

---

**Evaluación experimental de la capacitancia cuántica  
de una superficie nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$   
funcionalizada con ácido fólico como posible  
candidata para el desarrollo de biosensores cuánticos  
en la detección temprana del cáncer epitelial**

---

María Camila Bermúdez Jaimes

Universidad Industrial de Santander  
Facultad de ciencias, Escuela de física  
Bucaramanga, Colombia  
2023

---

**Evaluación experimental de la capacitancia cuántica  
de una superficie nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$   
funcionalizada con ácido fólico como posible  
candidata para el desarrollo de biosensores cuánticos  
en la detección temprana del cáncer epitelial**

---

María Camila Bermúdez Jaimes

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
**Física**

Directora:

Linda E. Bertel Garay, PhD.

Codirector:

David A. Miranda Mercado, PhD.

Ciencia de Materiales Biológicos y Semiconductores (CIMBIOS)

Universidad Industrial de Santander  
Facultad de ciencias, Escuela de física  
Bucaramanga, Colombia

2023

*Dedicado a los pilares de mi vida, los que con su ejemplo educaron y construyeron en mí el ser humano que soy hoy, mis padres, Noris y Alcides. Ustedes son el motor y la razón detrás de cada uno de mis esfuerzos.*

*Y a las tres personas que le han dado sentido a este camino, mis hermanas: Daniela, Natalia y Laura.*

*Los amo.*

# Agradecimientos

Agradezco sinceramente a todas las personas que de alguna u otra manera contribuyeron no solo en la realización de este proyecto de investigación sino también, en mi formación durante toda mi carrera universitaria. Reconozco y valoro su dedicación, esfuerzo y orientación durante todo este proceso, su apoyo y acompañamiento fueron fundamentales en cada etapa de este camino; hoy soy todo lo que han dejado en mí y agradezco a todos los mencionados a continuación y a los que no, por ello.

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, el centro de mi vida y el primer ser que me mostró el camino de la ciencia y suscitó en mí el deseo fortuito de estudiarla, porque mientras lo hago veo por medio de ella su amor infinito por nosotros. Es Él quien me dio las capacidades y es a Él a quien le debo todo.

A mis padres, Noris María Jaime y Alcides Bermúdez, por ser la definición de apoyo incondicional y por cada sacrificio vivido desde su amor infinito. No me alcanzarían nunca las palabras para agradecerles todo lo que han hecho por mí, simplemente gracias por sembrar en este ser una curiosidad y un amor desbordante por la creación. Es esa la razón principal por la que estoy acá.

A mis hermanas, Daniela Juliana, Natalia José y Laura Cristina, mis primeras colegas y mis mejores maestras en este camino de ciencia. Gracias por ser mis más fieles compañeras, por todo su apoyo, por cada ayuda y por ser un mar de conocimientos para mí. Estaré toda mi vida agradecida con Dios y mis padres por darme el privilegio de tenerlas conmigo.

A Carlos Eduardo Navarro, porque nunca te ha faltado una palabra de aliento, apoyo y motivación para mí. No he podido escoger un mejor compañero para vivir este proceso porque nada hubiera sido igual sin tu compañía, tu cariño, y tus consejos. Gracias Carlos E por querer ser parte de esto.

Quiero agradecer de una manera muy especial a mi amiga y profesora Viviana Güiza, por brindarme la mano en la universidad, porque con su ejemplo construye en mis herma-

---

nas y en mí mejores profesionales UIS. Gracias por estar ahí desde el inicio de este camino.

Debo un agradecimiento especial a mi directora Linda E. Bertel por ser mi guía en esta etapa, por acompañarme y ser una excelente maestra. Gracias por ser esa voz de aliento en este camino, por aportar su grano de arena en formarme no solo como profesional sino también, como un excelente ser humano.

Así mismo, quiero agradecer a mi codirector y profesor, David A. Miranda, por ayudarme a sentar los pies sobre la tierra en cada conversación y mostrarme con tanta pasión su amor por este arte.

En ese mismo sentido, agradezco a mis amigas, Dayanna Daniela y Keren Carolina por su compañía y por enseñarme con sus acciones a ser más perseverante y más resiliente. La universidad me premió con su amistad y agradezco a la vida por ello.

De igual manera quiero agradecer a mi compañero de laboratorio Jorge Quintero, por ayudarme y por esas palabras de motivación cuando las cosas no salían bien. Gracias por tu tiempo invertido en este proyecto.

Finalmente, deseo expresar mi agradecimiento a la Universidad Industrial de Santander y al Parque Tecnológico de Guatiguará-UIS por facilitar valiosamente sus recursos a través de los laboratorios de masas de la Escuela de Química, el Laboratorio de Ciencia de Superficies-SurfLab, el Laboratorio de Difracción de Rayos X y el CICAT, los cuales fueron fundamentales para la realización exitosa de este proyecto.

*A todos ustedes, mi gratitud eterna.*

# ÍNDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>18</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>1 ESTADO DEL ARTE</b>	<b>21</b>
1.1 Nanoestructuras . . . . .	21
1.1.1 Métodos de fabricación de nanoestructuras . . . . .	22
1.2 Dióxido de Titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y sus propiedades . . . . .	27
1.3 Aplicaciones en Biosensores electroquímicos . . . . .	29
1.3.1 Sensores cuánticos capacitivos . . . . .	33
<b>2 FABRICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE <math>\text{TiO}_2</math> FUNCIONALIZADOS CON ÁCIDO FÓLICO</b>	<b>36</b>
2.1 METODOLOGÍA . . . . .	36
2.1.1 Fabricación de un electrodo de trabajo basado en una SNTTO por anodización electroquímica . . . . .	36
2.1.2 Funcionalización de la SNTTO con ácido fólico . . . . .	38
2.1.3 Caracterización . . . . .	38
2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN . . . . .	40
2.2.1 Superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$ . . . . .	41
2.2.2 Funcionalización de superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$ . . . . .	45
2.2.3 Superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$ calcinadas . . . . .	48
2.2.4 Funcionalización de superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$ calcinadas	53
2.3 CONCLUSIONES . . . . .	56
<b>3 ESTUDIO POR ESPECTROSCOPIA DE CAPACITANCIA ELEC- TROQUÍMICA DE LA RESPUESTA ELÉCTRICA DE LAS SNTTO</b>	<b>57</b>
3.1 METODOLOGÍA . . . . .	57
3.2 Mediciones de capacitancia electroquímica . . . . .	57
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN . . . . .	59

---

3.3.1	Estudio de la $C_{\bar{\mu}}$ de las SNT0 y AF-SNT0 . . . . .	59
3.3.1.1	Selección de la SNT0 con mejores valores de $C_{\bar{\mu}}$ : . . . . .	62
3.3.2	Efecto de la calcinación en la $C_{\bar{\mu}}$ de las SNT0 y las AF-SNT0 (3 y 4)	64
3.4	CONCLUSIONES . . . . .	65
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>67</b>
	<b>REFERENCIAS</b>	<b>75</b>

# Indice de figuras

1	Funcionamiento de la técnica <i>Sputtering</i> (general). Tomado bajo licencia CC BY 3.0 del artículo de Feng Shi, figura con título: ” <i>Schematic diagram of magnetron sputtering</i> ” [30]. . . . .	23
2	Esquema general del funcionamiento de la técnica PLA. . . . .	24
3	Esquema de anodización electroquímica para la obtención de Nanotubos de Ti. Adaptado bajo licencia CC BY del artículo de Bertel L. y col., figura con título: ” <i>The electrochemical anodization process for obtaining TiO<sub>2</sub> NTs</i> ” [6].	25
4	Etapas del proceso de anodización electroquímica para la obtención de Nanotubos de TiO <sub>2</sub> . a) Oxidación de la lámina de Titanio. b) proceso de hidrólisis del agua. c) formación de las capas de óxidos adheridas a la lámina. d) Intercambio de fluoruros. e) formación de aberturas o poros f) disolución de la capa del óxido y formación completa de nanotubos ordenados. Adaptado bajo licencia CC BY-NC 3.0 CL del documento de Molina, N.V.V., figura con título: ”Etapas en la formación de nanotubos de TiO <sub>2</sub> mediante anodización catódica” [45]. . . . .	26
5	Esquema de un biosensor. Adaptado bajo licencia CC BY 4.0 del artículo de Loubna E. y col., figura con título: ” <i>Schematic presentation of different biosensors based on numerous bio-recognition elements</i> ” [5]. . . . .	30
6	Montaje experimental de (a) el proceso de anodización y (b) celda electroquímica implementada. . . . .	37
7	Montaje experimental (a) del proceso de funcionalización de las SNTO y (b) una imagen ampliada donde se observa la muestra sumergida por un extremo en la solución de AF. . . . .	38
8	Fotografías de (a) las muestras fabricadas sin tratamiento térmico. b) El equipo de calcinación implementado. (c) Las muestras sometidas al tratamiento térmico a una temperatura de 500°C por 1 hora y d) el portamuestras montado justo antes de la calcinación. . . . .	40

---

9	Imágenes de AFM de la vista superior y relieve (3D) de las muestras (a)-(b) SNT0-1 (formación nano-columnar) y (c)-(d) SNT0-2 (formación nanotubular). Estas imágenes fueron tomadas con una unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto. . . . .	42
10	Espectro de UV-Vis de reflectancia difusa de nanotubos de TiO <sub>2</sub> de la muestra SNT0-2. . . . .	43
11	Difractograma de las muestras SNT0-1 (rojo) y SNT0-2 (verde) fabricadas a T <sup>a</sup> por anodización electroquímica sin tratamiento térmico. Los picos identificados corresponden al Titanio hexagonal según el PDF: 03-065-6231. Al lado derecho se pueden apreciar dos aumentos en dos partes distintas del difractograma en las cuales se observan picos no identificados y la prevalencia en intensidad de la muestra SNT0-2. . . . .	44
12	Imágenes de AFM de las muestras (a)-(d) SNT0-2 y (e),(f) AF-SNT0-2. Estas fueron tomadas con una Unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto. . . . .	46
13	Ángulo de contacto de la SNT0-2 a) y b) antes del afuncionalización; c). y d). después de la funcionalización. . . . .	48
14	Imágenes de AFM de la vista superior y el relieve (3D) de (a)-(b) la SNT0-3 y (c)-(d) de la SNT0-4. . . . .	50
15	Espectro de UV-Vis de reflectancia difusa de nanotubos de TiO <sub>2</sub> de la muestra SNT0-4. . . . .	51
16	Difractograma de las muestras SNT0-3 (rojo) y SNT0-4 (verde) fabricadas a T <sup>a</sup> por anodización electroquímica con tratamiento térmico a 500°C/1h. Al lado derecho se pueden apreciar dos aumentos en dos partes distintas del difractograma en las cuales para la SNT0-3 se observan picos de radiación $k_{\alpha 2}$ (imagen derecha superior) y para SNT0-4 una mayor presencia de la fase principal de anatasa. El <i>inset</i> muestra la estructura cristalina del TiO <sub>2</sub> en fase anatasa tetragonal. . . . .	52
17	Imágenes de AFM de las muestras (a)-(b) SNT0-4 y (e),(f) AF-SNT0-4. Estas fueron tomadas con una Unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto. . . . .	54
18	Ángulo de contacto de la muestra SNT0-4 a) y b) antes de la funcionalización, y c). y d). después de la funcionalización. . . . .	55

---

19	Montaje experimental para las mediciones electroquímicas donde (a) se observa el computador con el programa usado para la adquisición de datos (NOVA 1.11), un potencióstato PGSTAT204 de Autolab y una caja de Faray, dentro de la cual se encuentra (b) la celda electroquímica usada para las mediciones. La celda electroquímica consta de tres electrodos, el de color azul es el electrodo de referencia, el rojo es el contraelectrodo y el verde es el electrodo de trabajo. . . . .	58
20	En la figura de la izquierda están representados los diagramas de Nyquist capacitivos para las muestras SNT0-1 (cuadrados) y SNT0-2 (estrellas) fabricadas a 60V-30min y 60V-10min, respectivamente, antes (verde) y después (rojo) de su funcionalización. En las figuras de la derecha se presentan los diagramas de Bode, los cuales muestran la dependencia de la frecuencia tanto para la parte real ( $C'$ ) como la imaginaria ( $C''$ ) de la capacitancia. . . . .	59
21	(a) Representación esquemática del sistema con los sitios activos de la SNT0 antes de funcionalizar y (b) es el modelo circuital equivalente de su interfaz cuando no se han adicionado moléculas de AF. (c) Representa el esquema del sistema en presencia del AF y el modelo circuital equivalente (d) muestra cómo la interacción entre el AF y la NEs provoca una reducción en los sitios activos de la SNT0 lo que genera una supresión de elementos del circuito (representados en gris). $R_q$ y $C_q$ son resistencias y capacitancias cuánticas, respectivamente, y $R_s$ es la resistencia en serie conformada por la suma de las resistencias de la solución y el contacto eléctrico del detector. Esquema adaptado bajo licencia CC BY 4.0 del artículo de Corzo S. y col., figura 4 [98].	61
22	Comparación del comportamiento de la $C_{\mu}$ de la AF-SNT0-2 el día de la funcionalización (verde) y a los 8 días de esta (rojo). . . . .	63
23	En la figura de la izquierda están representados los diagramas de Nyquist capacitivos para las muestras SNT0-3 (cuadrados) y SNT0-4 (estrellas) fabricadas a 60V-30min y 60V-10min, respectivamente, antes y después de su funcionalización. Los puntos verdes indican las muestras antes de funcionalizar y los rojos, muestran los puntos después de la funcionalización. En las figuras de la derecha se presentan los diagramas de Bode los cuales relacionan la parte real e imaginaria de la capacitancia en función de la frecuencia. . . .	64
24	Ángulo de contacto de una lámina de Titanio sin modificar. . . . .	69
25	Diagrama de Nyquist y valor de capacitancia para la lámina de Titanio sin modificar. . . . .	69

---

26	Diagrama de Nyquist capacitivo de las medidas por triplicado para la SNTO-1 (a) antes de funcionalizar y (b) después de funcionalizar. Y para la SNTO-2 (a) antes y (b) después de la funcionalización con AF. . . . .	70
27	Diagrama de Nyquist capacitivo para la SNTO(c)-1 (a) antes de funcionalizar y (b) después de funcionalizar. Y para la SNTO(c)-2 (c) antes y (d) después del proceso de funcinalización. . . . .	71

# Índice de Tablas

1	Especificación de los parámetros usados para la toma del análisis por DRX. . . . .	39
2	Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNTTO. . . . .	41
3	Porcentaje de error relativo entre el valor reportado en la literatura [63] (teórico) y el hallado experimentalmente de la brecha de energía de la muestra SNTTO-2 . . . . .	44
4	Parámetros de la estructura del Titanio hexagonal reportadas en la carta cristalográfica 03-065-6231. . . . .	45
5	Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNTTO y AF-SNTTO. . . . .	45
6	Ángulos de contacto para la lámina de titanio sin modificar, SNTTO-2 y AF-SNTTO-2. . . . .	47
7	Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNTTO calcinadas. . . . .	49
8	Porcentaje de error entre el valor teórico y experimental de la brecha de energía del $\text{TiO}_2$ en fase anatasa tomada de la muestra SNTTO-4. . . . .	51
9	Parámetros de la estructura del Ti hexagonal y del $\text{TiO}_2$ en fase anatasa tetragonal reportadas en las cartas cristalográficas PDF-01-071-1169, PDF-01-071-1169 y PDF-01-072-7058. . . . .	53
10	Valores de la rugosidad cuadrática media para la SNTTO-4 y AF-SNTTO-4. . . . .	53
11	Valores de ángulos de contacto de la SNTTO-4 antes y después de funcionalizada. . . . .	55
12	Valores de $C_{\bar{\mu}}$ obtenida para tres mediciones de ECE consecutivas para cada tipo de SNTTO. . . . .	62
13	Valores de $C_{\bar{\mu}}$ obtenida para tres mediciones de ECE consecutivas para cada tipo de SNTTO calcinada. . . . .	65

## Lista de símbolos

<b>AC</b>	Ángulo de contacto
<b>AF</b>	Ácido Fólico
<b>AFM</b>	<i>Atomic Force Microscopy</i> o Microscopía de fuerza atómica
<b>AF-SNTO-1 Y 2</b>	Superficie nanoestructurada 1y 2 funcionalizada con Ácido fólico.
<b>AF-SNTO(c)-1 Y 2</b>	Superficie nanoestructurada 1 y 2 calcinada y funcionalizada con Ácido fólico.
<b>BCs</b>	Biomarcadores del cáncer.
<b>CC BY</b>	Licencia <i>Creative Commons Attribution</i>
<b>CE</b>	<i>Counter electrode</i> o Contraelectrodo
<b>-COOH</b>	Grupo carboxílico
<b>ECE</b>	Espectroscopía de capacitancia electroquímica
<b>EIE</b>	Espectroscopía de impedancia eléctrica
<b>DC</b>	<i>Direct Current</i> o corriente directa.
$\sigma$	Desviación estándar
<b>DRX</b>	Difracción de rayos X
<b>JCPDS</b>	<i>International Centre for Diffraction Data</i> - Centro internacional de datos de difracción
<b>NCs</b>	Nano-columnas
<b>NEs</b>	Nanoestructuras
<b>NEs-TiO<sub>2</sub></b>	Nanoestructuras de dióxido de Titanio
<b>NH<sub>4</sub>F</b>	Fluoruro de Amonio
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>NTs</b>	Nanotubos
<b>NTs-TiO<sub>2</sub></b>	Nanotubos de dióxido de titanio
<b>OH</b>	Grupo Hidróxilo
<b>PLA</b>	<i>Pulsed Laser Ablation</i> - Ablación por laser pulsado
<b>PLD</b>	<i>Pulsed Laser Deposition</i> - Deposición por laser pulsado
<b>RDF</b>	Receptores de folato
<b>RE</b>	<i>Reference electrode</i> - Electrodo de referencia.
$\delta$	Rugosidad
$\Delta\delta_{RMS}$	Rugosidad cuadrática media
<b>SNTO</b>	Superficie(s) de TiO <sub>2</sub> nanoestructurada
$T^a$	Temperatura ambiente
<b>Ti</b>	Titanio
<b>TiO<sub>2</sub></b>	Dióxido de titanio
<b>WE</b>	<i>Working electrode</i> - Electrodo de trabajo

# RESUMEN

**TÍTULO:** Evaluación experimental de la capacitancia cuántica de una superficie nanoestructurada de TiO<sub>2</sub> funcionalizada con ácido fólico como posible candidata para el desarrollo de biosensores cuánticos en la detección temprana del cáncer epitelial.\*

**AUTOR:** María Camila Bermúdez Jaimes<sup>†</sup>

**PALABRAS CLAVES:** Biosensor, Nanoestructuras, Receptores de folato, Ácido fólico, Capacitancia.

## DESCRIPCIÓN:

La funcionalización de superficies nanoestructuradas de TiO<sub>2</sub> con biomoléculas afines a distintos biomarcadores del cáncer ha permitido obtener biosensores altamente selectivos. Un biomarcador del cáncer que ha sido ampliamente estudiado es el receptor de folato, una proteína sobre-expresada en células transformadas, presente en cáncer epitelial. En las aplicaciones de detección y tratamiento de células cancerosas epiteliales, basadas en la identificación de los receptores de folato, se utilizan conjugados de ácido fólico debido a la alta afinidad con dicha proteína .

Una de las superficies nanoestructuradas ampliamente usada para la fabricación de biosensores son aquellas formadas por nanotubos de dióxido de titanio, debido a que este tipo de biosensores poseen alta sensibilidad. En este sentido, el presente proyecto de investigación reporta la evaluación experimental de la capacitancia electroquímica de nanoestructuras de dióxido de titanio funcionalizadas con ácido fólico. Las nanoestructuras fueron obtenidas mediante el método de anodización electroquímica. En total fueron fabricadas cuatro superficies nanoestructuradas, dos de estas se fabricaron a 60V-30min y las otras dos a 60V-10min. Así mismo, dos de ellas se sometieron a calcinación y dos no; por lo que se presenta también, el análisis realizado sobre el efecto de la calcinación antes y después de la funcionalización de la superficie nanoestructurada.

Las cuatro superficies fabricadas se caracterizaron antes y después de la calcinación por difracción de rayos X y por espectroscopía UV-Vis de reflectancia difusa. A su vez, fueron caracterizadas antes y después de la funcionalización por microscopía de fuerza atómica,

---

\* Trabajo de Grado.

<sup>†</sup> Escuela de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Directora: Linda Esperanza Bertel Garay PhD., Codirector: David Alejandro Miranda Mercado PhD.

---

espectroscopía de capacitancia electroquímica y ángulo de contacto. De esta manera, se logró identificar la formación de nano-columnas y nanotubos. La funcionalización fue efectiva para los nanotubos pues se evidenció la formación de enlaces covalentes mediante la disminución de los valores de capacitancia electroquímica. Esto sugiere que la superficie nanoestructurada con nanotubos es una candidata apropiada para ser usada en el desarrollo de biosensores cuánticos en la detección temprana del cáncer epitelial.

# ABSTRACT

**TITLE:** Experimental evaluation of the quantum capacitance of a surface of TiO<sub>2</sub> nanostructured functionalized with folic acid, for future applications of quantum biosensors in the early detection of epithelial cancer. \*

**AUTOR:** María Camila Bermúdez Jaimes<sup>†</sup>

**KEYWORDS:** Biosensors, Nanostructures, Folate receptors, Folic acid, Capacitance.

## DESCRIPTION:

Functionalization of nanostructured TiO<sub>2</sub> surfaces with biomolecules related to different cancer biomarkers has led to highly selective biosensors. One cancer biomarker that has been extensively studied is the folate receptor, a protein overexpressed in transformed cells that can lead to epithelial cancer. In epithelial cancer cell detection and treatment applications based on folate receptor identification, folic acid conjugates are used because of the high affinity for folate receptor protein.

One of the nanostructured surfaces widely used for the fabrication of biosensors is those formed by titanium dioxide nanotubes because this type of biosensors has high sensitivity. In this sense, the present research project reports the experimental evaluation on the electrochemical capacitance of titanium dioxide nanostructures functionalized with folic acid. The nanostructures were obtained by the electrochemical anodization method. In total, four nanostructured surfaces were fabricated, two of them were fabricated at 60V-30min and the other two at 60V-10min. Likewise, two of them were subjected to calcination and two were not; therefore, the analysis of the effect of calcination before and after the functionalization of the nanostructured surface is also presented.

The four fabricated surfaces were characterized using X-ray diffraction and UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy before and after calcination. They were also characterized before and after functionalization by atomic force microscopy, electrochemical capacitance spectroscopy, and contact angle. In this way, it was possible to observe the formation of nano-columns and nanotubes. The functionalization was effective for the nanotubes since

---

\* Trabajo de Grado.

<sup>†</sup> Escuela de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Directora: Linda Esperanza Bertel Garay PhD., Codirector: David Alejandro Miranda Mercado PhD.

---

the formation of covalent bonds was evidenced by the decrease in the quantum capacitance values. This suggests that the nanostructured surface with nanotubes is a suitable candidate for use in the development of quantum biosensors in the early detection of epithelial cancer.

# INTRODUCCIÓN

El uso de las nanoestructuras y biomarcadores para la creación de biosensores emerge como un hito crucial no solo para la detección temprana de enfermedades como el cáncer, sino también en aplicaciones de monitoreo ambiental, seguridad alimentaria, descubrimiento de nuevos fármacos, etc. [1–3]. El análisis fiable de biomarcadores supone un enorme beneficio para la atención sanitaria, ya que puede permitir un diagnóstico temprano, un tratamiento personalizado y un seguimiento de la enfermedad [4]. Estudios demuestran que los biosensores son una opción confiable, rápida y precisa para la detección de biomarcadores asociados al cáncer [4].

Uno de los aspectos clave del desarrollo de biosensores es la traducción de la señal biológica generada por la interacción del analito y el elemento de bio-reconocimiento en una señal mensurable. Para ello se pueden implementar diferentes tipos de transductores para la obtención de diferentes señales de respuesta basadas en variables ópticas, electroquímicas o físicas [2, 5, 6].

Las superficies nanoestructuradas de  $\text{TiO}_2$  (SNTO) han cobrado gran interés en el desarrollo de electrodos de trabajo para aplicaciones de biosensores electroquímicos [7–9]. Estas SNTO usadas como electrodos incluyen películas delgadas de  $\text{TiO}_2$  o una superficie compuesta de arreglos de nanoestructuras (como nanotubos, nanocolumnas, nanohilos, etc.) [6]. Las SNTO tienen un conjunto de propiedades que las hacen ideales para ser usadas como electrodo de trabajo en biosensores electroquímicos, tales como biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, bajos costos de fabricación, alta área superficial, confinamiento cuántico, propiedades eficientes de carga electrónica, alta adhesión al sustrato, y además presentan múltiples posibilidades de funcionalización con moléculas de bioreconocimiento [7–10].

La funcionalización de las SNTO con biomoléculas afines a distintos biomarcadores del cáncer ha permitido la obtención de biosensores electroquímicos altamente selectivos basados en SNTO [11–13]. Un ejemplo de este tipo de biosensores fue el desarrollado por Safavipour y col., basado en híbridos de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  carboxilados y óxido de grafeno reducido funcionalizado con el aptámero MUC1, para la detección de células de cáncer de mama (MCF-7) [14].

---

Los pocos tejidos sanos que expresan receptores de folato incluyen los túbulos proximales del riñón y las células epiteliales del intestino, pulmón y plexo coroideo [15]. En las aplicaciones de detección y tratamiento de células cancerosas epiteliales basadas en la identificación de los receptores de folato (RDF), se utilizan conjugados de ácido fólico (AF) debido a la alta afinidad entre los receptores de folato y su ligando, el AF [15, 16]. Es por esto que este trabajo de grado se centró en el desarrollo de un electrodo de trabajo modificado con nanotubos de dióxido de titanio los cuales tienen anclados moléculas de AF para la aplicación en un biosensor de anomalías asociadas al cáncer epitelial relacionadas con la presencia de los RDF.

El presente trabajo está dividido en cuatro capítulos donde se desarrolla la teoría y los aspectos experimentales implementados para la realización del mismo. En el primer capítulo, referente al marco teórico, se hace una introducción acerca de las aplicaciones y propiedades que poseen las nanoestructuras de  $\text{TiO}_2$  y se comentan las razones por las cuales este material es de gran importancia para aplicaciones en sensores cuánticos capacitivos. A su vez, se presenta de manera concisa una definición formal de la capacitancia electroquímica y su relación con la capacitancia cuántica, propiedades importantes que permiten describir el estado de un sistema mesoscópico (cuya definición se encuentra en el capítulo 2 sección 1.3.1).

En el segundo y tercer capítulo, se presenta en detalle todo el trabajo experimental realizado para fabricar las nanoestructuras y llevar a cabo su correspondiente funcionalización. Además, se incluyen los análisis de caracterización, los cuales se realizaron para determinar aspectos como la estructura cristalina, morfología y otras propiedades de la superficie. Estos análisis abarcaron tanto las SNTTO no calcinadas como las calcinadas.

Finalmente, se presentan las conclusiones generales de los resultados obtenidos y se discuten las posibles perspectivas para futuras investigaciones.

# OBJETIVOS

## Objetivo General

Evaluar experimentalmente la capacitancia cuántica de una superficie nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$  (diferente a las películas delgadas) funcionalizada con ácido fólico, mediante espectroscopía de capacitancia electroquímica, como posible candidata para el desarrollo de biosensores cuánticos en la detección temprana del cáncer epitelial.

## Objetivos Específicos

- Fabricar un electrodo de trabajo basado en una superficie nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$ .
- Funcionalizar la superficie nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$  del electrodo de trabajo con ácido fólico.
- Caracterizar las propiedades eléctricas del electrodo fabricado y funcionalizado, por medio de espectroscopía de capacitancia electroquímica.

# CAPÍTULO 1

## ESTADO DEL ARTE

*“The principles of physics, as far as I can see, do not speak against the possibility of maneuvering things atom by atom. It is not an attempt to violate any laws; it is something, in principle, that can be done; but in practice, it has not been done because we are too big”.*  
**R. Feynman, 1959.**

### 1.1 Nanoestructuras

Las nanoestructuras (NEs) son materiales que tienen un tamaño en escala nanométrica, es decir, poseen dimensiones en el rango de 1 a 100 nanómetros [17]. El uso de estas estructuras se remonta a la década de 1960 cuando se desarrollaron las primeras técnicas de síntesis de nanomateriales; desde entonces, el campo de las NEs ha experimentado un rápido desarrollo y hoy en día se estudian y utilizan en una variedad de aplicaciones gracias a sus amplias propiedades fisicoquímicas como su conductividad térmica y eléctrica, sus puntos de fusión, la sensibilidad óptica, alta actividad catalítica y humectabilidad [18, 19] poseen fotoestabilidad, y adicionalmente, no sufren fotodecoloración [20], entre muchas otras propiedades. Estos avances abarcan ramas que van desde la tecnología de la información y la comunicación hasta la medicina y la energía [17, 21] .

Las NEs se clasifican según su forma en: 1) Nanopartículas, las cuales son partículas que tienen sus tres dimensiones en el rango de 1 -100 nm, por lo que son conocidas como materiales de dimensión cero (0D), y algunos ejemplos de estas son los puntos cuánticos y los Nanoclusters. 2) Las nanobarras, nanofibras y nanotubos (NTs), que pueden ser flexibles o rígidas, y poseen dos dimensiones en la nanoescala, es decir, son materiales unidimensionales (1D). 3) Las Nanoplacas, con solo una de sus dimensiones en la nanoescala, son materiales bidimensionales (2D). Finalmente, se encuentran los materiales nanoestructurados o sólidos tridimensionales (3D) los cuales no poseen ninguna dimensión en el orden nanométrico [8, 22].

---

Las NEs tienen un gran potencial en aplicaciones biomédicas debido a sus propiedades únicas y su tamaño pequeño. Estas pueden ser utilizadas principalmente en terapia celular, donde son empleadas para transportar y liberar fármacos y otros compuestos terapéuticos de forma controlada en el cuerpo, minimizando los efectos secundarios de la terapia; en el diagnóstico, son usadas como sensores para detectar células y biomoléculas en el cuerpo, esto puede permitir un diagnóstico preciso y temprano de enfermedades. Y en imágenes médicas, donde pueden ser implementadas como contrastadores en técnicas de imagenología, tales como la resonancia magnética y la tomografía computarizada [23,24].

### 1.1.1 Métodos de fabricación de nanoestructuras

Hay muchas maneras tanto químicas como físicas de obtener NEs. En la industria de la microelectrónica, por ejemplo, se emplean comúnmente técnicas físicas, estas consisten en la aplicación de campos electromagnéticos o mecánicos en un material (sustrato), en este se aplican técnicas como la pulverización, la ablación con láser, la evaporación y la síntesis por plasma para crear patrones en la superficie de los materiales. Esta técnica incluye la litografía óptica y la litografía de haz de electrones [25,26].

En contraste, los métodos químicos de nanofabricación consisten básicamente en la reducción de un compuesto metálico para formar dispersiones coloidales. Esto implica el uso de otros reactivos químicos como agentes estabilizantes y como consecuencia, se requiere un proceso de purificación de las NEs obtenidas [26]. Estos métodos químicos pueden generar materiales nanoporosos y matrices ordenadas de NEs con características tridimensionales [25].

Existen dos enfoques en la fabricación de las NEs: *bottom-up* y *top-down*. El primero, se basa en el principio de que las NEs pueden ser construidas a partir de la unión de átomos o moléculas individuales mediante reacciones químicas controladas. El segundo enfoque mencionado parte de los materiales a granel los cuales se dividen para producir las NEs. Algunos métodos típicos de fabricación con el enfoque *top-down* son la ablación con láser, el grabado, la pulverización catódica, entre otras [17].

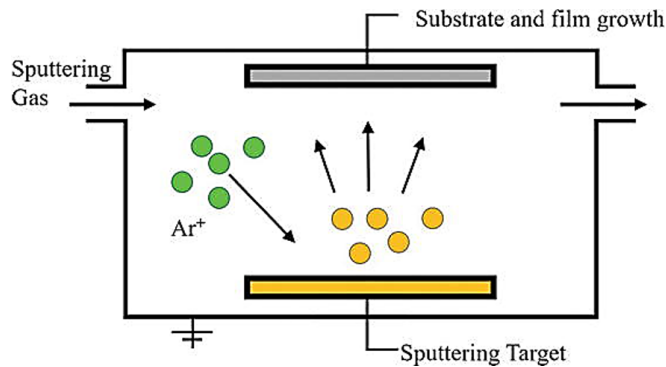
A continuación, se exponen tres de las principales técnicas de fabricación tanto físicas como químicas.

- **Sputtering:**

Sputtering o Pulverización catódica es una técnica *top-down* para la fabricación de

películas delgadas [27]. El proceso que ocurre en esta técnica se realiza en una cámara de vacío (ver figura 1), donde un gas energético de iones (formado a partir de gases como Ar, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> o H<sub>2</sub>) bombardea a un blanco para la expulsión de átomos o agrupaciones de átomos del blanco hacia el sustrato (donde se depositan) [27].

La aplicación de un campo magnético, producido por imanes cercanos al blanco, permite incrementar la rapidez de crecimiento de las películas en el sustrato. Esto es consecuencia de que dicho campo, ejerce una fuerza sobre los electrones y los obliga a mantener, por un periodo prolongado, trayectorias helicoidales cerca al blanco, esto aumenta la ionización de las moléculas de gas y se evita que los electrones en movimiento calienten el sustrato [28]. Esta técnica permite el mejoramiento en las propiedades físicas de películas delgadas catalíticas, ya que brinda una alta adherencia y durabilidad [29].



**Figura 1:** Funcionamiento de la técnica *Sputtering* (general). Tomado bajo licencia CC BY 3.0 del artículo de Feng Shi, figura con título: "Schematic diagram of magnetron sputtering" [30].

#### ■ Ablación por Láser Pulsado en Líquidos:

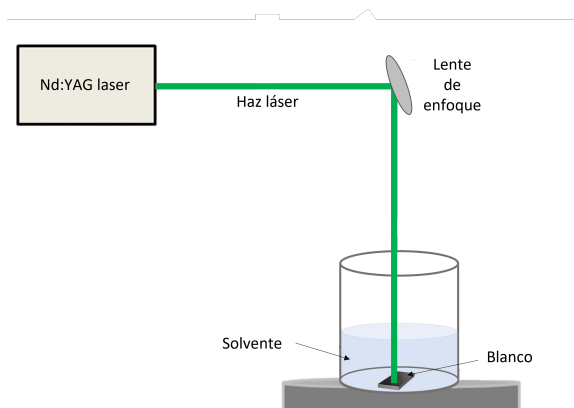
La ablación por láser pulsado en líquidos o PLAL por sus siglas en inglés (*Pulsed Laser Ablation in liquid*), requiere de una configuración típica conformada por un láser pulsado, óptica para enfocar el haz, un recipiente para contener el blanco y el líquido, como se muestra en la figura 2.

En PLAL se utilizan láseres de alta energía, tales como los láseres de Nd-YAG, para generar un haz de luz coherente y monocromático que se enfoca en una pequeña área del material mediante la implementación de una lente. Cuando la luz del láser entra en contacto con el blanco, que se encuentra sumergido en el líquido, parte de esa energía se convierte en calor y provoca la ionización de las moléculas del gas en el

---

material, formando plasma [31]. A su vez, se produce una explosión localizada que libera fragmentos de material en forma de nanopartículas las cuales están compuestas por átomos pertenecientes tanto al blanco como al líquido, de esta manera se forma una dispersión coloidal aproximadamente monodispersa [32, 33].

Debido a alto número de fenómenos tanto físicos como químicos presentes en la formación de las NPs, PLAL no produce NPs con la misma fase y composición del blanco a granel. Las características finales como la distribución, estructura, composición y el tamaño promedio, se pueden ajustar teniendo en cuenta parámetros como la fluencia y la longitud de onda del pulso láser, el número de pulsos y el tiempo de ablación [31].



**Figura 2:** Esquema general del funcionamiento de la técnica PLA.

#### ▪ Deposición por Láser Pulsado (PLD):

La deposición por láser pulsado o PLD por sus siglas en inglés (*Pulsed Laser Deposition*) es una técnica que permite la fabricación de películas delgadas de una forma controlada [34]. Este proceso ocurre en una cámara en vacío, donde un haz de láser incide en un blanco sólido de composición conocida y produce una pluma de plasma dirigida hacia adelante. Si se decide cargar un gas reactivo en la cámara, el material desprendido del blanco reacciona con este gas para formar un compuesto nuevo que luego se depositará en un sustrato adecuado, donde la película delgada es formada [35].

Esta interacción entre la radiación del láser y la materia, aunque conceptualmente es muy simple involucra fenómenos fisicoquímicos complejos, pues la densidad de energía incidente del haz del láser es suficiente para evaporar el material, dando lugar

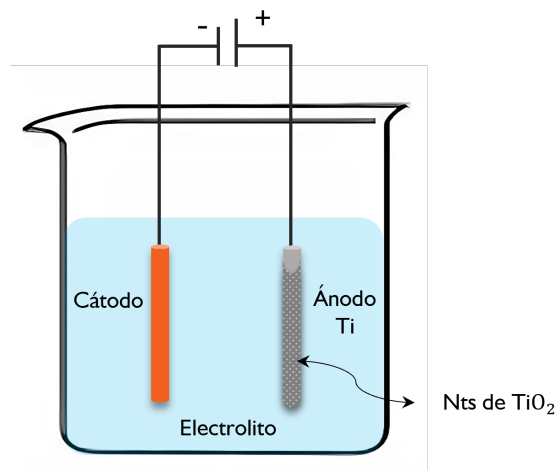
a la formación de un plasma de ablación que se expande perpendicularmente e incide sobre la superficie que se quiere recubrir [36]. Ese material eyectado procedente del blanco inicia la formación de una capa delgada que conformará el recubrimiento final del sustrato [37].

La morfología y la composición de las NEs producidas pueden controlarse mediante el ajuste de diferentes parámetros, como lo son la intensidad, la fluencia, longitud de onda y la frecuencia de los pulsos del láser, el tiempo de deposición, la distancia blanco-sustrato y la temperatura y rotación del sustrato [35,37].

- **Anodización electroquímica:**

La anodización es el proceso electroquímico más útil usado para creación un tipo de capa protectora de óxido en la superficie de metales como Al, Ti, Zn, Co, entre otros [38]. Dicha capa de óxido es resistente a la corrosión y a la abrasión, por lo que es ideal para la protección de materiales delicados. Además, puede modificarse mediante la aplicación de diferentes tratamientos químicos, lo que permite la creación de diferentes tipos de NEs [39].

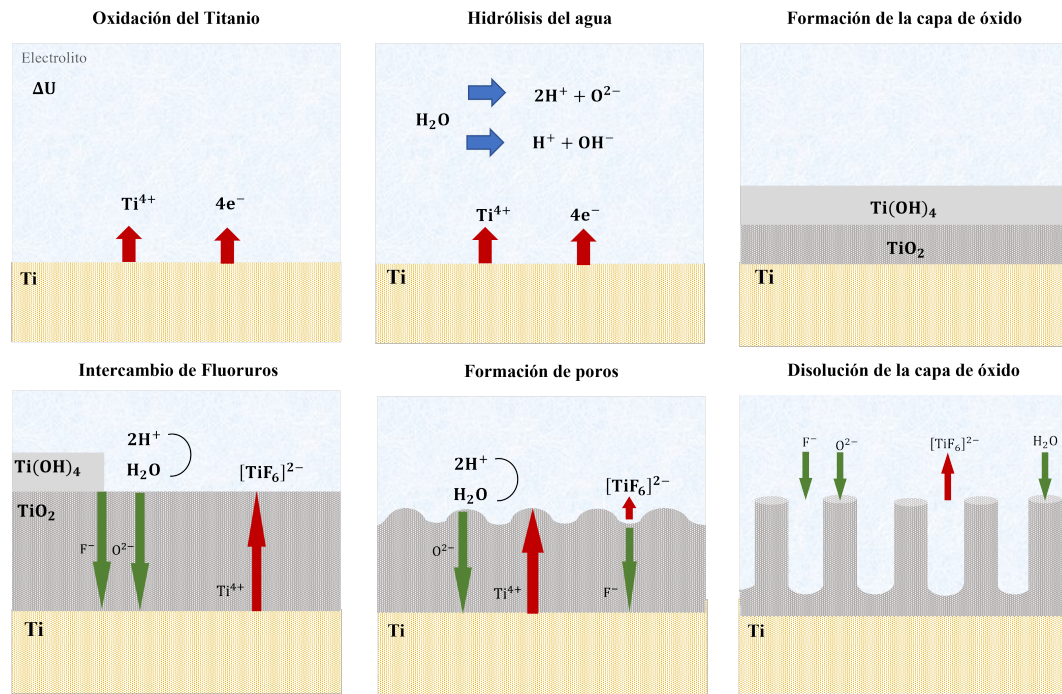
Zwilling y col en 1999, reportaron la anodización de titanio en electrolito de ácido fluorhídrico (HF) [40]. A partir de ese momento, la anodización del Ti y el autoensamblado durante la oxidación anódica en dos pasos, se volvió un proceso muy útil para la implementación en alteraciones en forma de nanotubos (altamente ordenados) sobre las superficies de sustrato [41,42].



**Figura 3:** Esquema de anodización electroquímica para la obtención de Nanotubos de Ti. Adaptado bajo licencia CC BY del artículo de Bertel L. y col., figura con título: " *The electrochemical anodization process for obtaining TiO<sub>2</sub> NTs*" [6].

El proceso de anodizado para la formación de NTs de  $\text{TiO}_2$  usualmente consta de un ánodo el cual es una lámina de Ti y un cátodo que puede ser un alambre de grafito o platino, estos se encuentran inmersos en una solución electrolítica, tal como se observa en la figura 3. Este sistema se somete a un potencial eléctrico a temperatura ambiente. Finalmente, se realiza un proceso de recocido a  $350\text{-}500^\circ\text{C}$  con velocidad constante de calentamiento [43,44].

Este método debe cumplir una serie de condiciones que permiten una formación óptima de las NEs, entre estas están el ajuste del voltaje y el tiempo de anodización, la temperatura, el tipo y la composición del electrolito [7,38].



**Figura 4:** Etapas del proceso de anodización electroquímica para la obtención de Nanotubos de  $\text{TiO}_2$ . a) Oxidación de la lámina de Titanio. b) proceso de hidrólisis del agua. c) formación de las capas de óxidos adheridas a la lámina. d) Intercambio de fluoruros. e) formación de aberturas o poros f) disolución de la capa del óxido y formación completa de nanotubos ordenados. Adaptado bajo licencia CC BY-NC 3.0 CL del documento de Molina, N.V.V., figura con título: "Etapas en la formación de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  mediante anodización catódica" [45].

El crecimiento de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  alineados implica una serie de etapas que incluyen la formación de óxido, su posterior disolución y la migración de iones. Los fenómenos presentes en este proceso se pueden describir en 6 fases tal como se muestra en la figura 4.

---

En un inicio, el titanio experimenta oxidación al perder electrones y libera cationes metálicos, estos migran debido a la presencia de un campo eléctrico externo. Seguidamente, hay descomposición de agua por hidrólisis (formada por la reacción de los iones metálicos y  $O^{2-}$ ), lo que permite la generación de  $TiO_2$  el cual puede ser producido debido a la migración de iones en el sólido, esto sucede como consecuencia de la recombinación de los iones de oxígeno e hidróxido y de los cationes metálicos [46]. Luego de estas reacciones se graba sobre la superficie, la capa de óxido y sobre esta, una capa hidratada de óxido [47].

Mediante el transporte de iones de  $O^{2-}$  y  $Ti^{4+}$  a través del óxido creciente, se limita el aumento de la capa de oxidada, que debido al voltaje constante, el campo dentro de esta capa disminuye poco a poco con relación al crecimiento del óxido [48]. A su vez, se producen reacciones con los componentes del electrolito. La espontaneidad de la reacción está representada por un valor negativo muy alto de la energía libre de Gibbs  $\Delta G = -2118,4$  kJ/mol [49].

Las reacciones de complejación conllevan a la creación de poros, los cuales compiten por la corriente disponible en el sistema e interfieren entre sí compartiendo de manera equitativa esta corriente disponible para lograr el autoordenamiento bajo condiciones de estado estacionario\* [48]. Finalmente, se logra que los nanotubos crezcan ordenadamente en una dirección preferencial sobre la placa de titanio.

Por otro lado, trabajos como el de Giorgi y col. demuestran que es posible fabricar NTs- $TiO_2$  con una fase cristalina bien definida (anatasa) mediante la polarización electroquímica desarrollada a  $T^a$  en un electrolito que contiene una solución de HF 5.5 g/L en  $H_2O$ , sin tratamiento térmico posterior. Al aumentar la concentración de HF desde 5.5 a 11.1 g/L se obtienen NTs- $TiO_2$  con una mezcla de fases cristalinas, anatasa y rutilo [50].

## 1.2 Dióxido de Titanio ( $TiO_2$ ) y sus propiedades

El titanio es un metal de transición y es conocido por sus propiedades excepcionales que lo convierten en uno de los materiales más versátiles y valiosos en diversas industrias [51]. Este posee cuatro electrones de valencia en su capa más externa,  $3d^24s^2$ . Estos electrones de valencia le permiten formar una variedad de compuestos químicos y experimentar

---

\*El estado estacionario se alcanza cuando la tasa de disolución de la película de óxido en la interfaz exterior es igual a la tasa de crecimiento de los poros en la interfaz del óxido metálico

---

múltiples estados de oxidación, siendo los más comunes +2, +3 y +4. Aunque el titanio es un elemento muy abundante en la naturaleza, no se encuentra en su forma pura, sino que se presenta en forma de óxidos, como el dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y la ilmenita ( $\text{FeO}:\text{TiO}_2$ ) [52].

El dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) es un compuesto químico esencial que se forma en presencia de oxígeno y puede ser sintetizado por distintos métodos físicos y químicos, como por ejemplo por anodización [6]. Este compuesto es conocido por sus múltiples aplicaciones, que van desde la industria de la pintura y la pigmentación hasta la fotocatalisis, la electrónica y la detección [51, 53, 54]. Esto es gracias a que posee propiedades como resistencia mecánica, estabilidad química y baja toxicidad [55, 56], a su vez, presenta buenas propiedades eléctricas y ópticas debido a que es un semiconductor tipo N (su nivel de Fermi se sitúa cerca del extremo inferior de la banda de conducción) con un *gap* de energía en la región del ultravioleta (387nm), lo cual permite la excitación en las regiones del UV (200-380nm) [56, 57].

En una celda unitaria de  $\text{TiO}_2$  cristalino, el átomo de titanio está rodeado por seis átomos de oxígeno los cuales se encuentran situados en cada vértice de un octaedro ligeramente distorsionado, el grado de distorsión en los octaedros determina la fase cristalina en la que se encuentra el compuesto [58]. Del  $\text{TiO}_2$  se conocen principalmente tres estructuras cristalinas: anatasa, rutilo y brookita. Las fases anatasa y rutilo tienen una estructura ordenada en forma tetragonal y son más comunes en la naturaleza mientras que la brookita posee una estructura ortorrómbica y es más escasa en la naturaleza [59].

Estudios termoquímicos demuestran que bajo ciertas condiciones, el rutilo es de 2kcal a 3kcal más estable que la anatasa, lo que la hace la fase más estable del  $\text{TiO}_2$ ; sin embargo, la anatasa resulta ser la fase más fotoactiva del  $\text{TiO}_2$  [60]. No obstante, es posible transformar el  $\text{TiO}_2$  amorfo en la fase cristablina metaestable a anatasa, esto mediante un proceso de calentamiento hasta  $300^\circ\text{C}$  o a su vez, puede ser transformada a rutilo calentando a una temperatura superior a los  $600\text{-}800^\circ\text{C}$  [61, 62].

Estas tres fases critalinas, presentan bandas de valencia llenas compuestas por orbitales O (2p) y bandas de conducción vacías compuestas por orbitales Ti (3d), (4s) y (4p). A su vez, el intervalo de bandas ópticas de la anatasa y el rutilo están alrededor de 3.2 y 3.0 eV, respectivamente [63].

El  $\text{TiO}_2$  tiene defectos intrínsecos en su red, lo que se traduce en vacancias de oxígeno, titanio y/o titanio intersticial. La presencia de estos defectos en la estructura del material

---

puede tener un impacto significativo en sus propiedades electrónicas, lo que a su vez puede influir en su capacidad para actuar como fotocatalizador de forma positiva o negativa [64, 65]. Según las investigaciones, se ha descubierto que el  $\text{TiO}_2$  con una mayor cantidad de fase anatasa, pero con una pequeña proporción de rutilo o brookita, presenta una actividad fotocatalítica superior a la de la anatasa pura. Esto se debe a la presencia de defectos estructurales que ralentizan la transferencia de electrones y huecos, lo que a su vez reduce la recombinación entre estos portadores de carga [66].

### 1.3 Aplicaciones en Biosensores electroquímicos

La necesidad de tener sistemas de detección para diversas biomoléculas de interés en la industria y especialmente en el diagnóstico clínico, ha llevado de forma natural a la fabricación y aplicación de biosensores [2].

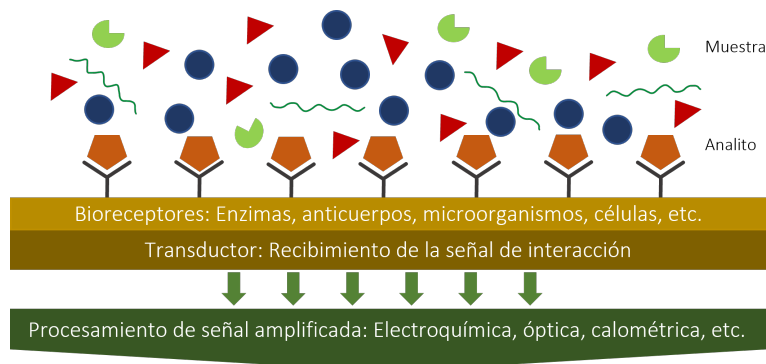
Los biosensores constan de un transductor y de un elemento de bio-reconocimiento anclado a su superficie, ver figura 5. La respuesta de la interacción entre el elemento de bio-reconocimiento y el analito de interés (de gran afinidad) puede ser convertida a una señal medible electroquímica, óptica u otras, dependiendo del tipo de transductor usado (figura 5) [67–70]. Una de las características principales de los biosensores es la selectividad y sensibilidad que estos poseen. Estas propiedades son dadas gracias a la buena elección de un transductor adecuado y al uso de elementos de bio-reconocimiento con alta afinidad por el analito, ya que estos elementos de bio-reconocimiento funcionan como sitios de unión específica para reaccionar con los analitos deseados [71].

Es importante destacar que, para que los biosensores sean viables comercialmente deben cumplir con ciertos factores. En primer lugar, deben ser sencillos de fabricar, con alta sensibilidad y precisión, y que presente valores bajos del límite de detección. Además, su producción debe ser rápida y fácil; y por último, su precio debe ser asequible [72, 73].

Los biosensores electroquímicos basan su sistema de medición en la corriente eléctrica generada por la reacción entre los analitos y los elementos de reconocimiento biológico, ya que al unirse se produce un cambio en la conductividad eléctrica del medio, lo que se traduce en una señal eléctrica detectable (amperométricos) o diferencias de potenciales (potenciómetros) [74, 75].

Generalmente, un biosensor electroquímico requiere de un potencióstato y de una celda electroquímica de tres electrodos, estos tres electrodos son: un electrodo de trabajo o

*working electrode* (WE), que puede ser una película nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$ , y cuya superficie se encuentra funcionalizada con un elemento de bio-reconocimiento (biomoléculas como enzimas, anticuerpos, antígenos, ADN, microorganismos, entre otras) [75, 76]; un contraelectrodo o *counter electrode* (CE), que cierra el circuito; y un electrodo de referencia o *reference electrode* (RE), que se usa como referencia y control del potencial del WE [6].



**Figura 5:** Esquema de un biosensor. Adaptado bajo licencia CC BY 4.0 del artículo de Loubna E. y col., figura con título: "Schematic presentation of different biosensors based on numerous bio-recognition elements" [5].

Otro tipo de detección ampliamente estudiada se lleva a cabo a través de los biosensores fotoelectroquímicos, esta realiza la medición de la corriente eléctrica a partir de la absorción de luz por un material semiconductor fotoactivo, como el dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ). Cuando la luz incide sobre el semiconductor, se generan pares de electrones y huecos que se separan y se mueven hacia los electrodos generando una corriente eléctrica más óptimas (sin señales de fondo no deseadas) [77]. En la fotoelectroquímica, los analitos se unen a los elementos de reconocimiento biológico (anclados en la superficie de un semiconductor) modificando la corriente eléctrica generada [78].

El trabajo de Wang y col. es un ejemplo de este tipo de detección fotoelectroquímica, donde muestran la fabricación de un biosensor con el fin de desarrollar una nueva metodología fotoelectroquímica para la detección sensible de NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido reducido) utilizando una película nanoporosa de  $\text{TiO}_2$  fotoactiva modificada con dopamina. Los resultados experimentales muestran que el biosensor tiene una alta sensibilidad y un bajo límite de detección para la detección de NADH. Su estudio fue basado en uno anterior en el cual, demostraron que la técnica fotoelectroquímica empleada es un método analítico potencialmente más sensible que la electroquímica para la detección de NADH [77].

En la actualidad, hay un creciente interés en el desarrollo de biosensores electroquími-

---

cos innovadores que utilizan materiales nanoestructurados, como nanotubos de carbono (CNTs) o de dióxido de Titanio y nanopartículas metálicas, para modificar la superficie del electrodo de trabajo y mejorar sus propiedades [8, 9, 76, 78]. Se ha encontrado que las NEs fabricadas con  $\text{TiO}_2$  son excelentes candidatas para la aplicación en biosensores [79], pues estos poseen un conjunto de propiedades únicas y especiales, tales como un tamaño nanométrico que permite el confinamiento cuántico, su gran área superficial y una alta relación superficie-volumen, lo que les permite mejorar significativamente la sensibilidad de los sensores en comparación con los materiales tradicionales [76, 80]. Además de ser altamente biocompatibles y no tóxicos, estos materiales son económicos y no se ven afectados por la fotocorrosión [81].

Aunque existen muchas ventajas con la utilización del  $\text{TiO}_2$ , hay una desventaja latente y es la baja conductividad de los NTs; es por esto que, Kafi y col. fabricaron un biosensor de  $\text{H}_2\text{O}_2$  que consiste en una capa biocompatible nanoestructurada de  $\text{TiO}_2$  sobre un electrodo de carbono vítreo para la inmovilización de la Hemoglobina (Hb), utilizando azul de metileno (MB) como mediador redox para mejorar la conexión eléctrica entre Hb y el electrodo. Con esta modificación se logró una respuesta catalítica rápida al  $\text{H}_2\text{O}_2$  y alta estabilidad [82].

Por otra parte, en los estudios electroquímicos se presenta un obstáculo y es lo complicado que puede ser la transferencia de electrones entre las biomoléculas cuando no se está modificado el electrodo [78], esto genera una baja selectividad en el biosensor. Es por esto que la funcionalización de las NEs es un proceso importante para la fabricación de biosensores y otros dispositivos de detección [75].

La funcionalización hace referencia a la modificación de la superficie de un material para agregar grupos funcionales específicos que le permitan interactuar con otros materiales o compuestos de manera selectiva [75–77]. Adicionalmente, contribuye a la estabilidad, puesto que el revestimiento orgánico se comporta como un escudo protector. Por una parte, permite que a la hora de hacer la medición electroquímica, los iones que son corrosivos no se acerquen a la superficie [83]; y por otra, mantiene la morfología de la superficie nanoestructurada. Esto se debe a que una topografía con muchas hendiduras es más susceptible a la corrosión [84]. Un ejemplo donde se observa la importancia de la funcionalización de la superficie nanoestructurada en el proceso de detección, es el trabajo de Xie y col. donde muestran la fabricación de un biosensor con NTs de  $\text{TiO}_2$  funcionalizados con glucosa oxidasa. Este biosensor presenta un excelente rendimiento, con un tiempo de respuesta por debajo de los 5,6s; además, lograron obtener una buena confiabilidad operativa con desviaciones estándar menores del 3% y un límite de detección bajo [85].

---

También Trino L. D. y col, en un estudio realizado en 2013, caracterizaron las propiedades de la superficie de películas delgadas de  $\text{TiO}_2$  funcionalizadas con cuatro moléculas bifuncionales orgánicas diferentes. La funcionalización aumentó la hidrofiliidad y la energía superficial, con pequeños incrementos en la rugosidad superficial que desempeñaron un papel en la mojabilidad [86].

A su vez, en el trabajo de Wang y col., se fabricó un biosensor con un electrodo interdigitado modificado con  $\text{TiO}_2$  y anticuerpos para detectar el Antígeno de carcinoma de células escamosas o SCC-Ag, por sus siglas en inglés [87]. SCC-Ag es un biomarcador tumoral sérico circulante y se encuentra sobre expresado en pacientes con cáncer de cabeza y cuello [88,89]. Dicho biosensor se elaboró mediante el recubrimiento de su superficie con una solución de  $\text{TiO}_2$  utilizando isopropóxido de titanio IV como precursor [87]. Luego, se funcionalizó la superficie del  $\text{TiO}_2$  agregando unas gotas de APTES ((3-Aminopropyl)triethoxysilane) al 3%. Después de la activación con EDC (N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida), se inmovilizó el anticuerpo en la superficie del  $\text{TiO}_2$ . Finalmente, se cubrió la superficie restante con etanolamina para reducir el efecto de biofouling. El límite de detección del SCC-Ag fue de 100 fM, y se mejoró en 10 veces al inmovilizar el anticuerpo con nanostrellas de oro.

Los enfoques de deposición multicapa y unión monocapa autoensamblada son métodos utilizados en la funcionalización de superficies [6]. La deposición multicapa (SAM) aplica capas sucesivas en la superficie, resultando en una deposición desordenada. En contraste, la unión monocapa autoensamblada (SAMs) adsorbe moléculas autoensamblantes en una capa ordenada y en equilibrio termodinámico, lo que da como resultado una superficie uniforme y estable con propiedades químicas y biológicas mejoradas [90]. Estos procesos generan en la superficie del electrodo, una serie de interacciones físicas o químicas con las biomoléculas [91], es decir, existen procesos reversibles de fisisorción o procesos no reversibles o de quimisorción, donde hay formación de enlaces covalentes [92, 93]. En el caso de las SNTOs, el proceso de quimisorción de biomoléculas en la superficie de  $\text{TiO}_2$  ocurre mediante la reacción química entre los grupos OH (presentes en la SNTO) y las biomoléculas funcionalizantes. Estos grupos OH se comportan como lugares de acoplamiento con otros grupos funcionales (aminas, carboxilatos, alquenos/alquinos, silanos, catecoles y fosfonatos) que están presentes en biomoléculas [90].

Un ejemplo de esto, es el trabajo antes mencionado de Trino L. D. y col., donde al realizar la funcionalización, se generaron diferentes tipos de enlaces o uniones entre las moléculas

---

las orgánicas bifuncionales y la superficie de  $\text{TiO}_2$ . Por ejemplo, las moléculas de (3-aminopropil) trimetoxisilano (APTMS), se unieron a través de grupos silanos; mientras que en el caso del Ácido 3-(4-aminofenil) propiónico (APPA), las moléculas se unieron mediante los grupos carboxilos (-COOH). En el caso del ácido 3-mercaptopropiónico (MPA) se presentaron enlaces en los grupos mercapto, y para el polietilenglicol (PEG), las moléculas se polimerizaron debido a la presencia de varios grupos hidroxilo [86].

### 1.3.1 Sensores cuánticos capacitivos

La nanociencia y la nanotecnología aprovechan los fenómenos de transferencia electrónica, transporte a nanoescala y las propiedades cuantizadas de las nanoestructuras para el desarrollo de dispositivos cuánticos [94]. Sin embargo, existen ciertas limitaciones en el desarrollo comercial de estos dispositivos, entre las cuales se encuentra el fenómeno de transferencia y transporte electrónico (es decir, la emisión y recepción de electrones) a escalas menores de 10nm. Esto se debe a que, a esta escala, el sistema no se rige por las leyes de la física clásica. En otras palabras, a estas dimensiones, los fenómenos de resistencia no siguen las leyes de Kirchoff [95] lo genera un problema para la fabricación y comercialización de estos dispositivos pues aún no se han establecido pautas para su desarrollo [96].

Entender el funcionamiento de los dispositivos cuánticos permite, mediante el estudio de la estructura electrónica de los materiales, generar técnicas de caracterización sencillas, como por ejemplo la espectroscopía de capacitancia electroquímica (ECE), la cual, posibilita el acceso a la energía relacionada con el estado fundamental de la mecánica cuántica en sistemas que involucran múltiples electrones tales como, los sistemas electroquímicos [80,97].

La aplicación de sistemas mesoscópicos como sensores cuánticos capacitivos se ha basado en la determinación de la capacitancia electroquímica [98,99]. Un sistema mesoscópico es aquel cuyo tamaño se encuentra en la escala comprendida entre unos pocos nanómetros y micrómetros [100], y por tanto, se ubica entre los regímenes de la mecánica clásica y la cuántica [98]. En la literatura se encuentran trabajos acerca de sensores cuánticos capacitivos, donde los sistemas mesoscópicos están conformados, ya sea, por una monocapa de moléculas con centros redox [98] o por semiconductores inorgánicos a nanoescala (con espesor menor a 10 nm) [99], los cuales permiten contar con un confinamiento electrónico necesario para obtener una señal capacitiva.

---

La capacitancia electroquímica  $C_{\bar{\mu}}$  está definida como la variación de la carga ( $q$ ) con respecto a la variación del potencial eléctrico ( $\phi$ ), así:

$$C_{\bar{\mu}} = \frac{dq}{d\phi} \quad (1)$$

Cuando se trabaja con sensores electroquímicos resulta conveniente usar el concepto de potencial electroquímico  $\bar{\mu}$ , definido según la siguiente ecuación [97, 101]:

$$\bar{\mu} = \mu + q\phi \quad (2)$$

Donde  $\mu$  es el potencial químico, potencial interno del sistema que regula el intercambio de partículas (electrones), y  $\phi$  es el potencial eléctrico externo, impuesto por el potencióstato, que se usa para modificar las condiciones electrónicas del sensor para dar lugar a la  $C_{\bar{\mu}}$ .

Para los sensores electroquímicos, la  $C_{\bar{\mu}}$  se determina como la combinación en serie de las capacitancias electrostática  $C_e$  y cuántica (química)  $C_q$ , descritas según la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{C_{\bar{\mu}}} = \frac{1}{C_e} + \frac{1}{C_q} \quad (3)$$

La  $C_e$  está asociada a los fenómenos clásicos, generada por las moléculas cargadas cercanas al centro redox y del seno de la solución. Mientras que, la naturaleza de la capacitancia cuántica  $C_q$  radica en la transferencia de electrones entre estados cuánticos, en otras palabras, está relacionada con la ocupación de los estados disponibles en la interfaz nanoscópica, por tanto,  $C_q$  está relacionada directamente con la densidad de estados del sistema [102, 103].

Para este tipo de interfaces electroquímicas que involucra monocapas redox o estructuras nanométricas, se cumple la aproximación  $C_e \gg C_q$ , dado que  $C_e \propto \varepsilon/l$  y como  $l$  es considerablemente pequeña debido a la escala molecular que está relacionada con la separación de carga, y de la ecuación (3) resulta que:

$$C_{\bar{\mu}} \sim C_q. \quad (4)$$

Esto deja en evidencia que es la contribución cuántica la que domina la respuesta de capacitancia del sistema mesoscópico [103].

Experimentalmente, la capacitancia electroquímica  $C_{\bar{\mu}}$  se obtiene a partir de la impedancia eléctrica por medio de la relación matemática dada por la ecuación (5). La medida experimental de la impedancia eléctrica, para un experimento potencióstático, se realiza

---

con una excitación de voltaje de la forma  $v(t) = v_0 \sin(\omega t)$  y la medición de la respuesta en corriente del sistema,  $i(t) = i_0 \sin(\omega t + \varphi)$ , donde  $Z = \frac{v_0}{i_0} e^{-i\varphi}$  es la impedancia eléctrica del sistema bajo una excitación sinusoidal. La capacitancia electroquímica se mide a través de la ECE derivada de la espectroscopia de impedancia electroquímica, siguiendo la relación matemática:

$$C^*(\omega) = \frac{1}{i\omega Z^*(\omega)} \quad (5)$$

Donde  $Z^*(\omega)$  es la impedancia eléctrica,  $\omega = 2\pi f$  es la frecuencia angular e  $i$  es el número complejo,  $i = \sqrt{-1}$ .  $C^*(\omega)$  es una función de capacitancia compleja que puede expresarse en términos de sus componentes real e imaginaria, así:

$$C^*(\omega) = C' - iC'' \quad (6)$$

C' y C'' se obtienen directamente de las mediciones por EIS siguiendo las siguientes dos ecuaciones:

$$C' = \frac{-Z''}{\omega|Z|^2} \quad (7)$$

$$C'' = \frac{Z'}{\omega|Z|^2} \quad (8)$$

Donde  $|Z| = \sqrt{Z'^2 + Z''^2}$  es el módulo de la impedancia. La  $C_{\bar{\mu}}$  se obtiene como el diámetro del semicírculo del espectro de capacitancia en el diagrama de Nyquist [104].

## CAPÍTULO 2

# FABRICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE $\text{TiO}_2$ FUNCIONALIZADOS CON ÁCIDO FÓLICO

Este capítulo se divide en dos secciones, en la primera, se detallan los aspectos experimentales empleados para la fabricación de las SNTOs mediante anodización electroquímica, su funcionalización con AF y la caracterización de estas. En la segunda sección se muestran los resultados de la caracterización y se analiza cada uno de ellos, evaluando el impacto de la calcinación en las dos SNTOs que se sometieron al tratamiento térmico.

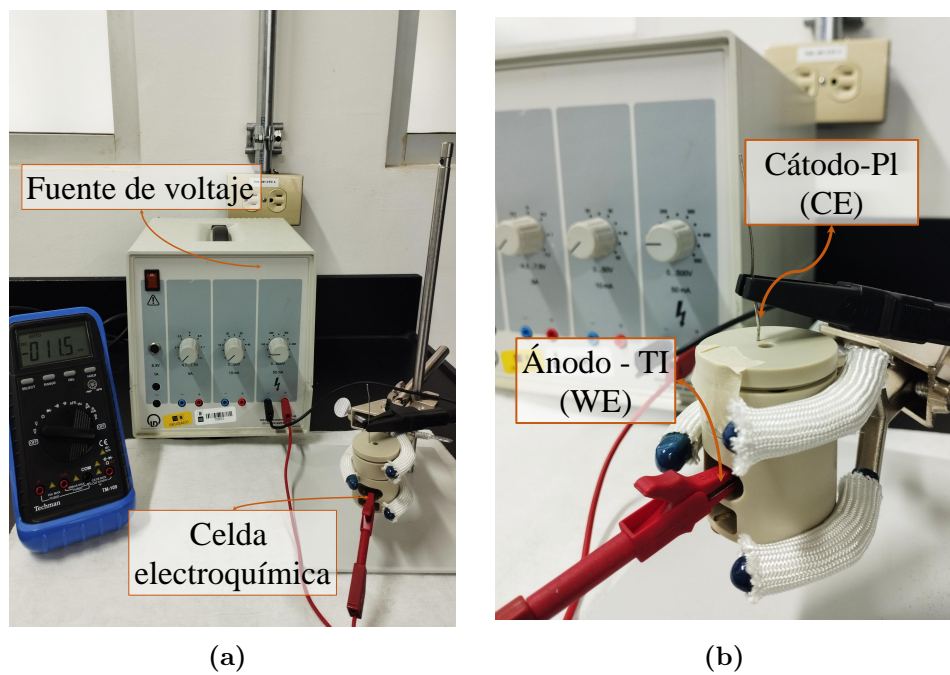
La caracterización se realizó por diferentes técnicas, en primer lugar, se utilizó AFM para obtener información acerca de la morfología y de la rugosidad cuadrática media de las NEs. La técnica DRX se empleó para determinar la fase cristalina presente en las NEs. El ángulo de contacto se utilizó para estudiar la hidrofobicidad de la superficie y, finalmente, se empleó la técnica de espectroscopía de UV-Vis de reflectancia difusa para estudiar el Band-gap de las muestras seleccionadas.

## 2.1 METODOLOGÍA

### 2.1.1 Fabricación de un electrodo de trabajo basado en una SNTO por anodización electroquímica

Para la fabricación de la SNTO por medio del método de anodización se siguió la metodología planteada por Hu y col. [44]. A partir de una lámina grande de titanio, se cortaron piezas de aproximadamente 2cm de largo y 1cm de ancho, las cuales se usaron como ánodo en el proceso de anodización. Antes de ser anodizadas, las láminas fueron sometidas a un pulido mecánico con Alúmina de  $0.03\mu\text{m}$  y un paño de pulido con un tamaño de poro de  $0.03\mu\text{m}$ . Cada cara de las láminas tuvo un tiempo de pulido de 30min, para luego ser llevadas a un baño ultrasónico en 2-propanol durante 50 min.

Se llevó a cabo el proceso de anodización en una celda electroquímica de dos electrodos, como ánodo se usó una lámina de titanio limpia y como cátodo, un alambre de platino (fig. 6b). Se usó una fuente de voltaje en DC (Leybold 52165 que opera en el rango de 0-500 V y con una corriente máxima de 50mA). Para confirmar el valor de voltaje ajustado para cada fabricación se usó un multímetro. El montaje completo implementado se muestra en la figura 6a. La anodización se realizó en 3 mL de una solución electrolítica compuesta por etilenglicol 0.3 % +  $\text{NH}_4\text{F}$  0.3 % +  $\text{H}_2$  tipo I.



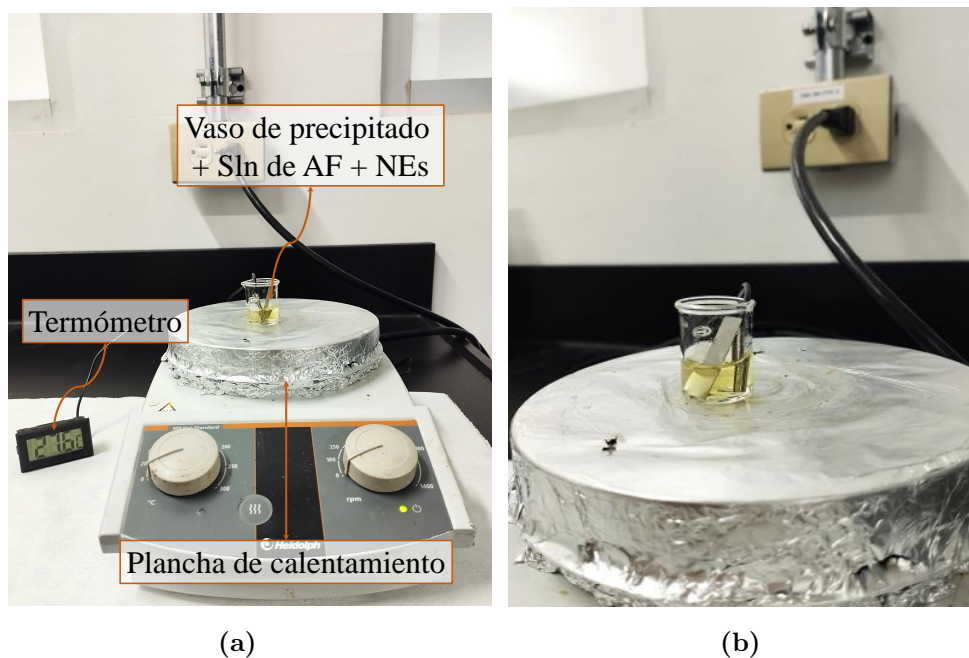
**Figura 6:** Montaje experimental de (a) el proceso de anodización y (b) celda electroquímica implementada.

Con base a la literatura reportada, se ensayaron dos tiempos de anodización (10min y 30min) a un voltaje constante de 60 V [44,46,105]. Las muestras anodizadas durante 10 y 30 min sin ningún tratamiento térmico posterior se les identificó como SNTO-1 y SNTO-2. Cada muestra anodizada fue lavada con agua tipo I y secada con aire.

Adicionalmente, dos muestras fueron sometidas a tratamiento térmico de 500 °C, con una rampa de calentamiento de aproximadamente 10 °C/min, durante 1 h. Las dos muestras tratadas térmicamente fueron designadas como SNTO-3 y SNTO-4, donde, SNTO-3 se fabricó a 60V-10min y SNTO-4 a 60V-30min.

## 2.1.2 Funcionalización de la SNTTO con ácido fólico

Para el proceso de funcionalización se implementó la metodología planteada por Bertel L. en su trabajo doctoral, la cual está basada en el proceso solvotérmico reportado por Qu y col. [106]. Se preparó una solución de AF 2 mM en etanol/agua 1:4 agitando la solución sobre una plancha magnética durante 5 min. Para la disolución completa y para ajustar el pH de la solución entre 10 y 11, se añadieron pequeñas gotas de una solución de NaOH 1M. La solución final de AF se calentó en un vaso de precipitado sobre una plancha, cuando se alcanzaron los 54 °C, la muestra (SNTTO-1 o SNTTO-2) se sumergió durante 30 min procurando conservar la temperatura inicial, el montaje realizado se observa en la figura 7a. Las SNTTO funcionalizadas con AF (AF-SNTTO-1 y AF-SNTTO-2) se lavaron con agua tipo I y se secaron en una plancha a una temperatura de 100°C por 10 minutos.



**Figura 7:** Montaje experimental (a) del proceso de funcionalización de las SNTTO y (b) una imagen ampliada donde se observa la muestra sumergida por un extremo en la solución de AF.

## 2.1.3 Caracterización

El análisis de la morfología y la rugosidad de las SNTTO se realizó por AFM. Las imágenes AFM fueron tomadas a través de una Unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto con sondas comerciales Nanoprobe FIB2-100S. Para determinar los valores de rugosidad se analizaron tres imágenes tomadas en sitios diferentes de cada muestra.

Para obtener información acerca de la naturaleza y composición de las SNTTO, mediante la determinación de la brecha de energía o *band gap* de la muestra, se realizó un análisis por UV-Vis de reflectancia difusa. Este se realizó en el laboratorio de Análisis Químico en la sede central de la UIS con el espectrofotómetro UV-2401 PC y se barrió un rango de longitudes de onda de 200 a 800nm.

Por otro lado, la estructura cristalina de la superficie de las muestras se estudió mediante difracción de rayos X (DRX). Las medidas de DRX se hicieron en el laboratorio de Rayos X en el parque tecnológico de Guatiguará. El registro de datos se realizó en un difractor de polvo marca BRUKER modelo D8 ADVANCE con Geometría DaVinci bajo las siguientes condiciones:

Voltaje (kV)	40
Corriente (mA)	40
Rendija de Divergencia (mm)	0.6
Rendijas Soller Primario (°)	2.5
Rendijas Soller Secundario (°)	2.5
Tamaño de paso ( $^{\circ}2\theta$ )	0.02035
Tiempo por paso (s)	1.2
Rango de registro ( $^{\circ}2\theta$ )	2.0 a 70
Radiación	CuK $\alpha$ 1
Longitud de onda ( $\lambda$ )	1.5406 Å
Filtro	Níquel
Uso de Anti-dispersor de aire	Sí
Detector	Lineal LynxEye
Tipo de barrido	A pasos

**Tabla 1:** Especificación de los parámetros usados para la toma del análisis por DRX.

La caracterización por ángulo de contacto (AC) se realizó mediante la técnica de gota sessile. Estas se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio del CICAT en el parque tecnológico de Guatiguará con el equipo DSA25E (KRÜSS). Se usó una jeringa con una aguja de diámetro de 0.52 mm y el líquido usado para el estudio fue H<sub>2</sub>O tipo I. Las medidas fueron tomadas a una temperatura de 25°C.

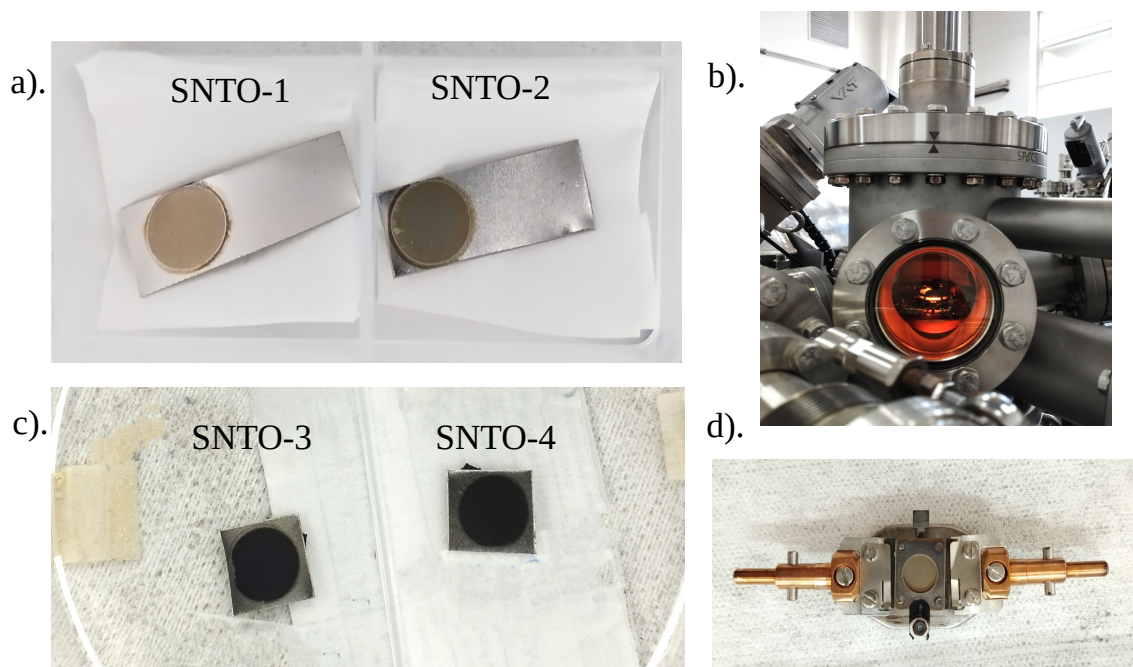
Se depositó una gota en tres posiciones distintas de la SNTTO y se tomaron medidas para cada gota depositada, para así obtener un triplicado del análisis. Además, para cada gota

se hizo un análisis de la evolución de su ángulo de contacto desde el momento en que cae la gota hasta pasado 1 min. Se utilizó el software ADVANCE para establecer un rango de tiempos de captura de ángulos para cada gota (75-80s) y cuántas medidas debía tomar (20 medidas) para dar el valor promedio de los ángulos medidos.

## 2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se fabricaron nanoestructuras de  $\text{TiO}_2$  a partir del método de anodización electroquímica, variando el tiempo de anodizado (10min y 30min) y manteniendo constante el valor de voltaje (60V). Después de este proceso, las láminas presentaban cambios en el color de la superficie delimitada por el área anodizada tal como se observa en la figura 8, donde a). son las muestras sin calcinar y c). las calcinadas. Estas últimas fueron cortadas a la medida del portamuestras del horno donde se llevó a cabo la calcinación (figura 8b. y 8d.).

Se estudiaron propiedades tales como la brecha de energía, la fase cristalina, la morfología y la hidrofiliicidad de las muestras sin tratamiento térmico y de las calcinadas, a partir de análisis UV-Vis de reflectancia difusa, DRX, AFM y AC, respectivamente.



**Figura 8:** Fotografías de (a) las muestras fabricadas sin tratamiento térmico. b) El equipo de calcinación implementado. (c) Las muestras sometidas al tratamiento térmico a una temperatura de  $500^{\circ}\text{C}$  por 1 hora y d) el portamuestras montado justo antes de la calcinación.

---

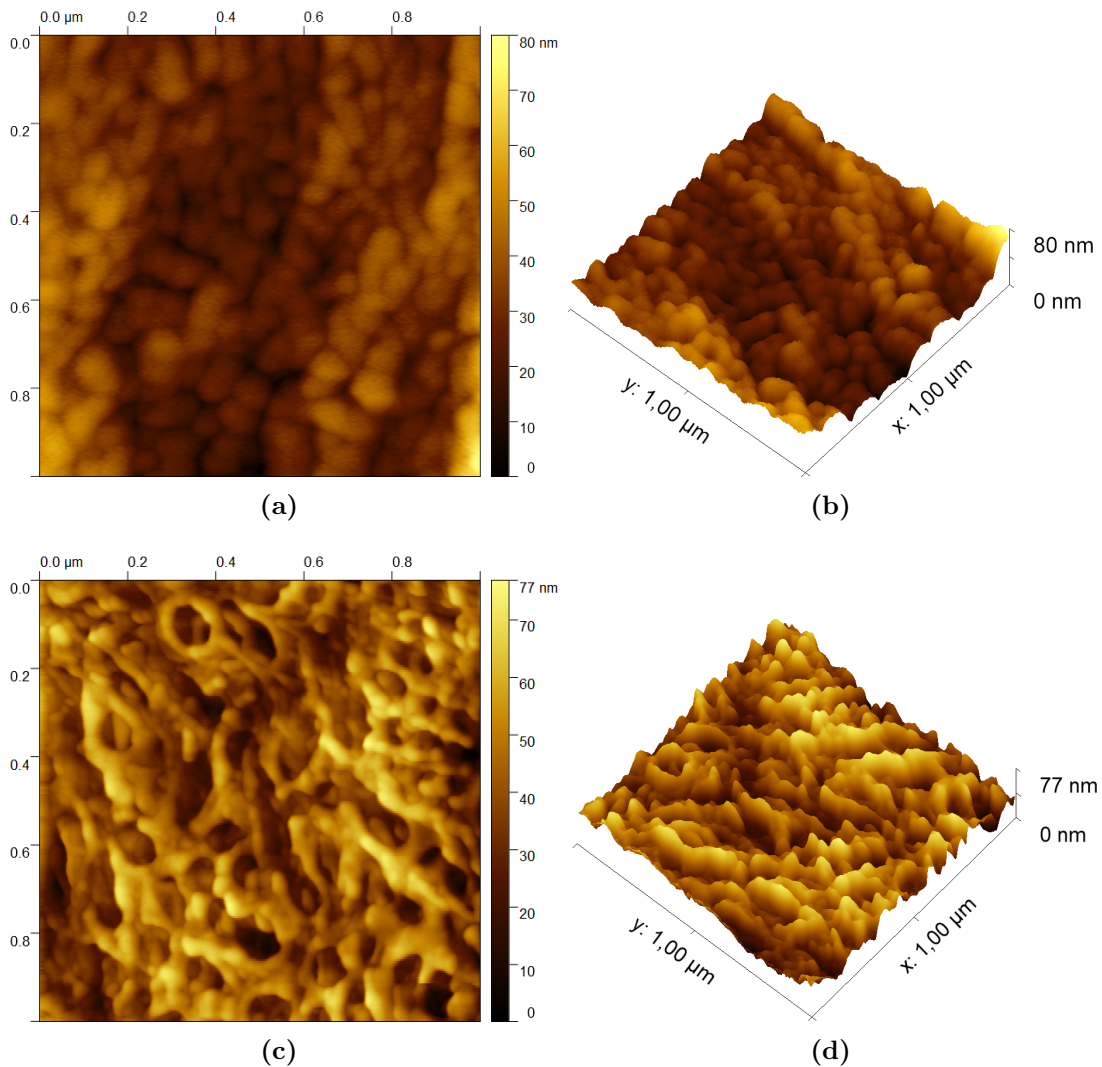
### 2.2.1 Superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$

Los análisis por AFM de las muestras indican una formación nano-columnar para la SNT0-1 y nano-tubular para la SNT0-2 (ver figura 9). Mediante estas imágenes se logró medir la rugosidad cuadrática media ( $\Delta\delta_{RMS}$ ) de las SNT0 fabricadas. La  $\Delta\delta_{RMS}$  de la SNT0-2 (fabricada a 60V-30min) es mayor que la de SNT0-1 (fabricada a 60V-10min), estos resultados muestran que al usar el mayor tiempo de anodización planteado, se logra la formación de nanotubos, siendo así los huecos de los nanotubos los que aportan a una mayor rugosidad.

La SNT0-2 se caracteriza por tener una formación casi homogénea de nanotubos con una estructura cilíndrica poco marcada (figuras 9c,9d), una  $\Delta\delta_{RMS}$  de  $16.4\pm 4.5\text{nm}$  y un espesor pronunciado de la pared nanotubular. Los valores obtenidos de  $\Delta\delta_{RMS}$  para las dos muestras se resumen en la tabla 2. No obstante, el diámetro de los nanotubos no se mantuvo constante para todos los nanotubos formados en el área anodizada, estos valores oscilan entre 70~100nm.

**Tabla 2:** Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNT0.

$\Delta\delta_{RMS}[\text{nm}]$		
	SNT0-1	SNT0-2
<b>Medida 1</b>	9.1	16.7
<b>Medida 2</b>	5.7	11.9
<b>Medida 3</b>	4.7	20.7
<b>Promedio <math>\pm\sigma</math></b>	$6.5\pm 2.3$	$16.4\pm 4.4$



**Figura 9:** Imágenes de AFM de la vista superior y relieve (3D) de las muestras (a)-(b) SNTO-1 (formación nano-columnar) y (c)-(d) SNTO-2 (formación nanotubular). Estas imágenes fueron tomadas con una unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto.

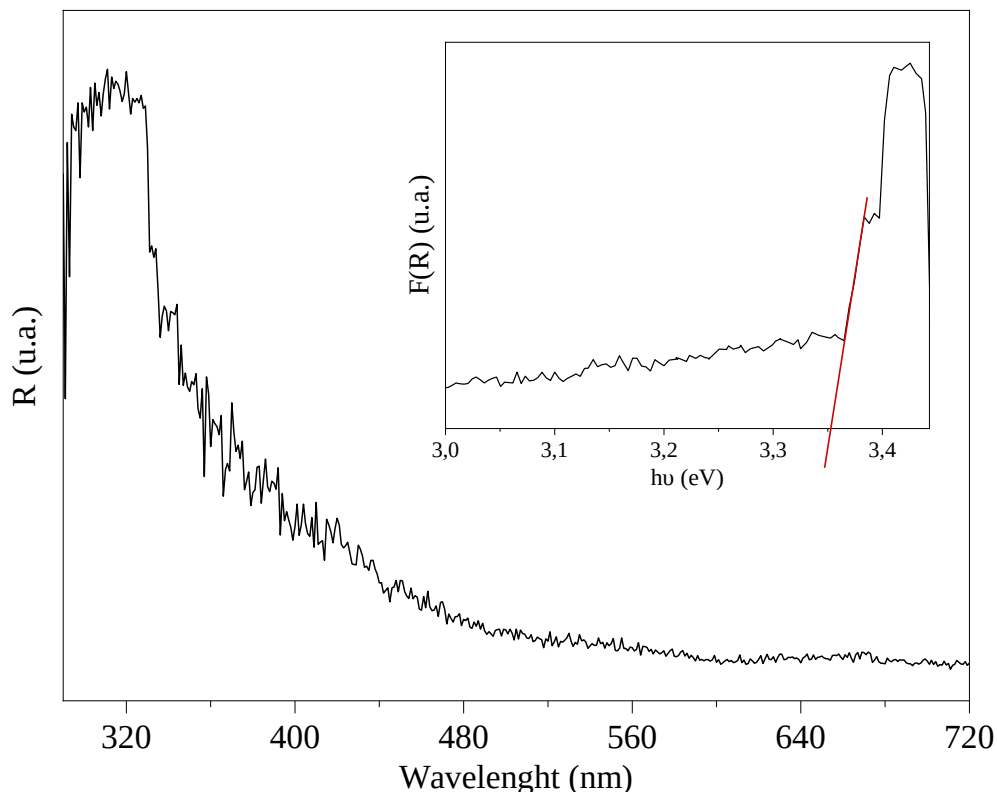
El aumento de la  $\Delta\delta_{RMS}$  entre las dos superficies fabricadas y por consiguiente la variación de su tamaño, se puede explicar con el proceso de intercambio de iones entre la solución electrolítica y la lámina de Ti, ya que al quitar la variable de temperatura (pues todas fueron fabricadas a temperatura ambiente  $T^a$ ), se puede determinar que en las primeras etapas de anodización, la capa de óxido es porosa y delgada debido a la rápida disolución de los iones metálicos. A medida que aumenta el tiempo de anodización, la capa se vuelve más densa y gruesa, disminuyendo la velocidad de disolución. Luego, se alcanza un estado estacionario donde la disolución equilibra la precipitación, determinando la longitud de los nanotubos [107, 108]. Si se extiende demasiado, la capa de óxido se vuelve demasiado densa, impidiendo la disolución y potencialmente dañando las nanoestructuras [109].

En este trabajo se escoge como candidata para fabricar un electrodo de trabajo a la muestra SNT0-2 debido a que esta presenta una superficie formada por NTs-TiO<sub>2</sub>. En este sentido, la muestra SNT0-2 es caracterizada por la técnica de reflectancia espectral en función de la longitud de onda para obtener información acerca de su naturaleza y composición por medio del cálculo de su brecha de energía.

El espectro UV-Vis obtenido se muestra en la figura 10, donde, el *inset* de la figura muestra a la gráfica del coeficiente de Kubelka Munk(KM) en función de la energía (eV). La función KM para la determinación de la brecha de energía está definida matemáticamente como [110]:

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R} = k/s, \quad (1)$$

donde R es el valor de la reflectancia,  $k$  el coeficiente de absorción y  $s$  el coeficiente de dispersión. El valor de brecha de energía es estimada a partir de la intersección de la tangente a la caída más pronunciada de la gráfica [111].



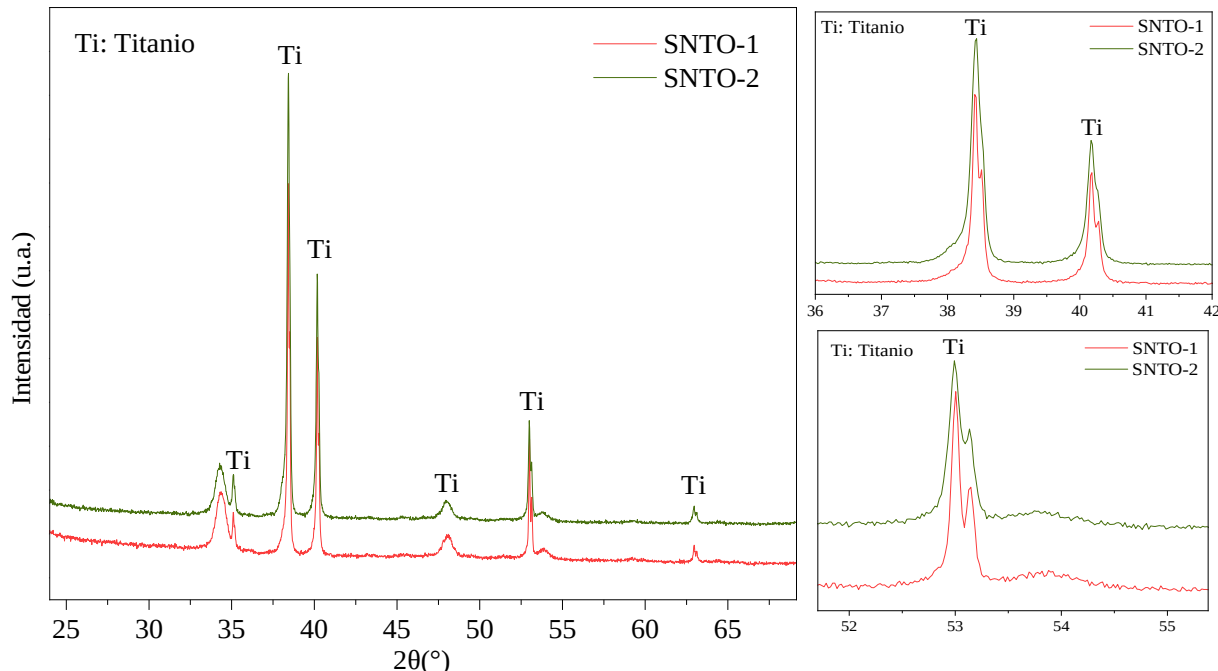
**Figura 10:** Espectro de UV-Vis de reflectancia difusa de nanotubos de TiO<sub>2</sub> de la muestra SNT0-2.

En la figura 10 se puede observar que la SNT0-2 posee una alta absorción a longitudes de onda mayores a 490nm y que su pico de reflectancia se presenta alrededor de los 320nm. El valor de la brecha de energía hallada para la muestra en estudio está alrededor de los 3.4 eV, este valor es cercano al valor de la brecha de energía del  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa reportado en la literatura de 3.2 eV [63] (ver tabla 3).

**Tabla 3:** Porcentaje de error relativo entre el valor reportado en la literatura [63] (teórico) y el hallado experimentalmente de la brecha de energía de la muestra SNT0-2 .

Valor teórico (eV)	Valor experimental (eV)	% Error
3.2	3.4	6.3

En la figura 11 se comparan los difractogramas correspondientes de las muestras SNT0-1 (roja) y SNT0-2 (verde). Los difractogramas evidencian que las NEs de  $\text{TiO}_2$  formadas en las muestras SNT0-1 y SNT0-2 son amorfas debido a que no se identifican las fases anatasa ni rutilo en los difractogramas. Sin embargo, los picos presentes reflejan la alta cristalinidad de la lámina de Titanio y su alta pureza.



**Figura 11:** Difractograma de las muestras SNT0-1 (rojo) y SNT0-2 (verde) fabricadas a  $T^a$  por anodización electroquímica sin tratamiento térmico. Los picos identificados corresponden al Titanio hexagonal según el PDF: 03-065-6231. Al lado derecho se pueden apreciar dos aumentos en dos partes distintas del difractograma en las cuales se observan picos no identificados y la prevalencia en intensidad de la muestra SNT0-2.

Los picos de difracción obtenidos coinciden muy bien con el patrón estándar reportado en las bases de datos de la JCPDS\* según la carta cristalográfica No. 03-065-6231 para titanio con sistema cristalino hexagonal, donde los parámetros cristalinos se exponen en la tabla 4. Ambas superficies presentan un difractograma típico de un material amorfo con reflexiones de Bragg de  $2\theta$  igual a (SNT0-1 - SNT0-2)  $35.07^\circ$ - $35.12^\circ$ ,  $38.41^\circ$ - $38.44^\circ$ ,  $40.18^\circ$ - $40.17^\circ$ ,  $53^\circ$ - $53.99^\circ$  y  $62.98^\circ$ - $62.96^\circ$  correspondientes a los planos cristalinos (100), (002), (101), (102) y (110) del titanio hexagonal. Debido a que el espesor de la matriz de NEs formada en las muestras está en el orden de nanómetros (300 - 500 nm) [44], el equipo de DRX detectó la información del sustrato de Ti usado en la fabricación de las STNO.

**Tabla 4:** Parámetros de la estructura del Titanio hexagonal reportadas en la carta cristalográfica 03-065-6231.

Parámetros Cristalinos				
a (Å)	b (Å)	c (Å)	Grupo espacial	No. grupo espacial
2.9503	2.950	4.681	P63/mmc	194
$\alpha$ (°)	$\beta$ (°)	$\Gamma$ (°)	Volumen (Å <sup>3</sup> )	Sistema cristalino
90	90	120	35.29	Hexagonal

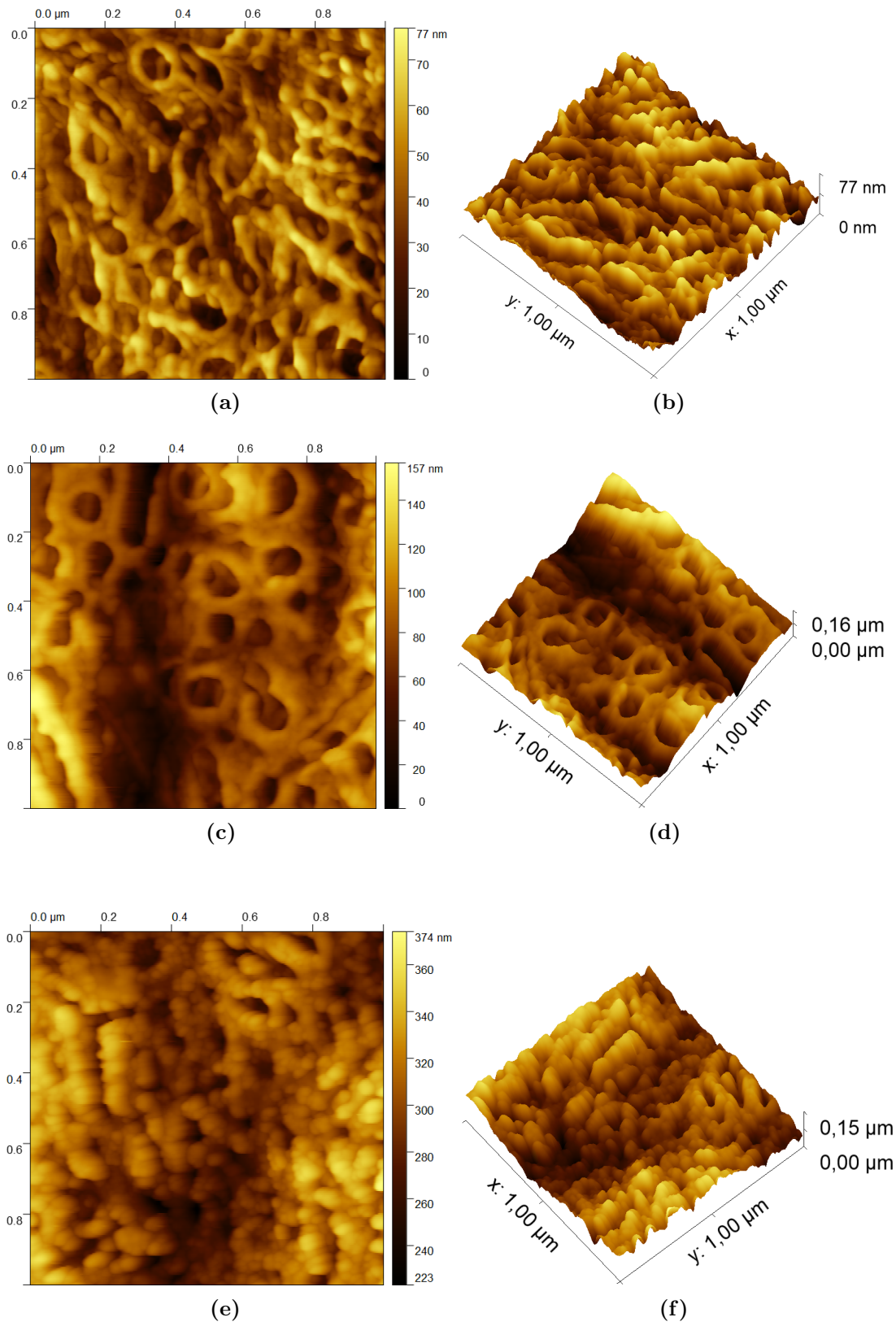
## 2.2.2 Funcionalización de superficies nanoestructuradas de TiO<sub>2</sub>

Se selecciona la muestra SNT0-2 para su funcionalización con AF debido que esta presenta nanotubos de TiO<sub>2</sub> y una mayor rugosidad comparada con la muestra SNT0-1 (Ver tabla de datos 5). Es conocido que las nanoestructuras de TiO<sub>2</sub> presentan una alta capacidad de absorción o modificación con biomoléculas [7,8]. Es por esto que, la SNT0-2 se funcionalizó y se obtuvieron los resultados expuestos en las figuras 12e y 12f. Donde es posible observar la presencia de las moléculas del ácido fólico en los bordes de los nanotubos. Las moléculas de AF muestran una adherencia a las NEs ya que estas siguen manteniendo la forma de nanotubos pero presentan un aumento en su  $\Delta\delta_{RMS}$  pasando de  $16.4\pm 4.4$ nm (antes de funcionalizar) a  $22.7\pm 3.3$ nm (después de funcionalizar).

**Tabla 5:** Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNT0 y AF-SNT0.

	$\Delta\delta_{RMS}$ [nm]	
	SNT0-2	AF-SNT0-2
<b>Medida 1</b>	16.7	19.4
<b>Medida 2</b>	11.9	26.1
<b>Medida 3</b>	20.7	22.6
<b>Promedio <math>\pm\sigma</math></b>	$16.4\pm 4.4$	$22.7\pm 3.4$

\* *International Centre for Diffraction Data*, JCPDS por sus siglas en inglés.



**Figura 12:** Imágenes de AFM de las muestras (a)-(d) SNT0-2 y (e),(f) AF-SNT0-2. Estas fueron tomadas con una Unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto.

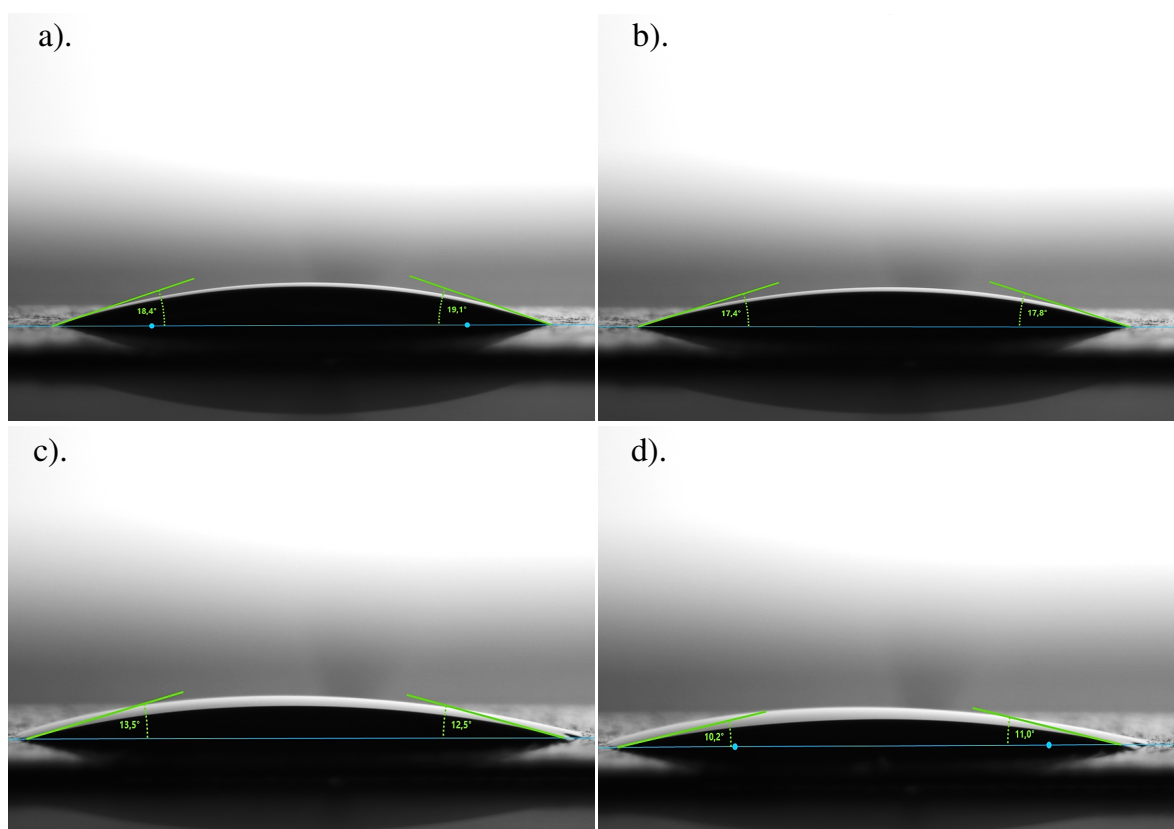
Para analizar la adhesión de las moléculas de AF sobre la SNTTO-2 se midió el Ángulo de Contacto (AC) el cual se relaciona con el comportamiento de mojabilidad de la superficie [112]. En términos generales, la hidrofiliidad indica la atracción o afinidad hacia el agua, mientras que la hidrofobicidad indica la repulsión o falta de afinidad con el agua. Según Lages y col., las superficies se pueden clasificar en hidrofílicas cuando la medida del ángulo de contacto es  $<90^\circ$  e hidrofóbicas cuando es  $>90^\circ$  [112].

En la figura 13a. y 13c. se muestra la comparación de las imágenes correspondientes a la superficie nanoestructurada antes y después de la funcionalización. En la tabla 6 se muestran los valores de los AC obtenidos a partir de un promedio de varias mediciones realizadas en diferentes partes de la muestra. Además, se incluye el valor del AC para la lámina de Ti sin modificar (imagen en el Anexo 1). Se puede apreciar que el AC para la lámina modificada con NEs disminuye en comparación con el AC para la lámina de Ti y a su vez, la superficie nanoestructurada funcionalizada presenta un ángulo menor que el de las NEs, esto se debe a que la superficie es porosa y absorbe la gota de agua con el tiempo.

En este caso, se observa que las láminas de titanio modificadas con nanoestructuras y funcionalizadas, exhiben un comportamiento altamente hidrofílico pues su ángulo es  $< 90^\circ$ .

**Tabla 6:** Ángulos de contacto para la lámina de titanio sin modificar, SNTTO-2 y AF-SNTTO-2.

Ángulo de contacto (AC) [°]			
	Lámina de Titanio	SNTTO-2	AF-SNTTO-2
AC[°] $\pm\sigma$	66 $\pm$ 2	18 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1



**Figura 13:** Ángulo de contacto de la SNTO-2 a) y b) antes del afuncionalización; c). y d). después de la funcionalización.

El aumento en la hidrofiliidad en la AF-SNTO-2 se atribuye a la presencia de los grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) y amina ( $-\text{NH}_2$ ) en la superficie. Estos grupos son altamente polares y pueden formar enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua. Los grupos carboxilo pueden atraer y retener moléculas de agua en la superficie, favoreciendo la hidrofiliidad (reflejada en la disminución del ángulo de contacto) lo que conlleva también a que exista un ligero aumento en la energía superficial según lo demuestra Gomes y col. [32].

### 2.2.3 Superficies nanoestructuradas de $\text{TiO}_2$ calcinadas

A partir de medidas de microscopía de fuerza atómica, las SNTO calcinadas fueron caracterizadas para conocer su morfología y estudiar el efecto del tratamiento térmico en su rugosidad y forma. En la figura 14 se observan las imágenes por AFM de las muestras calcinadas, en las cuales, al igual que en las muestras sin calcinar, para la SNTO-3 se sigue viendo la forma nano-columnar (figura 14a) y para la SNTO-4 sigue predominando la formación nanotubular (figura 14c).

Las nanoestructuras presentes en la muestra SNT0-3 poseen una  $\Delta\delta_{RMN}$  de  $7.5 \pm 0.7$  nm, mientras que para la SNT0-4 este valor está alrededor de  $8.0 \pm 1.4$  nm, en esta última, se puede ver una formación más ordenada de nanotubos sobre la superficie (ver figura 14c). Además, al comparar los datos suministrados en la tabla 2 y la tabla 10 se puede notar que la calcinación tiene el efecto de disminuir la rugosidad de las SNT0 preparadas, lo cual puede ser debido 1.) a que la calcinación elimina impurezas o contaminantes orgánicos de la muestra, y 2.) a la reorganización de los átomos debida a las altas temperaturas suministradas causando una disminución de la rugosidad superficial dado que los nanotubos se pueden fusionar alisando la superficie [113].

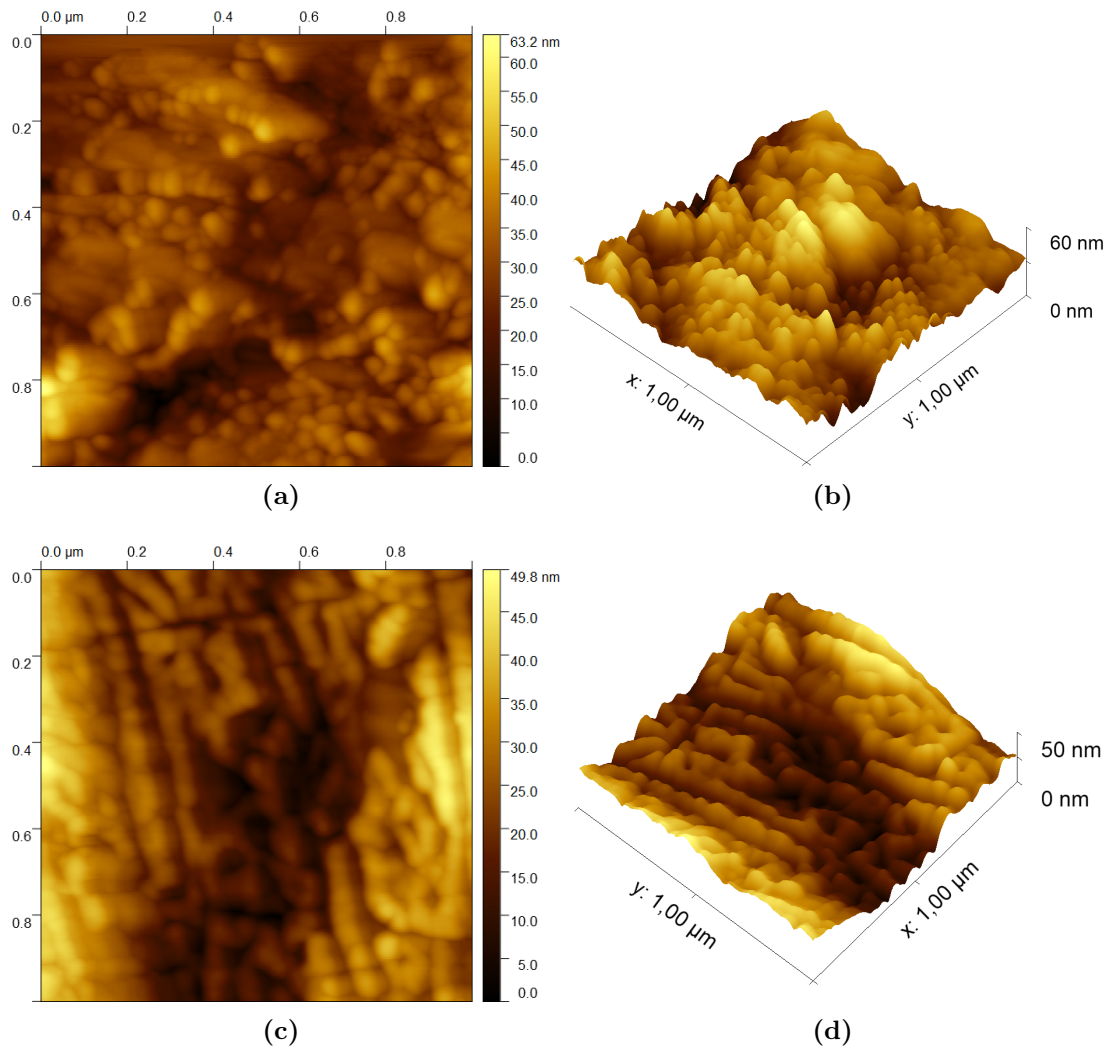
Adicionalmente, Hu y col. demostraron que el proceso de calcinación de una muestra de  $\text{TiO}_2$ , preparadas por anodización electroquímica a 60 V y durante 30 min, causa una disminución de la longitud de los nanotubos [44]. Esta disminución de la longitud de los nanotubos es una explicación por la cual disminuye la  $\Delta\delta_{RMN}$  de las SNT0 al ser calcinadas.

**Tabla 7:** Valores de la rugosidad cuadrática media para las SNT0 calcinadas.

	$\Delta\delta_{RMS}$ [nm]	
	SNT0-3	SNT0-4
<b>Medida 1</b>	7.4	8.0
<b>Medida 2</b>	6.9	9.4
<b>Medida 3</b>	8.3	6.5
<b>Promedio</b>	$7.5 \pm 0.7$	$8.0 \pm 1.4$

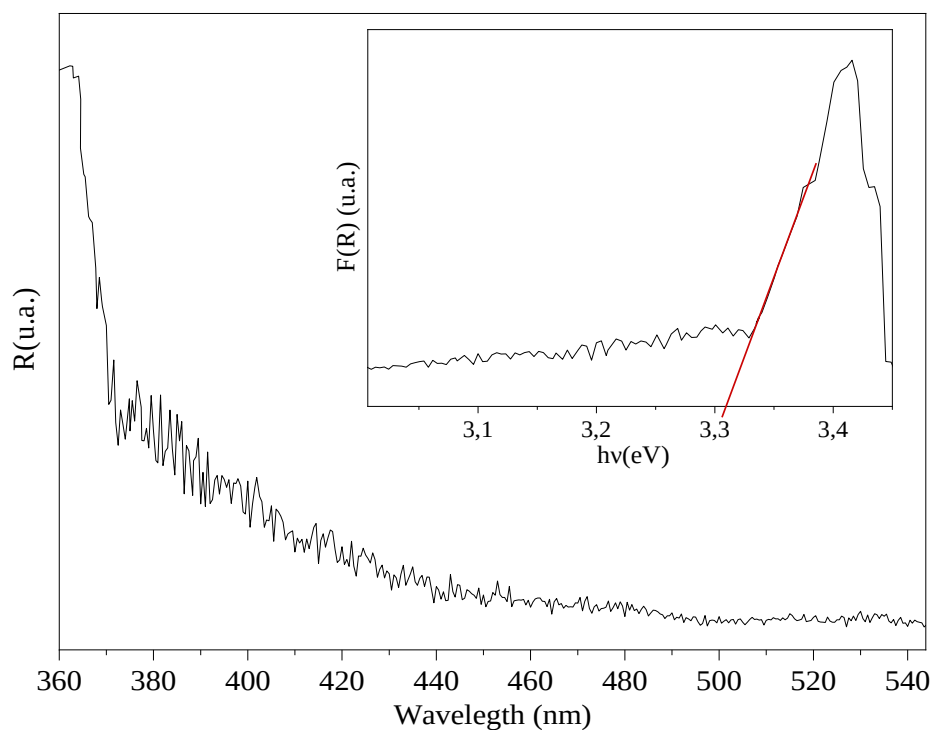
Por otro lado, estudios realizados por Tenkyong y col. y Wawrzyniak y col. han demostrado que existe una relación entre las dimensiones estructurales de los nanotubos anodizados y su brecha de energía. Esto sugiere que cualquier cambio en el tamaño o la rugosidad de los nanotubos provoca una disminución en la energía de los estados electrónicos confinados, lo que a su vez resulta en una disminución del valor de la brecha de energía [114, 115]. En otras palabras, debido a que el tamaño de los nanotubos se encuentra estrechamente ligado al voltaje de anodización, se obtienen nanotubos más grandes a mayor voltaje aplicado, esta variación tiene como consecuencia que cuanto más grandes sean los nanotubos, menor será el valor de la brecha de energía del material [114].

Esta premisa corrobora lo observado en el presente estudio de investigación, pues como se mostrará a continuación, al existir una disminución del tamaño de los NTs se observó que la brecha de energía también se vio afectada generando en esta, una disminución en su valor en comparación al encontrado para los NTs no calcinados.



**Figura 14:** Imágenes de AFM de la vista superior y el relieve (3D) de (a)-(b) la SNTO-3 y (c)-(d) de la SNTO-4.

La muestra SNTO-4 es la escogida para el posterior tratamiento de funcionalización dado que presenta una mayor  $\Delta\delta_{RMN}$ ; por tal motivo, se le realiza un análisis de UV-Vis de reflectancia difusa para corroborar su naturaleza química. En la figura 15 se muestra el espectro UV-VIS de reflectancia difusa de los nanotubos calcinados de la muestra SNTO-4, donde se puede notar que presentan un comportamiento más bajo de reflectividad en la región cercana al ultravioleta (UV-A) en comparación a los no calcinados (ver figura 10) y a su vez, mayor cantidad de ruido asociado a la toma de la medida.



**Figura 15:** Espectro de UV-Vis de reflectancia difusa de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  de la muestra SNT0-4.

El *inset* de la figura 15 muestra la gráfica de la brecha de energía calculada por medio de la función KM descrita por la ecuación 1. El valor de la brecha de energía para la SNT0-4 es de 3.3 eV tal como se muestra en la tabla 8 el cual es cercano al valor del  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa (3.2 eV).

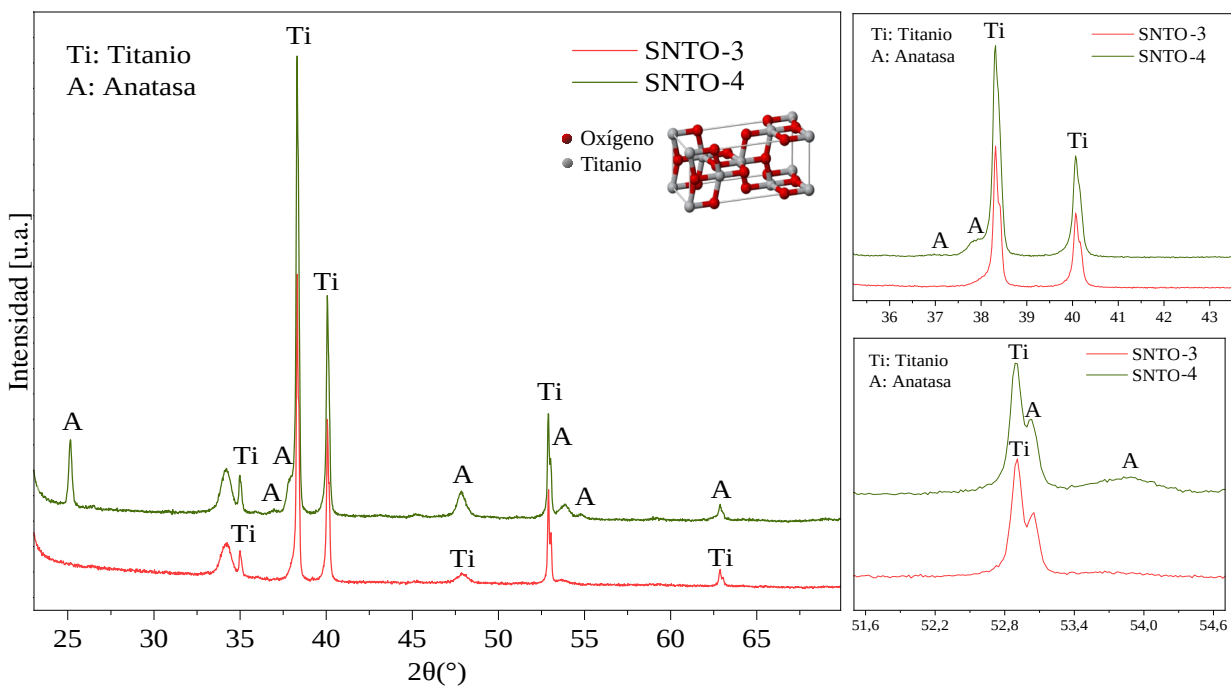
**Tabla 8:** Porcentaje de error entre el valor teórico y experimental de la brecha de energía del  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa tomada de la muestra SNT0-4.

Valor teórico (eV)	Valor experimental (eV)	% Error
3.2	3.3	3.1

Para determinar la fase cristalina de los nanotubos de  $\text{TiO}_2$  y así poder entender cómo la temperatura del tratamiento térmico influye en su estructura cristalina, se implementó la técnica DRX. En la figura 16, se comparan los difractogramas correspondientes de las muestras SNT0-3 (roja) y SNT0-4 (verde).

Los resultados de difracción obtenidos se ajustan a los patrones estándar registrados en las bases de datos de la JCPDS, de acuerdo con las cartas cristalográficas No. 00-071-08598 para Titanio con sistema cristalino hexagonal y las cartas No. 07-071-1169 y 01-072-7058 para el anatasa con sistema cristalino tetragonal (ver *inset* de la figura 16). Los parámetros

crystalinos de las fases encontradas se exponen en la tabla 9.



**Figura 16:** Difractograma de las muestras SNTO-3 (rojo) y SNTO-4 (verde) fabricadas a  $T^a$  por anodización electroquímica con tratamiento térmico a  $500^{\circ}\text{C}/1\text{h}$ . Al lado derecho se pueden apreciar dos aumentos en dos partes distintas del difractograma en las cuales para la SNTO-3 se observan picos de radiación  $k_{\alpha 2}$  (imagen derecha superior) y para SNTO-4 una mayor presencia de la fase principal de anatasa. El *inset* muestra la estructura cristalina del  $\text{TiO}_2$  en fase anatasa tetragonal.

Ambas superficies presentan presenta picos de sales de titanio con reflexiones de Bragg de  $2\theta$  igual a (SNTO-1 - SNTO-2)  $34.99^{\circ}$ - $35^{\circ}$ ,  $38.32^{\circ}$ - $38.32^{\circ}$ ,  $40.07^{\circ}$ - $40.07^{\circ}$ ,  $52^{\circ}$ - $52.91^{\circ}$  y  $62.86^{\circ}$ - $62.88^{\circ}$  indexados con los planos cristalinos (100), (002), (101), (102) y (110) del titanio hexagonal. En ese mismo sentido, la SNTO-4 que es la única que presenta un cambio de fase desde la de sales de titanio a la fase anatasa del  $\text{TiO}_2$ , posee reflexiones de Bragg en  $2\theta$  iguales a  $25.17^{\circ}$ ,  $36.97^{\circ}$ ,  $37.84^{\circ}$ ,  $47.84^{\circ}$ ,  $53.03^{\circ}$ ,  $54.78^{\circ}$  indexados a los planos cristalográficos (101), (103), (004), (200), (105), (211) y (204) de la fase anatasa tetragonal del  $\text{TiO}_2$ .

**Tabla 9:** Parámetros de la estructura del Ti hexagonal y del TiO<sub>2</sub> en fase anatasa tetragonal reportadas en las cartas cristalográficas PDF-01-071-1169, PDF-01-071-1169 y PDF-01-072-7058.

Parámetros Cristalinos					
PDF No.	a (Å)	b (Å)	c (Å)	Grupo espacial	No. grupo espacial
00-071-0859	2.956	2.956	4.697	Pg3/mmc	194
01-071-1169	3.804	3.804	9.614	I41/amd	141
01-072-7058	3.787	3.787	9.515	I41/amd	141
	$\alpha$ (°)	$\beta$ (°)	$\gamma$ (°)	Volumen (Å <sup>3</sup> )	Sistema cristalino
00-071-0859	90	90	120	35.54	Hexagonal
01-071-1169	90	90	90	139.12	Tetragonal
01-072-7058	90	90	90	136.44	Tetragonal

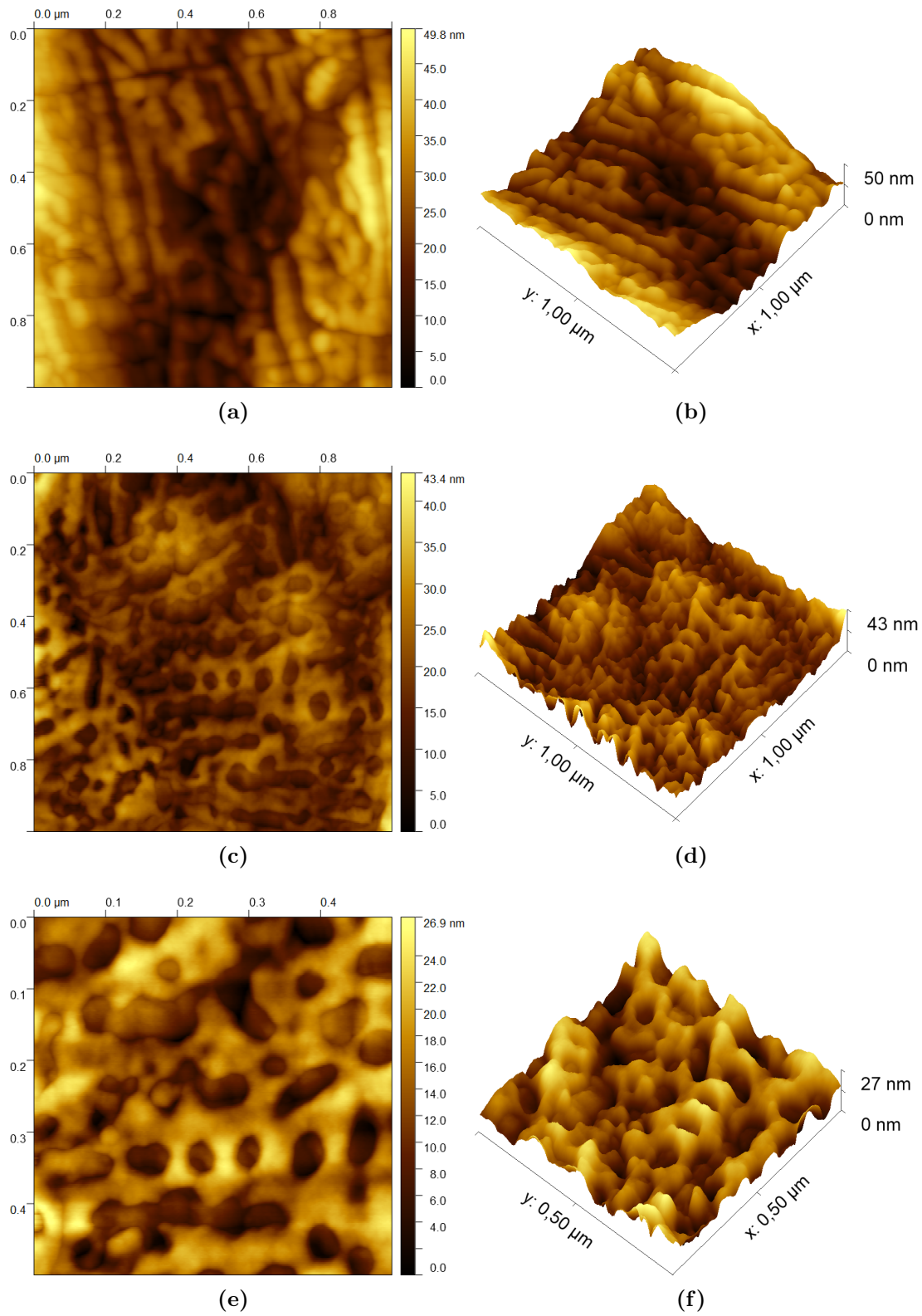
Con las condiciones de tratamiento térmico utilizadas para la fabricación de la SNT0-4, se consigue cristalizar la matriz nanotubular de TiO<sub>2</sub> inicialmente amorfa hacia la fase de anatasa policristalina. De la Figura 16 para la SNT0-3 se puede observar que no hay una variación de las fases presentes en las NEs, es decir, no hay cambios significativos en la cristalinidad de la muestra.

## 2.2.4 Funcionalización de superficies nanoestructuradas de TiO<sub>2</sub> calcinadas

Al analizar las imágenes AFM y los valores de la  $\Delta\delta_{RMS}$  de la muestra SNT0-4 antes y después de la funcionalización con AF (que se muestran en la figura 17 y en la tabla 10, respectivamente), se identifica una disminución de la  $\Delta\delta_{RMS}$  de los nanotubos de TiO<sub>2</sub> al ser funcionalizados con AF. Este resultado parece contraintuitivo, ya que a menudo la funcionalización de las superficies aumenta la  $\Delta\delta_{RMS}$  debido a la ubicación de muchas moléculas en las cúspides de las NEs, como se estudió en la sección 2.2.2 donde las moléculas de AF parece que se ubicaron en la parte superior de los bordes de los nanotubos aumentando la longitud de los mismos. Sin embargo, al observar el valor de la  $\Delta\delta_{RMS}$  de la AF-SNT0-4 en la tabla 10, se encontró que esta disminuyó en comparación con la no funcionalizada. Este comportamiento puede deberse a que las moléculas de AF se están ubicando dentro de los nanotubos y/o en el espacio que separa un nanotubo de otro (figura 17e y 17f).

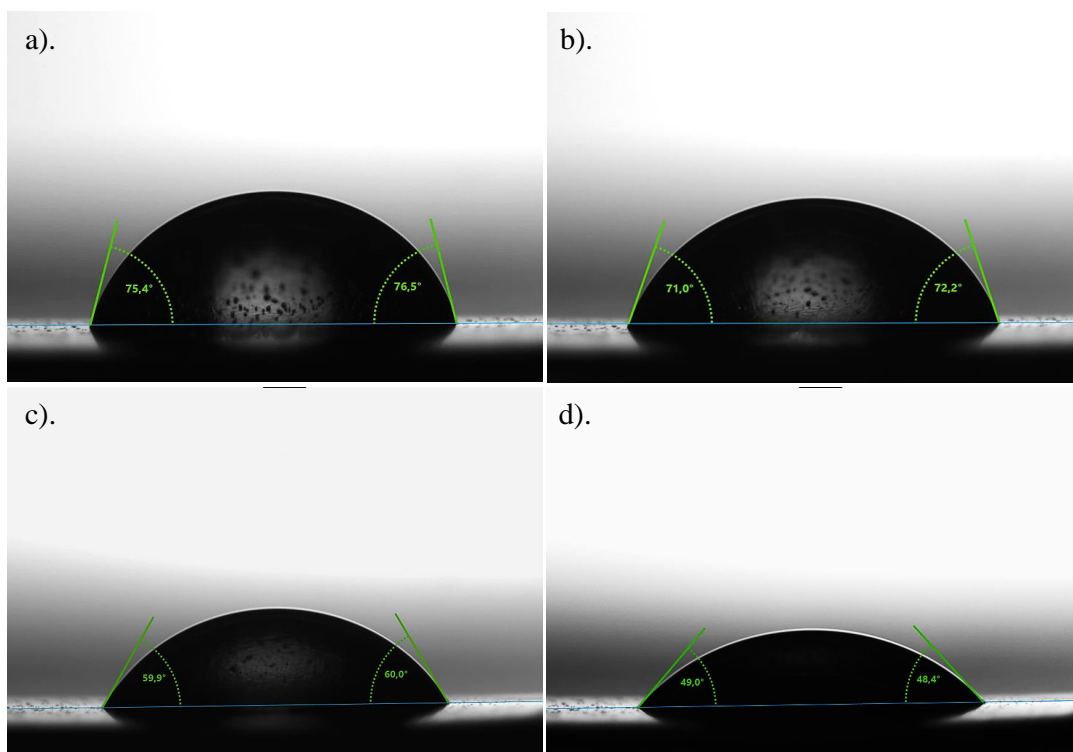
**Tabla 10:** Valores de la rugosidad cuadrática media para la SNT0-4 y AF-SNT0-4.

	$\Delta\delta_{RMS}$ [nm]	
	SNT0-4	AF-SNT0-4
Medida 1	8.0	8.3
Medida 2	9.4	5.8
Medida 3	6.5	5.0
Promedio	$8.0 \pm 1.4$	$6.4 \pm 1.7$



**Figura 17:** Imágenes de AFM de las muestras (a)-(b) SNT0-4 y (e),(f) AF-SNT0-4. Estas fueron tomadas con una Unidad SPM Multi-Función AFM5100N de Hitachi operando en modo no contacto.

El análisis por ángulo de contacto también fue realizado solo para la muestra SNT0-4 para poder tener una base de comparación con la muestra sin calcinar SNT0-2. En la figura 18 se puede observar la comparación de los ángulos de contacto que posee la gota de agua sobre la superficie calcinada sin funcionalizar (18a y 18b) y funcionalizada (18c y 18d). En este caso, los valores de AC expuestos en la tabla 11 muestran que la superficie es menos hidrofílica que la no calcinada, esto quiere decir que el tratamiento térmico cambia la reactividad de la NE retirando, por ejemplo, grupos -OH que son formados frecuentemente en SNT0 y contaminantes orgánicos presentes en la superficie de los nanotubos. Estos grupos funcionales retirados pueden tener afinidad por el agua, por lo que su eliminación hace que se aumente el ángulo de contacto.



**Figura 18:** Ángulo de contacto de la muestra SNT0-4 a) y b) antes de la funcionalización, y c). y d). después de la funcionalización.

**Tabla 11:** Valores de ángulos de contacto de la SNT0-4 antes y después de funcionalizada.

Ángulo de contacto (AC) [°]			
	Lámina de Titanio	SNT0-4	AF-SNT0-4
AC[°]±σ	66±2	77±3	59±1

En cuanto a la funcionalización, la presencia del AF sobre la superficie de la SNT0-4 produjo una reducción del ángulo de contacto de la SNT0-4 (ver tabla 11), indicando un

---

aumento de la hidrofiliidad de la película debido a los grupos libres de amina (-NH<sub>2</sub>) y ácido carboxílico (-COOH) del AF.

## 2.3 CONCLUSIONES

Se obtuvieron arreglos de nanoestructuras de TiO<sub>2</sub> mediante el método de anodización electroquímica, empleando una solución electrolítica compuesta por etilenglicol, NH<sub>4</sub>F y agua tipo I. Se aplicaron dos valores diferentes de tiempo de anodización a un voltaje constante de 60 V. La variación de estas condiciones experimentales permitió la fabricación de nanocolumnas (SNT0-1) y nanotubos (SNT0-2). Estas nanoestructuras presentan formas y tamaños distintos, lo que indica que el tiempo es una variable crucial que determina el tipo de morfología obtenida de las nanoestructuras. Por otro lado, se concluye que el voltaje elegido para la fabricación resulta efectivo en la obtención de nanoestructuras de TiO<sub>2</sub>, para los dos tiempos de anodización de 10 y 30 min empleados.

Mediante un proceso de tratamiento térmico aplicado a las NEs fabricadas a 60V-30min, se logró la fabricación de una SNT0 con una fase cristalina estable, específicamente anatasa con una brecha de energía de 3.3eV. Las muestras preparadas por el método de anodización electroquímica presentan en un inicio un carácter amorfo. Para la muestra fabricada bajo las mismas condiciones que la SNT0-2 se pudo evidenciar un cambio de estructura amorfa a la fase anatasa tras realizar la calcinación alrededor de los 500°C; sin embargo, para la fabricada bajo las mismas condiciones de la SNT0-1 el tratamiento térmico no proporcionó un cambio evidenciable en su estructura amorfa. Esto se ha demostrado con los análisis de DRX realizados a ambas superficies.

Después de la funcionalización con AF para las superficies calcinadas y no calcinas, se obtuvieron resultados que confirman la presencia de moléculas de AF en la superficie nanoestructurada, tales como el aumento de la hidrofiliidad de las muestras al ser funcionalizadas con respecto a la muestra sin funcionalizar (evidenciado por la disminución del ángulo de contacto), y por medio del análisis de AFM donde se determinó el cambio en la morfología y la rugosidad de las SNT0 al ser funcionalizadas con AF.

## CAPÍTULO 3

# ESTUDIO POR ESPECTROSCOPIA DE CAPACITANCIA ELECTROQUÍMICA DE LA RESPUESTA ELÉCTRICA DE LAS SNTTO

En este capítulo se aborda la caracterización de las SNTTO y AF-SNTTO (calcinadas y sin calcar) mediante ECE, con el objetivo de identificar la superficie que presente los mejores valores de  $C_{\mu}$ , lo que permitiría utilizar, para futuras investigaciones, la SNTTO como detector de RDF. Para ello, se estudió el diagrama de Nyquist capacitivo obtenido a través de medidas por triplicado de ECE mediante la ecuación 5. Se evaluó cada muestra antes y después de su funcionalización, y se analizó el efecto de la calcinación en la capacitancia electroquímica de las SNTTO.

### 3.1 METODOLOGÍA

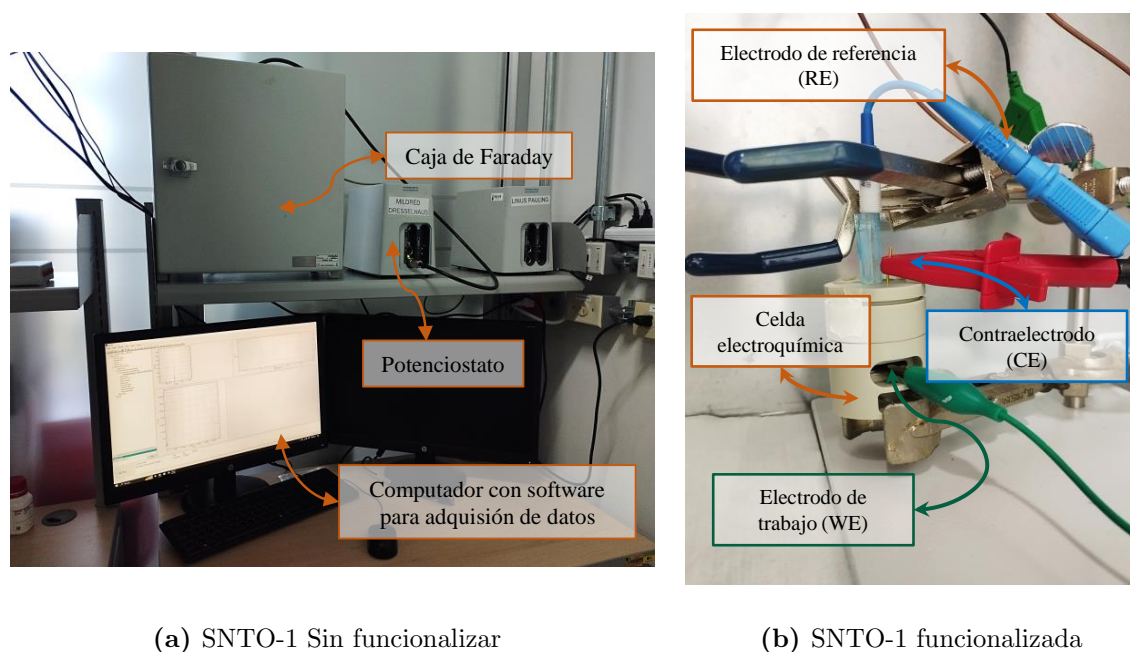
### 3.2 Mediciones de capacitancia electroquímica

Las mediciones electroquímicas que fueron tomadas a las SNTTO antes y después de su funcionalización se realizaron usando un potenciostato PGSTAT-204 de Metrohm-Autolab equipado con modulo FRA-32M, el cual tiene instalado el software NOVA 1.11 que es el programa donde se reciben los datos y se estipulan los parámetros para la realización de las mediciones (ver figura 19).

La figura 19b muestra la configuración de la celda electroquímica utilizada, la cual consta de tres electrodos: un electrodo de trabajo conformado por la lámina con SNTTO y/o AF-SNTTO, un contra-electrodo de alambre de oro y un electrodo de referencia de  $Ag/AgCl$  (KCl 3M). Para evitar interferencias de campos externos, se colocó la celda electroquímica dentro de una caja de Faraday, como se muestra en la figura 19a. La solución electrolítica usada fue PBS (pH 7.4).

En el programa NOVA 1.11 se fijó un valor de 70 puntos por medición, se estableció el

rango de frecuencias de 0.1 Hz hasta 0.1 MHz para hacer el barrido de mediciones de impedancia, y se estableció una amplitud de 10 mV (voltaje pico a pico). Al generar la gráfica del diagrama de nyquist capacitivo ( $C'$  vs  $C''$ ), se observó que la trayectoria que los puntos describen es un semicírculo, por lo que se realizó un modelado inverso para poder encontrar una circunferencia que se ajuste al máximo con los datos obtenidos y determinar el diámetro de la semicircunferencia, el cual se relaciona con el valor de la capacitancia electroquímica ( $C_{\mu}$ ). Este modelado se hizo en el programa Python haciendo uso de la librería *semiCirclesEISModel* escrita por David A. Miranda, Ph.D., e implementada en el Jupyter Notebook del Anexo 5.

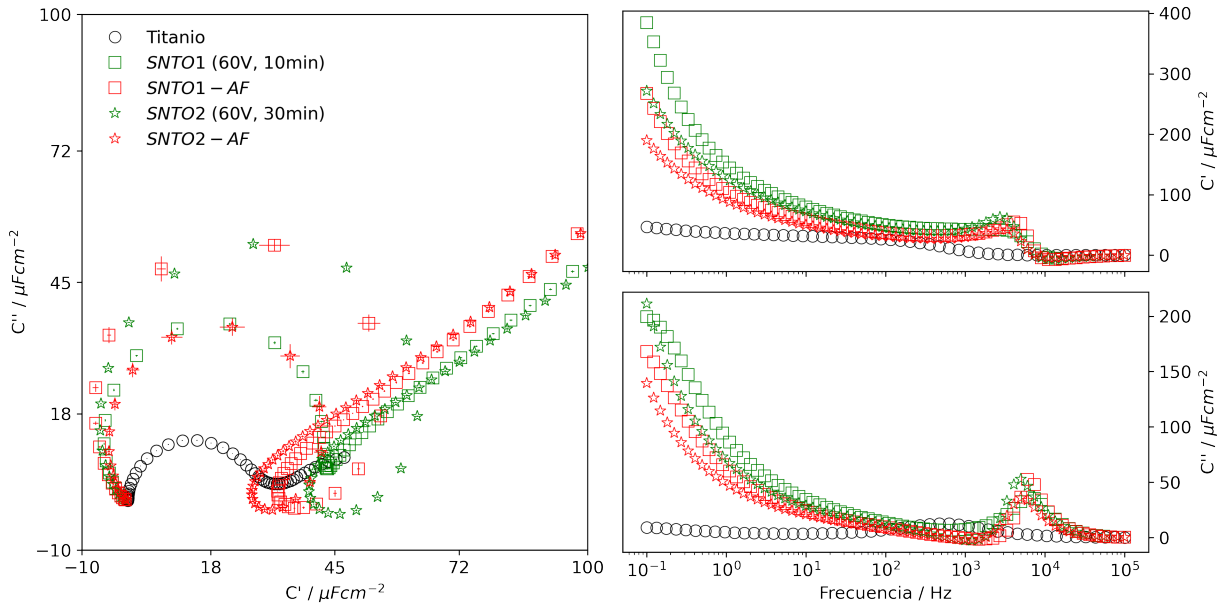


**Figura 19:** Montaje experimental para las mediciones electroquímicas donde (a) se observa el computador con el programa usado para la adquisición de datos (NOVA 1.11), un potenciostato PGSTAT204 de Autolab y una caja de Faray, dentro de la cual se encuentra (b) la celda electroquímica usada para las mediciones. La celda electroquímica consta de tres electrodos, el de color azul es el electrodo de referencia, el rojo es el contraelectrodo y el verde es el electrodo de trabajo.

### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.3.1 Estudio de la $C_{\bar{\mu}}$ de las SNT0 y AF-SNT0

En esta sección, se muestran los resultados y discusión de la caracterización de las propiedades eléctricas de las SNT0 y AF-SNT0 obtenidas. En la Figura 20 se exhiben las propiedades eléctricas tanto de la lámina de titanio sin modificación como las de las muestras fabricadas bajo dos condiciones experimentales (60 V a 10 y 30 min), antes (SNT0) y después (AF-SNT0) de funcionalizar; en la parte izquierda de la Figura 20 se tiene la representación de los datos experimentales en el plano complejo (diagrama de Nyquist), donde el eje  $x$  corresponde con la parte real de la capacitancia y el eje  $y$ , a su parte imaginaria. La imagen de la derecha de la Figura 20 se visualiza la relación de las propiedades eléctricas con la frecuencia de excitación a través del diagrama de Bode, tanto para la parte real como para la parte imaginaria de la capacitancia.



**Figura 20:** En la figura de la izquierda están representados los diagramas de Nyquist capacitivos para las muestras SNT0-1 (cuadrados) y SNT0-2 (estrellas) fabricadas a 60V-30min y 60V-10min, respectivamente, antes (verde) y después (rojo) de su funcionalización. En las figuras de la derecha se presentan los diagramas de Bode, los cuales muestran la dependencia de la frecuencia tanto para la parte real ( $C'$ ) como la imaginaria ( $C''$ ) de la capacitancia.

Siendo el valor de la capacitancia electroquímica ( $C_{\bar{\mu}}$ ) el corte con el eje real en el diagrama de Nyquist, este se puede determinar mediante la diferencia entre el valor de la parte real ( $C'$ ) asociado a la frecuencia más baja en la cual su parte imaginaria es cero, y el valor de la parte real a una frecuencia alta donde su parte imaginaria vuelve a ser cero; es por esto que, la determinación de  $C_{\bar{\mu}}$  es más conveniente realizarla en el diagrama de

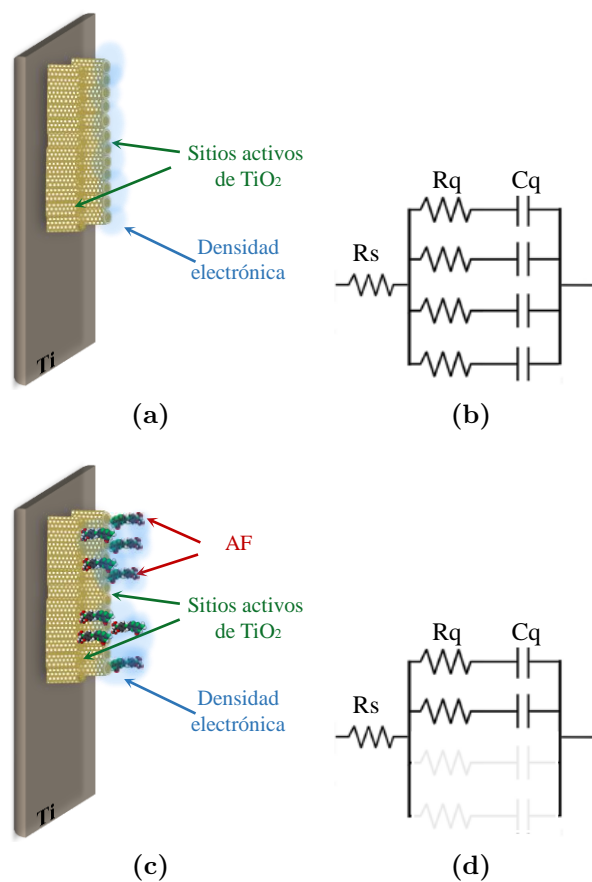
---

Nyquist. De esta manera, al analizar los diagramas de Nyquist obtenidos por ECE para cada superficie nanoestructurada (Figura 20) antes y después de la funcionalización de la misma, se puede observar que los valores de la  $C_{\bar{\mu}}$  para las SNT0-1 y SNT0-2 (41.85 y 57.07  $\mu F cm^{-2}$ , respectivamente) son mayores respecto a la  $C_{\bar{\mu}}$  de la lámina de titanio sin modificar (valor alrededor de los 29.27  $\mu F cm^{-2}$ , ver diagrama de nyquist de la lámina de titanio en el Anexo 2), este aumento puede deberse a que la estructura nano-porosa de los NTs-TiO<sub>2</sub> les proporciona un área superficial mayor generando más sitios activos para la transferencia electrónica entre la NEs y la solución electrolítica; por tanto, se puede inferir que el TiO<sub>2</sub> nanoestructurado posee un número mayor de estados electrónicos disponibles [99].

Otro factor clave en la fabricación de la SNT0 para futuras aplicaciones de biosensor de receptores de folato, es poder lograr una unión estable entre las moléculas de AF y la SNT0. La unión más estable se da a través de la formación de enlaces covalentes. En los estudios reportados donde se fabrican biosensores cuya señal de respuesta también es la  $C_{\bar{\mu}}$ , han obtenido que la  $C_{\bar{\mu}}$  del electrodo de trabajo disminuye al ser funcionalizado covalentemente con una biomolécula o elemento de bio-reconocimiento [116]. En este sentido, al analizar los resultados de la funcionalización de la SNT0-1 (ver Figura 20), se puede inferir que no se logra una unión covalente. Berte L y col., demostraron mediante análisis de Raman y XPS que el ácido fólico puede unirse a la superficie de TiO<sub>2</sub> a través del anillo de pteridina o a través de los grupos carboxílicos ( $COO^-$ ) de la porción de ácido glutámico posiblemente a través de interacciones electrostáticas [117]. En este caso de las AF-SNT0-1, el aumento de la capacitancia puede ser debido a que las moléculas de AF fisisorbidas, con sus grupos carboxílicos en su forma de carboxilato ( $COO^-$ ), aumentan la carga en la superficie [118].

Por su parte, la funcionalización de la SNT0-2 con AF sí evidencia la formación de enlaces covalentes entre los NTs-TiO<sub>2</sub> y las moléculas de AF. Esto se debe a que se ha observado una disminución en el valor de  $C_{\bar{\mu}}$  (38.41  $\mu F cm^{-2}$ ), lo cual coincide con los estudios ya mencionados [116, 118].

La información anterior respalda los resultados obtenidos en el análisis de AFM y ángulo de contacto en el capítulo 2 pues estos sugieren la formación de un enlace entre las moléculas de AF y la SNT0-2. Al realizar análisis por ECE y revisar la literatura [98, 116, 118], se puede concluir que este enlace es covalente, ya que después del proceso de funcionalización, las SNT0 se lavan con agua tipo I para eliminar moléculas que no se adhirieron adecuadamente a la superficie; por lo tanto, es de esperarse que las moléculas que no se



**Figura 21:** (a) Representación esquemática del sistema con los sitios activos de la SNTO antes de funcionalizar y (b) es el modelo circuital equivalente de su interfaz cuando no se han adicionado moléculas de AF. (c) Representa el esquema del sistema en presencia del AF y el modelo circuital equivalente (d) muestra cómo la interacción entre el AF y la NEs provoca una reducción en los sitios activos de la SNTO lo que genera una supresión de elementos del circuito (representados en gris).  $R_q$  y  $C_q$  son resistencias y capacitancias cuánticas, respectivamente, y  $R_s$  es la resistencia en serie conformada por la suma de las resistencias de la solución y el contacto eléctrico del detector. Esquema adaptado bajo licencia CC BY 4.0 del artículo de Corzo S. y col., figura 4 [98].

eliminaron hayan formado enlaces fuertes con las nanoestructuras.

La disminución de la capacitancia de la SNTO-2 cuando se funcionalizó con ácido fólico (AF-SNTO-2) se puede interpretar por medio del modelo circuital de la Figura 21. En el modelo se muestran los nanotubos antes de ser funcionalizados (figura 21a,21b) y después del proceso de funcionalización (figura 21c,21d). En ambos casos, los nanotubos funcionan como un centro de intercambio de electrones donde los lugares en los NTs donde es posible la transferencia electrónica desde o hacia la solución electrolítica se pueden considerar como sitios activos del sistema. En este sentido, cada posibilidad de intercambio de electrones es representada por un elemento circuital compuesto por una combinación en serie de una resistencia cuántica ( $R_q$ ) y una capacitancia cuántica ( $C_q$ ). Inicialmente, en ausencia de

AF se tiene un número  $N$  de sitios activos disponibles y una capacitancia cuántica total de  $NC_q$  (figura 21b). Cuando las moléculas de AF interactúan con las NEs (figura 21c), las moléculas de AF bloquean algunos sitios activos de la NE, es decir, se limita la interacción de la superficie de la NE con la solución electrolítica, haciendo que disminuya la cantidad de sitios activos disponibles para el intercambio de cargas ( $N_a$ ) por lo que hay menos contribución de capacitancias cuánticas activas del sistema (figura 21d), por consiguiente, el valor de la capacitancia cuántica total disminuye a  $N_a C_q$  [98].

### 3.3.1.1. Selección de la SNTTO con mejores valores de $C_{\bar{\mu}}$ :

Al hacer la comparación de los valores de capacitancia electroquímica determinados para las SNTTO sin tratamiento térmico y antes funcionalizar (ver tabla 12), se pudo determinar que la superficie con el valor más alto de  $C_{\bar{\mu}}$  es la SNTTO-2 ( $C_{\bar{\mu}} = 57,07 \mu F cm^{-2}$ ).

La SNTTO-1, aunque muestra altos valores de  $C_{\bar{\mu}}$ , los resultados de la caracterización de su funcionalización con AF (siguiendo la metodología planteada para este proyecto de investigación) sugieren la no formación de enlace covalente, razón por la cual no es una buena candidata para aplicaciones de biosensores electroquímicos.

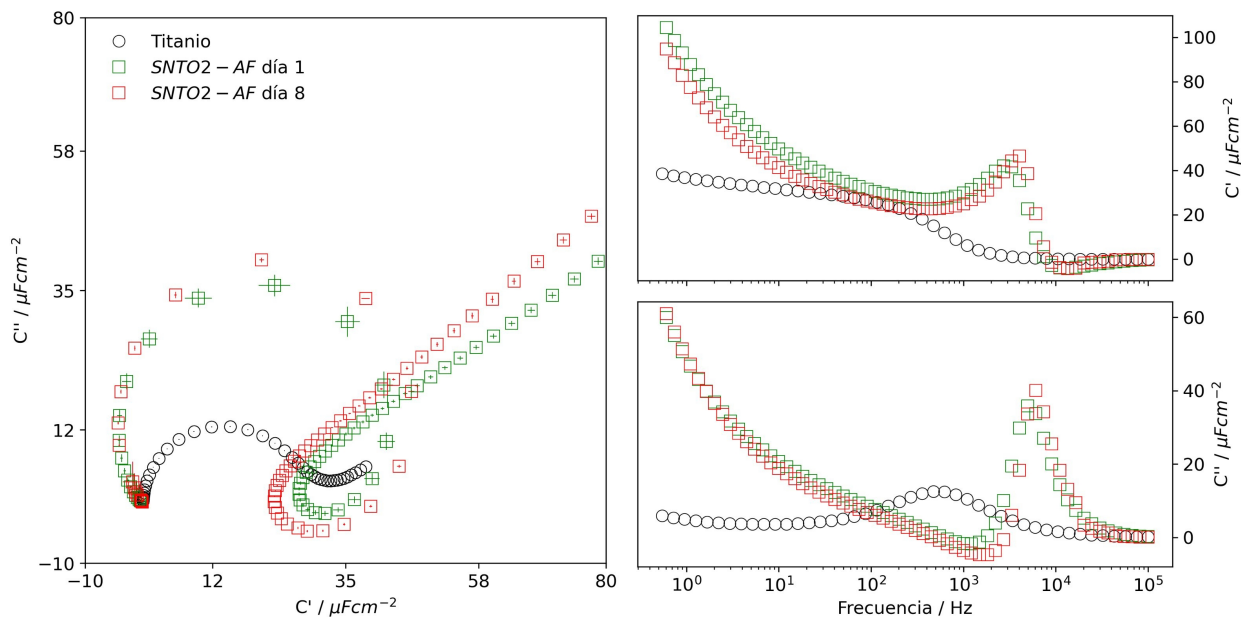
En cambio, la SNTTO-2, además de ser la superficie sin funcionalizar con el mayor valor de  $C_{\bar{\mu}}$ , fue la muestra con la cual se logró una funcionalización covalente; teniendo en cuenta que ambas muestras fueron funcionalizadas con bajo el mismo protocolo pero fabricadas bajo diferentes condiciones, esta mejora en los valores de capacitancia se puede atribuir a que al aumentar el tiempo de anodización de la SNTTO-2 a 30 minutos, puede existir una mayor densidad nanotubular y mayor área superficial, esto conduce al aumento en el número de posibilidades que tienen las NEs de intercambiar electrones con la solución lo que resulta en una mayor capacitancia electroquímica. Es por esto que la AF-SNTTO-2 preparada es la principal candidata a ser usada en investigaciones futuras en aplicaciones de biosensores de RDF.

**Tabla 12:** Valores de  $C_{\bar{\mu}}$  obtenida para tres mediciones de ECE consecutivas para cada tipo de SNTTO.

Medición de $C_{\bar{\mu}}$	SNTTO-1 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	AF-SNTTO-1 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	SNTTO-2 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	AF-SNTTO-2 [ $\mu F cm^{-2}$ ]
<b>1</b>	42.43	43.80	56.44	39.96
<b>2</b>	41.79	43.72	57.13	37.25
<b>3</b>	41.32	44.86	57.63	38.02
<b>Promedio</b>	41.85	44.13	57.07	38.41

Adicionalmente, se realizó un análisis de evolución temporal para determinar la variación

de la capacitancia electroquímica de esta AF-SNTO-2 a los ocho días después de funcionalizar. La figura 22 muestra que la diferencia en los valores de capacitancia entre la SNTO recién funcionalizada y la que ha pasado varios días desde su funcionalización es mínima. Según los resultados reportados por Bertel L., este comportamiento es propio de enlaces covalentes, ya que las moléculas de AF adheridas a las NEs mantienen la interacción con el tiempo [118].

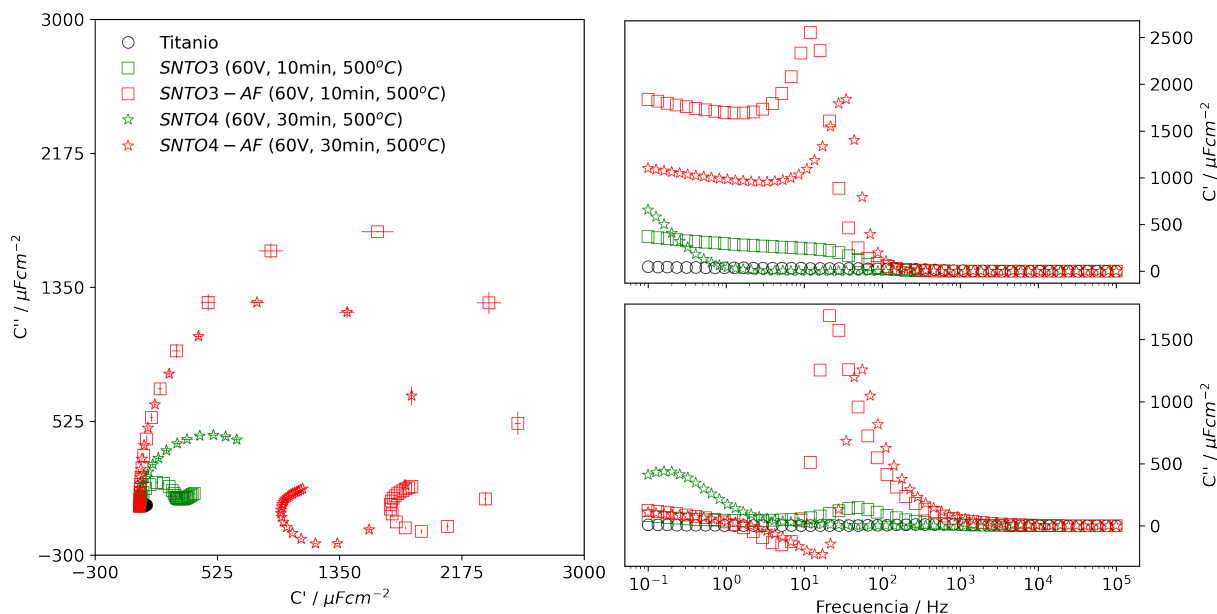


**Figura 22:** Comparación del comportamiento de la  $C_{\mu}$  de la AF-SNTO-2 el día de la funcionalización (verde) y a los 8 días de esta (rojo).

En los espectros de capacitancia mostrados en esta sección se puede observar un comportamiento diferente al típico observado para estas mediciones. Por lo general, los estudios publicados sobre electrodos de trabajo para biosensores muestran que siguen modelos de Cole-Cole, que se caracterizan por semicírculos centrados en el eje real (modelo de Debye) o centrados por debajo del eje real (modelo de Cole-Cole) [98, 116, 119]; sin embargo, en los resultados obtenidos de las SNTO-2, AF-SNTO(1,2), se observa que en las gráficas de Nyquist capacitivas el semicírculo presenta un comportamiento atípico a bajas frecuencias, donde se observa que el semicírculo tiene su centro sobre el eje real, consistente con un valor negativo para el parámetro  $\alpha$  del modelo de Cole-Cole. Keddam y col. reportaron resultados similares a los aquí mostrados, sin embargo, son para diagramas de Nyquist impedimétricos; en su estudio, Keddam y col. atribuyen este fenómeno a relajaciones que involucran especies asociadas a fenómenos de corrosión en la superficie [120, 121]. Estos resultados son nuevos para el grupo de investigación CIMBIOS y se propone un estudio a futuro para entender este comportamiento pues los reportes consultados brindan

información sobre sistemas impedimétricos más no capacitivos.

### 3.3.2 Efecto de la calcinación en la $C_{\bar{\mu}}$ de las SNTTO y las AF-SNTTO (3 y 4)



**Figura 23:** En la figura de la izquierda están representados los diagramas de Nyquist capacitivos para las muestras SNTTO-3 (cuadrados) y SNTTO-4 (estrellas) fabricadas a 60V-30min y 60V-10min, respectivamente, antes y después de su funcionalización. Los puntos verdes indican las muestras antes de funcionalizar y los rojos, muestran los puntos después de la funcionalización. En las figuras de la derecha se presentan los diagramas de Bode los cuales relacionan la parte real e imaginaria de la capacitancia en función de la frecuencia.

Mediante la calcinación de las superficies nanoestructuradas, se encontró un aumento significativo en el valor de  $C_{\bar{\mu}}$  respecto a las no calcinadas (ver figura 23). A su vez, se mantuvo que la SNTTO-4 presenta valores más altos de  $C_{\bar{\mu}}$  ( $935\mu Fcm^{-2}$ ) que la SNTTO-3 ( $251.16\mu Fcm^{-2}$ ).

Salari M y col., explican que este aumento significativo de la capacitancia se le atribuye en primer lugar a que durante el proceso de calcinación, se pueden introducir defectos en la estructura de los nanotubos de  $TiO_2$ , como vacantes de oxígeno e intersticiales de titanio, que pueden aumentar la conductividad y la capacidad de carga de los nanotubos. Otro factor que puede contribuir al aumento de la capacitancia es el aumento de la relación de  $Ti^{3+}/Ti^{4+}$  (La mayoría de los iones están presentes cuando hay formación de fases de anatasa y/o rutilo [122]) en la superficie de los nanotubos de  $TiO_2$  durante la calcinación. La presencia de  $Ti^{3+}$  en la superficie de los nanotubos puede facilitar la transferencia

electrónica y aumentar la capacidad de almacenamiento de carga [123].

Los nanotubos de  $\text{TiO}_2$  calcinados han demostrado ser buenos candidatos para su uso en supercondensadores debido a su alta capacitancia específica, estabilidad, ciclabilidad y por su conductividad eléctrica mejorada [123, 124]. Estas características permiten que los nanotubos de  $\text{TiO}_2$  calcinados almacenen y liberen energía de manera eficiente, lo que los convierte en una opción prometedora para aplicaciones en la industria [124–126].

Por otro lado, lo estudiado en la sección 3.3.1 sugiere que al funcionalizar las SNTOs calcinadas, no se obtienen enlaces covalentes con las moléculas de AF pues los valores de capacitancia para ambas superficies aumentan (ver tabla 13), esto indica que la calcinación, aunque incrementa muy bien la capacitancia electroquímica de las SNTOs, atribuye un efecto negativo en las superficies que se desean funcionalizar pues debido al tratamiento térmico a altas temperaturas es posible que la superficie haya perdido ciertos grupos químicos o sitios reactivos [44, 127] que son necesarios para la unión efectiva del ácido fólico.

**Tabla 13:** Valores de  $C_{\bar{\mu}}$  obtenida para tres mediciones de ECE consecutivas para cada tipo de SNTO calcinada.

Medición de $C_{\bar{\mu}}$	SNTO-3 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	AF-SNTO-3 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	SNTO-4 [ $\mu F cm^{-2}$ ]	AF-SNTO-4 [ $\mu F cm^{-2}$ ]
1	245.68	2664.41	933.8	1937.37
2	251.29	2639.84	936.83	1966.05
3	256.52	2628.85	934.92	1983.92
<b>Promedio</b>	251.16	2644.37	935.18	1962.45

### 3.4 CONCLUSIONES

La espectroscopia de capacitancia permitió evidenciar la naturaleza capacitiva de las cuatro superficies nanoestructuradas que se fabricaron. La morfología de las NEs influyó en la mejora de los valores de  $C_{\bar{\mu}}$ . Para las nano-columnas con  $\Delta\delta_{RMS}=6.2\pm 2.3$ , la capacitancia fue de  $41.85\mu F cm^{-2}$ , la cual aumentó a  $57.07\mu F cm^{-2}$  para los nanotubos con  $\Delta\delta_{RMS}=16.4\pm 4.4$ . Esto indica que la transferencia de carga entre las nanoestructuras y el medio se ve influenciada por su tamaño y morfología.

Los datos experimentales sugieren que al funcionalizar con ácido fólico la muestra SNTO-2 se forma un enlace covalente; esto se infiere de la disminución de la  $C_{\bar{\mu}}$  cuando se funcionaliza con ácido fólico. Este resultado puede ser debido a que las moléculas de AF bloquean los sitios activos de los nanotubos de  $\text{TiO}_2$  disponibles para la transferencia electrónica en-

---

tre la SNTTO y la solución electrolítica. Adicionalmente, se comprobó que las moléculas de AF se mantienen unidas a la SNTTO-2 tras mediciones de ECE realizadas a los 8 días después del proceso de funcionalización, es decir, se comprueba que se formó un enlace estable.

El efecto de la calcinación resulta positivo, ya que genera un gran aumento en la capacitancia de la SNTTO. Sin embargo, para el propósito de este proyecto de investigación, no es propicio el uso de SNTTO calcinadas, debido a que el tratamiento térmico elimina de la superficie de las nanoestructuras grupos químicos esenciales para llevar a cabo la funcionalización mediante la metodología que este trabajo propone.

### CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Los biosensores electroquímicos conformados por nanoestructuras y biomarcadores específicos se presentan como una opción viable para la detección temprana del cáncer, debido a que son altamente sensibles y selectivos, además de ser fáciles de utilizar. En ese sentido, en el presente trabajo de investigación se propuso el desarrollo de un electrodo de trabajo para aplicaciones futuras de detección electroquímica de receptores de folato. El electrodo de trabajo desarrollado está basado en una lámina de titanio modificada con nanoestructuras de  $\text{TiO}_2$  funcionalizada con ácido fólico. Se usó AF debido a que presenta gran afinidad hacia los receptores de folato los cuales son biomarcadores del cáncer epitelial.

En este proyecto de grado se logró la fabricación de nano-columnas y nanotubos de  $\text{TiO}_2$  con rugosidad cuadrática media de unos pocos nanómetros (no mayores a 18 nm), estas fueron debidamente caracterizadas por AFM, DRX, ángulo de contacto, UV-Vis de reflectancia difusa y espectroscopía de capacitancia electroquímica. Por medio de esta última, se pudo determinar que los nanotubos de  $\text{TiO}_2$  fabricados a un voltaje de 60V y 30min presentaron mejor respuesta capacitiva (mayor valor de capacitancia electroquímica,  $C_{\bar{\mu}}$ ) que la superficie conformada por nano-columnas, razón por la cual se seleccionó la muestra con nanotubos de  $\text{TiO}_2$  para que en futuras investigaciones esta sea usada como posible detector de receptores de folato.

El enfoque de este biosensor capacitivo depende de la cantidad de sitios activos de  $\text{TiO}_2$ , y su respuesta de  $C_{\bar{\mu}}$  se ve afectada por el bloqueo de esta superficie tras la funcionalización con ácido fólico. Este detector capacitivo tiene una ventaja importante debido al hecho de que no necesita una sonda redox en la solución, lo que ayuda a minimizar la manipulación de la muestra y, por lo tanto, lo hace ideal para los análisis en el punto de atención (plataformas *point of care*).

Finalmente, se estudió el efecto de la calcinación a 500°C por 1 hora en las nanoestructuras

---

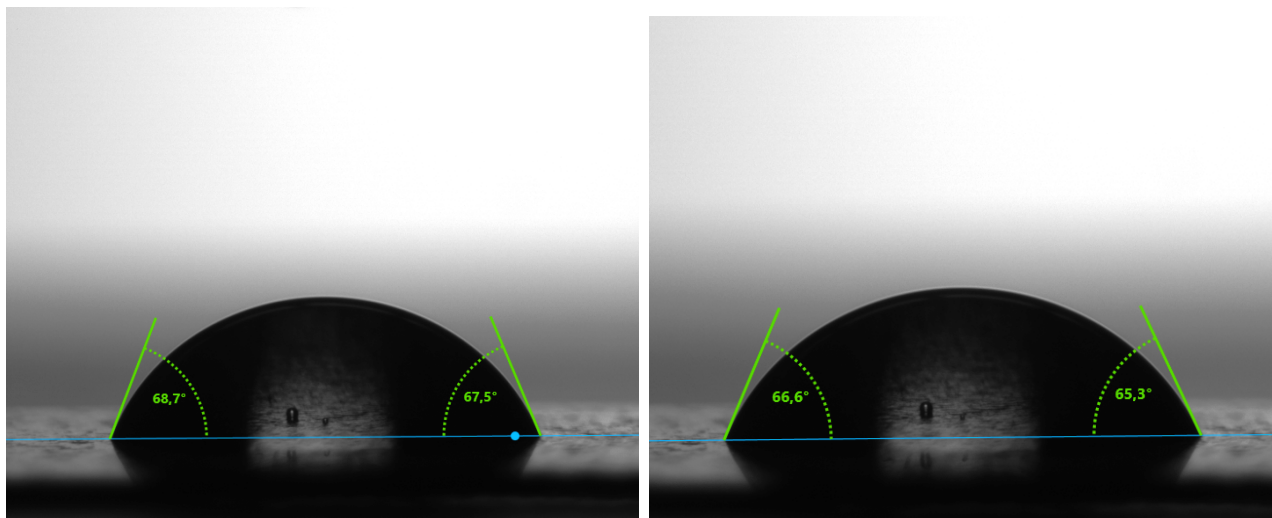
fabricadas y se determinó que aunque este es un excelente procedimiento para aumentar los valores de capacitancia, sin embargo, se deben buscar mejores alternativas para poder funcionalizarlas con éxito, pues debido a su poca actividad química en la superficie estas nanoestructuras no forman enlaces con las moléculas de AF (siguiendo la metodología de funcionalización de este trabajo de grado), lo que imposibilita su implementación para el objetivo de este proyecto que es ser usado como posible detector para RDF.

El comportamiento atípico en el diagrama de Nyquist a bajas frecuencias para las muestras AF-SNTO-1, SNTO-2 y AF-SNTO-2, son resultados nuevos para el grupo de investigación CIMBIOS. Por esta razón, se recomienda que en futuras investigaciones se analice este comportamiento y se busque comprender su origen, ya que es probable que este comportamiento ofrezca información adicional sobre la respuesta eléctrica de las superficies que están siendo fabricadas. Este conocimiento puede ser fundamental para optimizar parámetros en su fabricación o, incluso, para explorar nuevas aplicaciones.

Como recomendación, para mantener la estabilidad del biosensor por un tiempo considerado, es importante mantener las AF-SNTO en condiciones de refrigeración a temperaturas bajas y aislado de la luz pues el ácido fólico es una molécula sensible a la luz ultravioleta (UV), lo que provoca su descomposición en fotoproductos inactivos [128].

## ANEXOS

**ANEXO 1:** Ángulo de contacto de la lámina de titanio prístina. Este posee un valor promedio de  $67\pm 1^\circ$ .

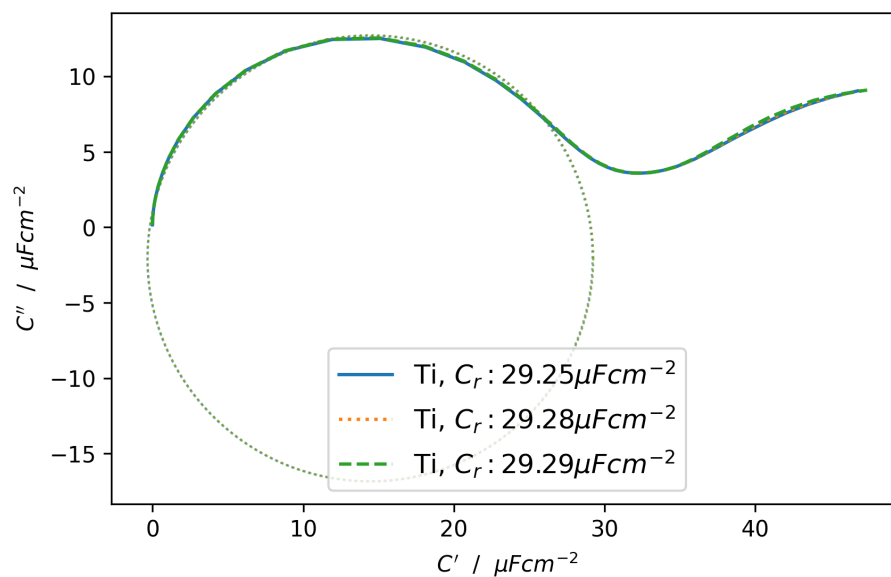


(a) Ángulo inicial

(b) Ángulo cuando alcanza un equilibrio

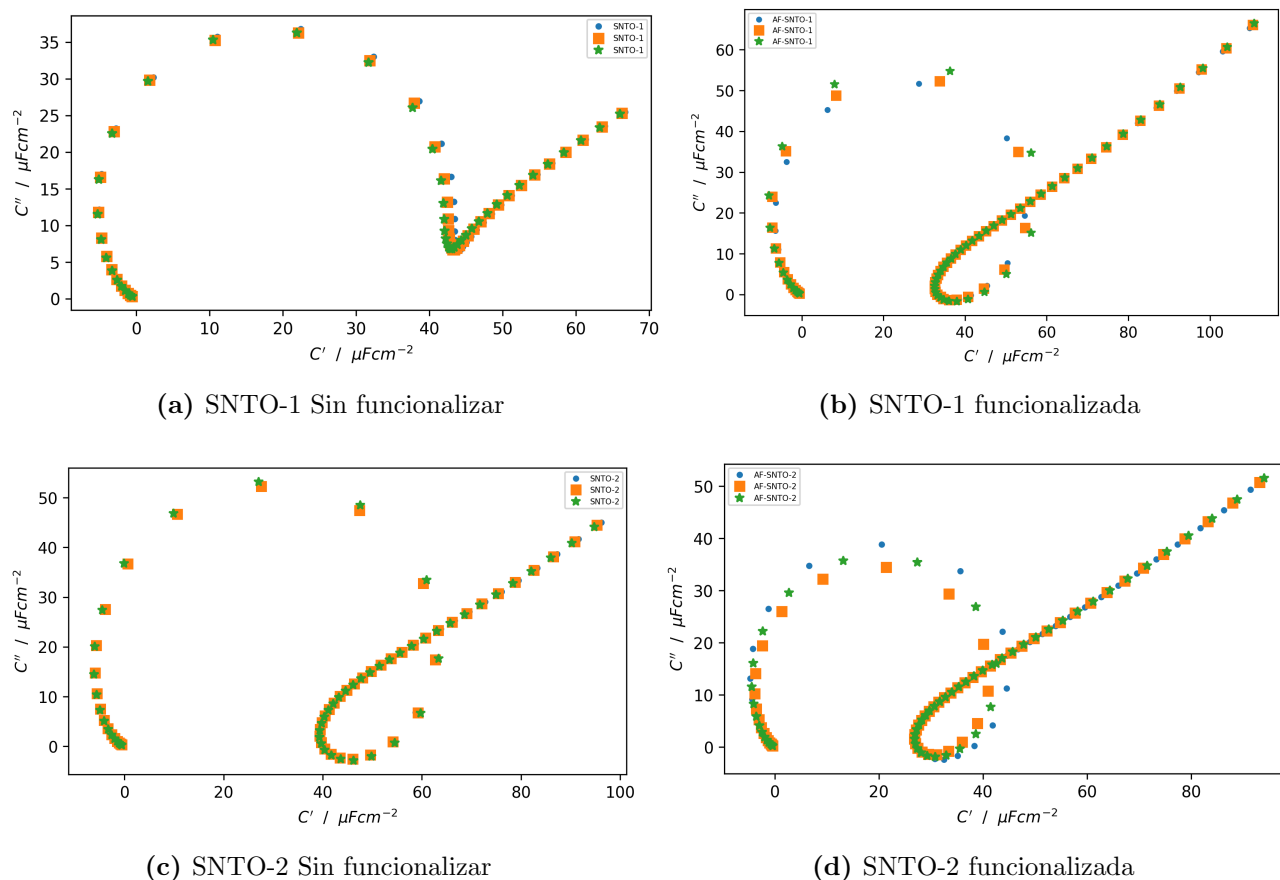
**Figura 24:** Ángulo de contacto de una lámina de Titanio sin modificar.

**ANEXO 2:** Espectroscopía de capacitancia electroquímica para la lámina de Titanio antes de ser modificada con nanoestructuras. El valor promedio de  $C_{\bar{\mu}}$  es de  $29.27\mu Fcm^{-2}$ .



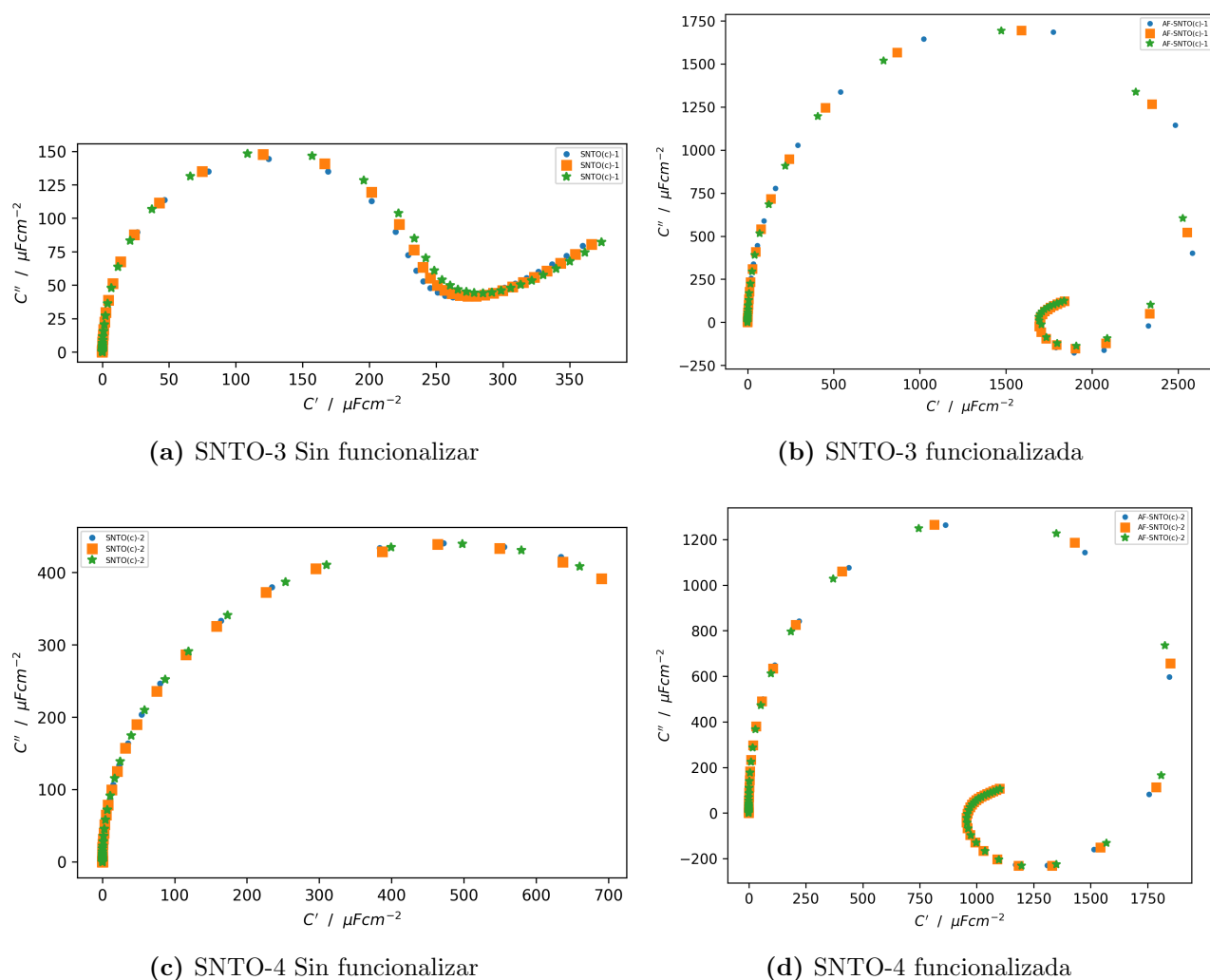
**Figura 25:** Diagrama de Nyquist y valor de capacitancia para la lámina de Titanio sin modificar.

### ANEXO 3: Espectroscopía de capacitancia electroquímica para las SNT0 1 y 2.



**Figura 26:** Diagrama de Nyquist capacitivo de las medidas por triplicado para la SNT0-1 (a) antes de funcionalizar y (b) después de funcionalizar. Y para la SNT0-2 (a) antes y (b) después de la funcionalización con AF.

ANEXO 4: Espectroscopía de capacitancia electroquímica para las SNT0 3 y 4.



**Figura 27:** Diagrama de Nyquist capacitivo para la SNT0(c)-1 (a) antes de funcionalizar y (b) después de funcionalizar. Y para la SNT0(c)-2 (c) antes y (d) después del proceso de funcionalización.

---

## ANEXO 5 : Jupiter Notebook para el análisis de datos.

### ▼ 0. Cargar en servidor Colab

```
[ ] #@title
try:
    from google.colab import drive
    drive.mount('/content/drive')
    basepath = '/content/drive/MyDrive/Trabajo de Grado María Camila Bermúdez/notebooks'
    %cd $basepath
except:
    pass
```

### ▼ 1. Importar librerías

```
[ ] from sys import path
import pandas as pd
import plotly.express as px
```

### ▼ 2. Importar bitácora

```
bitacora_path = '../data/bitacora.xlsx'
bitacora = pd.read_excel(bitacora_path)
bitacora
```

	sw	Nombre del archivo	Directorio	Experimento	Número exper	Fecha	param1	val1	unid1	param2	val2	unid2	WE
0	True	OCP_Blanco	../data/Mediciones Eléctricas/20230412/Muestra...	OCP	1	2023-04-12 00:00:00	NaN	NaN	NaN	Area_WE	0.5	cm <sup>2</sup>	Diagrama de Nyquist capacitivo
1	True	MBlanco_phi-0.117.txt	../data/Mediciones Eléctricas/20230412/Muestra...	ECE	1	2023-04-12 00:00:00	lphi	-0.117	V	Area_WE	0.5	cm <sup>2</sup>	Diagrama de Nyquist capacitivo
2	True	MBlanco_phi-0.117(2).txt	../data/Mediciones Eléctricas/20230412/Muestra...	ECE	1	2023-04-12 00:00:00	lphi	-0.117	V	Area_WE	0.5	cm <sup>2</sup>	Diagrama de Nyquist capacitivo

---

## 3. Plot ECE spectra

### 3.1. Métodos

```
[ ] path.append('../scripts/')
    from nanoTi02methods import *
```

### 3.2. Datos ECE y graficar

```
[ ] WE_to_plot = []
    ece_data = bitacora.loc[bitacora['Experimento'] == 'ECE']
    mask = ece_data['WE'].isin(WE_to_plot)
    plot_ece(ece_data[mask],
            freq_range=[0.1, 1e6],
            f_circunference = [2, np.inf],
            circunference=True,
            legend_fontsize=2)
```

### 3.3. Graficar ECE por fila de bitácora

```
▶ indexes = [3, 36]
f_circunference=[10, np.inf] # Rango de frecuencias para ajustar circunferencia
freq_range=[1.8, 1e6] # Rango de frecuencia para visualización de datos
legends = ['Blank', '0.1 nM', '1.3 nM', '4.5 nM', '13 nM', '26 nM']
frameon = True
ece_data = bitacora.loc[bitacora['Experimento'] == 'ECE']
idxs = []
for k, i in enumerate(indexes):
    ref_index = list(ece_data.index)
    if not i-2 in ref_index:
        print(f'La fila {i} no corresponde a un experimento ECE.')
    if i-2 in ref_index:
        idxs.append(i-2)
        row = ece_data.loc[[i-2]]
        print('%d: %s : %s' % (i, legends[k], row['Nombre del archivo'].values[0]))
plot_ece(ece_data.loc[idxs],
        freq_range=freq_range,
        f_circunference=f_circunference,
        circunference=True,
        legend_fontsize=3)
for fig in plt.get_fignums():
    plt.figure(fig)
    if len(legends) > 0:
        lines = plt.gca().lines
        lines = lines if len(lines) == len(legends) else lines[0:len(lines):2]
        plt.legend(lines, legends, frameon=frameon)
```

```

[ ] indexes = [3, 36]
ece_data = bitacora.loc[bitacora['Experimento'] == 'ECE']
idxs = []
for i in indexes:
    ref_index = list(ece_data.index)
    if not i-2 in ref_index:
        print(f'La fila {i} no corresponde a un experimento ECE.')
    if i-2 in ref_index:
        idxs.append(i-2)
        row = ece_data.loc[[i-2]]
        print('%d: %s' % (i, row['Nombre del archivo'].values[0]))
plot_ece(ece_data.loc[idxs],
         freq_range=[0.1, 1e6],
         f_circunference = [1, np.inf],
         circunference=False,
         legend_fontsize=9,
         impedance_nyquist_raidus_label=r'$R_r:%0.2f\mu F cm^{-2}$',
         capacitance_nyquist_raidus_label=r'$C_{\bar{\mu}}:%0.2f\mu F cm^{-2}$'
        )

```

```

▶ indexes = [3, 36]
ece_data = bitacora.loc[bitacora['Experimento'] == 'ECE']
idxs = []
for i in indexes:
    ref_index = list(ece_data.index)
    if not i-2 in ref_index:
        print(f'La fila {i} no corresponde a un experimento ECE.')
    if i-2 in ref_index:
        idxs.append(i-2)
        row = ece_data.loc[[i-2]]
        print('%d: %s' % (i, row['Nombre del archivo'].values[0]))
plot_impedance(ece_data.loc[idxs],
              freq_range=[4, 1e6],
              f_circunference = [2, 30],
              circunference=False,
              legend_fontsize=7
             )

```

## REFERENCIAS

- [1] N Bhalla, P Jolly, N Formisano, and P Estrela. Essays biochem.,“. *Introduction to biosensors*, 60(1):1–8, 2016.
- [2] John Enderle and Joseph Bronzino. *Introduction to biomedical engineering*. Academic press, 2012.
- [3] Martha Raquel Baez Gaxiola. Integración de sensores electroquímicos basados en nanomateriales funcionales para la detección de contaminantes en aguas. 2017.
- [4] Md Rafiul Hasan, Md Sohel Ahommed, Mahbuba Daizy, Md Sadek Bacchu, Md Romzan Ali, Md Rashid Al-Mamun, M Aly Saad Aly, MZH Khan, and Syed Imdadul Hossain. Recent development in electrochemical biosensors for cancer biomarkers detection. *Biosensors and Bioelectronics: X*, 8:100075, 2021.
- [5] Loubna El Harrad, Ilhame Bourais, Hasna Mohammadi, and Aziz Amine. Recent advances in electrochemical biosensors based on enzyme inhibition for clinical and pharmaceutical applications. *Sensors*, 18(1):164, 2018.
- [6] Linda Bertel, David A Miranda, and José Miguel García-Martín. Nanostructured titanium dioxide surfaces for electrochemical biosensing. *Sensors*, 21(18):6167, 2021.
- [7] Jing Bai and Baoxue Zhou. Titanium dioxide nanomaterials for sensor applications. *Chemical reviews*, 114(19):10131–10176, 2014.
- [8] Shalini Reghunath, Dephan Pinheiro, and Sunaja Devi KR. A review of hierarchical nanostructures of tio2: Advances and applications. *Applied Surface Science Advances*, 3:100063, 2021.
- [9] Luis Miguel Anaya-Esparza, Zuamí Villagrán-de la Mora, José Martín Ruvalcaba-Gómez, Rafael Romero-Toledo, Teresa Sandoval-Contreras, Selene Aguilera-Aguirre, Efigenia Montalvo-González, and Alejandro Pérez-Larios. Use of titanium dioxide (tio2) nanoparticles as reinforcement agent of polysaccharide-based materials. *Processes*, 8(11):1395, 2020.
- [10] Tina Mavrič, Metka Benčina, Roghayeh Imani, Ita Junkar, Matjaz Valant, Veronika Kralj-Iglič, and Aleš Iglič. Electrochemical biosensor based on diagnostics

- 
- tio2 nanomaterials for cancer. *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly*, page 63, 2018.
- [11] Yu Wang, Xianwei Huang, He Li, and Linlang Guo. Sensitive impedimetric dna biosensor based on (nb, v) codoped tio2 for breast cancer susceptible gene detection. *Materials Science and Engineering: C*, 77:867–873, 2017.
- [12] Masoud Karimipour, Esmail Heydari-Bafrooei, Mahjubah Sanjari, Malin B Johansson, and Mehdi Molaei. A glassy carbon electrode modified with tio 2 (200)-rgo hybrid nanosheets for aptamer based impedimetric determination of the prostate specific antigen. *Microchimica Acta*, 186:1–9, 2019.
- [13] Md Azahar Ali, Kunal Mondal, Yueyi Jiao, Seval Oren, Zhen Xu, Ashutosh Sharma, and Liang Dong. Microfluidic immuno-biochip for detection of breast cancer biomarkers using hierarchical composite of porous graphene and titanium dioxide nanofibers. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(32):20570–20582, 2016.
- [14] M Safavipour, M Kharaziha, Elham Amjadi, F Karimzadeh, and A Allafchian. Tio2 nanotubes/reduced go nanoparticles for sensitive detection of breast cancer cells and photothermal performance. *Talanta*, 208:120369, 2020.
- [15] Emanuela I Sega and Philip S Low. Tumor detection using folate receptor-targeted imaging agents. *Cancer and Metastasis Reviews*, 27:655–664, 2008.
- [16] G Devanand Venkatasubbu, S Ramasamy, V Ramakrishnan, and J Kumar. Folate targeted pegylated titanium dioxide nanoparticles as a nanocarrier for targeted paclitaxel drug delivery. *Advanced Powder Technology*, 24(6):947–954, 2013.
- [17] Nadeem Baig, Irshad Kammakakam, and Wail Falath. Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials Advances*, 2(6):1821–1871, 2021.
- [18] Aicheng Chen and Sanghamitra Chatterjee. Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12):5425–5438, 2013.
- [19] A Alagarasi. Chapter-introduction to nanomaterials. *Indian Institute of Technology Madras*, pages 1–24, 2013.
- [20] Prashant K Jain, Xiaohua Huang, Ivan H El-Sayed, and Mostafa A El-Sayed. Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. *Accounts of chemical research*, 41(12):1578–1586, 2008.

- 
- [21] Meagan S Mauter and Menachem Elimelech. Environmental applications of carbon-based nanomaterials. *Environmental science & technology*, 42(16):5843–5859, 2008.
- [22] Francesco Trotta and Andrea Mele. *Nanosponges: synthesis and applications*. John Wiley & Sons, 2019.
- [23] Manuel Antonio González Gómez. *Nanoestructuras magnéticas multifuncionales para aplicaciones biomédicas*. PhD thesis, Universidade de Santiago de Compostela, 2022.
- [24] Patricia Gálvez, Adolfinia Ruiz, and Beatriz Clares. El futuro de la medicina clínica hacia nuevas terapias: terapia celular, génica y nanomedicina. *Medicina Clínica*, 137(14):645–649, 2011.
- [25] Hai-Dong Yu, Michelle D Regulacio, Enyi Ye, and Ming-Yong Han. Chemical routes to top-down nanofabrication. *Chemical Society Reviews*, 42(14):6006–6018, 2013.
- [26] M Pišlová, M Kalbacova, L Vrabcová, P Slepíčka, Z Kolská, and V Švorčík. Preparation of noble nanoparticles by sputtering—their characterization. *Digest Journal of Nano-materials and Biostructures*, 13:1035–1044, 2018.
- [27] Mai Thanh Nguyen and Tetsu Yonezawa. Sputtering onto a liquid: interesting physical preparation method for multi-metallic nanoparticles. *Science and Technology of Advanced Materials*, 19(1):883–898, 2018.
- [28] DK Maurya, Ali Sardarinejad, and Kamal Alameh. Recent developments in rf magnetron sputtered thin films for ph sensing applications—an overview. *Coatings*, 4(4):756–771, 2014.
- [29] Antía Villamayor, Thomas Pomone, Sergio Perero, Monica Ferraris, Victoria Laura Barrio, G Eva, Peter Kelly, et al. Development of photocatalytic nanostructured tio2 and nio/tio2 coatings by dc magnetron sputtering for photocatalytic applications. *Ceramics International*, 49(11):19309–19317, 2023.
- [30] Feng Shi. Introductory chapter: Basic theory of magnetron sputtering. *Magnetron Sputtering [Working Title]*, 2018.
- [31] Vincenzo Amendola and Moreno Meneghetti. What controls the composition and the structure of nanomaterials generated by laser ablation in liquid solution? *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(9):3027–3046, 2013.

- 
- [32] Haibo Zeng, Xi-Wen Du, Subhash C Singh, Sergei A Kulinich, Shikuan Yang, Jianping He, and Weiping Cai. Nanomaterials via laser ablation/irradiation in liquid: a review. *Advanced Functional Materials*, 22(7):1333–1353, 2012.
- [33] AV Simakin, VV Voronov, NA Kirichenko, and GA Shafeev. Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment. *Applied Physics A*, 79:1127–1132, 2004.
- [34] Robert Eason. *Pulsed laser deposition of thin films: applications-led growth of functional materials*. John Wiley & Sons, 2007.
- [35] Vinay Gupta and K Sreenivas. Pulsed laser deposition of zinc oxide (zno). In *Zinc oxide bulk, thin films and nanostructures*, pages 85–174. Elsevier, 2006.
- [36] Li-Chyng Chen, DB Chrisey, and GK Hubler. Pulsed laser deposition of thin films. *Wiley, New York*, 1994.
- [37] Carlos Ivan Zandalazini, Marcos Iván Oliva, and Juan Carlos Ferrero. Deposition por láser pulsado: desarrollo e implementación de la técnica de crecimiento de multicapas delgadas. In *Anales (Asociación Física Argentina)*, volume 27, pages 40–46. SciELO Argentina, 2016.
- [38] MO Concha Guzmán, AG Reynaud Morales, C Cuevas Arteaga, and ME Rincón González. Crecimiento de nanoestructuras de tio<sub>2</sub> obtenidas a bajo potencial por reacción anódica en soluciones ácidas h<sub>2</sub>so<sub>4</sub>/hf. *Superficies y vacío*, 23:183–187, 2010.
- [39] Shiqi Li, Gengmin Zhang, Dengzhu Guo, Ligang Yu, and Wei Zhang. Anodization fabrication of highly ordered tio<sub>2</sub> nanotubes. *The Journal of Physical Chemistry C*, 113(29):12759–12765, 2009.
- [40] Valérie Zwillling, Evelyne Darque-Ceretti, Annick Boutry-Forveille, Daniel David, Michel-Yves Perrin, and Marc Aucouturier. Structure and physicochemistry of anodic oxide films on titanium and ta<sub>6</sub>v alloy. *Surface and interface analysis*, 27(7):629–637, 1999.
- [41] Dawei Gong, Craig A Grimes, Oomman K Varghese, Wenchong Hu, RS Singh, Zhi Chen, and Elizabeth C Dickey. Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation. *Journal of Materials Research*, 16:3331–3334, 2001.
- [42] Jan M Macak and Patrik Schmuki. Anodic growth of self-organized anodic tio<sub>2</sub> nanotubes in viscous electrolytes. *Electrochimica Acta*, 52(3):1258–1264, 2006.

- 
- [43] Negin Pishkar, Mahmood Ghoranneviss, Zohreh Ghorannevis, and Hossein Akbari. Study of the highly ordered tio2 nanotubes physical properties prepared with two-step anodization. *Results in Physics*, 9:1246–1249, 2018.
- [44] Liangsheng Hu, Kaifu Huo, Rongsheng Chen, Biao Gao, Jijiang Fu, and Paul K Chu. Recyclable and high-sensitivity electrochemical biosensing platform composed of carbon-doped tio2 nanotube arrays. *Analytical chemistry*, 83(21):8138–8144, 2011.
- [45] N Valdebenito. Nanotubos de tio2 obtenidos por anodización catódica a diferente temperatura para aplicación en celdas foto-electroquímicas, 2016.
- [46] ML Puga, J Venturini, CS ten Caten, and CP Bergmann. Influencing parameters in the electrochemical anodization of tio2 nanotubes: Systematic review and meta-analysis. *Ceramics International*, 48(14):19513–19526, 2022.
- [47] Steffen Berger, Robert Hahn, Poulomi Roy, and Patrik Schmuki. Self-organized tio2 nanotubes: Factors affecting their morphology and properties. *physica status solidi (b)*, 247(10):2424–2435, 2010.
- [48] L Giorgi, E Salernitano, Th Dikonimos Makris, R Giorgi, E Leoni, ML Grilli, and N Lisi. Titania nanotubes self-assembled by electrochemical anodization: Semiconducting and electrochemical properties. *Thin Solid Films*, 601:28–34, 2016.
- [49] AllenJ Bard. *Standard potentials in aqueous solution*. Routledge, 2017.
- [50] Leonardo Giorgi, Theodoros Dikonimos, Rossella Giorgi, Francesco Buonocore, Giuliana Faggio, Giacomo Messina, and Nicola Lisi. Electrochemical synthesis of self-organized tio2 crystalline nanotubes without annealing. *Nanotechnology*, 29(9):095604, 2018.
- [51] Michael Grätzel. Photoelectrochemical cells. *nature*, 414(6861):338–344, 2001.
- [52] Craig A Grimes and Gopal K Mor. *TiO2 nanotube arrays: synthesis, properties, and applications*. Springer Science & Business Media, 2009.
- [53] In Sun Cho, Chi Hwan Lee, Yunzhe Feng, Manca Logar, Pratap M Rao, Lili Cai, Dong Rip Kim, Robert Sinclair, and Xiaolin Zheng. Codoping titanium dioxide nanowires with tungsten and carbon for enhanced photoelectrochemical performance. *Nature communications*, 4(1):1723, 2013.
- [54] Antonio Eduardo Hora Machado, LM dos Santos, Karen Araújo Borges, PS Batista, VAB Paiva, Paulo Souza Müller Jr, DFM Oliveira, and Marcela Dias França.

- 
- Potential applications for solar photocatalysis: from environmental remediation to energy conversion. *Solar radiation*, 19:339–378, 2012.
- [55] Oliveros Legrini, E Oliveros, and AM Braun. Photochemical processes for water treatment. *Chemical reviews*, 93(2):671–698, 1993.
- [56] Heiddy Paola Quiroz Gaitán. *Preparación y estudio de las propiedades estructurales, ópticas y morfológicas de nanotubos de TiO<sub>2</sub> para su aplicación en sensores ópticos*. PhD thesis, 2014.
- [57] Renyuan Zhang, Ahmed A Elzatahry, Salem S Al-Deyab, and Dongyuan Zhao. Mesoporous titania: From synthesis to application. *Nano Today*, 7(4):344–366, 2012.
- [58] Damien Dambournet, Ilias Belharouak, and Khalil Amine. Tailored preparation methods of tio<sub>2</sub> anatase, rutile, brookite: mechanism of formation and electrochemical properties. *Chemistry of materials*, 22(3):1173–1179, 2010.
- [59] Shang-Di Mo and WY Ching. Electronic and optical properties of three phases of titanium dioxide: Rutile, anatase, and brookite. *Physical review B*, 51(19):13023, 1995.
- [60] Werick Alves Machado et al. Caracterização e avaliação da atividade fotocatalítica de catalisadores baseados no tio<sub>2</sub>, sintetizados mediante hidrólise em uma mistura de solventes. 2016.
- [61] Carolina Cárdenas Ramírez. *Evaluación de las propiedades físicas y fotocatalíticas de cemento adicionado con nanopartículas de dióxido de titanio*. PhD thesis, 2012.
- [62] Ibrahim El Saliby, Laszlo Erdei, Ho Kyong Shon, and Jong-Ho Kim. Development of visible light sensitive titania photocatalysts by combined nitrogen and silver doping. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 17(2):358–363, 2011.
- [63] S Rajesh Kumar, C Suresh, Asha K Vasudevan, NR Suja, P Mukundan, and KGK Warriar. Phase transformation in sol–gel titania containing silica. *Materials Letters*, 38(3):161–166, 1999.
- [64] Jian Tian, Zhenhuan Zhao, Anil Kumar, Robert I Boughton, and Hong Liu. Recent progress in design, synthesis, and applications of one-dimensional tio<sub>2</sub> nanostructured surface heterostructures: a review. *Chemical Society Reviews*, 43(20):6920–6937, 2014.

- 
- [65] Sookwan Leong, Amir Razmjou, Kun Wang, Karen Hapgood, Xiwang Zhang, and Huanting Wang. Tio<sub>2</sub> based photocatalytic membranes: A review. *Journal of Membrane Science*, 472:167–184, 2014.
- [66] Ping Jiang, Dengbo Ren, Daiping He, Wensheng Fu, Jian Wang, and Mu Gu. An easily sedimentable and effective tio<sub>2</sub> photocatalyst for removal of dyes in water. *Separation and Purification Technology*, 122:128–132, 2014.
- [67] Alessandra Aloisi, Antonio Della Torre, Angelantonio De Benedetto, and Rosaria Rinaldi. Bio-recognition in spectroscopy-based biosensors for\* heavy metals-water and waterborne contamination analysis. *Biosensors*, 9(3):96, 2019.
- [68] Le Li, Siying Wang, Yin Xiao, and Yong Wang. Recent advances in immobilization strategies for biomolecules in sensors using organic field-effect transistors. *Transactions of Tianjin University*, 26:424–440, 2020.
- [69] Chandran Karunakaran, Raju Rajkumar, and Kalpana Bhargava. Introduction to biosensors. In *Biosensors and bioelectronics*, pages 1–68. Elsevier, 2015.
- [70] Daniel R Thévenot, Klara Toth, Richard A Durst, and George S Wilson. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Analytical Letters*, 34(5):635–659, 2001.
- [71] Xin Chen, Zhengpeng Yang, and Shihui Si. Potentiometric urea biosensor based on immobilization of urease onto molecularly imprinted tio<sub>2</sub> film. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 635(1):1–6, 2009.
- [72] Harold H Weetall. *Biosensor technology what? where? when? and why?*, 1996.
- [73] M-Carmen Estevez, Marinus A Otte, Borja Sepulveda, and Laura M Lechuga. Trends and challenges of refractometric nanoplasmonic biosensors: A review. *Analytica chimica acta*, 806:55–73, 2014.
- [74] Brian R Eggins. *Chemical sensors and biosensors*. John Wiley & Sons, 2008.
- [75] Sevda Jafari, Baharak Mahyad, Hadi Hashemzadeh, Sajjad Janfaza, Tooba Gholikhani, and Lobat Tayebi. Biomedical applications of tio<sub>2</sub> nanostructures: recent advances. *International journal of nanomedicine*, pages 3447–3470, 2020.
- [76] Jing Bai and Baoxue Zhou. Titanium dioxide nanomaterials for sensor applications. *Chemical reviews*, 114(19):10131–10176, 2014.

- 
- [77] Guang-Li Wang, Jing-Juan Xu, and Hong-Yuan Chen. Dopamine sensitized nanoporous tio2 film on electrodes: photoelectrochemical sensing of nadh under visible irradiation. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(8):2494–2498, 2009.
- [78] Nagaraj P Shetti, Shikandar D Bukkitgar, Kakarla Raghava Reddy, Ch Venkata Reddy, and Tejraj M Aminabhavi. Nanostructured titanium oxide hybrids-based electrochemical biosensors for healthcare applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178:385–394, 2019.
- [79] Emmanuel Topoglidis, Anthony EG Cass, Gianfranco Gilardi, Sheila Sadeghi, Nicholas Beaumont, and James R Durrant. Protein adsorption on nanocrystalline tio2 films: an immobilization strategy for bioanalytical devices. *Analytical chemistry*, 70(23):5111–5113, 1998.
- [80] David A Miranda and Paulo R Bueno. Density functional theory and an experimentally-designed energy functional of electron density. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(37):25984–25992, 2016.
- [81] Andrei Ghicov and Patrik Schmuki. Self-ordering electrochemistry: a review on growth and functionality of tio 2 nanotubes and other self-aligned mo x structures. *Chemical Communications*, (20):2791–2808, 2009.
- [82] AKM Kafi, Guosheng Wu, Paul Benvenuto, and Aicheng Chen. Highly sensitive amperometric h2o2 biosensor based on hemoglobin modified tio2 nanotubes. *Journal of electroanalytical chemistry*, 662(1):64–69, 2011.
- [83] Luciana D Trino, Erika S Bronze-Uhle, Amsaveni Ramachandran, Paulo N Lisboa-Filho, Mathew T Mathew, and Anne George. Titanium surface bio-functionalization using osteogenic peptides: surface chemistry, biocompatibility, corrosion and tribocorrosion aspects. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 81:26–38, 2018.
- [84] Aneta Kania, Magdalena M Szindler, and Marek Szindler. Structure and corrosion behavior of tio2 thin films deposited by ald on a biomedical magnesium alloy. *Coatings*, 11(1):70, 2021.
- [85] Yibing Xie, Limin Zhou, and Haitao Huang. Bioelectrocatalytic application of titania nanotube array for molecule detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(12):2812–2818, 2007.
- [86] Luciana D Trino, Erika S Bronze-Uhle, Anne George, Mathew T Mathew, and Paulo N Lisboa-Filho. Surface physicochemical and structural analysis of functionalized

---

titanium dioxide films. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 546:168–178, 2018.

- [87] Yu Wang, Yan Guo, Jianguang Lu, Yanan Sun, Xiaoguang Yu, Subash CB Gopinath, Thangavel Lakshmipriya, Yuan Seng Wu, and Chao Wang. Nanodetection of head and neck cancer on titanium oxide sensing surface. *Nanoscale research letters*, 15:1–9, 2020.
- [88] H-G Strauss, C Laban, C Lautenschläger, J Buchmann, I Schneider, and H Koelbl. Scc antigen in the serum as an independent prognostic factor in operable squamous cell carcinoma of the cervix. *European Journal of Cancer*, 38(15):1987–1991, 2002.
- [89] Matt Williams, Angela Swampillai, Melanie Osborne, Suzannah Mawdsley, Rob Hughes, Mark Harrison, Richard Harvey, Rob Glynne-Jones, and Mount Vernon Colorectal Cancer Network. Squamous cell carcinoma antigen: a potentially useful prognostic marker in squamous cell carcinoma of the anal canal and margin. *Cancer*, 119(13):2391–2398, 2013.
- [90] Sidharam P Pujari, Luc Scheres, Antonius TM Marcelis, and Han Zuilhof. Covalent surface modification of oxide surfaces. *Angewandte Chemie International Edition*, 53(25):6322–6356, 2014.
- [91] Sh Nadzirah, Subash CB Gopinath, NA Parmin, Azrul Azlan Hamzah, Mohd Ambri Mohamed, Edward Yi Chang, and Chang Fu Dee. State-of-the-art on functional titanium dioxide-integrated nano-hybrids in electrical biosensors. *Critical reviews in analytical chemistry*, 52(3):637–648, 2022.
- [92] Li-Hong Liu, Rémi Métivier, Shanfeng Wang, and Hui Wang. Advanced nanohybrid materials: surface modification and applications. *Journal of Nanomaterials*, 2012:9–9, 2012.
- [93] Neelesh Kumar Mehra, Vijay Mishra, and NK Jain. A review of ligand tethered surface engineered carbon nanotubes. *Biomaterials*, 35(4):1267–1283, 2014.
- [94] Paulo R Bueno and Jason J Davis. Charge transport and energy storage at the molecular scale: from nanoelectronics to electrochemical sensing. *Chemical Society Reviews*, 49(21):7505–7515, 2020.
- [95] Julien Gabelli, Gwendal Fève, J-M Berroir, Bernard Plaçais, A Cavanna, Bernard Etienne, Yong Jin, and DC Glatthli. Violation of kirchhoff’s laws for a coherent rc circuit. *Science*, 313(5786):499–502, 2006.

- 
- [96] Paulo R Bueno. Common principles of molecular electronics and nanoscale electrochemistry, 2018.
- [97] Paulo R Bueno and David A Miranda. Conceptual density functional theory for electron transfer and transport in mesoscopic systems. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(8):6184–6195, 2017.
- [98] Sandra P Corzo, Paulo R Bueno, and David A Miranda. Improving the analytical reproducibility of electrochemical capacitive sensors using the chemical hardness of the interface. *IEEE Access*, 9:166446–166454, 2021.
- [99] Edgar F Pinzon, Adriano dos Santos, and Paulo R Bueno. Density of states of a nanoscale semiconductor interface as a transduction signal for sensing molecules. *ACS Applied Electronic Materials*, 3(8):3411–3417, 2021.
- [100] EKH Salje. Multi-scaling and mesoscopic structures. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1914):1163–1174, 2010.
- [101] David A Miranda and Paulo R Bueno. Chemical hardness of mesoscopic electrochemical systems directly analyzed from experimental data. *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(34):21213–21223, 2019.
- [102] Paulo Roberto Bueno and David Alejandro Miranda Mercado. Quantum rate theory for graphene. *The Journal of Physical Chemistry C*, 126(36):15374–15385, 2022.
- [103] Edgar Fabian Pinzón Nieto, Erika Viviana Godoy Alarcón, Yuliana Pérez Sánchez, and Paulo Roberto Bueno. Quantum rate dynamics and charge screening at the nanoscale level. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24(26):16200–16206, 2022.
- [104] Beatriz L Garrote, Adriano Santos, and Paulo R Bueno. Label-free capacitive assaying of biomarkers for molecular diagnostics. *Nature Protocols*, 15(12):3879–3893, 2020.
- [105] D Pathinettam Padiyan and D Henry Raja. Synthesis of various generations titania nanotube arrays by electrochemical anodization for h<sub>2</sub> production. *Energy Procedia*, 22:88–100, 2012.
- [106] Qiyun Qu, Hongwei Geng, Ruixiang Peng, Qi Cui, Xiaohong Gu, Fanqing Li, and Mingtai Wang. Chemically binding carboxylic acids onto tio<sub>2</sub> nanoparticles with adjustable coverage by solvothermal strategy. *Langmuir*, 26(12):9539–9546, 2010.

- 
- [107] Poulomi Roy, Steffen Berger, and Patrik Schmuki. Tio2 nanotubes: synthesis and applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(13):2904–2939, 2011.
- [108] Cristina Dumitriu and Cristian Pirvu. Electrochemical studies on tio2 nanotubes modified ti electrodes. *University politehnica of bucharest scientific bulletin series b-chemistry and materials science*, 74(3):93–106, 2012.
- [109] Alexander B Tesler, Marco Altomare, and Patrik Schmuki. Morphology and optical properties of highly ordered tio2 nanotubes grown in nh4f/o-h3po4 electrolytes in view of light-harvesting and catalytic applications. *ACS Applied Nano Materials*, 3(11):10646–10658, 2020.
- [110] Michael L Myrick, Michael N Simcock, Megan Baranowski, Heather Brooke, Stephen L Morgan, and Jessica N McCutcheon. The kubelka-munk diffuse reflectance formula revisited. *Applied Spectroscopy Reviews*, 46(2):140–165, 2011.
- [111] ST Hussain and AJIJ Siddiqa. Iron and chromium doped titanium dioxide nanotubes for the degradation of environmental and industrial pollutants. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8:351–362, 2011.
- [112] Carol Lages and Eduardo Méndez. Contact angle measurements under thermodynamic equilibrium conditions. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 388:1689–1692, 2007.
- [113] A Jaroenworarluck, D Regonini, CR Bowen, and R Stevens. A microscopy study of the effect of heat treatment on the structure and properties of anodised tio2 nanotubes. *Applied Surface Science*, 256(9):2672–2679, 2010.
- [114] Tenzin Tenkyong, J Sahaya Selva Mary, B Praveen, K Pugazhendhi, DJ Sharmila, and J Merline Shyla. Structural modulation and band gap optimisation of electrochemically anodised tio2 nanotubes. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 83:150–158, 2018.
- [115] Jakub Wawrzyniak, Katarzyna Grochowska, Jakub Karczewski, Piotr Kupracz, Jacek Ryl, Anna Dołęga, and Katarzyna Siuzdak. The geometry of free-standing titania nanotubes as a critical factor controlling their optical and photoelectrochemical performance. *Surface and Coatings Technology*, 389:125628, 2020.
- [116] Joshua Lehr, Flávio C Bedatty Fernandes, Paulo R Bueno, and Jason J Davis. Label-free capacitive diagnostics: exploiting local redox probe state occupancy. *Analytical chemistry*, 86(5):2559–2564, 2014.

- 
- [117] Linda Bertel, Rogelio Ospina, José Miguel García-Martín, and David A Miranda. Experimental analysis of folic acid adsorption on tio2 thin-films. *Journal of Vacuum Science & Technology A*, 40(3), 2022.
- [118] Linda Esperanza Bertel Garay. *Desarrollo de un detector de anomalías celulares asociadas al cáncer*. PhD thesis, 2023.
- [119] Felipe F Hudari, Guilherme G Bessegato, Flavio C Bedatty Fernandes, Maria VB Zanoni, and Paulo R Bueno. Reagentless detection of low-molecular-weight triamterene using self-doped tio2 nanotubes. *Analytical chemistry*, 90(12):7651–7658, 2018.
- [120] Michel Keddam, Oscar Rosa Mattos, and Hisasi Takenouti. Reaction model for iron dissolution studied by electrode impedance: Ii. determination of the reaction model. *Journal of The Electrochemical Society*, 128(2):266, 1981.
- [121] Evgenij Barsoukov and J Ross Macdonald. *Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications*. John Wiley & Sons, 2018.
- [122] Aldo Amore Bonapasta, Francesco Filippone, Giuseppe Mattioli, and Paola Alippi. Oxygen vacancies and oh species in rutile and anatase tio2 polymorphs. *Catalysis Today*, 144(1-2):177–182, 2009.
- [123] Maryam Salari, Seyed Hamed Aboutalebi, Alfred T Chidembo, Ivan P Nevirkovets, Konstantin Konstantinov, and Hua Kun Liu. Enhancement of the electrochemical capacitance of tio 2 nanotube arrays through controlled phase transformation of anatase to rutile. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(14):4770–4779, 2012.
- [124] Z Endut, M Hamdi, and Wan Jeffrey Basirun. Supercapitance of bamboo-type anodic titania nanotube arrays. *Surface and Coatings Technology*, 215:75–78, 2013.
- [125] Xihong Lu, Gongming Wang, Teng Zhai, Minghao Yu, Jiayong Gan, Yexiang Tong, and Yat Li. Hydrogenated tio2 nanotube arrays for supercapacitors. *Nano letters*, 12(3):1690–1696, 2012.
- [126] C Clement Raj and R Prasanth. advent of tio2 nanotubes as supercapacitor electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, 165(9):E345, 2018.
- [127] Yuekun Lai, Lan Sun, Yicong Chen, Huifang Zhuang, Changjian Lin, and Joannie W Chin. Effects of the structure of tio2 nanotube array on ti substrate on its photocatalytic activity. *Journal of the Electrochemical Society*, 153(7):D123, 2006.

- 
- [128] Morten Kristian Off, Arnfinn Engeset Steindal, Alina Carmen Porojnicu, Asta Juzeniene, Alexander Vorobey, Anders Johnsson, and Johan Moan. Ultraviolet photo-degradation of folic acid. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 80(1):47–55, 2005.