos procesos son bien conocidos actualmente, así existe un campo fértil para investigaciones científicas sobre materiales inteligentes[19].

Un material inteligente es aquel que presenta reconocimiento apropiado a un estímulo ambiental [19].

2.1.1 POLIANILINA

La polianilina es dopada para pasar de un aislante a un conductor mediante protonación y oxidación, de hecho, los dos pasos ocurren al mismo tiempo [19].

El heteroátomo de nitrógeno en la polianilina participa directamente en el proceso de polimerización (la polianilina polimeriza cabeza – cola) y además participa en la conjugación de la forma conductora del polímero [19]. En la Figura 2 se muestra el mecanismo propuesto para su síntesis.

Los estados de oxidación de las tres formas estables de la polianilina pueden ser cambiadas entre ellas de forma reversible, como se muestra en la Figura 3. La forma más conductora es comúnmente conocida como poliemergaldina [19].

La polianilina puede ser polimerizada por métodos electroquímicos ó químicos [19].

La electropolimerización de anilina para formar un polímero conductor requiere de soluciones en condiciones fuertemente ácidas. Esto es importante ya que el monómero de anilina es soluble en agua únicamente bajo condiciones ácidas. Además, la forma conductora de la polianilina se logra únicamente en condiciones ácidas, ya que el polímero es dopado por protonación y oxidación [19].

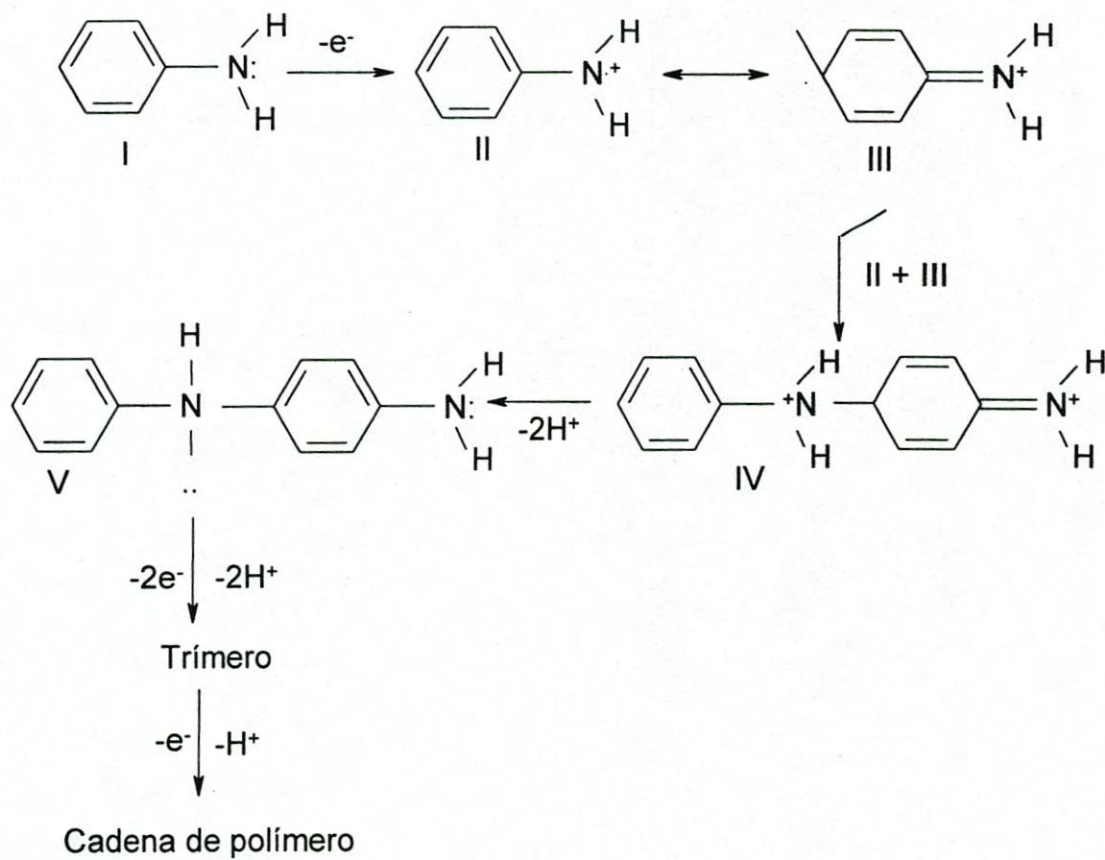


Figura 2. Mecanismo propuesto para la síntesis de polianilina

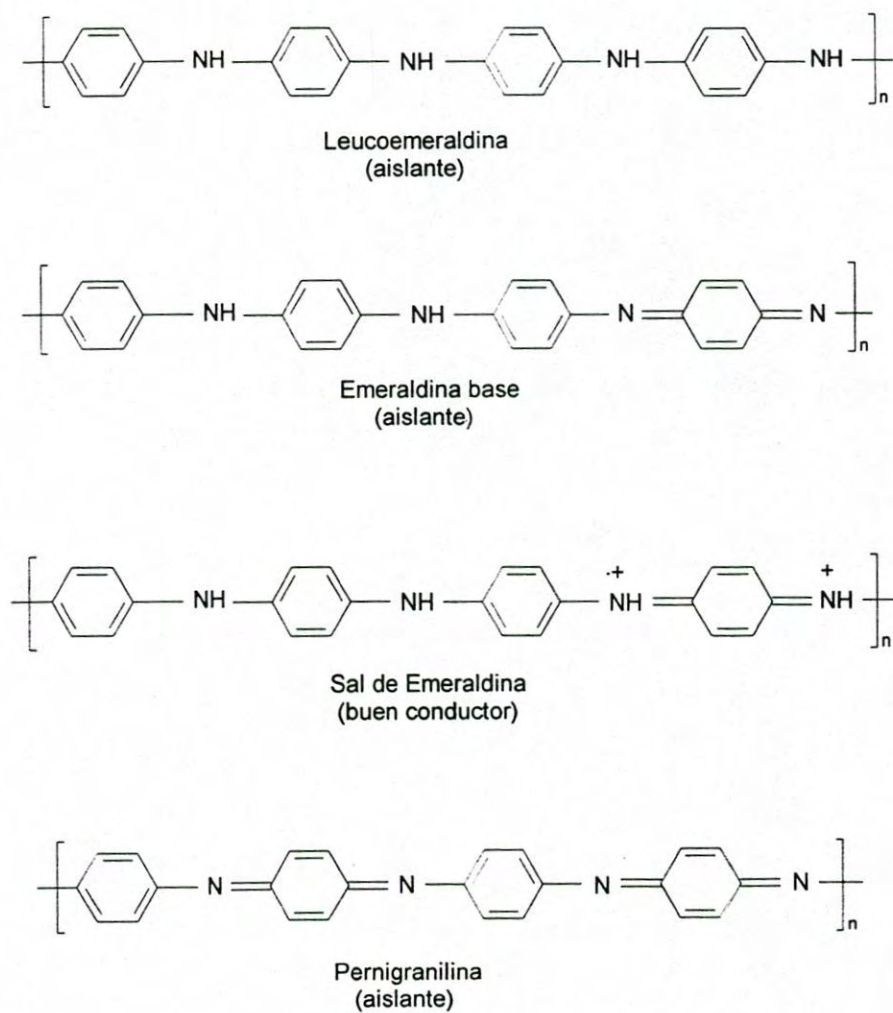


Figura 3. Formas de la polianilina a distintos niveles de oxidación

La oxidación anódica de la anilina es generalmente llevada a cabo sobre un electrodo de material inerte, el cual es usualmente platino. Sin embargo, en algunos estudios se han empleado electrodos de otros materiales, entre los que se encuentran plata, cobre, zinc, paladio y diferentes tipos de carbón (vítreo, pirólico ó grafito) [20].

La oxidación anódica de la anilina es normalmente efectuada a temperatura ambiente. Genies y col. han notado que la velocidad de reacción es proporcional a la temperatura en el rango de 0 a 60 °C [20].

Investigaciones recientes llevadas a cabo por diferentes grupos de investigadores han llegado a la conclusión de que la velocidad de electrodeposición de polianilina en medio acuoso es influenciada por la concentración del anión y no por la concentración del ácido, aunque las condiciones ácidas son requeridas para la polimerización. La ventaja de este método sobre el método químico es la obtención de un producto "limpio" y no requiere normalmente ser extraído de la mezcla inicial de monómero-oxidante-solvente [20].

En la polimerización química la fuerza oxidante del electrodo es suplida por un oxidante químico en la solución [19].

Cuando la anilina se mezcla con el oxidante químico en un matraz de reacción y permanece por cierto tiempo, la solución va adquiriendo color gradualmente y aparece un precipitado negro. La coloración del solvente se atribuye a la formación de oligómeros solubles [20].

Generalmente la reacción es llevada a cabo en medio ácido principalmente, en particular en ácido sulfúrico, a un pH entre 0 y 2. La polimerización de anilina ha sido estudiada por Lacaze y col. en medio neutro y básico; y por Genies y col. en acetonitrilo y en soluciones acuosas con valores de pH comprendidos entre 9 y 10. La concentración empleada de

monómero varía grandemente en los diferentes trabajos y está comprendida entre 0.01 y 1M [20].

Según Jozefowics y col. han mostrado que la oxidación de la anilina por un oxidante químico puede ocurrir a temperatura ambiente. En algunos casos, cuando se estudió la misma reacción en el intervalo de 0 – 80°C se encontró que ésta se lleva a cabo con velocidad de reacción dependiente de la temperatura aplicada [20].

En general, el polímero sintetizado es aislado desde el medio de reacción por filtración. El precipitado es entonces lavado usando un solvente apropiado [20].

2.2 MATERIALES COMPUESTOS, COMPOSITOS

Originalmente el término composito surgió en ingeniería cuando dos o más materiales fueron combinados para rectificar algunos defectos de un componente particularmente útil [21].

Un composito puede ser definido como una mezcla heterogénea de dos o más fases homogéneas que han sido unidas simultáneamente, aunque no resulta fácil distinguir a simple vista la existencia de las dos fases, el composito resultante puede ser visto como un material heterogéneo. En nuestra vida diaria convivimos con estos materiales, ya que muchos compositos son materiales naturales, tales como madera; y otros fabricados como llantas de automóviles, plásticos reforzados con fibra de vidrio, carburos cementados usados como herramientas cortantes, papel que es un composito consistente de fibras de celulosa (algunas veces con relleno, a menudo arcilla) [21].

Usualmente la combinación de materiales proporciona propiedades propias distintivas, tales como hacerlo mucho mas duro que alguno de los

materiales constituyentes en particular, o dándole alguna otra propiedad que no es claramente presentada por alguno de los componentes del material.

En un composito las propiedades de la matriz son seleccionadas usualmente de tal manera que sean complementarias a las propiedades de la fase dispersa [21].

En algunas ocasiones el término composito polímero-polímero (cpp) se refiere a un material en el cual moléculas rígidas de polímero (reforzamiento) están dispersas a escala molecular en un polímero flexible (matriz) de composición química similar. A este nivel los compositos son algunas veces conocidos como compositos moleculares [21].

Una ruta para el procesamiento de polímeros conductores ha sido el desarrollo de compositos de polímeros conductores. Los componentes adicionados son elegidos por sus propiedades mecánicas y químicas tales como cohesión, adhesión, estabilidad al aire y flexibilidad [21]. En la tabla 1 se muestran algunos ejemplos de compositos de polímeros conductores con polímeros convencionales estudiados recientemente.

2.3 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Las propiedades eléctricas de algunos materiales están determinadas por su estructura electrónica. La teoría que explica mas razonablemente la estructura electrónica de los materiales es la teoría de bandas en el estado sólido, según ésta, los orbitales atómicos de cada átomo se traslapan con los orbitales de sus átomos vecinos en todas direcciones para producir orbitales moleculares similares a éstos. En moléculas pequeñas de un sólido, el número de orbitales atómicos es alrededor de 10^{22} por cm^3 y por tanto el número de orbitales moleculares será 10^{22} por cm^3 . Cuando muchos orbitales son espaciados al mismo tiempo en un intervalo dado de energías, forman

Tabla 1. Ejemplos de compositos preparados en estudios recientes

COMPOSITO	AUTOR, AÑO
Polianilina-Ácido sulfónico de 3-pentadecil anisol-Poli(cloruro de vinilo)	Raji K. Paul, 2000 [1]
Polipirrol-Poli(vinil acetato)	Mukut Chakraborty, 1998 [4]
Poliestireno-Etilen vinil acetato- negro de carbón	M. Narkis, 2000 [10]
Etilen vinil acetato-carbón negro	M. Narkis, 2000[10]
Poliestireno-Etilen vinil acetato	M. Narkis, 2000[10]
Polianilina-Porapak S	E. Dalas, 2000[22]
Polipirrol-Porapak S	E. Dalas, 2000 [22]
Polianilina-Poli (metil metacrilato)	Pascal Juvin, 1999 [23]
Polianilina-Óxido de polietileno	Swati Unde, 1998 [24]
Polianilina-Acrilonitrilo butadieno estireno	Sarswati Koul, 2001[25]
Polipirrol-Poli (cloruro de vinilo carboxilado)	M.M. Castillo-Ortega, 2001[26]

bandas continuas de energía. La energía de espaciamiento entre la banda mas alta ocupada y la mas baja desocupada es llamada intervalo de banda. La banda mas alta ocupada es llamada banda de valencia y la banda mas baja desocupada es la banda de conducción, como se muestra en la Figura 4 [27].

Las propiedades eléctricas de materiales convencionales dependen de como son llenadas las bandas. Cuando las bandas estan llenas o vacías, no ocurre conducción. Si el intervalo de banda es estrecho, la excitación térmica de los electrones desde la banda de valencia a la banda de conducción proporciona conductividad a temperatura ambiente. Esto es lo que ocurre en semiconductores clásicos. Cuando el intervalo de banda es demasiado amplio, la excitación térmica a temperatura ambiente es insuficiente para excitar electrones a través del intervalo de banda y el sólido es entonces aislante. La alta conductividad de metales es debida a bandas parcialmente ocupadas, una banda de conducción parcialmente llena y una banda de valencia parcialmente vacía ó un intervalo de banda cero [27].

Los polímeros conductores son partículas que conducen corriente sin tener una banda parcialmente vacía ó parcialmente llena. Su conductividad eléctrica no puede ser bien explicada por la teoría simple de bandas, para explicar algunos de los fenómenos electrónicos en estos polímeros orgánicos, se han aplicado conceptos físicos que son nuevos para los químicos, donde se incluye polarones y bipolarones, desde alrededor de 1980 [27].

Cuando un electrón es removido desde la parte superior de la banda de valencia de un polímero conjugado, tal como poliacetileno ó polipirrol, se crea una vacancia (hueco o catión radical) que no está deslocalizada completamente, como sería esperado desde la teoría clásica de bandas, sino que, únicamente ocurre una deslocalización parcial, extendiéndose sobre algunas unidades monoméricas y causando una deformación estructural. El

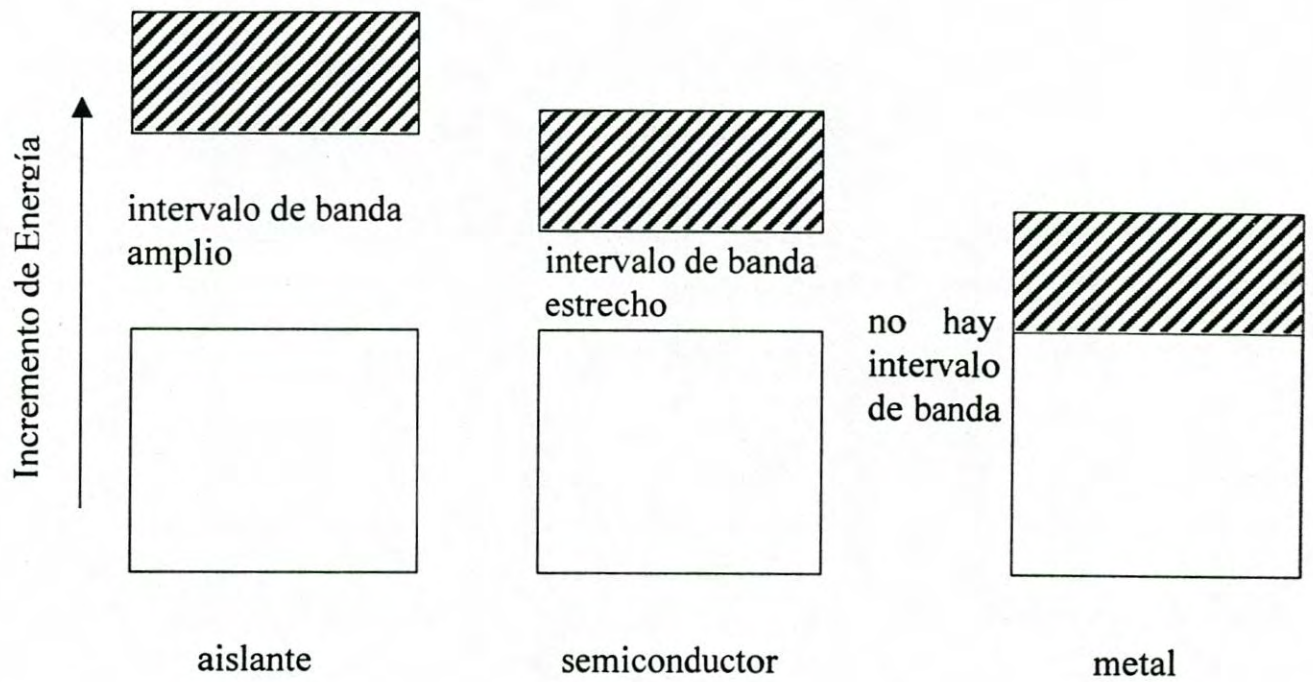




Figura 4. Teoría simple de bandas.  Niveles de energía en la banda de conducción.  Niveles de energía en la banda de valencia

nivel de energía asociado con este catión radical representa un orbital de enlace desestabilizado y tiene una mas alta energía que las energías en la banda de valencia. En otras palabras, esta energía es un intervalo de banda. Este incremento de energía es similar al aumento de energía que toma lugar después que un electrón es removido desde un orbital molecular de enlace lleno [27].

En física del estado sólido, un catión radical que está parcialmente deslocalizado sobre algunos segmentos de polímeros es llamado polarón. Esto estabiliza al mismo por polarización alrededor del medio, de aquí el nombre. Puesto que es realmente un catión radical, un polarón tiene un spín de $\frac{1}{2}$ [27].

Si otro electrón es ahora removido desde el polímero oxidado conteniendo el polarón, dos cosas pueden ocurrir: un electrón podría aparecer desde otro segmento diferente de cadena de polímero, creando así otro polarón independiente, o desde el primer nivel de polarón (remoción de un electrón no apareado) para crear un dicatión especial, al cual los físicos del estado sólido llamaron bipolarón [27].

Las dos cargas positivas del bipolarón no son independientes, sino que actúan como un par. Ambos, polarones y bipolarones son móviles y pueden moverse a lo largo de la cadena del polímero por el arreglo del doble y simple enlace en el sistema conjugado que ocurre en un campo eléctrico. Si se forman una gran cantidad de bipolarones, se tiene como resultado un alto dopaje, sus energías pueden partir traslapándose en los bordes, lo que crea bandas de bipolarón estrechas en el intervalo de la banda [27]. En la Figura 5 se muestra un esquema para explicar este tipo de conducción eléctrica.

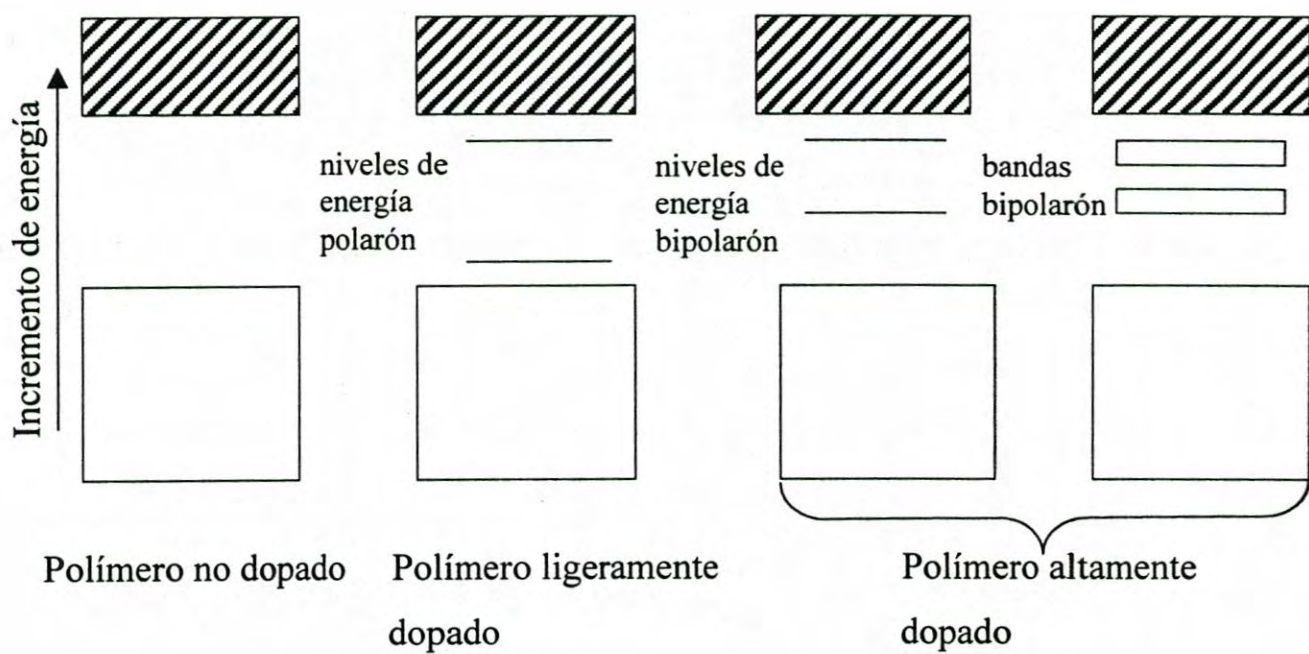




Figura 5. Teoría de bandas para polímeros.  Niveles de energía en bandas de conducción.  Niveles de energía en bandas de valencia.

2.4 PROPIEDADES MECÁNICAS

El gran desarrollo en aplicaciones de polímeros se deriva en sus costos competitivos y sus propiedades versátiles. La apariencia de los polímeros varía desde líquidos y gomas blandas hasta sólidos duros y rígidos. En la selección de un polímero para un uso específico, se toman en consideración las propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas ó térmicas del polímero en dependencia de la aplicación. En los casos mas recientes, la estabilidad mecánica y durabilidad del polímero pueden ser requeridos para realizar una función satisfactoriamente [28].

El comportamiento mecánico de un polímero es una función de su microestructura o morfología. La morfología de los polímeros depende de muchos factores estructurales y ambientales. Las propiedades de los polímeros comparadas con las de los metales y cerámicas, muestran una mayor dependencia a la temperatura y al tiempo. Esta fuerte sensibilidad de las propiedades de los polímeros es una consecuencia de la naturaleza visco elástica de los polímeros. Esto implica que los polímeros exhiban comportamiento viscoso y elástico combinado. Un polímero amorfo con temperatura de transición vítrea (T_g) por debajo de la temperatura ambiente puede exponer una deformación no lineal pero recuperable o igual exhibe flujo viscoso [28].

La falla de los polímeros debido a carga o sobrecarga ocasional puede deberse a una deformación plástica excesiva como resultado de la resistencia inadecuada del polímero. Para cuantificación de estas fallas, las propiedades mecánicas de interés primarias son el esfuerzo producido y su deformación correspondiente. La fuerza fundamental, asociada con la deformación, también provee información útil [28].

Las rupturas constituyen regiones de discontinuidad del material y frecuentemente son el origen de las fallas por fractura. La fractura puede ocurrir de manera quebradiza o mediante fatiga (fractura progresiva). La fractura quebradiza ocurre en materiales donde la ausencia de material provoca una acumulación de esfuerzos localizados. Mientras que las fallas en la fatiga ocurren cuando unas partes son sujetas a cargas alternantes o repetidas. La fractura mediante fatiga, ocurre sin signos visibles de producción ya que ocurren a esfuerzos menores del esfuerzo tensil del material [28].

Existe una variedad de métodos de pruebas para predecir los límites de las mecánicas realizadas bajo una variedad de condiciones de carga.

Los experimentos de esfuerzo-deformación han sido tradicionalmente los mas usados en pruebas mecánicas pero probablemente los menos entendidos en términos de interpretación. En las pruebas esfuerzo-deformación, la muestra es deformada a una velocidad constante, y el esfuerzo requerido para la deformación es medido simultáneamente. En la Figura 6 se muestran estos fenómenos. La utilidad de estas pruebas para diseños con materiales poliméricos puede ser grandemente acrecentada si se llevan a cabo sobre un amplio intervalo de temperatura y velocidades de deformación [28].

En pruebas a carga constante, un espécimen es sujeto a una carga, y la deformación es medida como una función del tiempo. El espécimen de la prueba en un equipo de laboratorio puede ser una película plástica o barra sujeta a una orilla en un soporte rígido, mientras que la carga es aplicada súbitamente en la otra orilla, como se esquematiza en la Figura 6. La elongación puede ser medida a intervalos de tiempo usando un catetómetro o un microscopio ambulante. Las mediciones pueden ser conducidas en una cámara ambiental [28].

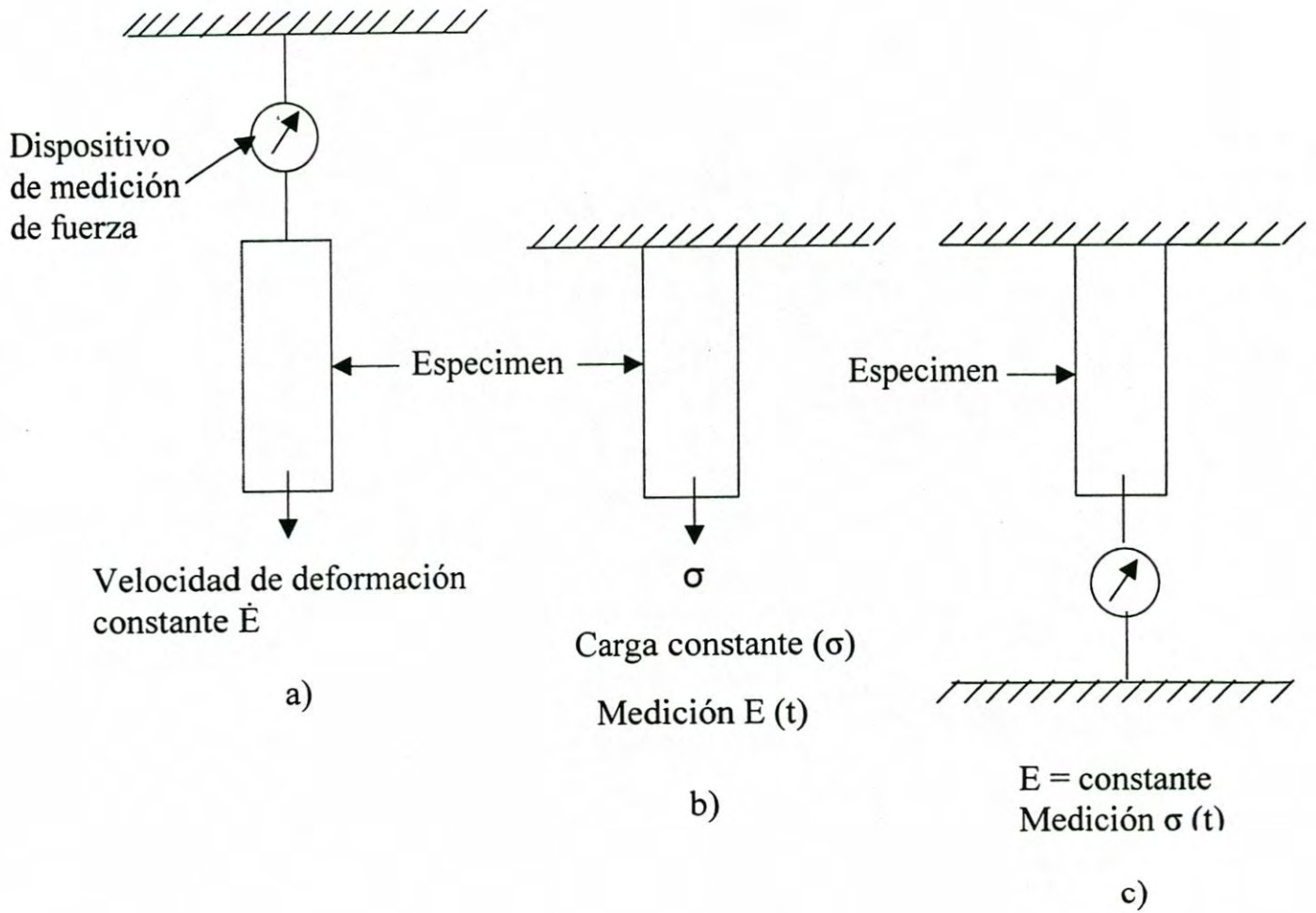


Figura 6. Representación esquemática de: a) Prueba esfuerzo-deformación, b) Experimento a carga constante, c) Experimento de relajación del esfuerzo

Las pruebas a la ruptura son hechas principalmente en tensión, como se muestra en la Figura 6, pero también pueden ser hechos experimentos de ruptura en hoja, torsión flexión ó compresión. Los datos de la ruptura proveen información importante para la selección de un polímero que pueda sostener mucha carga por largos periodos [28].

En los experimentos de relajación de la elongación, la muestra es rápidamente extendida una cantidad dada y el esfuerzo requerido para mantener esta deformación constante es medido como una función del tiempo, de acuerdo al esquema de la Figura 6. El esfuerzo requerido para mantener la deformación constante decae con el tiempo. Cuando este esfuerzo es dividido por la deformación constante, la razón resultante es el módulo de relajación, el cual es una función del tiempo y temperatura. El dato de relajación de la deformación provee información útil a cerca de la naturaleza visco elástica de los polímeros [28].

2.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es un instrumento poderoso que permite la observación y caracterización de materiales orgánicos e inorgánicos y superficies en una escala local. El área a ser examinada es irradiada con un rayo de electrones cuidadosamente enfocado, que puede ser estático ó de barrido, sobre la superficie de la muestra. Los tipos de señales producidos cuando el rayo de electrones incide en la superficie de la muestra incluyen electrones secundarios, electrones retrodispersos, electrones Auger, rayos-X característicos y fotones de varias energías. Estas señales son obtenidas desde volúmenes de emisión específicos dentro de la muestra y pueden ser usados para examinar muchas características de la

muestra como son: composición, topografía de la superficie, cristalografía, entre otros [29].

Las señales de mayor interés son los electrones secundarios y los electrones retrodispersos, éstos varían de acuerdo a diferencias en la topografía de la superficie, ya que el rayo de electrones es barrido a través de la muestra. La emisión de los electrones secundarios es restringida a un volumen cercano al área de impacto de los rayos, permitiendo la obtención de imágenes a una resolución relativamente alta [29].

Los electrones retrodispersos mas los electrones secundarios son amplificados y transmitidos a una pantalla de televisión [30].

En SEM, las áreas que presentan luz corresponden a la emisión de los electrones secundarios y desvío de electrones atrasados en la muestra, las partes que aparecen oscuras se deben a que no hubo una buena iluminación por el rayo de electrones ó que los electrones fueron desviados fuera del detector [30].

El microscopio electrónico de barrido es un instrumento versátil disponible para el examen y análisis de las características microestructurales de objetos sólidos. En la Figura 7 se ilustra las partes básicas que componen este tipo de microscopio, [30]. La primera razón para la utilidad de SEM es su alta resolución, ya que se obtienen valores del orden de 2 a 5 nm (20 a 50 Å). Se encuentran disponibles instrumentos de investigaciones avanzadas que presentan una resolución superior a 1 nm (10Å) [29]. En la tabla 2 se muestra una comparación del microscopio electrónico de barrido, microscopio electrónico de transmisión y microscopio compuesto de luz [30,31,32].

Los electrones no pasan a través de la muestra sino que son desviados desde la superficie. Usualmente, la superficie de la muestra es primero cubierta con un metal, proceso conocido como sombreado. Un filamento de

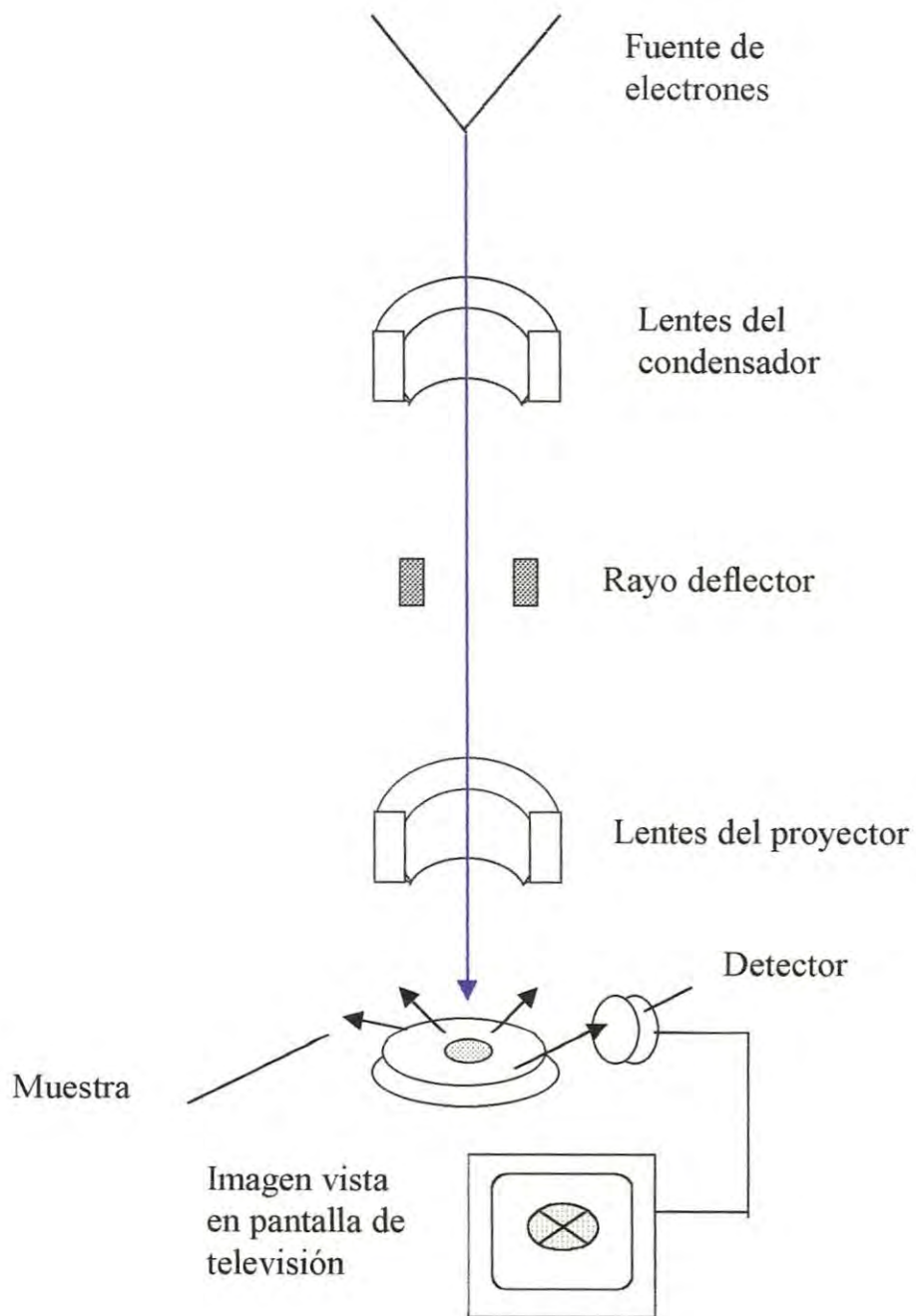


Figura 7. Partes básicas del microscopio electrónico de barrido

Tabla 2. Comparación entre microscopio de luz, microscopio electrónico de barrido y de transmisión

	Microscopio Compuesto de Luz	Microscopio Electrónico de Barrido	Microscopio Electrónico de Transmisión
Partes básicas	Fuente de luz, lente condensadora, lente objetivo y lente ocular	Fuente de electrones, lentes del condensador, lentes del proyector, detector y pantalla visora	Fuente de electrones, lente magnética, lente objetivo, lente proyector, pantalla fluorescente
Fundamento	Paso de luz a través del espécimen	Incidencia de un haz de electrones sobre la superficie del espécimen	Paso de un haz de electrones a través del espécimen
Especimen	Células vivas, células preservadas, organismos pequeños	Organismos muertos (vivos, en casos muy recientes), materia inorgánica	Organismos muertos y materia inorgánica
Magnificación	1500	60,000	300,000
Resolución	0.2 μm	2-5 nm	0.2 nm

metal es calentado a evaporación en un lado de la muestra; creando una cubierta de metal que es mas gruesa en un lado de la superficie levantada y más delgada en el otro. En ocasiones el material orgánico de la muestra original es removido por tratamiento químico, dejando únicamente una réplica metálica en la superficie, la cual es entonces reforzada con una película de carbón.

En adición a esos tratamientos bastante drásticos las muestras pueden también ser deshidratadas por métodos químicos ó de secado frío. Si el rayo de electrones pasa a través de una cámara conteniendo moléculas gaseosas, los electrones son desviados por las moléculas y no pueden ser enfocados en un rayo. Por lo tanto, todo el aire puede ser evacuado desde el interior, trabajando en una cámara del microscopio electrónico, creando vacío. Si las muestras no fueran primero deshidratadas, las moléculas de agua podrían evaporarse de la muestra dentro de la cámara, destruyendo el vacío y el enfoque del rayo del electrón [30].

2.6 BIOSENSOR

Un biosensor puede ser definido como un dispositivo que contiene un elemento sensor biológico conectado a un transductor, como se esquematiza en la Figura 8, el cual convierte un cambio observado (físico o químico) en una señal medible, usualmente una señal electrónica cuya magnitud es proporcional a la concentración de un analito o sustrato que no necesariamente tiene que ser biológico. Este dispositivo combina la especificidad y sensibilidad de sistemas biológicos con el poder computacional del microprocesador [33].

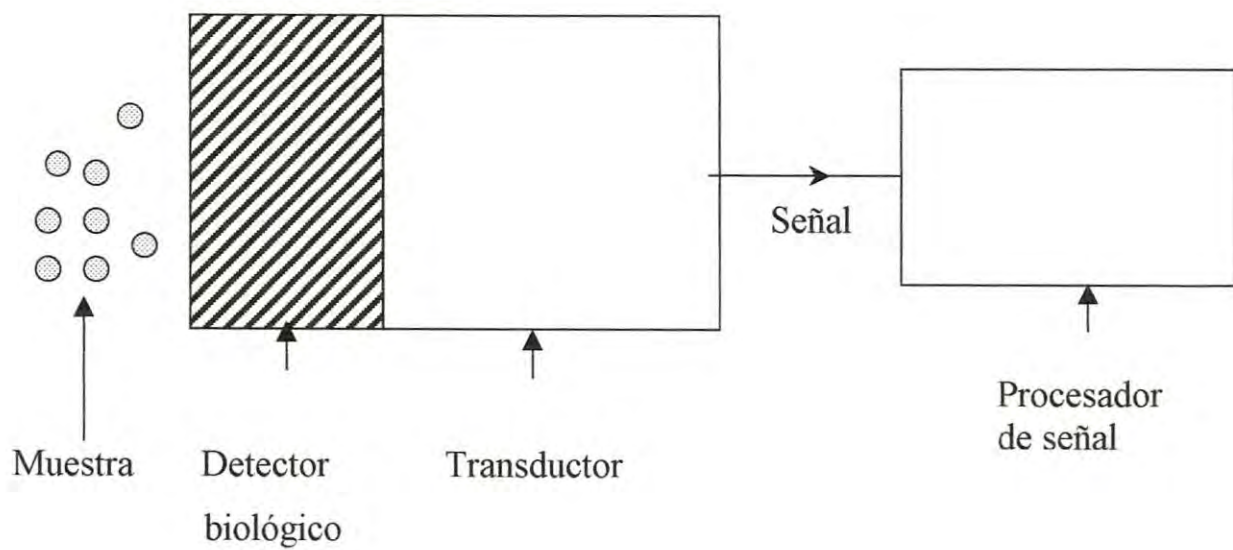


Figura 8. Representación esquemática de un biosensor

Un biosensor, generalmente, puede analizar sustancias consumidas o producidas en procesos bioquímicos, entre estas sustancias se encuentran glucosa, urea, creatinina, aminoácidos y colesterol [33].

La importancia del componente biológico se atribuye a que su interacción con el sustrato es altamente específica, evitando de esta manera interferencias de otras sustancias, lo que representa un gran problema en muchos métodos analíticos. Éste puede catalizar una reacción involucrando al sustrato (enzima) ó puede unir selectivamente al sustrato. El componente más común es la enzima, aunque también es conveniente utilizar otros componentes que contienen enzimas, éstos incluyen microorganismos tales como levaduras, bacterias, y tejidos. También pueden ser usados anticuerpos para enlazar sustratos selectivamente [33].

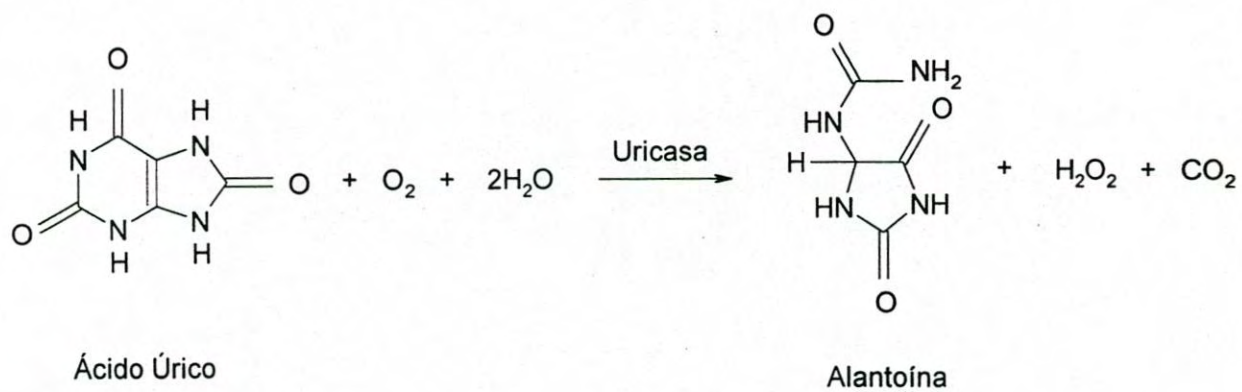
El componente biológico tiende a ser íntimamente conectado al transductor mediante adsorción en la superficie, microencapsulación, entrapamiento, enlace covalente y entrecruzamiento [33].

La mayoría de los biosensores han sido construidos utilizando transductores electroquímicos, entre los cuales se encuentran, los transductores potenciométricos, voltamétricos y conductimétricos [33].

En el presente trabajo se elaboraron biosensores conductimétricos para determinación de ácido úrico y urea sérica.

El biosensor para determinación de ácido úrico se elaboró tomando como base el incremento en resistencia eléctrica de la película de polianilina por efecto del H_2O_2 producido por el ácido úrico en presencia de la enzima uricasa, según la reacción señalada en la Figura 9a. Este cambio en resistencia eléctrica es atribuido a una degradación de la cadena de polianilina,. En la Figura 10 a se ilustra este fenómeno.

a).



b)

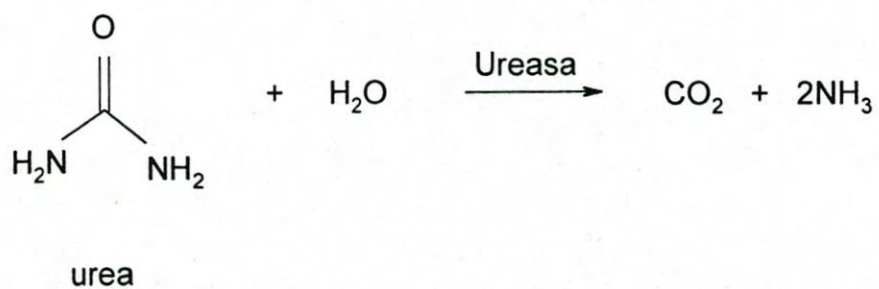
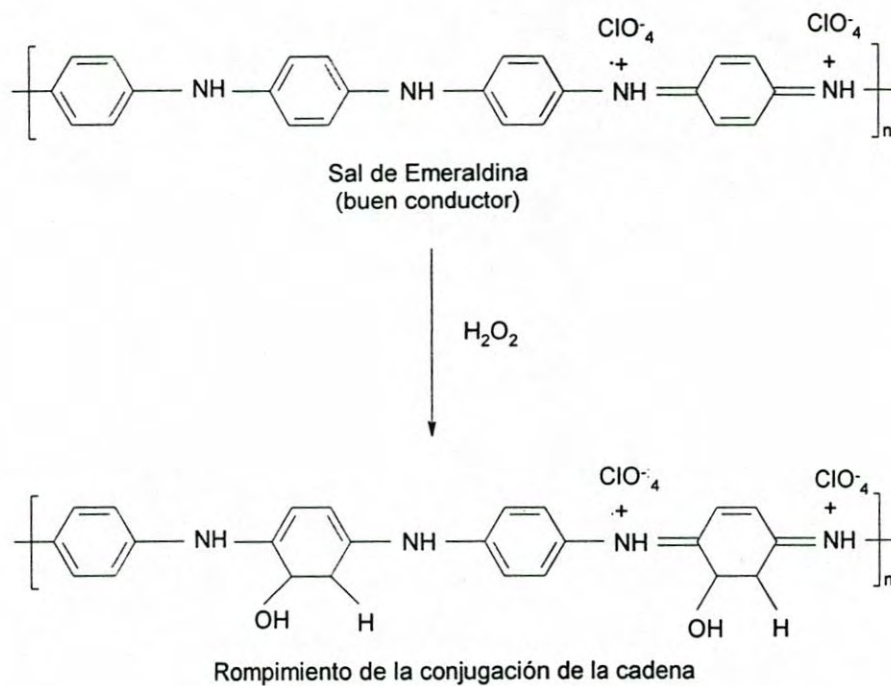


Figura 9. a) Reacción enzimática del ácido úrico, b) Reacción enzimática de la urea

a)



b)

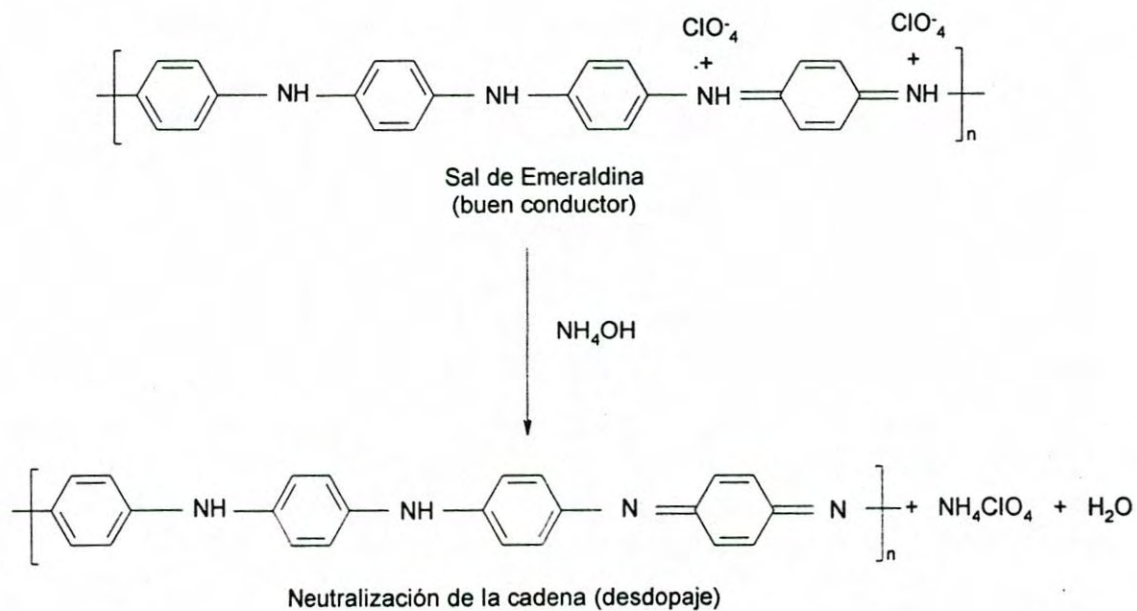


Figura 10. Efectos sobre la cadena de polianilina. a) H_2O_2 , b) NH_4OH

El biosensor para la determinación de urea se basa en la producción de NH_3 por interacción de la urea con la enzima ureasa, según la reacción señalada en la Figura 9b. El NH_3 causa un aumento en la resistencia eléctrica de la película de polianilina, que se atribuye a la neutralización de la cadena de polianilina, como se observa en la Figura 10b.

2.6.1 TIPOS DE BIOSENSORES BASADOS EN EL TRANSDUCTOR

Los transductores pueden ser subdivididos en varios tipos, Tabla 3.

1) Transductores electroquímicos

a) Potenciométrico. Éstos involucran la medición de la fuerza electromotriz (f.e.m.) de una celda a corriente cero. La f.e.m. es proporcional al logaritmo de la concentración de la sustancia que está siendo analizada.

b) Voltamétrico. Se aplica a la celda un incremento (decremento) de potencial hasta que ocurre la oxidación (reducción) de la sustancia analizada y se presenta un agudo aumento (decremento) de la corriente en la celda para producir un pico de corriente. La altura de este tipo de corriente es directamente proporcional a la concentración del material electroactivo.

Si se conoce el potencial de oxidación (reducción) apropiado, se puede pasar el potencial directamente hacia ese valor y observar la corriente. Este modo es conocido como amperométrico.

c) Conductimétrico. Se utiliza en soluciones que contienen iones conductores de electricidad. La magnitud de esta conductancia puede cambiar debido a una reacción química ó bioquímica. La relación entre la conductancia y concentración de la naturaleza de la reacción. Las mediciones pueden ser muy simples.

Tabla 3. Tipos de transductores

TRANSDUCTOR	FUNDAMENTO
Potenciométrico	Medición de potencial
Voltamétrico	Cambio en la corriente de la celda
Conductimétrico	Cambio en conductividad
Óptico	Espectroscopia: fluorescencia, absorción, luminiscencia, reflexión interna; difracción de luz
Piezoeléctrico	Generación de corriente eléctrica desde una vibración de cristal
Térmico	Producción ó absorción de calor

2) Transductores ópticos

Éstos han tomado una nueva forma de vida con el desarrollo de fibras ópticas, concediendo una mayor flexibilidad y miniaturización. Las técnicas usadas incluyen espectroscopía de absorción, espectroscopía de fluorescencia, espectroscopía de luminiscencia, espectroscopía de reflexión interna y dispersión de luz.

3) Sistemas piezoeléctricos

Éstos aparatos involucran la generación de corrientes eléctricas desde una vibración de cristal. La frecuencia de vibración es afectada por la masa del material adsorbido en esta superficie, lo que puede ser relacionado con una reacción bioquímica activa.

4) Métodos térmicos

Todos los procesos químicos y bioquímicos involucran la producción ó absorción de calor. Este calor puede ser medido y relacionado con la cantidad de reacción [33].

2.6.2 IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO Y UREA

Gutman (1967) ha señalado al ácido úrico como producto de desecho nitrogenado, el cual debe ser considerado como un producto del metabolismo de los aminoácidos por la vía de las purinas. La estructura molecular de los uratos apoya este punto de vista, puesto que los carbonos y nitrógenos se originan a partir de varios aminoácidos, directa o indirectamente [34].

En la Figura 11 se ilustra la hidrólisis de los ácidos nucleicos derivados de las nucleoproteínas celulares, de esta hidrólisis se liberan mononucleótidos, que a su vez son escindidos por una fosfomonesterasa, y originan los

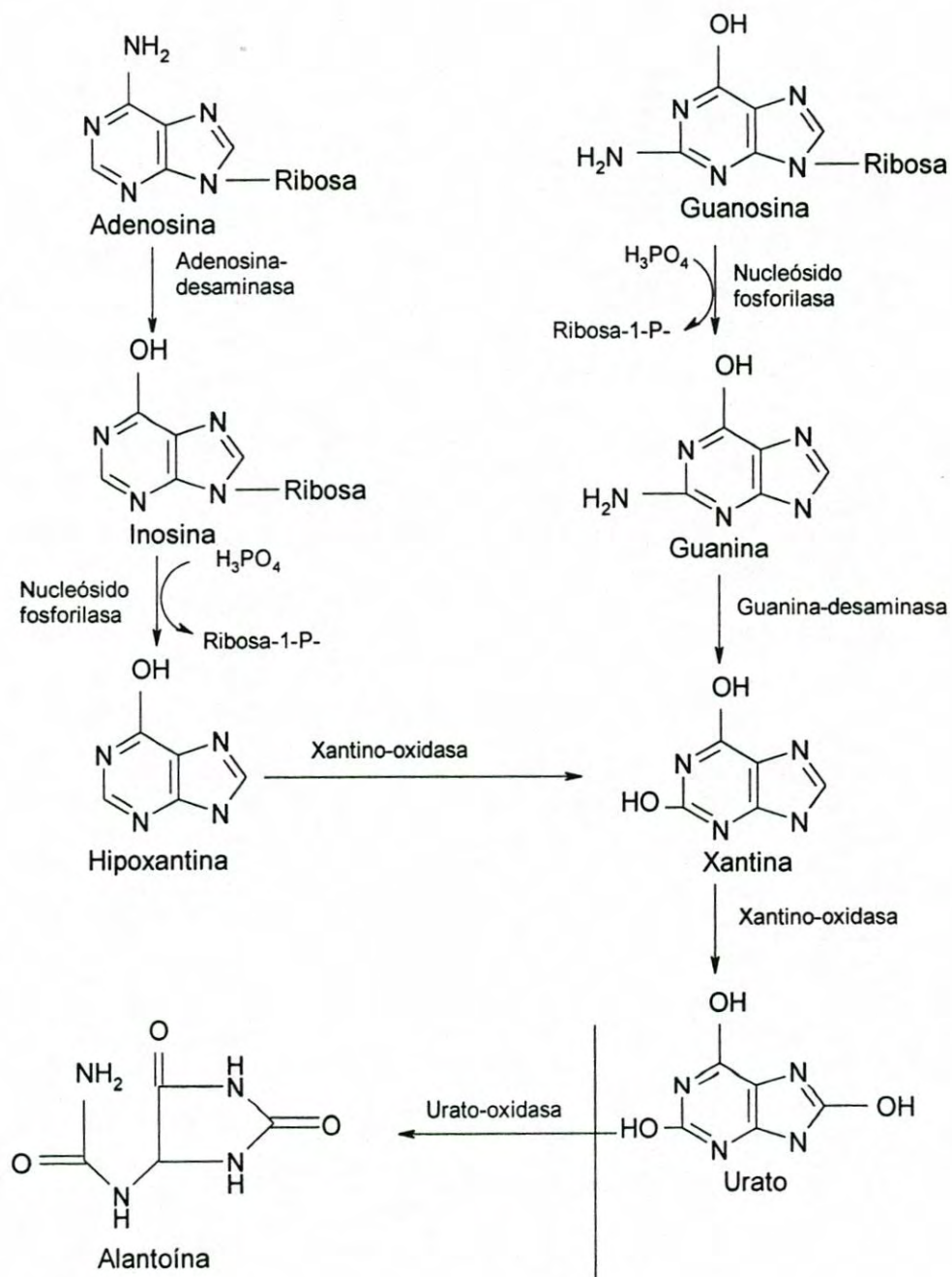


Figura 11. Catabolismo de los nucleósidos purínicos

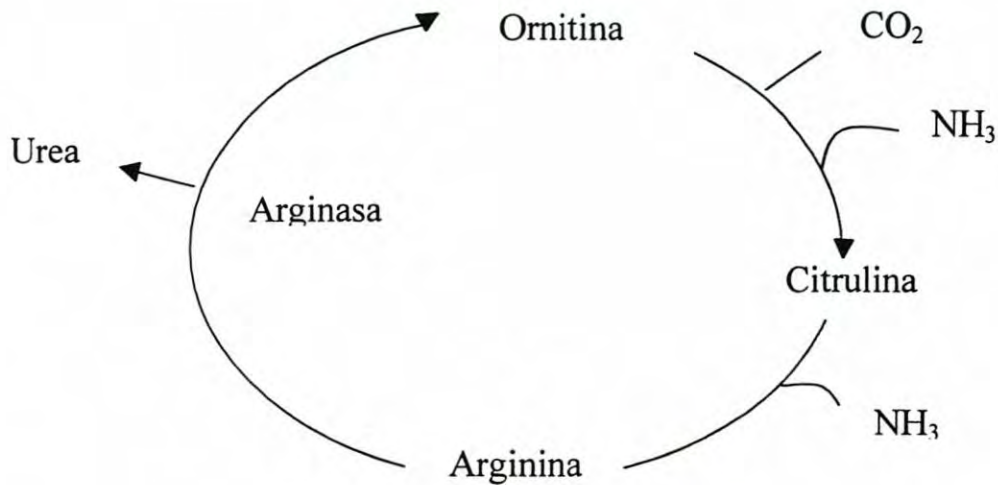
nucleósidos adenosina y guanosina. Posteriormente se produce xantina, la cual es un compuesto importante que emerge de los dos nucleósidos. La presencia de una xantinaoxidasas en el hígado y, en menor cantidad, en la mucosa intestinal, demuestra que el papel principal en la síntesis de uratos en el hombre lo tiene el hígado. Otra enzima, la uricasa o uratooxidasas prácticamente no existe en los primates, por lo que el urato es el principal producto final del metabolismo de las purinas y ácido nucleicos en el hombre [34].

Los valores normales de ácido úrico son: en hombres, 2.1 a 7.8 mg/dl; mujeres, 2 a 6.4 mg/dl. El ejercicio muscular violento causa un aumento ligero del ácido úrico en el suero. En el embarazo, con el comienzo del parto, se ha descrito también la presencia de elevaciones transitorias del ácido úrico. En la preeclampsia, la cual es un síndrome que se presenta a partir de la vigésima semana de gestación que se caracteriza principalmente por hipertensión arterial y proteinuria, los niveles de ácido úrico están considerablemente elevados; la causa no está clara. En la policitemia, neumonía lobular, y en las remisiones de la anemia perniciosa, el catabolismo nuclear aumentado (rápida degradación celular con disociación de nucleoproteínas) probablemente contribuye a las elevaciones de la uricemia [34].

Los métodos preferidos para la determinación del ácido úrico en los líquidos biológicos emplean la enzima uricasa y la absorción con luz ultravioleta a 293 nm [34].

Los productos específicos del metabolismo de las proteínas son la urea y el amoníaco. El ciclo de la ornitina que se realiza fundamentalmente a nivel

hepático, sirve para eliminar del organismo sustancias tóxicas como el NH_3 en forma de urea, un diagrama simplificado de este complejo es el siguiente:



La urea es el producto más importante del desecho del catabolismo proteico y como otros constituyentes NNP (nitrógeno no proteico), está presente en la sangre y se excreta por la orina [34].

La urea es el producto final del metabolismo de las proteínas en el hombre y se deriva fundamentalmente a partir de los grupos amina de los aminoácidos. El hígado es probablemente el órgano más importante en la síntesis de la urea a través del ciclo de la ornitina [34].

La retención de urea en presencia de afectación renal depende fundamentalmente de tres factores: 1) desviación prerrenal del agua, 2) catabolismo proteico excesivo y 3) grado de insuficiencia de la función renal.

Las lesiones patológicas que pueden causar una disminución en la función renal comprenden los siguientes mecanismos: 1) disminución del flujo sanguíneo renal, 2) daño o destrucción glomerular, 3) daño o destrucción

tubular y 4) aumento de la presión en el espacio intracapsular glomerular, a menudo acompañado de obstáculo a la expulsión de orina, como una estenosis, cálculo o neoplasia [34].

Para la determinación de urea, se utiliza frecuentemente la ureasa, una enzima muy estable, que tiene gran especificidad [34]

CAPÍTULO III

EXPERIMENTAL

3.1 SÍNTESIS DE PERCLORATO DE POLIANILINA (PAnClO₄)

La polianilina se sintetizó por el método propuesto por Inoue y col [35]. Se disolvieron 0.0067 moles (0.63 g) de anilina en 20 ml de acetonitrilo y se colocaron en un matraz de reacción de tres bocas, por otra parte se disolvieron 0.0138 moles (5.13 g) de perclorato de cobre hexahidratado en 20 ml de acetonitrilo y se agregaron a un embudo de separación mediante el cual se fue adicionando gota a gota hacia el matraz de reacción que contenía la anilina. Después de que cayó la última gota se dejó con agitación magnética 2 horas para completar la reacción, ésta se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno. La Figura 12 muestra el esquema de la síntesis. Una vez finalizada la reacción, la mezcla obtenida se filtró utilizando un filtro cerámico con tamaño de poro de 5 a 10 μ , el sólido obtenido se secó aplicando vacío durante 6 horas, posteriormente se pulverizó y se lavó en soxhlet con acetonitrilo para remover impurezas como son perclorato de cobre (I) y oligómeros de anilina. Enseguida se secó usando vacío, se pulverizó y se almacenó en un vial.

3.2 PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS

Las películas se elaboraron por el método de evaporación de solventes (casting). Se preparó una mezcla de PAnClO₄, poli(n-butilmetacrilato) (PBMA) como termoplástico, poli(vinil metil éter) (PVME) ó poli(vinil etil éter) (PVEE) como dispersantes; se usó tetrahidrofurano (THF) como solvente. Primeramente se pesó PBMA en un vial y se agregaron 4 ml de THF, en otro vial se pesó PVME ó PVEE y se le adicionó también 4 ml de THF, ambos se mantuvieron en agitación magnética durante 10 min.

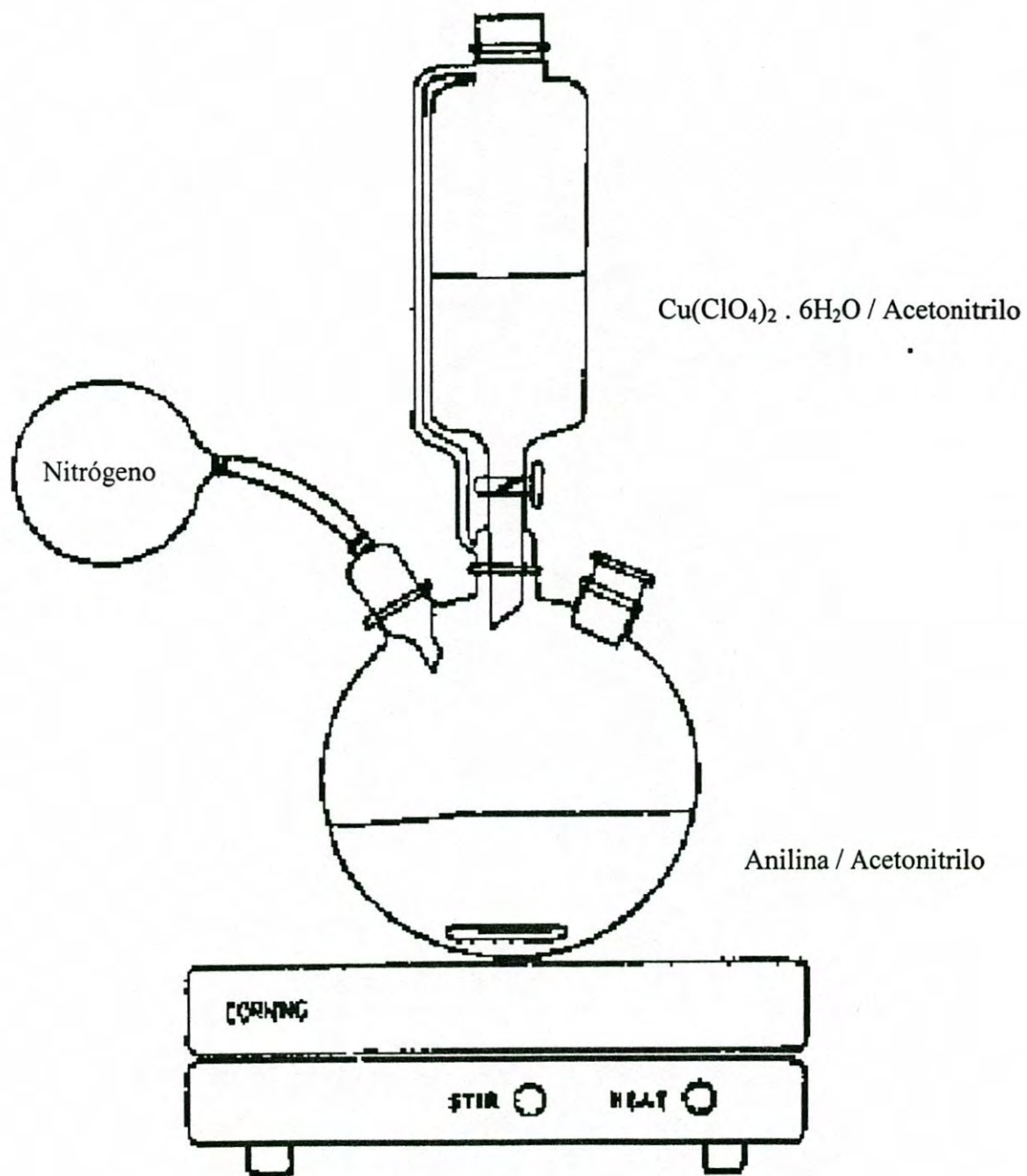


Figura 12. Sistema de síntesis de la polianilina

Posteriormente se pesó PAnClO_4 y se agregó al vial que contenía el dispersante, se continuó agitando alrededor de 10 min., después se añadió la solución del termoplástico al vial con polianilina y se continuó con la agitación otros 10 min. finalmente la mezcla se vació en un molde redondo con un extremo cubierto con papel celofán, se dejó evaporar el solvente a temperatura ambiente durante 24 horas. Ocurrido este tiempo se retiró el papel celofán y se despegó la película del molde. En la Figura 13 se ilustra el método de preparación de las películas.

Las películas se elaboraron en base al porcentaje en peso, tomando como 100% el peso total de los componentes utilizados.

3.2.1 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS CON VARIACIÓN EN LA CANTIDAD DE POLIANILINA EMPLEADA

Se prepararon películas de PAnClO_4 -PVME-PBMA al 33,13,9,8,7,6,5 y 4% en peso de PAnClO_4 , y películas de PAnClO_4 -PVEE- PBMA al 33,13,9,8,7,6,5,4 y 3% en peso de PAnClO_4 , las cantidades empleadas se muestran en la Tabla 4. Se determinó la conductividad eléctrica de cada una de las películas.

3.2.2 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIANILINA CON VARIACIÓN EN LA CANTIDAD DE DISPERSANTE UTILIZADO

Se elaboraron películas de PAnClO_4 -PVME ó PVEE-PBMA al 13 y 33% en peso de PAnClO_4 , donde se utilizaron proporciones dispersante/ PAnClO_4 igual a 1.0, 0.5, 0.3, 0.1, 0.07 y 0.05 para estudiar el efecto de la disminución de dispersante en la conductividad eléctrica de las películas, En las tablas 5 y 6 se muestran las cantidades empleadas en la preparación de estas películas.

Mezcla de Polianilina-PVME ó PVEE-Poli(n-butilmetacrilato) / THF

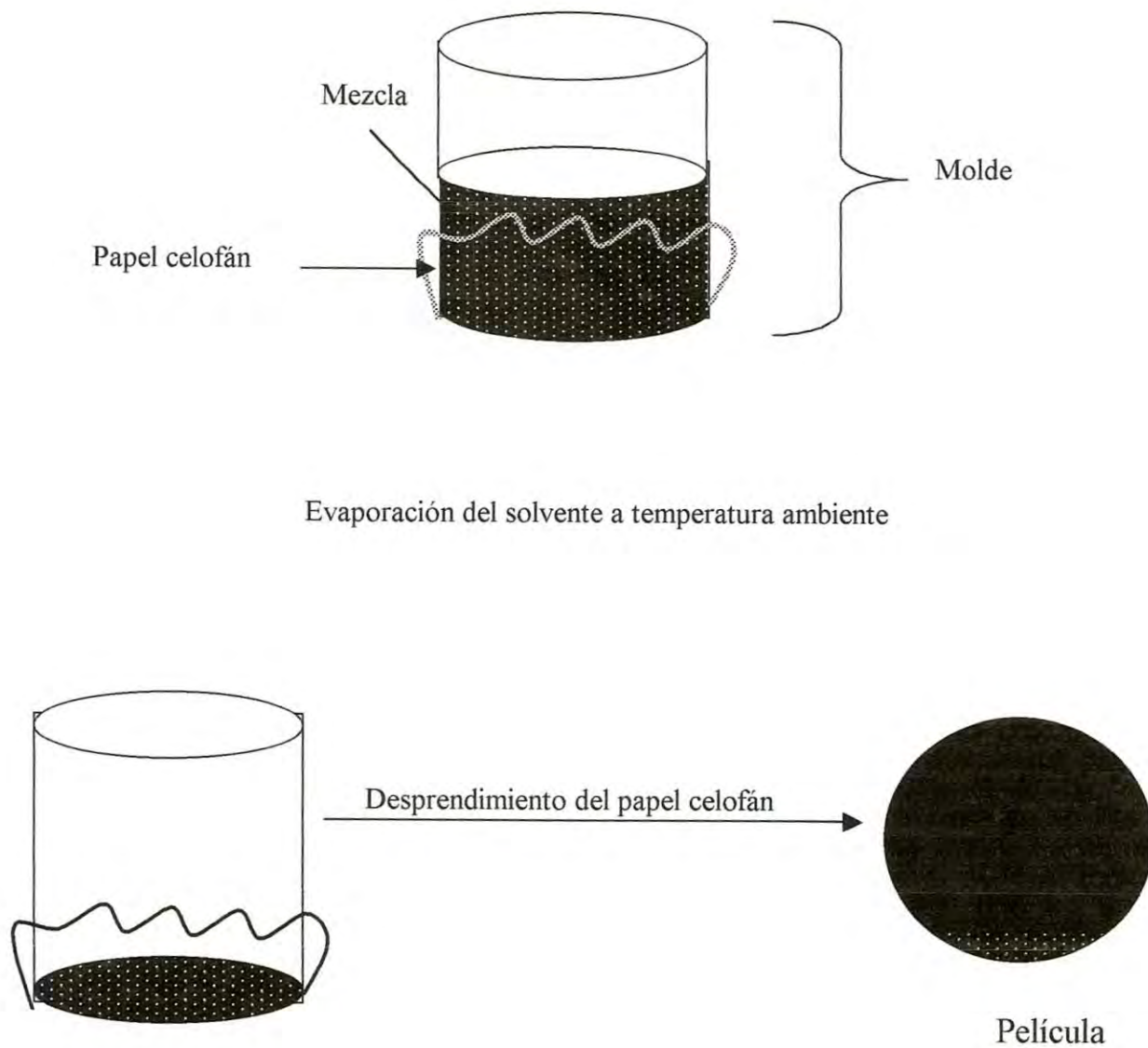


Figura 13. Preparación de las películas. Método de "casting"

Tabla 4. Cantidades empleadas en la elaboración de películas con disminución en el % en peso de polianilina, y proporción dispersante/polianilina igual a 1

PAnClO ₄ (%)	PAnClO ₄ (g)	PVME ó PVEE	PBMA (g)
33	0.095	0.095	0.098
13	0.037	0.037	0.214
9	0.026	0.026	0.236
8	0.023	0.023	0.242
7	0.020	0.020	0.248
6	0.017	0.017	0.253
5	0.014	0.014	0.259
4	0.011	0.011	0.265
3	0.008	0.008	0.270

Tabla 5. Cantidades utilizadas en la preparación de películas al 13% en peso de polianilina con variación de la cantidad de dispersante

PVME ó PVEE/PAnClO ₄	PAnClO ₄ (g)	PVME ó PVEE (g)	PBMA (g)
1.	0.037	0.037	0.214
0.5	0.037	0.187	0.213
0.3	0.037	0.0137	0.213
0.1	0.037	0.0037	0.214
0.07	0.037	0.00246	0.213
0.05	0.037	0.0018	0.213

Tabla 6. Cantidades utilizadas en la preparación de películas al 33% en peso de polianilina con variación de la proporción de dispersante/PAn

Dispersante/PAnClO ₄	PAnClO ₄ (g)	PVME ó PVEE (g)	PBMA (g)
1	0.095	0.095	0.098
0.5	0.095	0.0475	0.1456
0.3	0.095	0.0316	0.1614
0.1	0.095	0.0095	0.1836
0.07	0.095	0.0063	0.1867
0.05	0.095	0.0047	0.1883

3.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

3.3.1 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

A todas las películas elaboradas se les determinó la conductividad eléctrica. Se midió la resistencia eléctrica de la película por el método de dos puntos para lo cual se utilizaron electrodos de tungsteno con 6 mm de diámetro y un multímetro PROAM 602-040, se determinó el espesor de la película usando un micrómetro MITUTOYO M115-25.

Los valores de resistencia eléctrica y espesor encontrados se sustituyeron en la siguiente ecuación para obtener los valores de conductividad eléctrica correspondientes:

$$R \times A / \text{espesor} = \rho \quad \sigma = 1 / \rho$$

donde :

R = Resistencia eléctrica

A = Area

ρ = Resistividad eléctrica

σ = Conductividad eléctrica

Los valores de Conductividad son obtenidos en $\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ (S/cm).

3.3.2 PROPIEDADES MECÁNICAS

Se estudiaron las propiedades mecánicas de las películas al 13 y 33% en peso de PAnClO_4 , sin dispersante, con PVME y con PVEE, éstas dos últimas con una proporción dispersante/ PAnClO_4 igual a 0.1. Se utilizaron como referencia películas de PBMA-PVME ó PVEE. Las mediciones fueron llevadas a cabo en un Instron modelo 4502 con una velocidad de estiramiento de 10 mm/min.

3.3.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL 5410LV, las muestras analizadas fueron recubiertas con oro y se utilizó un haz de electrones de 15 kv de intensidad a bajo vacío. Se realizaron microscopías de la polianilina en polvo y de las películas.

3.3.3.1 POLIANILINA EN POLVO

Se suspendió la polianilina en acetonitrilo y se tomó una gota de la suspensión, la cual se colocó en un portamuestras metálico y se esperó a la evaporación del solvente para posteriormente llevar a cabo el análisis de la muestra, con la finalidad de observar la forma de las partículas de polianilina.

3.3.3.2 PELÍCULAS

Se recortó una tira delgada de la película y se colocó en un portamuestra de tal manera que se permitiera observar la sección transversal, se analizaron las películas preparadas al 13 y 33% en peso de polianilina, sin dispersante y con dispersante usando una proporción polianilina/dispersante igual a 0.1, con la finalidad de comparar la homogeneidad observada en cada una de las películas.

3.4 APLICACIÓN

3.4.1 SENSIBILIDAD AL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H₂O₂)

Se utilizaron películas al 33% en peso de PAnClO₄ con 0.1 de PVME.

Se recortó la película en trozos de aproximadamente 1 cm², se les midió la resistencia eléctrica inicial (R1), cada uno de ellos se sumergió en un vial con solución de H₂O₂ durante 10 min. Posteriormente se sacaron y se dejaron

secar 90 min. y se les midió la resistencia eléctrica final (R_2). Finalmente se graficó ΔR contra concentración de H_2O_2 .

3.4.2 SENSIBILIDAD AL HIDRÓXIDO DE AMONIO (NH_4OH)

Se emplearon películas al 13% en peso de $PAnClO_4$ con 0.1 de PVME. Se midió la resistencia eléctrica inicial de las películas, éstas se sumergieron en soluciones con diferente concentración de NH_4OH durante 1 min., después se sacaron las películas y se dejaron secar 90 min., posteriormente se midió la resistencia eléctrica final y se graficó ΔR contra concentración de NH_4OH .

3.4.3 BIOSENSOR PARA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO

Se usaron películas al 33% en peso de $PAnClO_4$ con 0.1 de PVME. Se midió la resistencia eléctrica inicial de los trozos de película, posteriormente cada trozo se introdujo en un vial que contenía 1 ml de solución de uricasa (uricasa en buffer de boratos, $PH = 8.5$) e inmediatamente después se adicionó 1 ml de estándar de ácido úrico, se dejó durante 10 min, después se sacó la película de la solución y se dejó secar 90 min, se midió la resistencia eléctrica final y se graficó ΔR contra concentración de ácido úrico. Se utilizaron estándares de ácido úrico de 5, 10 y 15 mg/dl.

3.4.4 BIOSENSOR PARA DETERMINACIÓN DE UREA

Fueron usadas películas al 13% en peso de $PAnClO_4$ y 0.1 de PVME. Se midió la resistencia eléctrica inicial de cada trozo de película, cada pedazo de película se sumergió en un vial que contenía 1 ml de solución de ureasa (ureasa en buffer de fosfatos $PH = 7.0$) y enseguida se adicionó 1 ml de estándar de urea, se dejó durante 10 min., posteriormente se sacó la película de

la solución y se dejó secar 90 min. posteriormente se midió la resistencia eléctrica final y se graficó ΔR contra concentración de urea.

3.4.5 DETERMINACIÓN DEL VALOR DE ÁCIDO ÚRICO SÉRICO

Se manejaron 15 sueros sanguíneos proporcionados por el laboratorio clínico HIES

Se midió la resistencia eléctrica inicial correspondiente a cada trozo de película, posteriormente cada trozo se sumergió en un vial con 1 ml de suero sanguíneo y un ml de solución de uricasa, se dejó 10 min., después de este tiempo se sacaron los trozos de película y se secaron durante 90 min., enseguida se midió la resistencia eléctrica final de cada trozo y se calculó ΔR , este valor se extrapoló en la curva de calibración para ácido úrico, obteniéndose de esta manera la concentración de ácido úrico presente en cada suero, finalmente se graficó los valores de ácido úrico reportados por el HIES contra los valores de ácido úrico encontrados por el presente método.

3.4.6 DETERMINACIÓN DEL VALOR DE UREA SÉRICA

Se trabajó con 15 sueros proporcionados por el laboratorio clínico del ISSSTE.

Se determinó R1 para cada trozo de película, se sumergieron en un vial que contenía 1 ml de suero sanguíneo y 1 ml de solución de ureasa, por un tiempo de 10 min., se sacaron los trozos de la solución y se dejaron secar durante 90 min., se determinó R2, se calculó ΔR y se extrapoló en la curva de calibración de urea, encontrándose de esta manera los valores de urea correspondientes a cada muestra, finalmente se graficó los valores de urea reportados por el laboratorio clínico del ISSSTE contra los valores obtenidos en el presente método.

3.4.7 REUSO DE LAS PELÍCULAS DE POLIANILINA

Se midió la resistencia eléctrica inicial del trozo de película utilizado, se sumergió en una solución de NH_4OH 13 mM durante 1 min, posteriormente se sacó el trozo de película de la solución y se dejó secar 90 min, luego se encontró R2, posteriormente ésta misma película se sumergió en una solución de HCl 1M por 1 min., después de este tiempo se sacó de la solución, se dejó secar 90 min. y se midió R3, se volvió a tratar con NH_4OH y así sucesivamente hasta completar 8 ciclos.

3.4.8 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ERROR EN LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

Se seleccionaron puntos representativos para cada curva de calibración, H_2O_2 , NH_4OH , ácido úrico y urea, y se trataron por triplicado de acuerdo al procedimiento correspondiente en cada caso, con la finalidad de determinar el porcentaje de variación en los valores del cambio en resistencia eléctrica en la película tratada por triplicado.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 SÍNTESIS DE PAnClO₄

Del proceso de síntesis de PAnClO₄ se obtuvo un polvo de color verde oscuro, el cual después de ser lavado por el método de soxhlet cambió a un color negro. Este cambio de color es atribuido a la eliminación de oligómeros de anilina presentes en la muestra como impurezas.

El porcentaje de rendimiento de la síntesis de polianilina fue de 89.5.

4.2 CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

4.2.1 DISMINUCIÓN DE LA CANTIDAD DE POLIANILINA EN LA PREPARACIÓN DE PELÍCULAS

Cuando en la elaboración de las películas de PAn-PBMA-PVME ó PVEE se fue disminuyendo la cantidad utilizada de la fase conductora se observó un decremento en la conductividad eléctrica de las películas.. Las películas preparadas utilizando como dispersante al PVME presentaron valores de conductividad desde 1.2×10^{-3} hasta 3×10^{-9} S/cm los cuales pertenecen a las películas elaboradas al 33 y 4% en peso de PAn, respectivamente; las películas preparadas utilizando menos del 4% en peso de la fase conductora presentaron un valor de conductividad menor a 10^{-10} S/cm . Por otra parte, las películas elaboradas utilizando PVEE como dispersante mostraron valores de conductividad eléctrica desde 4.7×10^{-4} hasta 1.2×10^{-8} S/cm correspondientes a las películas preparadas al 33 y 3% en peso de polianilina, respectivamente; las películas elaboradas con menos del 3% de polianilina presentaron valores de conductividad menores a 10^{-10} S/cm.

Los valores de conductividad de las películas utilizadas en este estudio se muestran en la Tabla 7.

En general, las películas elaboradas con PVME mostraron valores de conductividad eléctrica mayores que los obtenidos en las películas preparadas con PVEE, por tanto, tomando en consideración estos resultados es más recomendable utilizar PVME como dispersante en la preparación de estas películas.

4.2.2 PELÍCULAS ELABORADAS CON DIFERENTES CANTIDADES DE DISPERSANTE

En los estudios de conductividad eléctrica de las películas de PAn-PBMA-PVME preparadas con 13% en peso de PAn, se encontró que es posible disminuir la proporción PVME/polianilina desde 1 hasta 0.07 sin afectar los valores de conductividad de las películas. Las películas elaboradas con proporción PVME/PAn menor que 0.07 presentaron aglomeración de polianilina sobre la matriz de termoplástico, por lo tanto no fue posible obtener un valor de conductividad representativo para esta película. En cambio, los valores de conductividad de las películas de PAn-PBMA-PVEE disminuyeron dos órdenes de magnitud al disminuir la proporción PVEE/PAn desde 1 hasta 0.5, 0.3 y 0.1; al disminuir esta proporción hasta 0.07 no se observó un cambio apreciable en conductividad con respecto a la proporción igual a 1; por otra parte, la película preparada con proporción PVEE/PAn igual a 0.05 presentó aglomeración de la polianilina de igual manera que la película con PVME, por lo que en este caso tampoco fue posible obtener un valor de conductividad representativo. Los valores de conductividad correspondientes a las películas comprendidas en este estudio se muestran en la Tabla 8.

Tabla 7. Conductividad eléctrica en S/cm de películas de PAn-PBMA con una proporción de dispersante/PAn igual a 0.1

% PAn	Con PVME	Con PVEE
33	1.2×10^{-3}	4.7×10^{-4}
13	2.5×10^{-5}	7.7×10^{-7}
9	1.0×10^{-5}	6.0×10^{-7}
8	2.1×10^{-7}	2.9×10^{-7}
7	4.6×10^{-8}	2.6×10^{-7}
6	1.2×10^{-8}	3.8×10^{-8}
5	7.2×10^{-9}	3.8×10^{-8}
4	3.0×10^{-9}	3.8×10^{-8}
3	*	1.2×10^{-8}
2	*	*

* Conductividad Eléctrica $< 10^{-10}$

Tabla 8. Conductividad eléctrica en S/cm en películas de PAn-PBMA con 13% de PAn

Dispersante/PAn	Con PVME	Con PVEE
1.0	2.7×10^{-5}	2.5×10^{-5}
0.5	4.7×10^{-5}	3.9×10^{-7}
0.3	6.4×10^{-5}	3.1×10^{-7}
0.1	2.5×10^{-5}	7.7×10^{-7}
0.07	1.1×10^{-5}	1.8×10^{-5}
0.05	*	*

*aglomeración

Los estudios de conductividad en las películas de PAn-PBMA-PVME preparadas al 33% de polianilina mostraron que el decremento de la proporción PVME/PAn desde 1 hasta 0.1 no afectó la conductividad de la película, por otra parte las películas preparadas con proporción menor a 0.1 presentaron aglomeración de la polianilina; mientras que en las películas preparadas con PVVEE como dispersante se logró determinar el valor de conductividad de las películas con proporción PVVEE/PAn desde 1 hasta 0.07; sin embargo los valores de conductividad eléctrica fueron mayores en las películas preparadas con PVME. Estos resultados se muestran en la Tabla 9.

En general, las películas preparadas utilizando PVME como dispersante y una proporción PVME/PAn igual a 0.1 presentan valores de conductividad y homogeneidad favorables para su aplicación, por lo que se decidió trabajar con estas películas para los siguientes estudios.

4.3 PROPIEDADES MECÁNICAS

Los valores obtenidos en la determinación de las propiedades mecánicas de las películas se presentan en la Tabla 10.

En los estudios del esfuerzo a la ruptura se encontró que las películas de PAn-PBMA muestran valores menores en comparación con los valores presentados por la película de PBMA, con esto se deduce que la adición de polianilina a la matriz de termoplástico disminuye el esfuerzo requerido para la ruptura de la película, además esta disminución es mayor cuando se incrementa la cantidad de polianilina, por lo tanto las películas preparadas al 33% de PAn presentaron un efecto mayor en comparación a las películas con 13% de PAn; por otra parte, se encontró que la adición de los dispersantes, PVME y PVVEE, reduce el efecto causado por la presencia de polianilina.

Tabla 9. Conductividad eléctrica en S/cm para películas de PAn-PBMA con 33% de PAn

Dispersante/PAn	Con PVME	Con PVEE
1.0	5.5×10^{-4}	7.6×10^{-4}
0.5	1.5×10^{-4}	4.3×10^{-4}
0.3	2.3×10^{-4}	3.4×10^{-4}
0.1	1.2×10^{-3}	4.7×10^{-4}
0.07	*	1.5×10^{-4}
0.05	*	*

*aglomeración

Tabla 10. Propiedades mecánicas en películas de PAn-PBMA, Dispersante-PBMA, y PAn-PBMA-Dispersante, preparados con una proporción dispersante/PAn de 0.1

PAn %	Esfuerzo a la Ruptura Mpa	Deformación a la Ruptura %	Modulos de Young MPa
Sin Dispersante			
33	1.5 ± 0.2	2.3 ± 0.3	213 ± 18
13	3.2 ± 0.6	2.6 ± 0.6	396 ± 52
0	8.4 ± 1.8	322 ± 50	126 ± 38
Con PVME			
33	2.1 ± 0.5	2.8 ± 0.4	214 ± 32
13	6.0 ± 3.0	14 ± 8	237 ± 29
0a	9.0 ± 2	223 ± 86	169 ± 39
0b	9.8 ± 0.5	280 ± 6	217 ± 24
Con PVEE			
33	2.0 ± 0.7	3.5 ± 0.9	229 ± 40
13	7.7 ± 1.2	140 ± 56	164 ± 38
0a	6.0 ± 0.7	370 ± 64	58 ± 9
0b	7.2 ± 1.9	272 ± 96	116 ± 15

^a con 4.9% (m/m) de dispersante

^b con 1.7% (m/m) de dispersante

El porcentaje de deformación a la ruptura de las películas de PBMA disminuye en forma proporcional con la cantidad de polianilina adicionada; éste efecto decrece al adicionar a la película los dispersantes PVME y PVEE. En la película al 13% de polianilina utilizando PVEE como dispersante se observó un gran incremento de este valor con respecto a la película de termoplástico, dicho incremento va de 2.6 hasta 140%..

En los estudios del módulo de Young se encontró que las películas de PAn-PBMA presentan valores mayores que los presentados por las películas de PBMA, por otra parte se encontró que la adición de los dispersantes a las películas con 33% de PAn no alteró el efecto mostrado por la adición de polianilina.

En general, la polianilina provocó un deterioro en las propiedades terminales del termoplástico, sin embargo, este efecto es disminuido con la adición de los dispersantes.

4.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Cuando se observó el polvo de polianilina en la imagen obtenida por microscopía electrónica mostrada en la Figura 14, se pudo apreciar la formación de aglomerados grandes interconectados, lo que favorece al fenómeno de conducción eléctrica.

En la micrografías de las películas de PAn-PBMA preparadas al 13 y 33% en peso de PAn se presentan unas zonas donde solo se aprecia al termoplástico y otras donde se presentan aglomerados de polianilina, según estas observaciones la polianilina no se dispersa completamente sobre la matriz del termoplástico, por lo tanto son películas no homogéneas, como se puede observar en las micrografías de las Figuras 15 y 16. En la escala macroscópica también se observa que son películas heterogéneas.

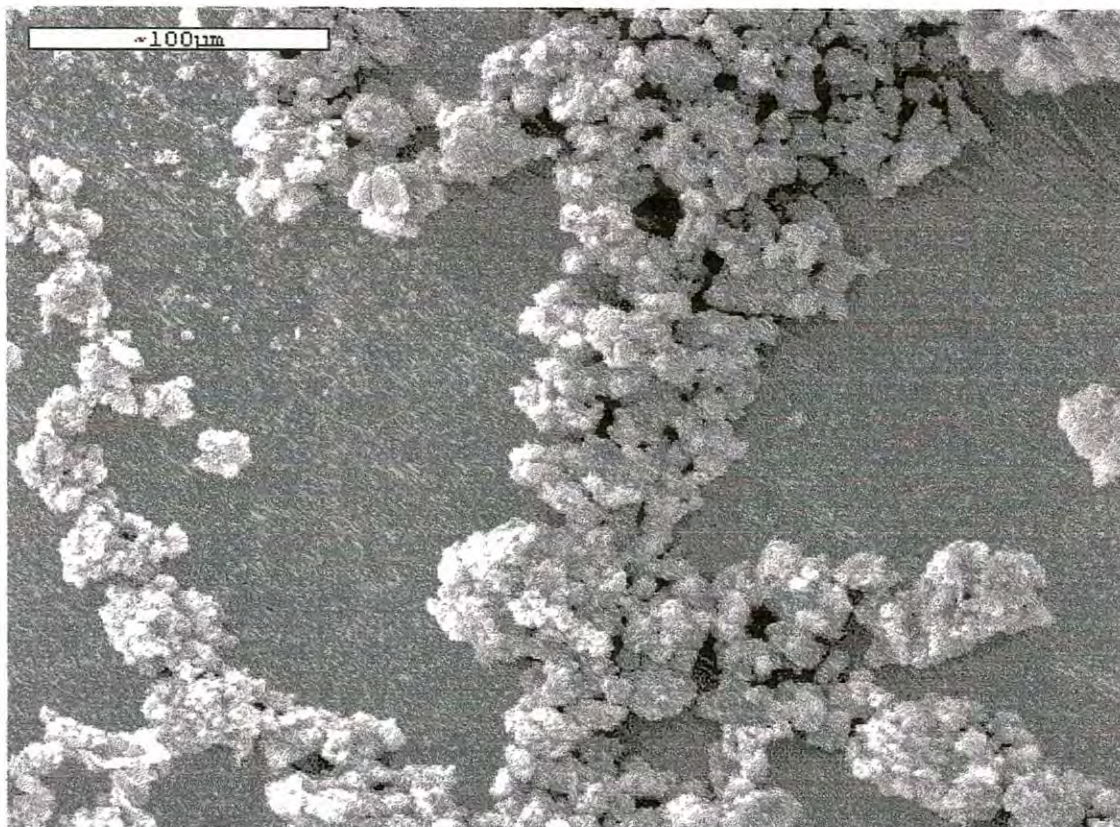


Figura 14. Micrografía por SEM del polvo de polianilina

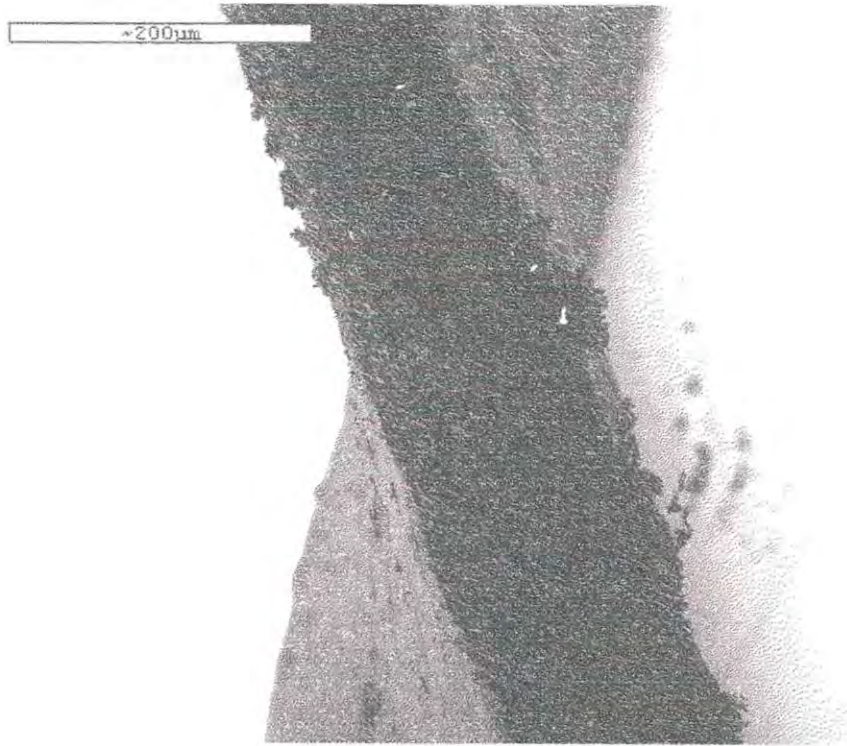


Figura 15. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn sin dispersante

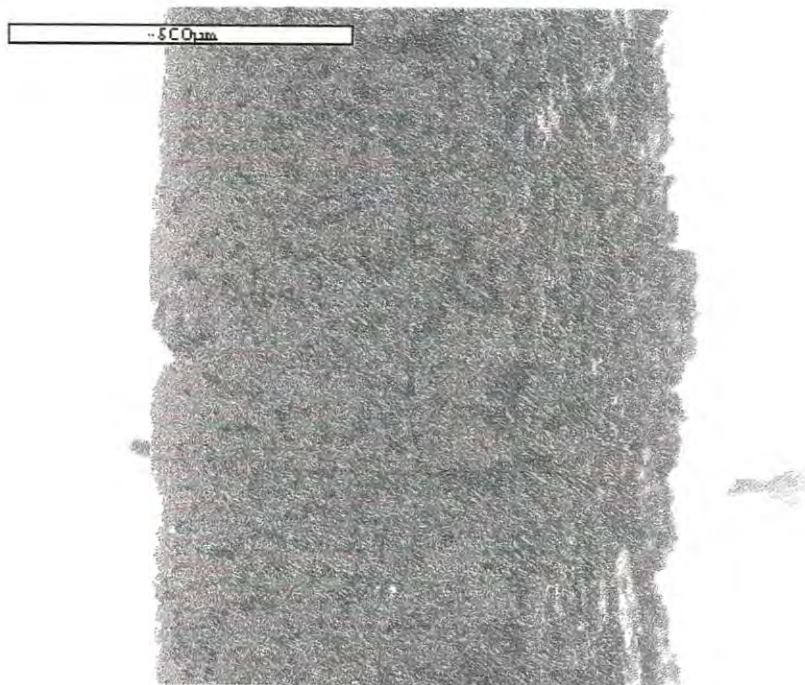


Figura 16. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn sin dispersante

En las micrografías de las películas de PAn-PBMA-PVME mostradas en las Figuras 17 y 18 se observa una distribución uniforme de la polianilina sobre la matriz del termoplástico, ya que no se aprecian zonas claras de termoplástico ni formación de aglomerados de polianilina, por lo tanto estas películas son homogéneas, como se observa también en la escala macroscópica; observaciones similares se aprecian en las micrografías de las películas que utilizaron PVVE como dispersante, las cuales se muestran en las Figuras 19 y 20. En base a los resultados anteriores podemos deducir que la adición de los dispersantes, PVME y PVVE, favorece la homogeneidad de las películas; Sin embargo las películas preparadas utilizando PVME presentaron valores más altos de conductividad eléctrica, por lo que se decidió trabajar con ellas para la parte de las aplicaciones.

4.5 APLICACIONES

4.5.1 SENSOR DE H_2O_2 E NH_4OH

En los estudios de sensibilidad al H_2O_2 en las películas preparadas con 33% en peso de polianilina se encontró que éstas películas fueron sensibles a soluciones de 0.032 a 0.32 mM de H_2O_2 , tomando en consideración que dentro de este intervalo se encuentran las concentraciones de H_2O_2 equivalentes a los valores normales de ácido úrico presentes en suero sanguíneo, estas películas podrían utilizarse en la construcción de un biosensor para ácido úrico, donde el producto final sea H_2O_2 , como se verá mas adelante. En la Figura 21 se presenta la curva de calibración del H_2O_2 , la cual muestra un comportamiento lineal con un coeficiente de correlación lineal (r) igual a 0.99, donde se observa que al aumentar la concentración de H_2O_2 se aumenta también en forma proporcional el cambio en resistencia eléctrica de la película.



Figura 17. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn y con proporción PVME/PAn de 0.1



Figura 18. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn y con proporción PVME/PAn de 0.1

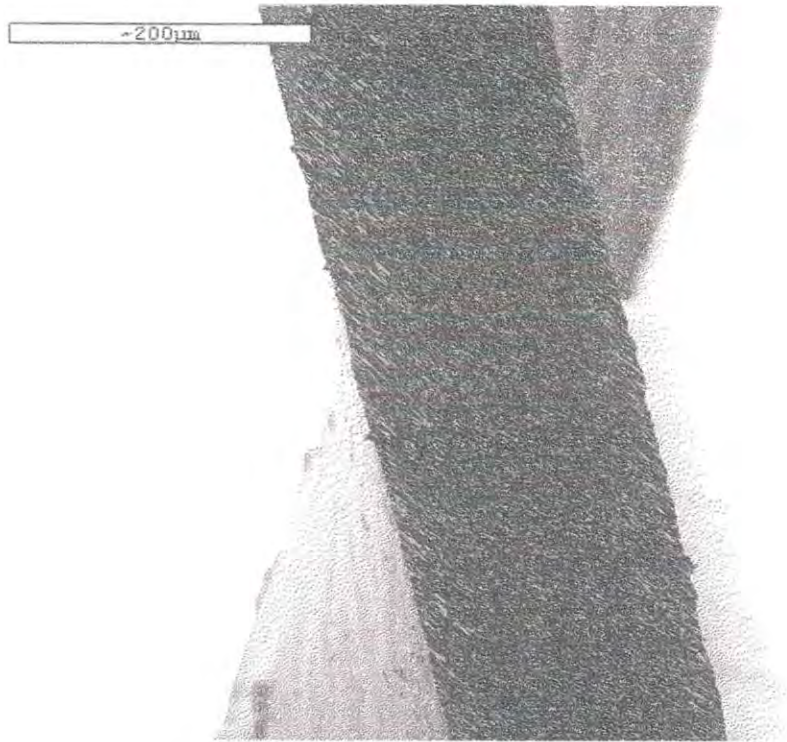


Figura 19. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 13% de PAn y una proporción PVEE/PAn de 0.1

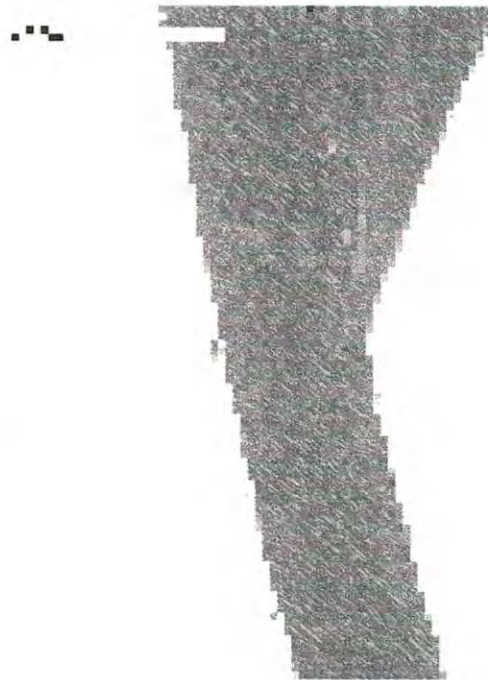


Figura 20. Micrografía por SEM de la sección transversal de una película al 33% de PAn y una proporción PVEE/PAn de 0.1

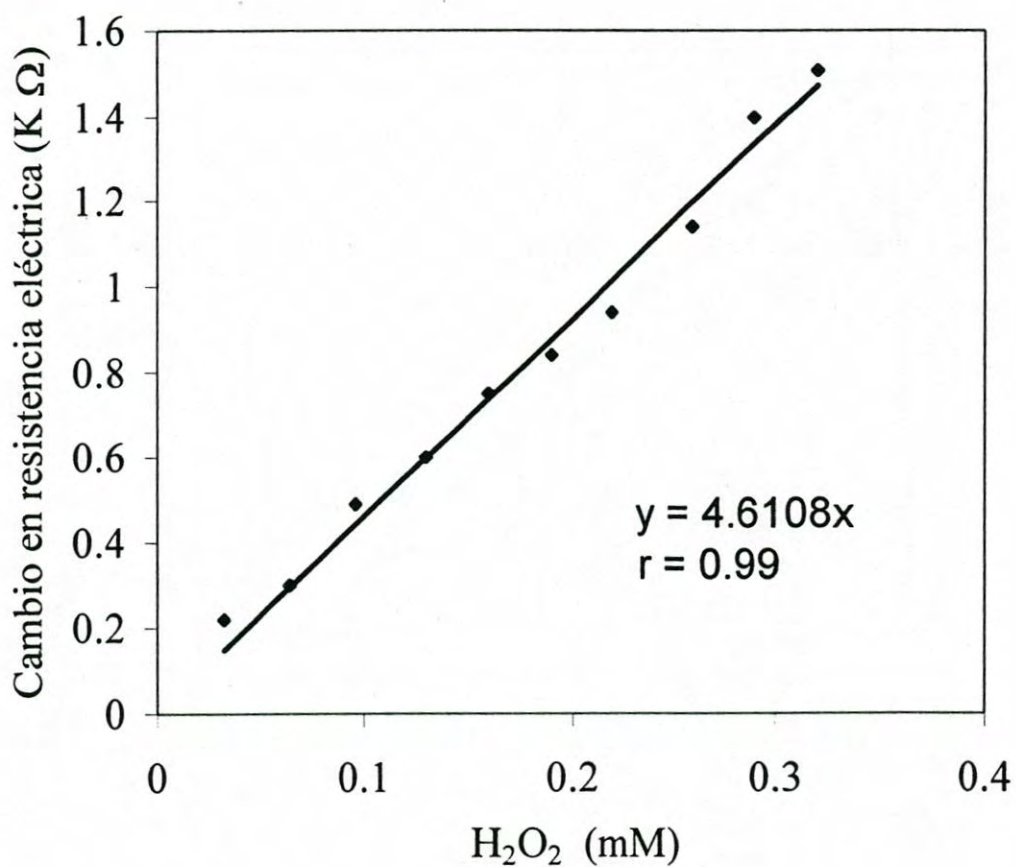


Figura 21. Cambio de la resistencia eléctrica de películas al 33% de polianilina con proporción PVME/PAn igual a 0.1, al someterse a diferentes concentraciones de H_2O_2 (mM)

El cambio de resistencia eléctrica de las películas de polianilina por acción del H_2O_2 se atribuye a una degradación de la cadena de polianilina, como se muestra en la Figura 10a, con cual se rompe la conjugación de la cadena, impidiendo así el movimiento de los acarreadores de carga, lo que se refleja en un aumento en la resistencia eléctrica de la película.

En los estudios de sensibilidad de las películas preparadas con 13% de polianilina hacia soluciones de NH_4OH se encontró que estas películas son sensibles a concentraciones entre 2.6 y 26 mM, tomando en cuenta que dentro de este intervalo se encuentran los valores de NH_4OH equivalentes a la concentración normal de urea presente en suero sanguíneo se podrían utilizar estas películas en la construcción de un biosensor de urea donde el producto final sea NH_4OH como se presentará mas adelante. En la Figura 22 se muestra la curva de calibración del hidróxido de amonio, la cual presentó un comportamiento lineal con un valor de r igual a 0.99, donde se encontró que al aumentar la concentración de NH_4OH se aumenta en forma proporcional el cambio de resistencia eléctrica de la película.

El cambio de resistencia eléctrica de la película se atribuye a la neutralización de la cadena de polianilina por acción del NH_4OH , con lo cual la polianilina pasa de la forma conductora llamada sal de emeraldina hacia la forma no conductora conocida como emeraldina base, lo que se refleja en un aumento en la resistencia eléctrica de la película; las diferentes formas de la polianilina se muestran en la Figura 3 y el efecto del NH_4OH sobre la polianilina se esquematiza en la Figura 10b.

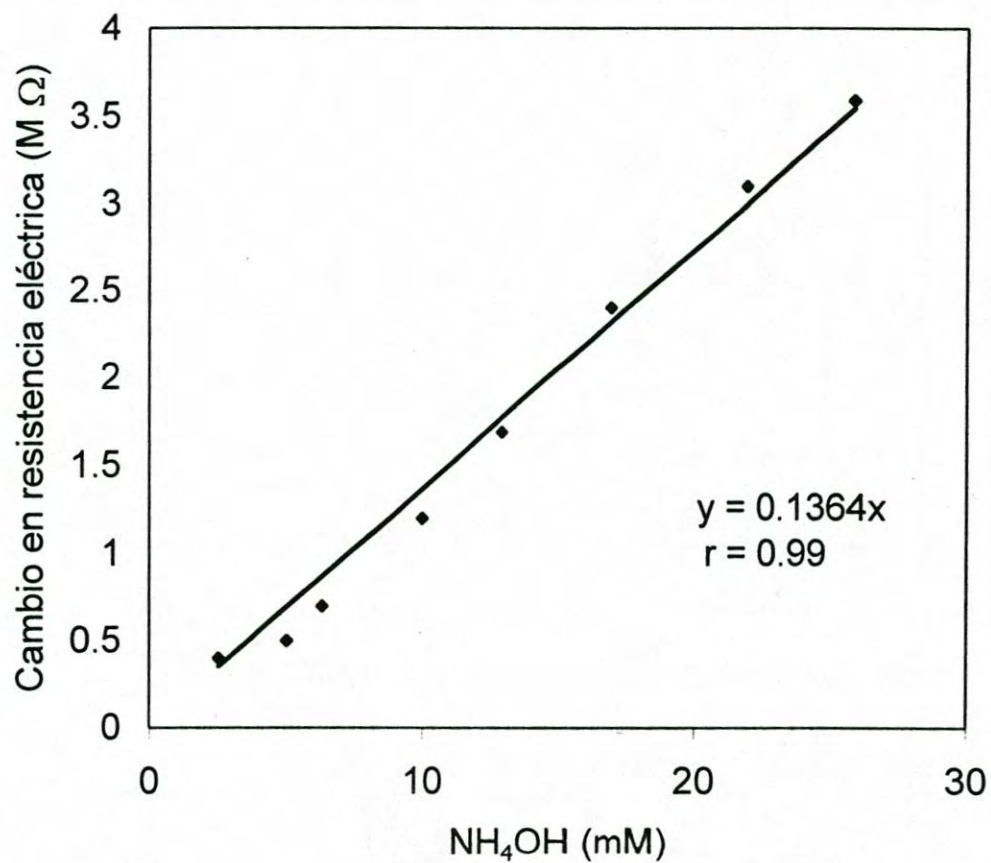


Figura 22. Cambio de la resistencia eléctrica de películas al 13% de PAn con proporción PVME/PAn igual a 0.1, al someterse a diferentes concentraciones de NH_4OH (mM)

4.5.2 BIOSENSOR PARA ÁCIDO ÚRICO Y UREA

Las películas de polianilina mostraron sensibilidad a las soluciones de ácido úrico con concentraciones comprendidas entre 5 y 12.5 mg/dl, tomando como base que las películas fueron sensibles a los niveles normales de ácido úrico sérico, los cuales corresponden a 2.4 - 5.7 mg/dl. Podemos deducir que se puede utilizar este sistema para determinación de ácido úrico en muestras séricas, como se verá mas adelante..

En la gráfica de la Figura 23 se puede apreciar un cambio en la resistencia eléctrica de la película, el cual es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico, presentándose de ésta manera un comportamiento lineal con un valor de r igual a 0.97

La sensibilidad se atribuye al peróxido de hidrógeno que se produce al poner en contacto la solución de ácido úrico con la solución que contiene a la enzima uricasa, como se muestra en la reacción 9a.

En los estudios de la sensibilidad de las películas de polianilina hacia soluciones de urea se encontró que las películas manifiestan un cambio en su resistencia eléctrica proporcional a la concentración de urea, presentando un comportamiento lineal para las concentraciones de urea comprendidas entre 20 y 100 mg/dl y un valor de coeficiente de correlación lineal, r , igual a 0.98; estas observaciones se muestran en la gráfica de la Figura 24. Tomando como base que estas películas presentaron sensibilidad hacia concentraciones de urea correspondientes a los valores normales de este metabolito en suero sanguíneo los cuales van de 20 a 40 mg/dl, deducimos que podrían aplicarse para la determinación de urea en muestras séricas, como se mostrará en el siguiente estudio.

Esta sensibilidad es atribuida al amoniaco acuoso que se produce por el desdoblamiento de la urea en presencia de la enzima ureasa, esta reacción se

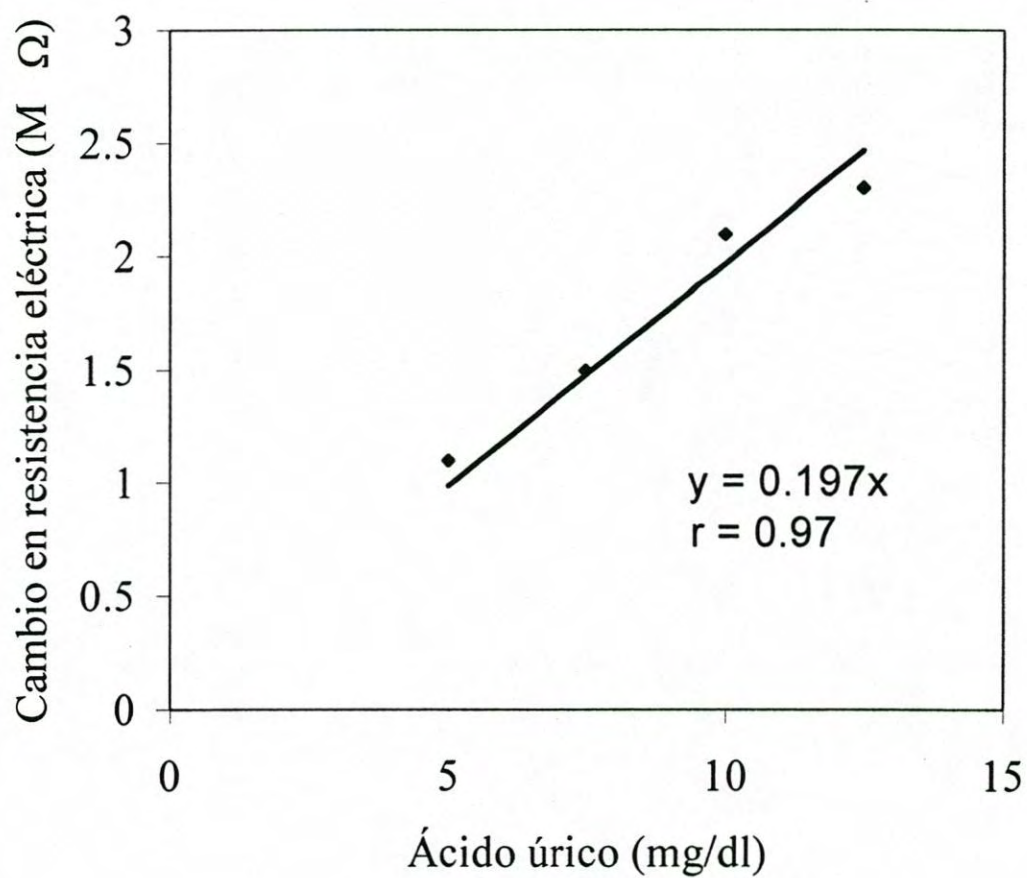


Figura 23. Cambio de la resistencia eléctrica de películas al 33% de PAn con proporción PVME/PAn igual a 0.1, al someterse a diferentes concentraciones de ácido úrico (mg/dl)

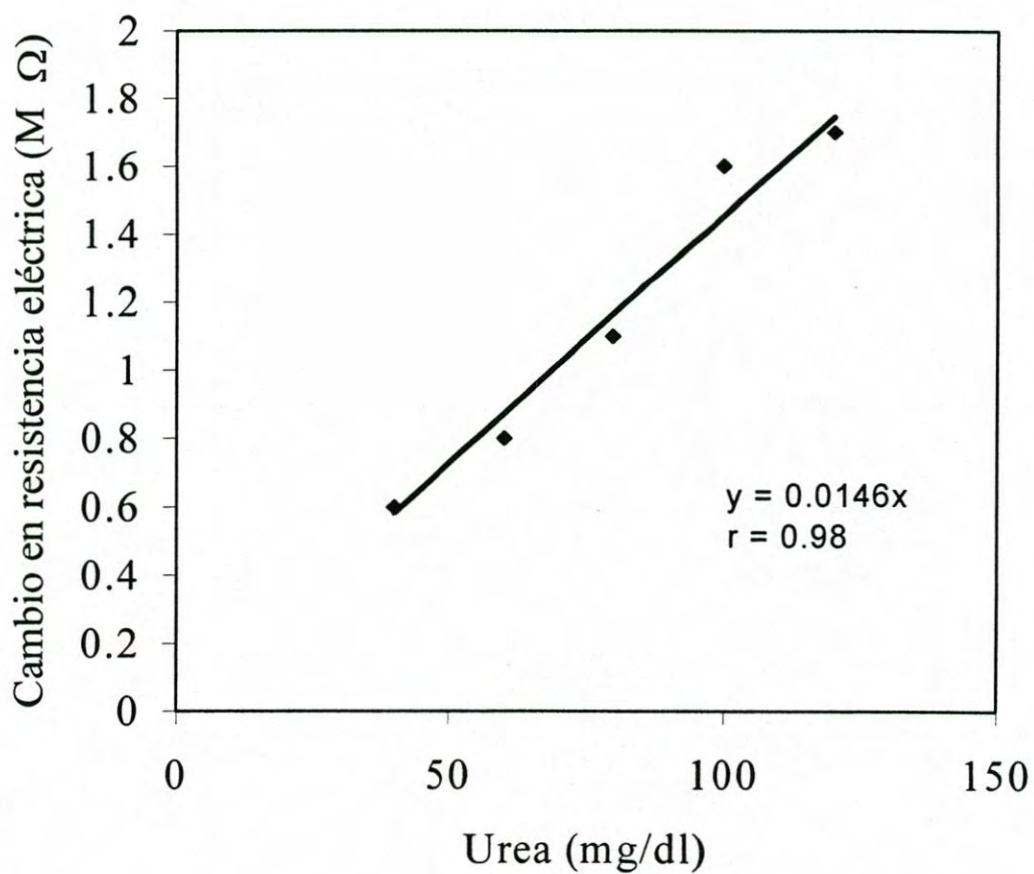


Figura 24. Cambio de la resistencia eléctrica de películas al 13% de PAn y proporción PVME/PAn igual a 0.1, al someterse a diferentes concentraciones de urea (mg/dl)

esquematiza en la Figura 9b, la acción del NH_4OH se puso de manifiesto mediante un incremento en la resistencia eléctrica de la película de polianilina.

4.5.3 COMPARACIÓN DE LOS VALORES OBTENIDOS DE ÁCIDO ÚRICO Y UREA EN SUEROS SANGUÍNEOS

Se determinó la concentración de ácido úrico utilizando nuestro método en 15 muestras proporcionadas por el laboratorio clínico del HIES, donde previamente fueron analizadas utilizando el método PAP; se encontró que los valores de ácido úrico obtenidos por nuestro método son muy similares a los valores reportados por el HIES; en la Tabla 11 se muestran los valores de ácido úrico obtenidos por el método de referencia y los valores obtenidos por nuestro método; en la gráfica de la Figura 25 se aprecia la correspondencia entre los valores obtenidos por ambos métodos, la cual presenta un coeficiente de correlación lineal igual a 0.95.

Se determinó la concentración de urea sérica utilizando nuestro método en 15 muestras proporcionadas por el ISSSTE donde previamente fueron analizadas utilizando el método enzimático estándar; se encontró una gran similitud entre los valores de urea sérica obtenidos por nuestro método y los valores reportados por el laboratorio clínico del ISSSTE, los valores de urea obtenidos en los dos métodos se muestran en la Tabla 12; la correlación entre los valores obtenidos por ambos métodos se muestra en la gráfica de la Figura 26 donde se presenta un coeficiente de correlación lineal igual a 0.99.

Con lo anterior encontramos que nuestras películas de polianilina pueden ser aplicadas en la construcción de un biosensor para determinación de ácido úrico y urea, sin embargo, es importante señalar que los resultados en la construcción del biosensor para urea fueron mejores.

Tabla 11. Valores de ácido úrico (mg/dl), obtenidos en muestras séricas analizadas por el método de referencia y por nuestro método

Método PAP	Nuestro Método
5.6	6.0
5.2	5.7
5.4	5.0
3.8	3.5
4.3	4.7
6.3	6.3
3.8	3.2
7.5	7.4
6.5	7.1
6.5	6.5
4.2	3.7
4.2	4.6
5.0	4.8
5.1	4.9
5.1	5.4

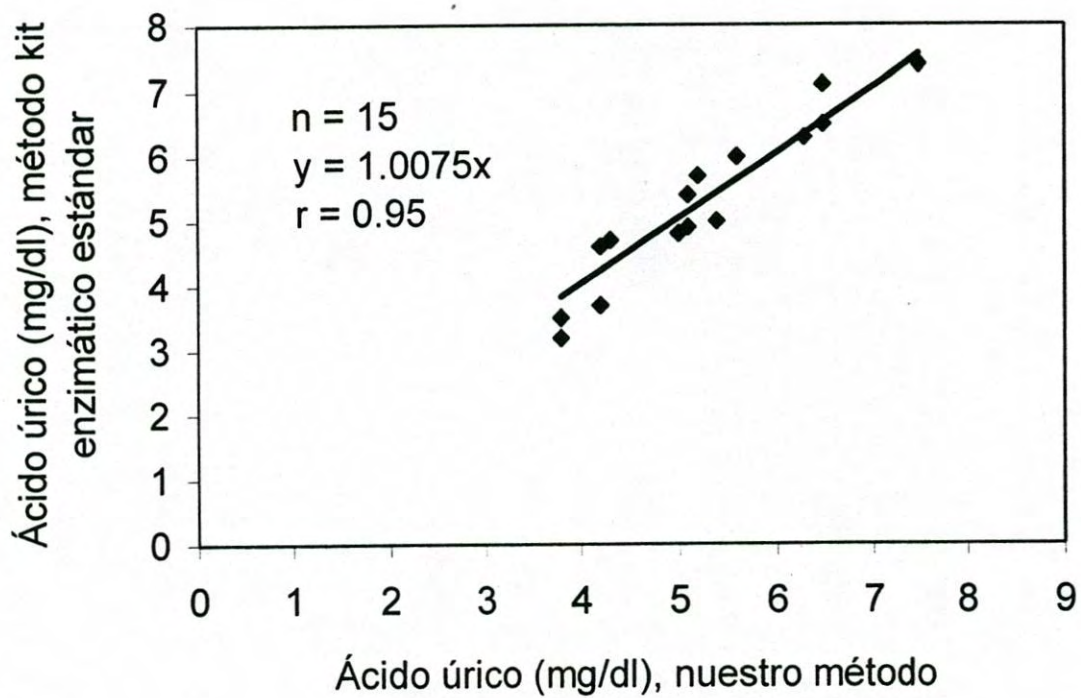


Figura 25. Comparación de los valores de ácido úrico (mg/dl) del método propuesto y el método de referencia.

Tabla 12. Valores de urea (mg/dl), obtenidos en muestras séricas analizadas por el método de referencia y por nuestro método

Método Enzimático	Nuestro método
19	18
21	20
33	33
35	36
36	36
35	35
41	39
39	39
40	39
44	40
44	41
50	43
57	55
66	64
96	92

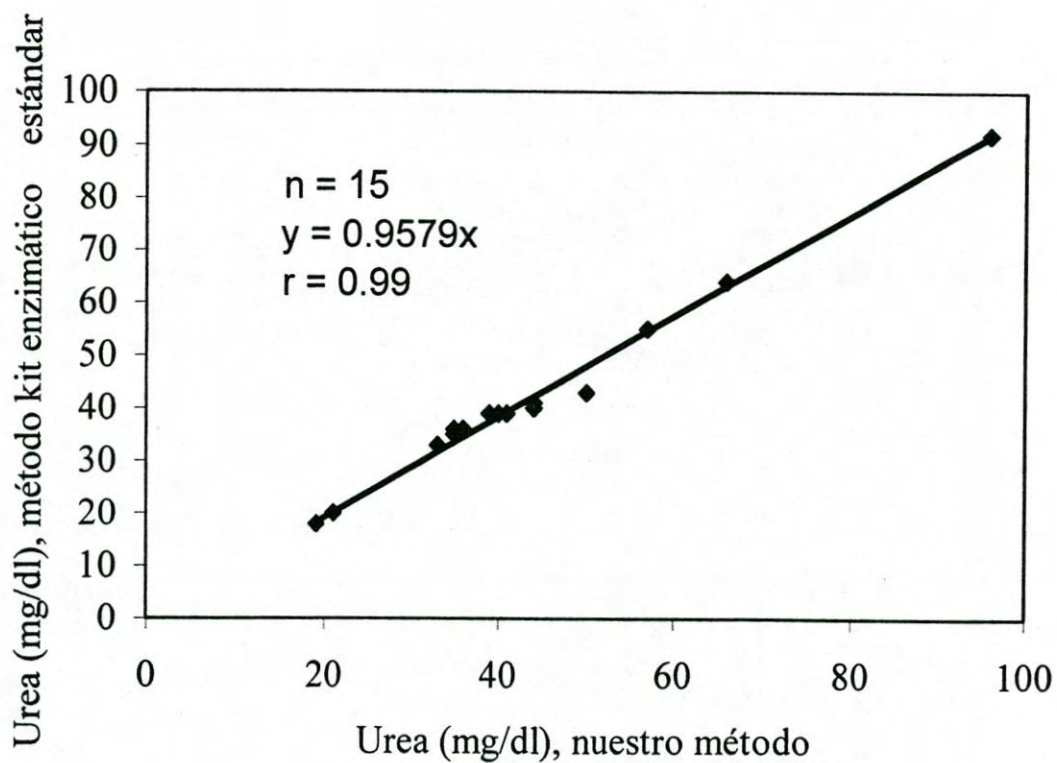


Figura 26. Comparación de los valores de urea (mg/dl) del método propuesto y el método de referencia.

4.6 REUSO DE LAS PELÍCULAS DE POLIANILINA

Cuando las películas de polianilina fueron expuestas al NH_4OH durante 1 minuto aumentaron su resistencia eléctrica, este efecto se atribuye, como se mencionó anteriormente, al desdopaje de la polianilina pasando en parte a su forma de emeraldina base, la cual se caracteriza por no ser conductora. Posteriormente, cuando las mismas películas fueron sumergidas en solución de HCl 1M durante 1 minuto, disminuyeron su resistencia eléctrica volviendo a un valor muy cercano al original, éste efecto se atribuye al dopaje de la polianilina por los iones cloruro, con lo cual regresa a su forma de sal de emeraldina recuperando su resistencia original; con los resultados obtenidos se pone de manifiesto la reversibilidad de las propiedades eléctricas de las películas. El tratamiento de las películas con solución de NH_4OH y posteriormente con HCl se realizó ocho veces, durante los cuales se observó un aumento en la resistencia eléctrica de la película seguido de un decremento, llegando a un valor muy cercano al inicial, como se aprecia en la gráfica de la Figura 27, sin embargo en el octavo ciclo se mostró un incremento notable en la resistencia eléctrica inicial de la película, por lo tanto ya no se continuó el estudio.

De lo anterior se puede deducir que las películas de polianilina pueden utilizarse ocho veces en la prueba de sensibilidad al NH_4OH , pudiendo volver a un valor de resistencia eléctrica de la película muy cercano al original, como se muestra en la Figuras 27 . En la gráfica de la Figura 28 de muestran únicamente los valores de resistencia eléctrica inicial, es decir los valores presentados cuando la película es sometida a solución de HCl , en esta gráfica se logra visualizar la similitud que presentan estos valores, donde se observa también el incremento de este valor a partir del octavo ciclo.

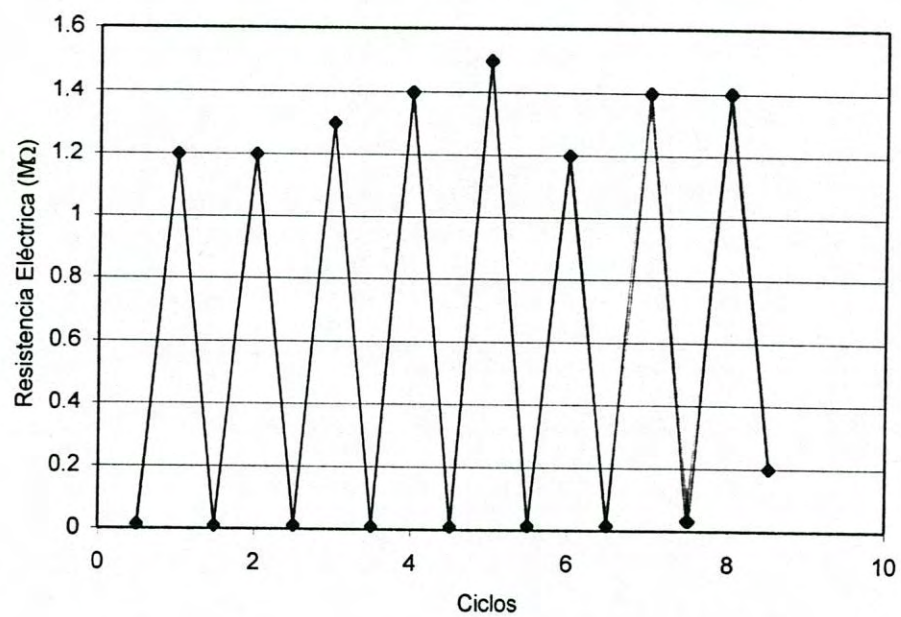


Figura 27. Cambio de resistencia eléctrica en películas al 13 % de PAn y 0.1 de PVME, por tratamientos sucesivos en NH_4OH 13 mM y HCl 1M

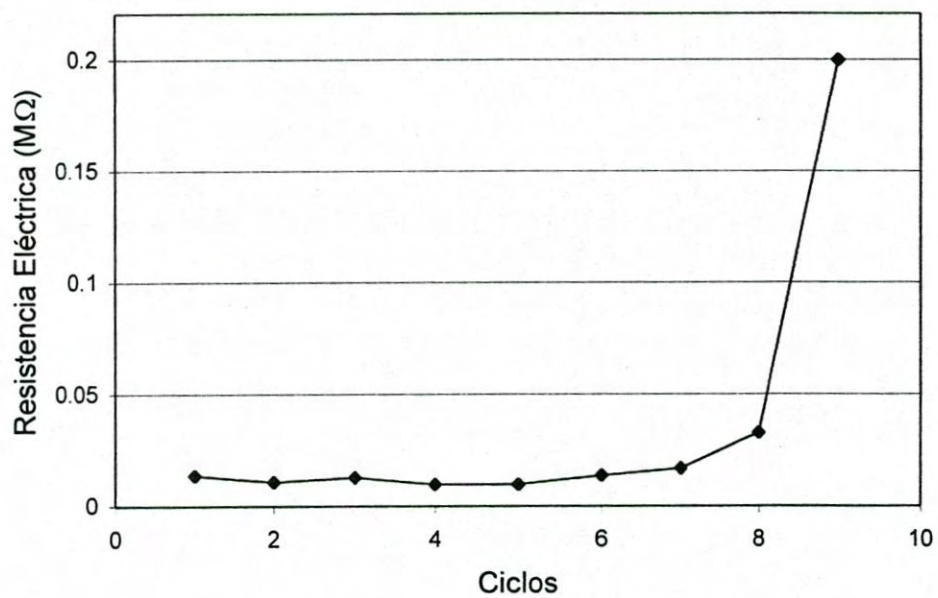


Figura 28. Resistencia eléctrica presentada por la película después de cada exposición a HCl 1M

4.7 PORCENTAJE DE ERROR EN LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

La determinación del porcentaje de error correspondiente a cada uno de nuestros estudios de sensibilidad se realizaron con la finalidad de conocer la reproducibilidad de nuestro método, donde se encontró que el porcentaje de error para la curva de calibración del H_2O_2 fue de 5, para el NH_4OH de 4, para ácido úrico de 5 y finalmente para urea de 6; en promedio el porcentaje de error encontrado para el método empleado podemos decir que corresponde a 5, este resultado es considerado como un valor aceptable para este tipo de estudios, por lo tanto podemos deducir que nuestro método es reproducible. En las Figuras 29, 30, 31 y 32. se presentan las curvas de calibración con el porcentaje de error incluido.

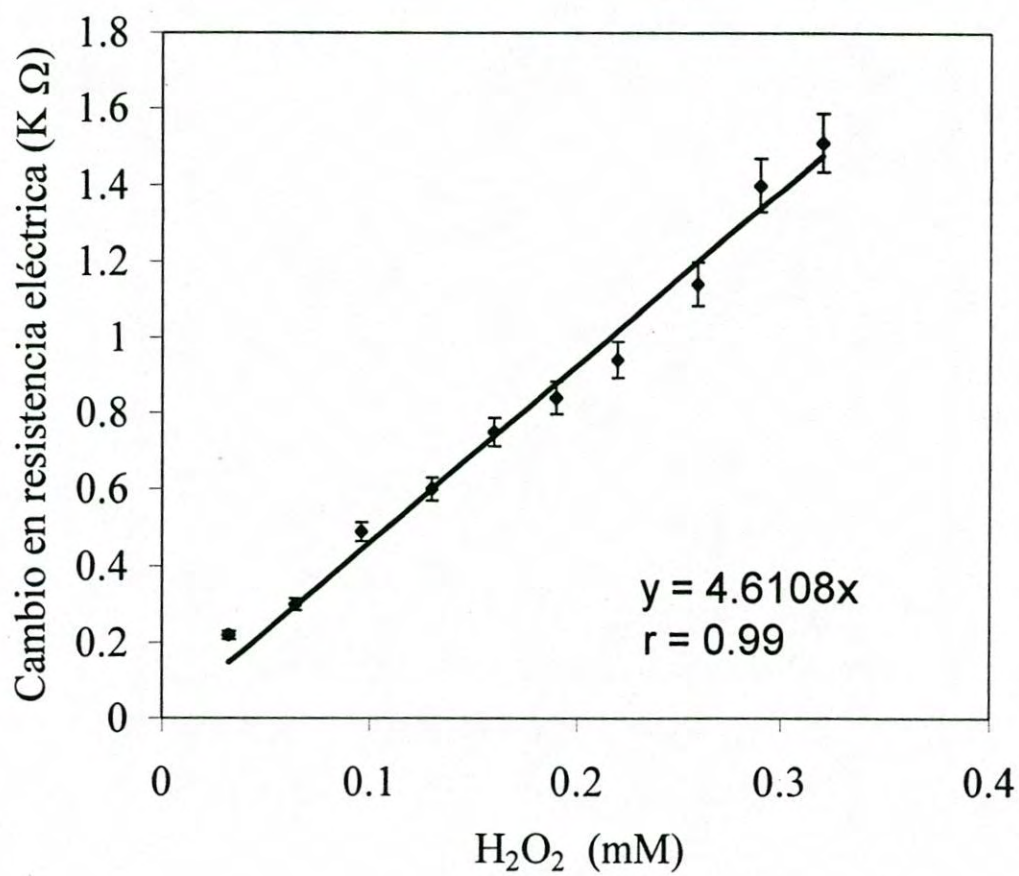


Figura 29. Cambio en resistencia eléctrica de la película sometida a diferentes concentraciones de H_2O_2 (mM), con porcentaje de error incluido

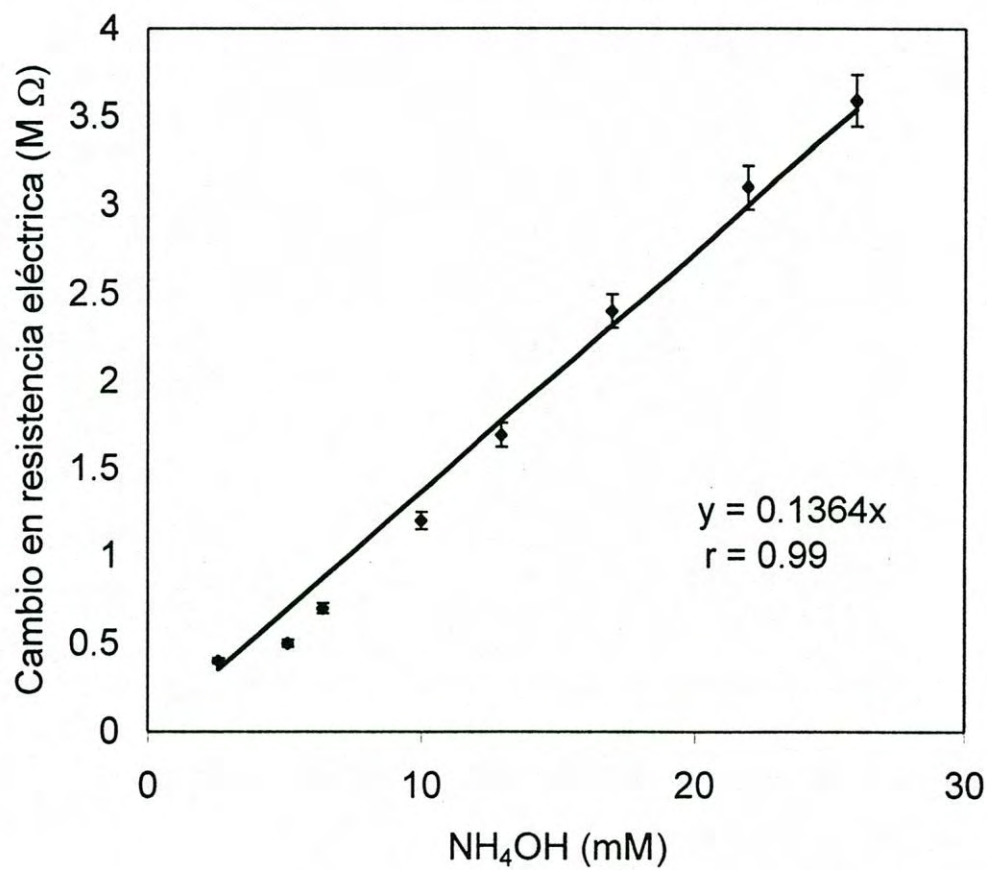


Figura 30. Cambio en resistencia eléctrica de la película sometida a diferentes concentraciones de NH_4OH (mM), con porcentaje de error incluido.

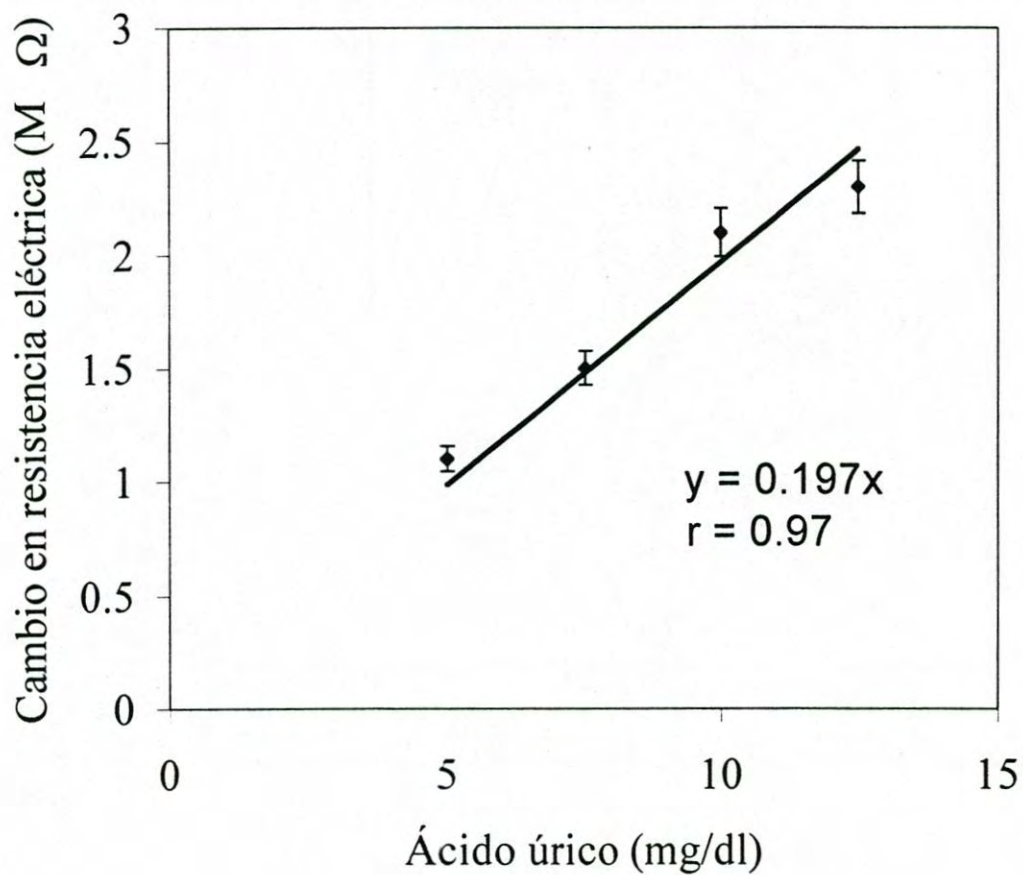


Figura 31. Cambio en resistencia eléctrica de la película sometida a concentraciones diferentes de ácido úrico (mg/dl), con porcentaje de error incluido

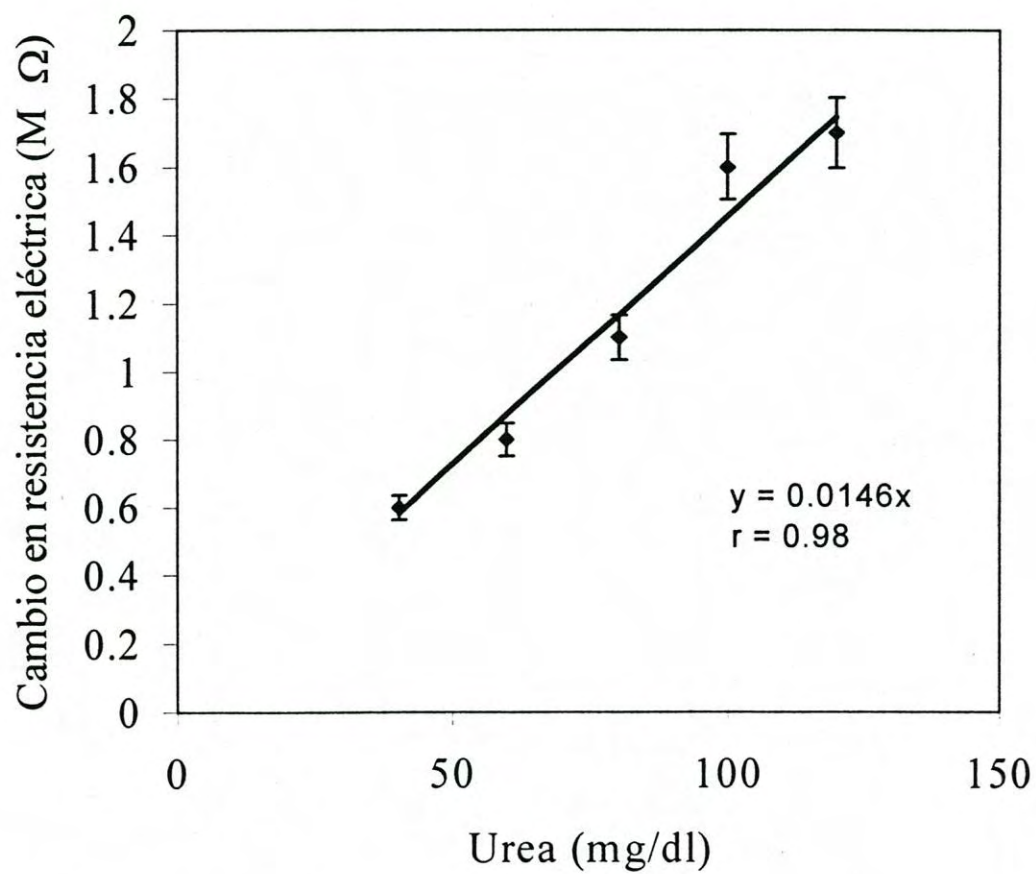


Figura 32. Cambio en resistencia eléctrica de la película sometida a diferentes concentraciones de urea (mg/dl), con porcentaje de error incluido

CONCLUSIONES

Se elaboraron películas de mezclas de PAn-PBMA-PVME ó PVEE con diferente porcentaje en peso de polianilina, las cuales presentaron valores de conductividad eléctrica en un intervalo de 10^{-3} a 10^{-9} S/cm. En las películas donde se utilizó PVME como dispersante se encontró que la mínima concentración de polianilina necesaria para obtener conductividad eléctrica es de 4% en peso; mientras que cuando se utilizó PVEE la concentración mínima requerida de polianilina fue del 3% en peso.

En relación a la calidad de las películas se encontró que cuando la proporción dispersante/polianilina correspondió a 0.1 éstas mostraron homogeneidad y buenas propiedades eléctricas, mientras que las películas con proporción dispersante/polianilina igual a 0.05 resultaron no homogéneas, presentando aglomeración de la polianilina en la matriz de termoplástico.

El esfuerzo a la ruptura y la deformación a la ruptura disminuyeron con el incremento de la cantidad de polianilina en la matriz de termoplástico, sin embargo, la adición de los dispersantes contrarrestó el efecto causado por la polianilina.

Los estudios de microscopía electrónica de barrido revelaron que la adición de los dispersantes favoreció la distribución de la polianilina sobre la matriz termoplástica, obteniéndose películas homogéneas.

Las películas preparadas al 13 y 33% en peso de polianilina con proporción PVME/polianilina de 0.1 presentaron buena conductividad eléctrica, homogeneidad y propiedades mecánicas aceptables, por lo tanto fueron seleccionadas para la parte correspondiente a las aplicaciones.

Las películas al 33% en peso de polianilina fueron sensibles a soluciones 0.032 a 0.32 mM de peróxido de hidrógeno, manifestándose un comportamiento lineal en la curva de calibración con un valor de r igual a 0.99.

Las películas preparadas al 13% en peso de polianilina presentaron sensibilidad a soluciones de 2.6 a 26 mM de hidróxido de amonio, obteniéndose un comportamiento lineal en la curva de calibración de hidróxido de amonio, con valor de r igual a 0.99.

Se probaron las películas como biosensor para determinación de ácido úrico sérico, primero se elaboró una curva de calibración de ácido úrico donde se obtuvo un comportamiento lineal en el intervalo de 5 a 12.5 mg/dl, con r igual a 0.97.

Se probaron las películas como biosensor para determinación de urea sérica, basado en la elaboración de una curva de calibración de urea donde se obtuvo un comportamiento lineal de 20 a 100 mg/dl de urea y valor de r igual a 0.99.

Los valores de ácido úrico y urea obtenidos por nuestro método fueron muy similares a los valores reportados en los métodos de referencia.

Se puede concluir que las películas obtenidas en el presente trabajo mostraron buenos resultados al utilizarlas como sensores químicos para H_2O_2 e NH_4OH y como biosensores para ácido úrico y urea.

La ventaja de utilizar estas películas como sensores y biosensores es que el equipo necesario para determinar el cambio en la resistencia solo es un multímetro, equipo de bajo costo cuando se compara con el equipo utilizado por otras técnicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Raji K. Paul, C.K.S. Pillai, "Melt/solution processable conducting polyaniline with novel sulfonic acid dopants and its thermoplastic", *Synthetic Metals*, 114 (2000) 27-35
2. <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Hangar/3153/polimeros.htm>
3. Mu-Yi Hua, Gue-ww Hwang, Yuan-Hsinn Chuang, and Show-An Chen, "Soluble n-doped polyaniline: synthesis and characterization", *Macromolecules*, 33 (2000) 6235-6238
4. Mukut Chakraborty, D.C. Mukherjee, S.M. Mandal, "Interpenetrating polymer network composites of polypyrrole and poly(vinil acetato)", *Synthetic Metals*, 98 (1999) 193-200
5. K. Shridhara Alva, Jayant Kumar, Kenneth A. Marx, and Sukant K. Tripathy, "Enzymatic synthesis and characterization of a novel water - soluble polyaniline: poly(2,5 – diaminobenzenesulfonate)", *Macromolecules*, (1997)
6. Irena Kulszewicz-Bajer, Adam Pran, Joanna Abramowicz, Claudine Jeandey, and Janusz W. Sobczak, "Lewis acid doped polyaniline: preparation and spectroscopic characterization", *Chem. Mater*, 11 (1999) 552-556
7. Ohyun Kwon and Michael L. McKee, "Calculations of band gaps in polyaniline from theoretical studies of oligomers", *J. Phys. Chem B*, 104 (2000)1686-1694
8. G.E. Asturias and A.G. Mac Diarmid, "The oxidation state of "emeraldine" base", *Synthetic Metals*, 29 (1989) E157-E162

9. Chien-Chung Han and Shih-Ping Hong, "A novel electrochemical method for enhancing the conductivity of polyaniline solid matrices in preformed films", *Macromolecules*, 34 (2001) 4937-4941
10. M. Narkis, S. Srivastava, R. Tchoudakov, O. Brever, "Sensors for liquids based on conductive immiscible polymer blends", *Synthetic Metals*, 113 (2000) 29-34
11. Weibin Chen, Harry L. Pardue, "Pseudo-equilibrium approach to the design and use of enzyme-based amperometric biosensors evaluated using a sensor for hydrogen peroxide", *Analytica Chimica Acta*, 409 (2000) 123-130
12. Rosario Chirillo, Gianfranco Caenaro, Bruno Pavan, and Antonio Pin, "The use of immobilized enzyme reactors in continuous-flow analyzers for the determination of glucose, urea, and uric acid", *Clinical Chemistry*, 25/10 (1979) 1744-1748
13. Ottilia Elekes, Danila Moscone, Kor Venema, Jakob Kort, "Bi-enzyme reactor for electrochemical detection of low concentrations of uric acid and glucose", *Clinica Chimica Acta*, 239 (1995) 153-165
14. Wen-June Cho and Hsuan-Jung Huang, "An amperometric urea biosensor based on a polyaniline-perfluorosulfonated ionomer composite electrode", *Anal. Chem*, 70 (1998) 3946-3951
15. Yasushi Hasebe, Kimihisa Nawa, Shinya Ujita and Shunichi Uchiyama, "Highly sensitive flow detection of uric acid based on intermediate regeneration of uricase", *The Analyst.*, 123 (1998) 1775-1780
16. Kroschwitz, Jacqueline I., *Electrical and electronic properties of polymers*, John Wiley, USA, 1988

17. M.E. Martínez , D.E. Rodríguez, Efecto de la Adición del Poli(vinil metil éter) ó Poli(vinil etil éter), en la Preparación de Películas de Polianilina Electroconductora, para su Uso Potencial en Biosensores, Tesis de licenciatura, Universidad de Sonora, 1999
18. Wade, L.G, *Química Orgánica*, Prentice-Hall Hispanoamericana, México, 1993
19. Gordon G. Wallace, Geoffrey M. Spinks, Peter R. Teasdale, "Conductive Electroactive Polymers", *Technomic Publishin*, USA, 1997
20. E.M. Genies, A. Boyie, M. Lapkowski and C. Tsintavis, "Polyaniline: a historical survey", *Synthetic Metals*, 36 (1990) 142-145
21. Anthony Kelly, *Concise Encyclopedia of Composite Materials*, Pergamon, USA, 1994
- 22 Dalas, S. Sakkopoulos, E. Vitoratos, Termal degradation of the electrical conductivity in polyaniline and polypyrrole composites, *Synthetic Metals*, 114 (2000) 365-368
23. Pascal Juvin, Magdalena Hasik, Jérôme Fraysse, Jérôme Planes, Adam Pron, Irena Kulszewics-Baler, "Conductive blends of polyaniline with plasticized poly(methyl methacrylate)", *Journal of Applied Polymer Science*, 74 (1999) 471-479
- 24 Swati Unde, J. Ganu, S. Radhakrishnan, "Conducting polymer - based chemical sensor: Characteristics and evaluation of polyaniline composite films", *Advanced Materials for Optics and Electronics*, 6 (1996) 151-157
- 25 Sarswati Koul, R. Chandra, S.K. Dhawan, "Conducting polyaniline composite: a reusable sensor material for aqueous ammonia", *Sensors and Actuators B*, 75 (2001) 151-159

26. M.M. Castillo-Ortega, J.C. Encinas, D.E. Rodríguez, R. Olayo, "Preparation and characterization of electroconductive polypyrrole-thermoplastic composites", *Journal of Applied Polymer Science*, 81 (2001) 1498-1506
27. Maruourl G. Kanatzldla, "Conductive polymers", *Chemical & Engineering News*, 68/40 (1990) 36-54
28. Robert O. Ebewele, *Polymer Science and Technology*, CRC Press LLC, USA, 1996
29. Joseph I. Goldstein, Pale E. Newbur, Patrick Echlin, *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, Plenum Press, New York, USA, 1992
30. Helena Curtis, *Biology*, Worth Publisher, New York, 1984
31. Peter Alexander, Mary Jean Bahret, Judith Chaves, *Biología*, Prentice Hall, New Jersey, USA, 1992
32. Alton Biggs, Chris Kapicka, Linda Lundgren, *Biología, la dinámica de la vida*, México, D.F, 1999
33. Brian R. Eggings, *Biosensors: an Introduction*, John Wiley, USA, 1996
34. Israel Davidsohn, John Bernard Henry, *Diagnóstico Clínico por el Laboratorio*, Salvat, España, 1978
35. M. Inoue, R. E. Navarro, M.B. Inoue, "New soluble polyaniline: Synthesis, electrical properties and solution electronic spectrum", *Synthetic Metals*, 30 (1989) 199-207

ANEXO

ARTÍCULO RELACIONADO CON LA TESIS DE MAESTRÍA.

M.M. Castillo-Ortega, D.E. Rodríguez, J.C. Encinas, M. Plascencia, F.A. Méndez-Velarde, R. Olayo, "Conductimetric uric acid and urea biosensor prepared from electroconductive polyaniline-poly(n-butyl methacrylate) composites", *Sensors and Actuators B*, 85/1-2 (2002) 19-25