

**Evaluación de la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre
electrodos de níquel**

Juan Camilo Barrera Vega

Trabajo de Grado para Optar el título de Ingeniero Metalúrgico

Director:

Sergio Ismael Blanco Vásquez

Doctor en Ingeniería

Codirectora:

Viviana Raquel Güiza Argüello

Doctora en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales

Bucaramanga

2020

Dedicatoria

A Dios, por ser quien me guio toda la carrera y me ha ayudado siempre a superar todos los obstáculos que la vida me impone y hacerme mejor persona con cada experiencia que vivo.

A mi madre Marisol, a mi padre Juan Carlos, a mi hermano Santiago, a mi abuela María Benita que en paz descansa y a mi perrita Jani, por ser quienes siempre me han acompañado sin importar la dificultad de las situaciones y ser mi mayor motivo para salir adelante. A mi amiga y compañera María Angelica por acompañarme en la primera fase de esta investigación y darme apoyo.

A mis amigos y compañeros quienes me apoyaron en todo este proceso.

Agradecimientos

A Dios, quien me guio en todo este proceso y me da fuerza para superar los retos que se dan en mi vida, por que no me desampara sin importar la situación que pase y por tenerme en cuenta en sus planes.

Al Semillero de Investigación “Recubrimientos multifuncionales” y al “Grupo de investigación en Bioquímica y Microbiología”, por su participación y colaboración en esta investigación.

A mis directores Sergio Blanco y Viviana Güiza por orientarme con su conocimiento y visión durante cada etapa de este proyecto. A la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales por formarme como Ingeniero Metalúrgico y a la Universidad Industrial de Santander por permitirme cumplir el sueño de ser profesional y por brindarme todas las herramientas para desarrollarme académicamente.

Contenido

	Pág.
Introducción	12
1. Antecedentes	13
1.1 Consideraciones fundamentales de electrodeposición.....	13
1.2 Oxidación de compuestos orgánicos sobre electrodos de níquel.....	14
1.3 Métodos electroanalíticos.	15
1.3.1 Cronoamperometrías.....	15
1.3.2 Voltametrías Cíclicas.....	16
2. Objetivos.....	17
2.1 Objetivo General.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. Metodología Experimental:	18
3.1 Estudios preliminares:.....	18
3.1.1 Estudio de la biestabilidad del níquel en la oxidación de glucosa.....	18
3.2 Materiales y reactivos:	18
3.2.1 Síntesis de electrodos de níquel:	19
3.2.2 Evaluación de la oxidación de la insulina sobre electrodos de níquel mediante técnicas electroquímicas:	19
4. Resultados.....	21
4.1 Síntesis de electrodos.....	21

4.1.1 Selección del potencial aplicado para la electrodeposición:	21
4.1.2 Electrodeposición potencioestática de níquel en alambres de cobre:	22
4.2 Evaluación electroquímica de electrodos de Níquel en solución alcalina	23
4.3 Evaluación de la oxidación electrocatalítica de insulina en el electrodo de níquel	27
4.4 Análisis por cronoamperometrías	32
5. Conclusiones	37
6. Recomendaciones	37
Referencias Bibliográficas	38
Apéndices.....	41

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Comparación entre las propiedades obtenidas de sensores de insulina a base de níquel sintetizados por otros autores con el de la presente investigación.</i>	34

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Voltametría cíclica a 10mVs^{-1} de los electrodos de cobre en solución Watts.....	22
Figura 2. Cronoamperometría a -850 mV vs Ag/AgCl de la deposición de níquel sobre electrodos de cobre.....	23
Figura 3. Voltametrías cíclicas del electrodo de Níquel en solución KOH 0.1M , a diferentes velocidades de escaneo: 10mV.s^{-1} a 70mV.s^{-1}	25
Figura 4. Linealización corriente pico (i_p) vs Raíz cuadrada de la velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.6 para determinar control por difusión de especies.....	26
Figura 5. Linealización corriente pico (i_p) vs Velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.7 para determinar control por adsorción de especies.	26
Figura 6. Voltametrías cíclicas del electrodo de Níquel en solución KOH 0.1M y 112 nM de insulina, a diferentes velocidades de escaneo: 10mV.s^{-1} a 70mV.s^{-1}	28
Figura 7. Linealización corriente pico (i_p) vs Raíz cuadrada de la velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.6 para determinar control por difusión de especies.....	28
Figura 8. Linealización corriente pico (i_p) vs Velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.7 para determinar control por adsorción de especies.	29
Figura 9. Voltametrías cíclicas a 70 mVs^{-1} de los electrodos de Níquel en KOH 0.1 M con insulina (curva azul) y en ausencia de esta (curva negra).	30
Figura 10. Voltametría cíclica del electrodo de níquel en KOH 0.1 M , agregando alícuotas de $30\text{ }\mu\text{L}$ con 35 mg/mL de insulina por ciclo. Velocidad de barrido: 30 mVs^{-1}	31
Figura 11. Corriente del pico anódico i_p vs Concentración de insulina en el electrolito.	31

Figura 12. <i>Corriente de la zona anódica (a $E=550$ mV vs Ag/AgCl) vs Concentración de insulina en el electrolito.</i>	32
Figura 13. <i>Respuesta cronoamperométrica de los electrodos de níquel con adiciones de insulina. Electrolito: KOH 0.1 M, Potencial aplicado: 550 mV vs Ag/AgCl.</i>	33
Figura 14. <i>Curva de calibración del electrodo de Níquel, corriente promedio corregida de la figura 13 frente a la concentración de insulina en el electrolito.</i>	33
Figura 15. <i>Curva de calibración del electrodo de Níquel, desviación estándar corregida de las oscilaciones de cada escalón de corriente frente a la concentración de insulina en el electrolito.</i>	35

Lista de apéndices

	Pág.
Apéndice A. Resultados del estudio preliminar de la oxidación de glucosa sobre electrodos de níquel.....	41
Apéndice B. Diagrama de Pourbaix del Cobre (Cu).....	42
Apéndice C. Diagrama de Pourbaix del Níquel (Ni)	43
Apéndice D. Cálculos para determinar la cobertura superficial del electrodo en KOH 0.1 M y pico anódico correspondiente al ensayo de voltametría cíclica llevado a cabo a 50mV KOH 0.1 M, el área bajo la curva se relaciona con la cobertura superficial.	44
Apéndice E. Pico anódico correspondiente al ensayo de voltametría cíclica llevado a cabo a 50mV en presencia de insulina, el área bajo la curva se relaciona con la cobertura superficial. .	45

Resumen

Título: Evaluación de la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre electrodos de níquel*

Autor: Juan Camilo Barrera Vega**

Palabras Claves: Cronoamperometrías, Insulina, Níquel, Voltametrías cíclicas.

Descripción:

En este trabajo se utilizaron electrodos de Níquel (Ni) para evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina y analizar su mecanismo de reacción en una solución KOH 0.1M. Se sintetizaron electrodos de níquel al realizar deposición potenciostática de capas homogéneas de níquel sobre electrodos de cobre (Cu). Se utilizaron técnicas como voltametrías cíclicas (CV) y cronoamperometrías para estudiar el comportamiento electrocatalítico del recubrimiento de Níquel en la detección de insulina, las pruebas fueron realizadas en un potenciostato/galvanostato.

Los resultados mostraron que los electrodos de níquel detectando insulina tienen una relación lineal en el rango de concentración de 8.033-104.18 nM con un límite de detección (LOD) 2,45 nM y una sensibilidad $13 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$. Se comprobó el comportamiento autocatalítico del NiOOH como catalizador de la oxidación de la insulina al regenerar al final el Ni(OH)₂. Mediante voltametrías cíclicas se determinó que el proceso es controlado por la adsorción y desorción de especies en la superficie del electrodo. La respuesta amperométrica al variar la concentración de la insulina y manteniendo el potencial de oxidación fijo, mostró que la corriente promedio y sus oscilaciones son directamente proporcionales a la concentración de insulina en solución y están ligadas al mecanismo de reacción de la insulina.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Director: Sergio Ismael Blanco Vásquez, Doctor en Ingeniería. Codirectora: Viviana Raquel Güiza Argüello, Doctora en Ingeniería Química

Abstract

Title: Evaluation of the chronometric response of insulin oxidation on nickel electrodes *

Author: Juan Camilo Barrera Vega **

Keywords: Chronoamperometry, Cyclic Voltametry, Insulin, Nickel.

Description:

In this research, Nickel (Ni) electrodes will be used to evaluate the chronometric response of insulin oxidation and analyze its reaction mechanism in a 0.1M KOH solution. Nickel electrodes were synthesized by performing potentiostatic deposition of homogeneous nickel capable on copper (Cu) electrodes. Techniques such as cyclic voltammetry (CV) and chronoamperometry will be used to study the electrocatalytic behavior of the Nickel coating in the detection of insulin, the tests carried out on a potentiostat/galvanostat.

The results found that nickel electrodes detecting insulin have a linear relationship in the concentration range of 8.033-104.18 nM with a detection limit (LOD) 2.45 nM and a sensitivity $13 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$. The autocatalytic behavior of NiOOH as a catalyst for insulin oxidation was verified by ultimately regenerating Ni(OH)₂. By cyclic voltammetry, it is determined which process is controlled by the adsorption and desorption of species on the electrode surface. The amperometric response when varying the insulin concentration and the fixed oxidation potential concentration, according to the average current and its oscillations are directly proportional to the insulin concentration in the solution and are linked to the insulin reaction mechanism.

* Degree project

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Metallurgical Engineering and Materials Science. Director: Sergio Ismael Blanco Vásquez, Doctor of Engineering. Co-director: Viviana Raquel Güiza Argüello, Doctor of Chemical Engineering

Introducción

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando esta no es eficaz en el organismo, lo que resulta en un metabolismo anormal de la glucosa, esta enfermedad es una importante causa de ceguera, insuficiencia renal, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y amputación de los miembros inferiores, según los reportes publicados por la Organización Mundial de la Salud esta enfermedad se ha incrementado precipitadamente en los últimos años debido a que el número de personas con diabetes pasó de 108 millones en 1980 a 422 millones para el 2014 lo cual equivale al 8.5% de la población adulta para ese año, además que para el año 2012 causó cerca 1.5 millones de muertes (World Health Organization, n.d., 2020). Por ello la detección y cuantificación de la concentración de la insulina es muy importante para el diagnóstico clínico ya que permite predecir tanto la diabetes como otras enfermedades relacionadas con esta hormona como el insulinoma (Mandal, 2019), así como determinar la calidad y prescripción de los fármacos que le contienen.

Los sensores electroquímicos son dispositivos capaces de traducir la interacción electroquímica entre un analito y un electrodo en una señal cuantificable útil, estos constan de dos componentes básicos: un sistema de reconocimiento o receptor que reconoce selectivamente la información química presente en la muestra y la convierte en una señal primaria y un transductor que transforma esta señal primaria a una secundaria fácilmente procesable (Luna, 2008). Estos sensores ofrecen ciertas ventajas frente a otros métodos de detección debido a su alta sensibilidad, respuesta rápida, miniaturización y portabilidad (González & Costa, 2010). Esta investigación tiene como objetivo evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre electrodos de níquel, siendo estos electrodos parte del sistema total del sensor, cumpliendo la función de transductor fisicoquímico.

1. Antecedentes

1.1 Consideraciones fundamentales de electrodeposición.

La electrodeposición es un tratamiento electroquímico donde los iones metálicos suspendidos en un electrolito se reducen y sedimentan sobre la superficie de un cátodo formando una película metálica fina sobre el electrodo, si se establece un potencial en una celda electrolítica se generará una corriente la cual es un flujo de electrones provenientes del movimiento de iones hacia el ánodo o descomposición de moléculas en la superficie de este, por el contrario los iones cargados positivamente o cationes se dirigirán hacia el cátodo, el sentido de la corriente fluirá en virtud del movimiento de estos iones, los electrones serán tomados de la oxidación en el ánodo y se dirigirán hacia el cátodo para reducir iones (Kanani, 2004).

Los procesos de electrodeposición son procesos faradaicos dado que están gobernados bajo la ley de Faraday, esta ley establece que la cantidad de masa producida en la reacción de electroquímica es directamente proporcional a la carga total pasada a la solución, esta carga depende de la corriente en función del tiempo, esta corriente se llama corriente faradaica ya que pasa del cátodo a los iones de la solución.

La carga total y la ley de Faraday son respectivamente:

$$Q = \int I(t)dt \quad (1.1)$$

Donde Q es la carga total (C), I es la corriente (A) y t el tiempo que dura la electrodeposición (s).

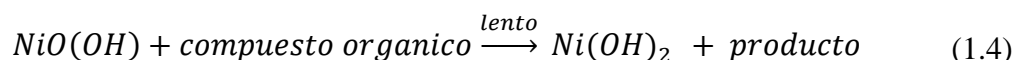
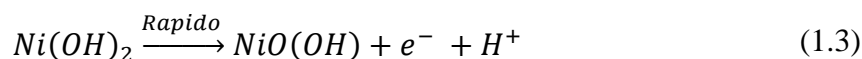
$$w = \frac{A_{wt}Q}{nF} \quad (1.2)$$

Donde w es el peso del depósito (g), A_{wt} el peso atómico del producto formado (g/mol), n el número de electrones intercambiados por reacción unitaria y F la constante de Faraday ($F= 96485$ C/mol).

La rapidez con la que los iones y las especies no cargadas involucradas en la reacción se mueven hacia el cátodo desde la solución dependen de condiciones hidrodinámicas predominantes en las cercanías del cátodo, estas condiciones hidrodinámicas o mecanismos involucrados en el suministro de iones hacia el electrodo son: difusión, convección y migración. (Kanani, 2004; Schlesinger, Mordechay Paunovic, 2010)

1.2 Oxidación de compuestos orgánicos sobre electrodos de níquel.

La oxidación de compuestos orgánicos utilizando electrodos de níquel han sido un tema de investigación importante, en donde el trabajo publicado por Martin Fleischmann y colaboradores en 1971 estableció los fundamentos para entender los mecanismos de reacción de la oxidación de compuestos orgánicos sobre electrodos de níquel en soluciones básicas (Fleischmann et al., 1971). Fleischmann encontró que la oxidación de los orgánicos sucede en el mismo rango de potencial en donde es estable el oxihidróxido de níquel (NiOOH) lo que le llevó a concluir que esta especie de níquel es catalizadora de la reacción de oxidación de una molécula orgánica, la reacción ocurre conforme a las siguientes reacciones:



La formación del oxihidróxido a partir del hidróxido de níquel ocurre en la superficie de los electrodos, el oxihidróxido de níquel cumple la función de catalizar la oxidación de los compuestos orgánicos mientras que simultáneamente regenerará el hidróxido de níquel que se oxida regenerando el oxihidróxido de níquel (Fleischmann et al., 1971). La regeneración del hidróxido de níquel hace que esta reacción sea autocatalítica, es decir, que la reacción es catalizada por este mismo (S. I. Blanco, 2014).

Entre los trabajos destacados en el desarrollo y síntesis de estos electrodos basados en níquel se encuentran los de Weng y colaboradores donde desarrollaron sensores de etanol basados en Níquel modificado con óxido de rutenio (RuO₂) como electrodos de trabajo en solución alcalina logrando sensores más eficientes frente a sensores de níquel desnudo (Weng & Chou, 2002), Lu y colaboradores sintetizaron un sensor electroquímico no enzimático ultrasensible gracias a que los electrodos están hechos de nanoalambres de Níquel para la detección de glucosa (Lu et al., 2009).

En 2015 Blanco y colaboradores evaluaron la respuesta de la detección de acetaldehído, etanol y acetilcolina sobre electrodos compuestos por un arreglo de nanoalambres de níquel y como resultado concluyeron que las oscilaciones de la respuesta cronoamperometría estaban directamente relacionadas con la concentración de cada uno de los compuestos orgánicos evaluados (S. Blanco et al., 2015).

1.3 Métodos electroanalíticos.

Las técnicas electrocatalíticas relacionan las interacciones de la electricidad y la química como la corriente, la carga o el potencial con aspectos químicos, los procesos electroquímicos analizados ocurren en la interfaz electrodo-solución. La principal distinción que existe entre los diferentes métodos electroanalíticos está en el tipo de señal eléctrica utilizada para la cuantificación (Wang, 2006).

1.3.1 Cronoamperometrías

En esta prueba electroanalítica se registra la corriente y el tiempo como respuesta de aplicar un potencial constante a una celda electroquímica, en condiciones donde el transporte de masa es dado por la difusión o convección de especies electroquímicas. Para el caso de sensores electroquímicos esta prueba electroanalítica permite caracterizar los electrodos sacando

propiedades como el límite de detección, el rango lineal, tiempo de respuesta, reproducibilidad, sensibilidad y estabilidad (S. I. Blanco, 2014).

1.3.2 Voltametrías Cíclicas

La voltametría cíclica es una de las técnicas más utilizadas y a menudo el primer experimento electroanalítico realizado, ya que permite tener información cualitativa como termodinámica de procesos redox, cinética de reacciones de transferencia de electrones, reacciones químicas acopladas y procesos de adsorción (Wang, 2006). Esta prueba consiste en medir la corriente resultante de aplicar un barrido lineal de potencial a un electrodo de trabajo y según la información buscada realizar uno o varios ciclos. La separación entre los picos anódico y catódico muestran la cantidad de electrones intercambiados por reacción unitaria según la siguiente ecuación:

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = \frac{0.059}{n} V \quad (1.5)$$

Donde n es la cantidad de electrones intercambiados por reacción unitaria.

Al variar la velocidad de barrido en una voltametría y relacionarlos con la corriente pico alcanzada es posible determinar qué condiciones tenemos en la interfaz del electrodo, para procesos controlados por difusión (1.6) o por adsorción de especies (1.7)(Wang, 2006):

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (1.6)$$

$$i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A v}{4RT} \quad (1.7)$$

Donde n, F, Γ , A, v, R, D, C, T son respectivamente el número de electrones intercambiados por reacción unitaria, la constante de Faraday (F= 96485 C/mol), la cobertura superficial (mol/cm²), el área superficial del electrodo(cm²), la velocidad de barrido(V/s), la constante universal de los gases, concentración (mol/cm³), coeficiente de difusión (cm²/s) y la temperatura (K).

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre electrodos de níquel.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar electrodos de níquel mediante electrodeposición potencioestática sobre superficies de cobre y evaluar su respuesta electroquímica en soluciones alcalinas de KOH 0.1 M mediante el análisis por voltametrías cíclicas de barrido.

- Evaluar la oxidación de insulina sobre la superficie de los electrodos sintetizados mediante el análisis de la respuesta cronoamperométrica al aplicar potenciales de oxidación.

- Establecer una posible relación entre los valores característicos de la respuesta cronoamperométrica (corriente promedio y desviación estándar) con el mecanismo de reacción auto catalítico de la insulina sobre electrodos de níquel en soluciones alcalinas.

3. Metodología Experimental:

3.1 Estudios preliminares:

Previo a la evaluación de la oxidación de insulina se estudió la oxidación de la glucosa, este es un compuesto orgánico de gran importancia ligado a la insulina en el cuerpo humano, para realizar este estudio se siguió la metodología que se muestra en 3.2 utilizando glucosa como analito. Los resultados obtenidos se encuentran en el apéndice A.

3.1.1 Estudio de la biestabilidad del níquel en la oxidación de glucosa

Para estudiar la biestabilidad del níquel en sus estados de oxidación Ni^{+3} y Ni^{+2} se realizaron dos pruebas electroanalíticas, una voltametría de barrido lineal a los electrodos de níquel en KOH 0.1 M con una concentración de 3.85 mM de glucosa y se encontró la corriente en donde se ve la oscilación más alta de potencial en el electrodo, seguidamente se realizó una cronopotenciometría manteniendo las mismas condiciones y el mismo electrodo aplicando la corriente encontrada en la primera prueba para observar claramente las oscilaciones del potencial.

3.2 Materiales y reactivos:

Se sintetizaron electrodos depositando Níquel (Ni) utilizando como sustrato la sección transversal de la cara de alambres de cobre de calibre 12, el electrolito utilizado para la electrodeposición del Níquel fue una solución Watts.

La evaluación electroquímica de los electrodos de níquel se realizó utilizando una solución de KOH (Hidróxido de potasio) en una concentración 0.1 M como electrolito y como analito insulina en una celda electroquímica conformada por tres electrodos: electrodo de referencia de Ag/AgCl,

electrodo auxiliar de grafito y electrodo de trabajo de níquel. Todos los ensayos electroquímicos fueron realizados por un Potenciostato/Galvanostato marca AUTOLAB modelo PGSTAT101.

3.2.1 Síntesis de electrodos de níquel:

Partiendo de alambres de cobre rectos fueron desbastados en su sección transversal con lijas de agua de la 120 a la 1200, esto con el fin de tener una superficie con una rugosidad homogénea y posteriormente un depósito homogéneo de níquel sobre esta superficie, luego de esto se limpiaron los electrodos de toda grasa y suciedad residual con etanol en ultrasonido durante 10 minutos, para depositar níquel en la superficie del electrodo se preparó una solución Watts con reactivos en concentraciones encontradas en bibliografía (Schlesinger, Mordechay Paunovic, 2010), estos fueron Sulfato de Níquel (NiSO_4 98%), Cloruro de Níquel (NiCl_2 98%) y Ácido Bórico (H_3BO_3 99,8%) en una concentración de 225 g/L, 30 g/L y 45 g/L respectivamente, estos reactivos fueron diluidos en agua desionizada a una temperatura entre 44 y 66 °C diluyendo primero el Ácido Bórico para acidificar la solución, seguido del Cloruro de Níquel y del Sulfato de Níquel.

Luego de esto se realizaron cronoamperometrías a -850 mV por 20 minutos utilizando el electrolito preparado y los alambres con la sección transversal expuesta como electrodos de trabajo y se verificó que los resultados proporcionados por la prueba electroquímica fueran reproducibles.

3.2.2 Evaluación de la oxidación de la insulina sobre electrodos de níquel mediante técnicas electroquímicas:

Para realizar el estudio electroanalítico de las reacciones electroquímicas en los electrodos de níquel primero se realizaron voltametrías cíclicas a los electrodos de níquel en una solución alcalina KOH 0.1 M. Una vez pasada esta etapa se realizaron voltametrías cíclicas en el mismo medio alcalino agregando dosis de insulina con el fin de comprobar si existía algún crecimiento de la corriente en la zona anódica por dosis agregada; analizando las curvas obtenidas se determinó

el valor de potencial en el cual existía la mayor linealidad entre la subida de corriente obtenida por concentración de insulina en el medio; para ambas etapas se realizaron voltametrías cíclicas a diferentes velocidades de 10 a 70 mVs^{-1} para determinar el mecanismo de control en medio alcalino y en medio alcalino con el analito.

Para evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre los electrodos de níquel se realizó una cronoamperometría en medio alcalino fijando el potencial que se determinó en la etapa anterior y agregando dosis de insulina manteniendo una agitación mecánica controlada durante la prueba electroquímica, una vez realizada la prueba se determinó el promedio de corrientes y desviación estándar en las oscilaciones por concentración de insulina en la celda y finalmente teniendo estos resultados se obtuvieron las curvas de calibración del electrodo así como su límite de detección (LOD) y sensibilidad.

4. Resultados

4.1 Síntesis de electrodos

Se prepararon los alambres de cobre como se indica en la metodología, el pH de la solución Watts preparada fue de 2.3.

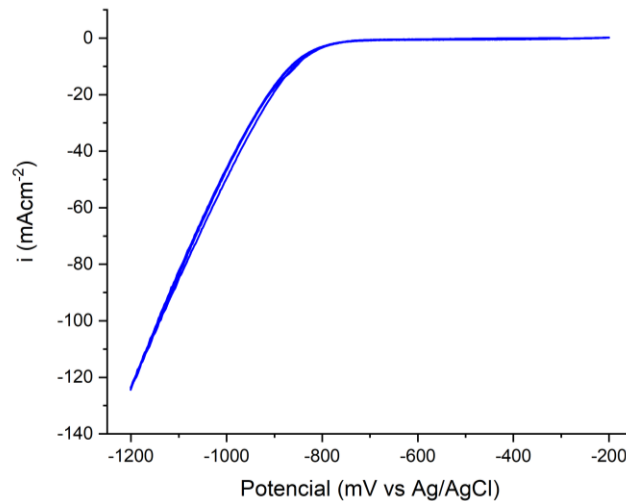
4.1.1 Selección del potencial aplicado para la electrodeposición:

Para poder seleccionar el potencial adecuado para la electrodeposición del níquel se tuvieron en cuenta 3 aspectos, en primer lugar se debe determinar el potencial en donde el sustrato de cobre no vaya a reaccionar con el medio (4.1) utilizando el diagrama de pourbaix del cobre (Apéndice B) con el pH de la solución Watts se determinó que era por debajo de 0.3 V vs SHE o de 0.101 V vs Ag/AgCl con el fin de evitar la oxidación de la superficie del cobre, en segundo lugar el potencial debe estar en la zona de estabilidad termodinámica del níquel sólido analizando el diagrama de pourbaix del níquel (Apéndice C) debe ser por debajo de -0.25 V vs SHE o -0.458 V vs Ag/AgCl para que ocurra (4.2), dado que en esta zona de estabilidad ocurre simultáneamente una evolución de hidrógeno (4.3), se debe seleccionar un potencial donde el níquel se reduzca y a su vez no haya una evolución de hidrógeno que genere poros en el recubrimiento, para determinar esto se realizó una voltametría cíclica de -1200 mV a -200 mV (Figura 1), analizando el voltograma y la superficie del electrodo durante la prueba se encontró que entre los -900 mV y los -800 mV se obtuvo una deposición de níquel sin una evolución de hidrógeno apreciable sobre la superficie del electrodo.



Figura 1.

Voltametría cíclica a 10mVs-1 de los electrodos de cobre en solución Watts.



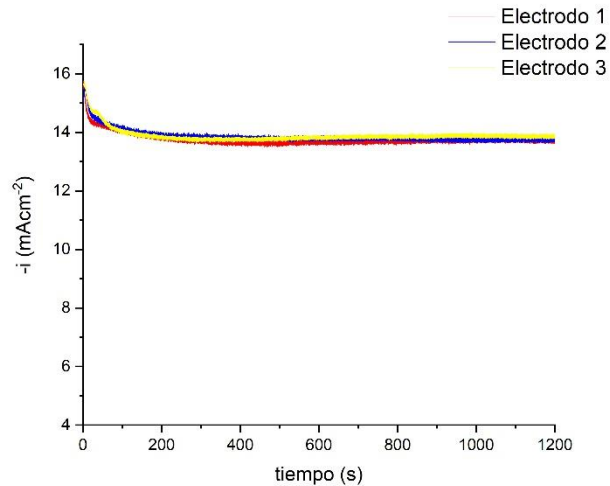
4.1.2 Electrodeposición potenciostática de níquel en alambres de cobre:

Se realizó una cronoamperometría aplicando un potencial constante de -850 mV vs Ag/AgCl (Figura 2) donde en la superficie del electrodo ocurre la reacción (4.2), en la cronoamperometría se muestran los valores característicos de corriente para la deposición de níquel.

Analizando la curva obtenida se observa que la corriente en un principio desciende precipitadamente hasta estabilizarse a los 80 segundos aproximadamente, la estabilidad de la corriente es consecuencia del flujo constante de iones hacia la superficie del electrodo debido a la convección forzada en la celda electroquímica.

Figura 2.

Cronoamperometría a -850 mV vs Ag/AgCl de la deposición de níquel sobre electrodos de cobre.



La cantidad de níquel depositado puede hallarse de acuerdo con la Ley de Faraday (Ecuación 1.2) donde la carga por unidad de área en $\text{C} \cdot \text{cm}^{-2}$ generada puede determinarse integrando el área bajo la curva de la cronoamperometría (Ecuación 1.1) y como resultado se obtuvo una carga de 16612.903 $\text{C} \cdot \text{cm}^{-2}$ así tenemos que el peso de níquel depositado sobre la superficie del electrodo es de:

$$w(\text{gr Ni}) = \frac{\left(58.6934 \frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) * \left(16612.903 \frac{\text{C}}{\text{cm}^2}\right) * (0.033006 \text{ cm}^2)}{2 \text{ eq} * 96500 \frac{\text{C}}{\text{mol} * \text{eq}}}$$

$$w(\text{gr Ni}) = 0.16675 \text{ gr}$$

4.2 Evaluación electroquímica de electrodos de Níquel en solución alcalina

Para evaluar electroquímicamente los electrodos de níquel se utilizó una solución alcalina de KOH 0.1 M con un pH de 12.8 como electrolito en donde el electrodo al estar en equilibrio con este se cubre con una capa de hidróxido de níquel (NiOH_2) en su superficie (Fleischmann et al., 1971), se realizaron voltametrías cíclicas (Figura 3) a diferentes velocidades de barrido (10 a 70

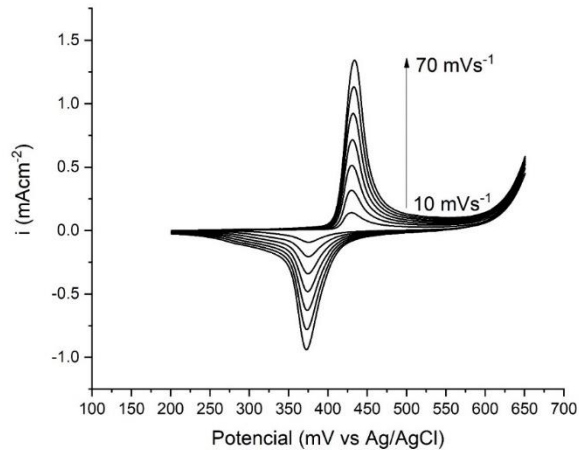
mVs⁻¹) la ventana de potencial aplicada se consultó de investigaciones de otros autores (S. Blanco et al., 2015; Fleischmann et al., 1971; KostECKI & McLarnon, 1997) este rango de potencial va de 200 mV a 650 mV vs Ag/AgCl. En el voltograma muestra que es de tipo quasireversible, al hacer el barrido de potencial de 400 a 600 mV vs Ag/AgCl tenemos una oxidación apreciable del hidróxido de níquel (Ni(OH)₂) como se muestra en (1.3) en donde el estado de oxidación Ni⁺² pasa a ser Ni⁺³ pasando a formar oxihidróxido de níquel (NiOOH) (Fleischmann et al., 1971) con su pico anódico en 430 mV, de 600 a 650 mV tenemos una evolución de oxígeno en la superficie del electrodo debida a la descomposición del agua, cuando comienza el barrido en sentido inverso de 650 mV a 200 mV la corriente disminuye a corrientes negativas (corrientes de reducción) en donde de 430 mV a 230 mV tenemos una reacción inversa a (1.3) y un pico catódico a los 373 mV.



La distancia entre el pico catódico y anódico es de 57 mV lo que muestra que existe el intercambio de 1 electrón en las reacciones redox (Ecuación 1.5) confirmando así el paso de valencia Ni⁺² a Ni⁺³ y viceversa, cuando se realiza el barrido de potencial en sentido positivo la corriente aumenta anódicamente debido a la difusión de iones OH⁻ hacia la superficie del electrodo, tras pasar el pico de corriente el producto formado satura la superficie del electrodo y disminuye el transporte de iones OH⁻ y en consecuencia se tiene un decrecimiento en la corriente, al aumentar la velocidad de barrido de potencial se conduce a una reducción en el tamaño de la capa de difusión y en consecuencia la corriente aumenta en los picos del voltograma (Elgrishi et al., 2018).

Figura 3.

Voltametrías cíclicas del electrodo de Níquel en solución KOH 0.1M, a diferentes velocidades de escaneo: 10mV.s-1 a 70mV.s-1.



Al relacionar la corriente pico con la velocidad de barrido podemos determinar el mecanismo que controla el movimiento de las especies hacia la superficie del electrodo, el cual muestra el comportamiento interfacial de los compuestos electroactivos (Wang, 2006) el mecanismo puede estar controlado por la difusión o por adsorción y desorción de especies, en las figuras 4 y 5 se compara la densidad de corriente pico vs la velocidad de barrido y su raíz ($V^{1/2}$) de acuerdo con las ecuaciones 1.6 y 1.7 respectivamente, la figura que cuente con un coeficiente de determinación (R^2) más alto indicara cual es el mecanismo de control de transporte de especies electroactivas.

Figura 4.

Linealización corriente pico (i_p) vs Raíz cuadrada de la velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.6 para determinar control por difusión de especies.

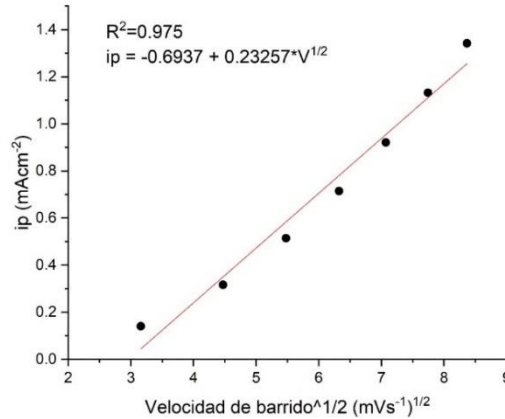
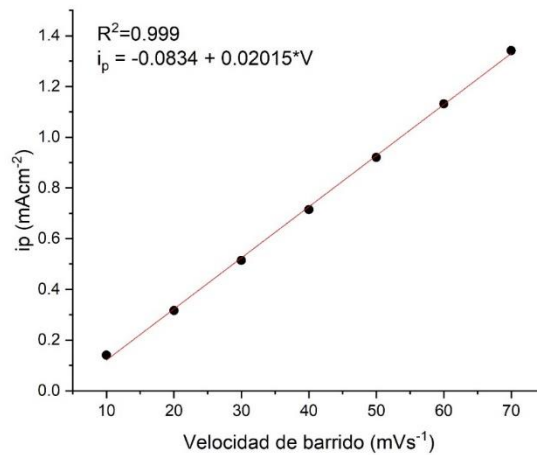


Figura 5.

Linealización corriente pico (i_p) vs Velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.7 para determinar control por adsorción de especies.



Comparando la figura 4 y 5 se observa que el mecanismo predominante de transporte de especies para la celda es el control por adsorción (Figura 5) debido a que su coeficiente de determinación es de 0.999.

Ecuación de la recta linealizada para el control por adsorción:

$$i_p = 0.02015v - 0.0834$$

Con la ecuación 1.7 y la pendiente de la recta linealizada se puede calcular la cobertura de superficie Γ el cual es de $6.5034 \times 10^{-7} \text{ molcm}^{-2}$, los cálculos se muestran en el apéndice D.

La cobertura superficial (Γ) también puede ser calculada teniendo el área bajo la curva del pico anódico de una voltametría con ejes I(A) vs E(V) (Wang, 2006), para esta investigación se calculó el área bajo la curva del pico anódico de la voltametría a 50 mVs^{-1} de la figura 3 (Apéndice D) la superficie de cobertura obtenida es de $\Gamma = 6.6147 \times 10^{-7} \text{ molcm}^{-2}$.

Este valor de cobertura de superficie es una aproximación al valor teórico, el cual se calculó con la regresión lineal y la ecuación 1.7, comparando ambos valores tenemos un 1.71% de error frente al valor teórico, este error se debe a la superficie irregular del electrodo lo cual afecta el área real de este, además el área calculada bajo el pico anódico es una aproximación y se puede acotar a espacios que no hacen parte del pico anódico.

La cobertura superficial indica la cantidad máxima de moléculas de compuesto que puede aceptar la superficie del electrodo (Wang, 2006).

4.3 Evaluación de la oxidación electrocatalítica de insulina en el electrodo de níquel.

Una vez realizada la evaluación electroquímica de los electrodos de Níquel en una solución alcalina, se evaluó la actividad electrocatalítica de los electrodos en presencia de insulina como analito disuelto en el mismo electrolito utilizado en la sección 4.2, además se evaluó el comportamiento interfacial del electrodo en presencia de insulina (controles por difusión o por adsorción de especies), en la figura 6 se muestra la respuesta que tienen los electrodos cuando el electrolito tiene una concentración de 112 nM de insulina aplicando la misma ventana de potencial de la sección 4.2 y evaluando a diferentes velocidades de barrido (10 a 70 mVs^{-1}), analizando la figura 7 y 8 se observa un incremento lineal de los picos anódicos lo cual muestra que el mecanismo controlante de transporte de especies es por la adsorción de moléculas y no por la difusión de estas, era de esperarse este comportamiento ya que estos procesos de adsorción y desorción son característicos de moléculas orgánicas (Wang, 2006).

Figura 6.

Voltametrías cíclicas del electrodo de Níquel en solución KOH 0.1M y 112 nM de insulina, a diferentes velocidades de escaneo: 10mV.s⁻¹ a 70mV.s⁻¹.

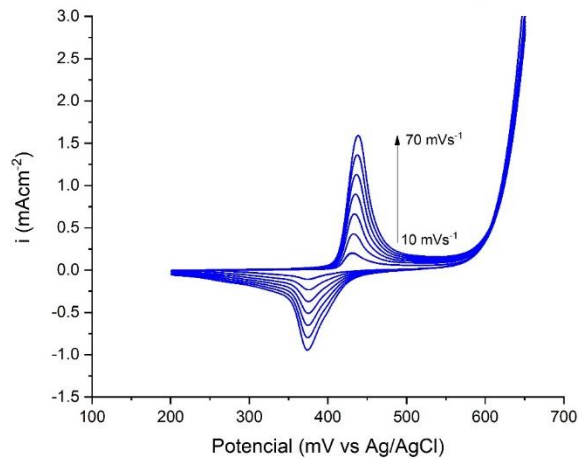


Figura 7.

Linealización corriente pico (i_p) vs Raíz cuadrada de la velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.6 para determinar control por difusión de especies.

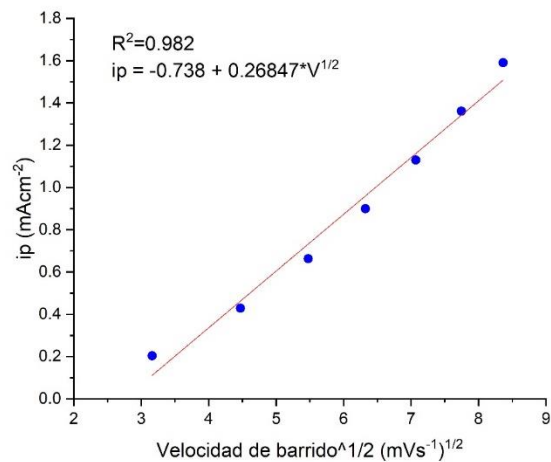
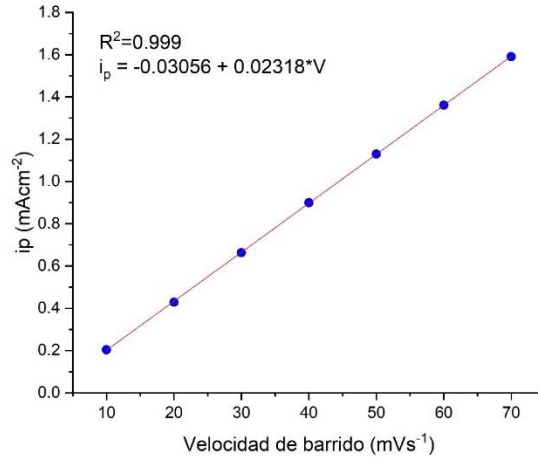


Figura 8.

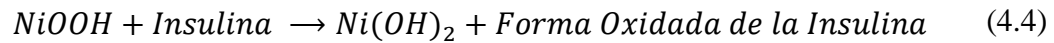
Linealización corriente pico (i_p) vs Velocidad de barrido de acuerdo con la ecuación 1.7 para determinar control por adsorción de especies.



Según la ecuación 1.7 la cobertura superficial del electrodo en presencia de insulina fue de $\Gamma=7.4813 \times 10^{-7}$ molcm⁻² un valor mayor al que se presenta en ausencia de esta, este aumento es debido al mecanismo autocatalítico del NiOOH el cual oxida la insulina y se regenera (Ecuaciones 1.3 y 1.4), de esta manera logra aceptar más moléculas de insulina, viéndose reflejado en la curva como un aumento en la corriente anódica, calculando el área bajo la curva del voltograma a 50 mVs⁻¹ (Apéndice E) se encontró una cobertura de superficie $\Gamma=7.2069 \times 10^{-7}$ molcm⁻² con un error del 3.6% frente al valor teórico que se calculó con la ecuación.

Luego de realizados estos ensayos se procedió a comparar los voltogramas de las figuras 3 y 7 a una misma velocidad de barrido como se muestra en la figura 9, el resultado observado es que la región anódica se incrementa en su valor de corriente indicando que la insulina se oxida en el mismo rango en el que se forma el NiOOH, la regeneración química del hidróxido y paso nuevamente a oxihidróxido incrementan la corriente de la zona anódica, esto era de esperarse ya que fue expuesto por Fleischmann y colaboradores utilizando moléculas orgánicas según las

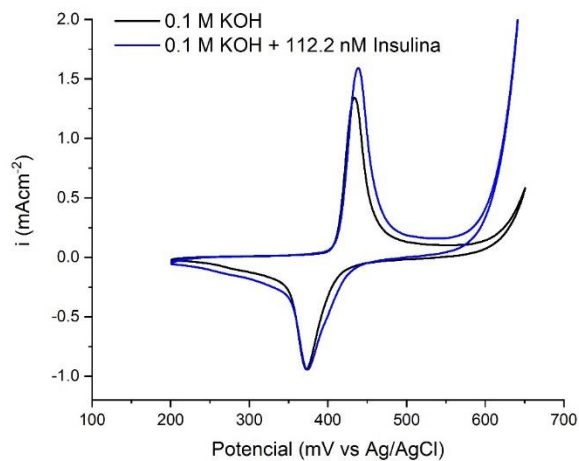
ecuaciones 1.3 y 1.4, Rafiee y colaboradores desarrollaron electrodos impresos de nanotubos de carbono con nanopartículas de óxido de níquel depositadas para la detección de insulina (Rafiee & Fakhari, 2013) y describen las reacciones en la interfase del electrodo como sigue:



La región catódica permanece prácticamente igual dado que en esta zona solo el NiOOH se reduce a Ni(OH)₂, lo que quiere decir que ni la insulina ni su forma oxidada reacciona con este estado del níquel.

Figura 9.

Voltametrías cíclicas a 70 mVs⁻¹ de los electrodos de Níquel en KOH 0.1 M con insulina (curva azul) y en ausencia de esta (curva negra).



Para ver la relación que tiene la corriente anódica y la concentración de insulina en el electrolito se realizó una voltametría cíclica de 11 ciclos a 30 mVs⁻¹ en donde por ciclo se le agregó una alícuota de 30 μ L con 35 mg/mL de insulina y se homogeneizaba en la solución con un agitador mecánico, como se muestra en la figura 10 existe un aumento progresivo y claro de la corriente lo que muestra que el electrodo tiene buena capacidad de detectar insulina en un amplio rango de concentraciones sin llegar a saturarse.

La especie Ni^{+3} (NiOOH) catalizó la reacción de oxidación de la insulina, por lo que la corriente máxima de reducción disminuyó al aumentar la concentración de insulina (Rafiee & Fakhari, 2013).

Figura 10.

Voltametría cíclica del electrodo de níquel en KOH 0.1 M, agregando alícuotas de 30 μL con 35 mg/mL de insulina por ciclo. Velocidad de barrido: 30 mVs $^{-1}$.

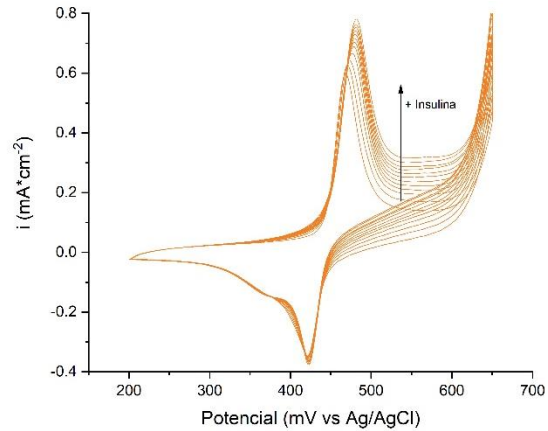


Figura 11.

Corriente del pico anódico i_p vs Concentración de insulina en el electrolito.

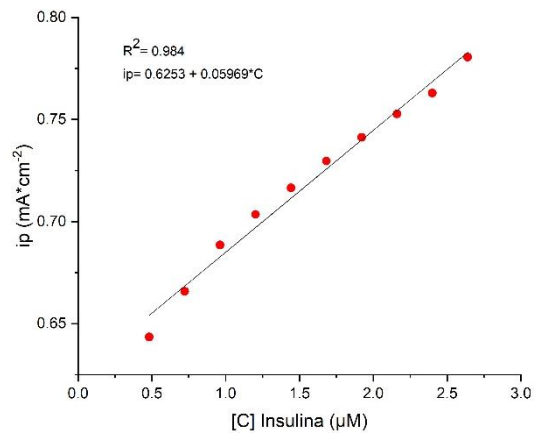
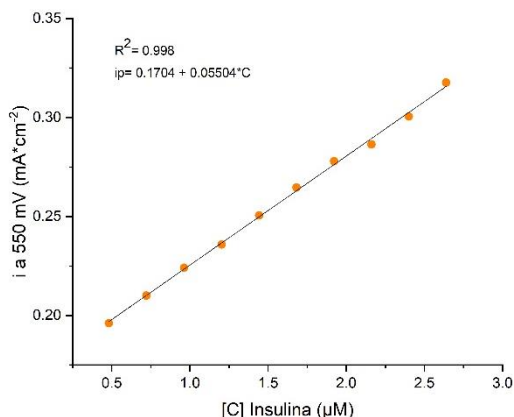


Figura 12.

Corriente de la zona anódica (a $E=550$ mV vs Ag/AgCl) vs Concentración de insulina en el electrolito.



4.4 Análisis por cronoamperometrías.

Dado que la voltametría cíclica no es particularmente sensible a bajas concentraciones, se emplea la cronoamperometría en condiciones de agitación para el análisis de la corriente generada por el electrodo con una concentración de insulina más baja (Salimi et al., 2007) así que se diluyó las alícuotas para tener concentraciones cercanas a las de insulina en sangre humana en el electrolito. Esta evaluación se hace con el fin de calcular la sensibilidad, el coeficiente de correlación y el límite de detección que tienen los electrodos de níquel en presencia de insulina para caracterizar los electrodos como sensores de esta.

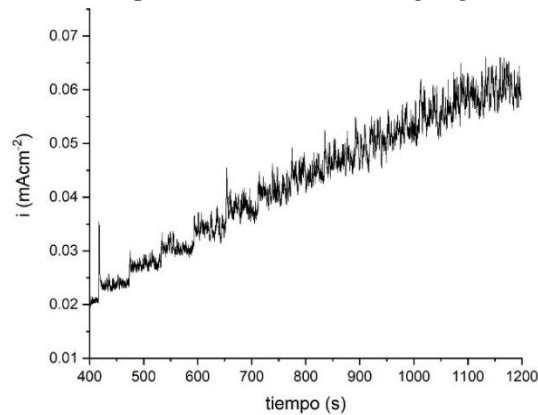
Para determinar el potencial aplicado en la prueba se analizó la linealidad de la corriente en la ventana de potencial donde ocurre la oxidación de la insulina y se concluyó que la mayor linealidad o coeficiente de determinación obtenida fue a los 550 mV vs Ag/AgCl (Figuras 12 y 13).

En la figura 13 se muestra el resultado de aplicar la cronoamperometría a 550 mV vs Ag/AgCl a un electrodo de níquel en una solución de KOH 0.1 M con el fin de evaluarlo como sensor, a partir de los 420 segundos se agregaron alícuotas de insulina cada 60 segundos, se observa que la

corriente aumenta escalonadamente por cada alícuota de insulina agregada, además de incrementar en su oscilación por escalón.

Figura 13.

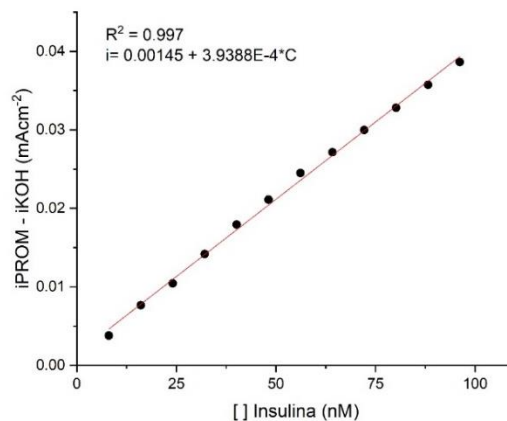
Respuesta cronoamperométrica de los electrodos de níquel con adiciones de insulina. Electrolito: KOH 0.1 M, Potencial aplicado: 550 mV vs Ag/AgCl.



Una vez obtenida la respuesta cronoamperométrica del electrodo se procede a caracterizar el electrodo para compararle con otros sensores. En la figura 14 se muestra la relación entre la corriente promedio por escalón corregida frente a la concentración de insulina en el electrolito. Mediante el ajuste lineal de la curva de calibración se calculó el coeficiente de correlación de $R^2 = 0,997$.

Figura 14.

Curva de calibración del electrodo de Níquel, corriente promedio corregida de la figura 13 frente a la concentración de insulina en el electrolito.



La sensibilidad del electrodo es calculada mediante la siguiente ecuación:

$$S = \frac{\Delta I}{\Delta CA}$$

Donde ΔI es el cambio en la corriente relacionada con el cambio de concentración en el electrolito de analito ΔC en dos puntos de la figura 14 y A es el área geométrica del electrodo, en otras palabras, la sensibilidad del electrodo se refiere a la pendiente de la figura 14.

El límite de detección es calculado mediante la siguiente ecuación:

$$X_{LOD} = \frac{3S_a}{b}$$

Donde S_a es la desviación estándar de las corrientes en estabilidad en ausencia de insulina y b es la sensibilidad del electrodo.

Comparando las propiedades del sensor desarrollado en esta investigación (tabla 1) con sensores desarrollados por otros investigadores se observa que es 8 veces más sensible y posee un límite de detección 5 veces menor que los sensores desarrollados por Lu y colaboradores.

Tabla 1

Comparación entre las propiedades obtenidas de sensores de insulina a base de níquel sintetizados por otros autores con el de la presente investigación.

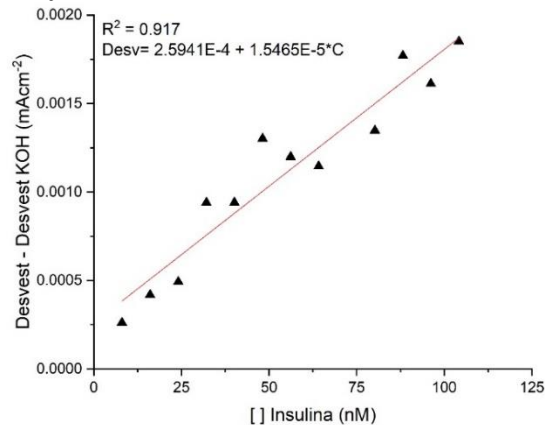
Electrodo	Sensibilidad ($\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$)	Límite de detección	Referencia
NiONPs/Nafion-MWCNTs/SPE	1.83	6.1 nM	(Rafiee & Fakhari, 2013)
NiO-EDA-CNFs	1.55	12.1 nM	(Lu et al., 2009)
Ni (OH)2-GN/GC	-	200 nM	(Lin et al., 2014)
SPE/CNT/NiCoO2	0.131	182.5 nM	(Arvinte et al., 2010)
Guanine/NiOxNPs/GC	100.9	22 pM	(Salimi et al., 2008)
NiNPs/ITO	2140	10 pM	(Yu et al., 2016)
K4[Mo(CN)8]+Ni/CCE	6.14	0.45nM	(Salimi et al., 2006)
Ni	13	2.45 nM	Presente investigación

En el presente estudio se analiza la relación entre la fluctuación de la corriente por escalón y la concentración de orgánico en la solución, este estudio fue propuesto por Blanco y colaboradores(S.

Blanco et al., 2015; S. I. Blanco, 2014). Esta oscilación de la corriente tiene una amplitud creciente con respecto a los escalones de la figura 14, por ello se relacionó la desviación estándar con la concentración de insulina los resultados se muestran en la figura 15.

Figura 15.

Curva de calibración del electrodo de Níquel, desviación estándar corregida de las oscilaciones de cada escalón de corriente frente a la concentración de insulina en el electrolito.



Wojtowicz en 1968 estudió las oscilaciones en la corriente producidas al oxidar Etileno y propuso que una reacción autocatalítica, tiene una velocidad de reacción proporcional al número sitios vacantes en la superficie del electrodo, esto se relaciona con el mecanismo de reacción y su comportamiento oscilatorio donde la adsorción y desorción de especies en la superficie de los electrodos está controlada por velocidad de reacción de los intermediarios que se producen durante los pasos de reacción de un compuesto orgánico (Hudson & Tsotsis, 1994; Wojtowicz et al., 1968).

La biestabilidad del níquel en presencia de moléculas orgánicas se observa claramente en la cronopotenciometría realizada en los estudios preliminares con glucosa (Apéndice A), en donde se aprecia el modelo presa-depredador expuesto por Lotka y Volterra (S. Blanco et al., 2015) el cual muestra que la cinética de las reacciones está controlada por el paso de reacción más lento, en la cronopotenciometría se observa que el potencial oscila en función del tiempo debido a que la superficie del electrodo ocurren las reacciones 1.3 y 1.4, la frecuencia de oscilación disminuye

debido al agotamiento de reactivo en solución (glucosa) y su amplitud aumenta debido a que el rango de potencial de estabilidad de las especies ligadas a los estados de oxidación del níquel Ni^{+3} y Ni^{+2} aumenta con el tiempo (S. Blanco et al., 2015).

Con lo anterior mencionado, la amplitud de las oscilaciones vistas en la prueba cronoamperométrica están relacionada con las reacciones químicas y electroquímicas que describen el mecanismo de oxidación de la insulina, como se mostró en la reacción 1.3 el hidróxido de níquel forma oxihidróxido de níquel y es allí donde existe un intercambio de electrones luego es donde el potencióstato registra que fluctúa la corriente, la oxidación de la insulina ocurre utilizando el NiOOH como intermediario y regenerando el Ni(OH)_2 donde el níquel presenta una biestabilidad entre los estados de oxidación Ni^{+3} y Ni^{+2} (S. Blanco et al., 2015) y su mecanismo de reacción está determinado por los intermediarios formados durante la oxidación de la insulina.

5. Conclusiones

Se evaluó la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina sobre los electrodos de níquel manteniendo un potencial de oxidación fijo, mostró que la corriente registrada y la amplitud de las oscilaciones están relacionadas linealmente con la concentración de insulina en la celda electroquímica.

Se sintetizaron electrodos de níquel mediante electrodeposición potencioestática los cuales mostraron un buen comportamiento electrocatalítico oxidando insulina en un amplio rango de concentraciones sin saturarse.

Se caracterizó mediante técnicas electroanalíticas el electrodo de níquel como sensor electroquímico mostrando buenas propiedades frente a otros electrodos desarrollados comparando su límite de detección y sensibilidad.

Las oscilaciones registradas en la corriente son consecuencia de su mecanismo de reacción dada la biestabilidad que presenta el níquel al oxidar insulina.

6. Recomendaciones

Evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina en electrodos nanoestructurados que permitan mejorar propiedades en el sensor en cuanto al límite de detección y sensibilidad.

Evaluar la respuesta cronoamperométrica de la oxidación de insulina con otro compuesto orgánico como la glucosa para establecer relaciones que permitan conocer la concentración de ambos compuestos orgánicos.

Referencias Bibliográficas

- Arvinte, A., Westermann, A. C., Sesay, A. M., & Virtanen, V. (2010). Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at CNT-nickel-cobalt oxide modified electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 150(2), 756–763. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.08.004>
- Blanco, S. I. (2014). *Nanoalambres Metálicos: Síntesis, caracterización y aplicación en el desarrollo de sensores*.
- Blanco, S., Vargas, R., Mostany, J., Borrás, C., & Scharifker, B. R. (2015). A novel nickel nanowire amperometric sensor: Direct current vs. alternating current strategies for ethanol, acetaldehyde and acetylcholine detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 740, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.12.028>
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- Fleischmann, M., Korinek, K., & Pletcher, D. (1971). The oxidation of organic compounds at a nickel anode in alkaline solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 31(1), 39–49. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(71\)80040-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(71)80040-2)
- González, M. B., & Costa, A. (2010). Los biosensores electroquímicos : herramientas de la analítica y del diagnóstico clínico. *Inmunoelectroanalysis*, 197–222. <https://doi.org/http://dx.doi.org/ES/monoranf.v0i0.1068>
- Hudson, J. L., & Tsotsis, T. T. (1994). Electrochemical reaction dynamics: a review. *Chemical Engineering Science*, 49(10), 1493–1572. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(94\)85063-1](https://doi.org/10.1016/0009-2509(94)85063-1)
- Kanani, N. (2004). *Electroplating - Basic Principles, Processes and Practice*.
- Kostecki, R., & McLarnon, F. (1997). Electrochemical and in situ Raman spectroscopic

- characterization of nickel hydroxide electrodes: I. Pure nickel hydroxide. *Journal of the Electrochemical Society*, 144(2), 485–493. <https://doi.org/10.1149/1.1837437>
- Lin, Y., Hu, L., Li, L., & Wang, K. (2014). Facile synthesis of nickel hydroxide-graphene nanocomposites for insulin detection with enhanced electro-oxidation properties. *RSC Advances*, 4(86), 46208–46213. <https://doi.org/10.1039/c4ra06648k>
- Lu, L. M., Zhang, L., Qu, F. L., Lu, H. X., Zhang, X. B., Wu, Z. S., Huan, S. Y., Wang, Q. A., Shen, G. L., & Yu, R. Q. (2009). A nano-Ni based ultrasensitive nonenzymatic electrochemical sensor for glucose: Enhancing sensitivity through a nanowire array strategy. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(1), 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.06.041>
- Luna, M. C. (2008). *Tesis Doctoral Diseño y Aplicación de Sensores Electroquímicos basados en Moléculas Orgánicas Conductoras*.
- Mandal, A. (2019). *Insulin Diseases*. <https://www.news-medical.net/health/Insulin-Diseases.aspx>
- Rafiee, B., & Fakhari, A. R. (2013). Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at nickel oxide nanoparticles-multiwalled carbon nanotube modified screen printed electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 46, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.01.037>
- Salimi, A., Noorbakhash, A., Sharifi, E., & Semnani, A. (2008). Highly sensitive sensor for picomolar detection of insulin at physiological pH, using GC electrode modified with guanine and electrodeposited nickel oxide nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(4), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.06.046>
- Salimi, A., Roushani, M., Haghghi, B., & Soltanian, S. (2006). Amperometric detection of insulin at renewable sol-gel derived carbon ceramic electrode modified with nickel powder and potassium octacyanomolybdate(IV). *Biosensors and Bioelectronics*, 22(2), 220–226.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2005.12.022>

Salimi, A., Roushani, M., Soltanian, S., & Hallaj, R. (2007). Picomolar detection of insulin at renewable nickel powder-doped carbon composite electrode. *Analytical Chemistry*, 79(19), 7431–7438. <https://doi.org/10.1021/ac0702948>

Schlesinger, Mordechai Paunovic, M. (2010). Modern Electroplating. In *Modern Electroplating*. <https://doi.org/10.1002/9780470602638>

Wang, J. (2006). *ANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY*. WILEY-VCH.

Weng, Y. C., & Chou, T. C. (2002). Ethanol sensors by using RuO₂-modified Ni electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 85(3), 246–255. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(02\)00125-9](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(02)00125-9)

Wojtowicz, J., Marincic, N., & Conway, B. E. (1968). Oscillatory kinetics in the electrochemical oxidation of formate and ethylene. *The Journal of Chemical Physics*, 48(10), 4333–4345. <https://doi.org/10.1063/1.1667996>

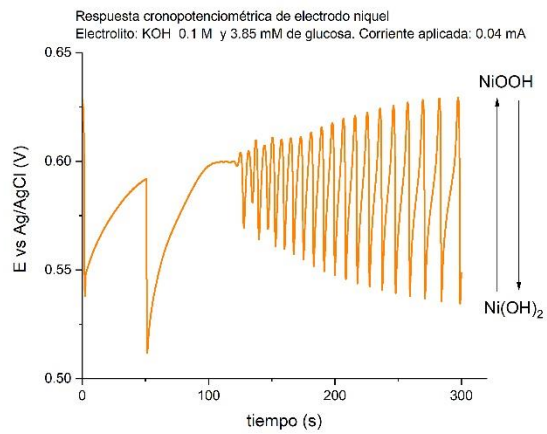
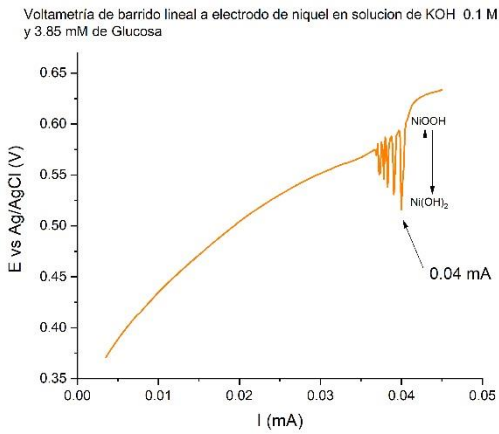
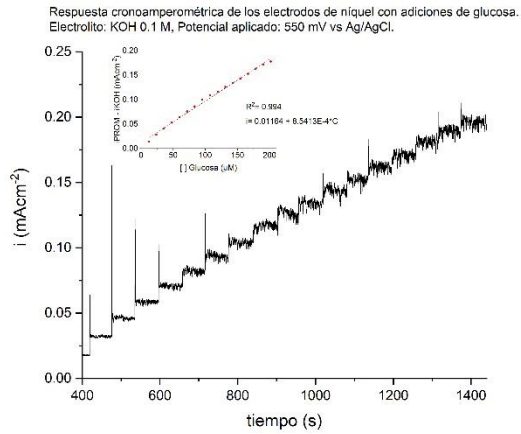
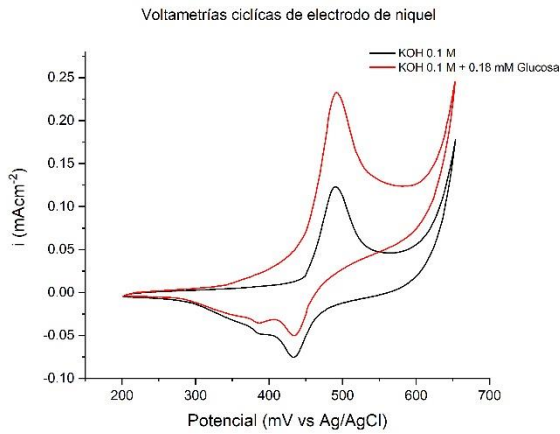
World Health Organization. (n.d.). *GLOBAL REPORT ON DIABETES*.

World Health Organization. (2020). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/diabetes>

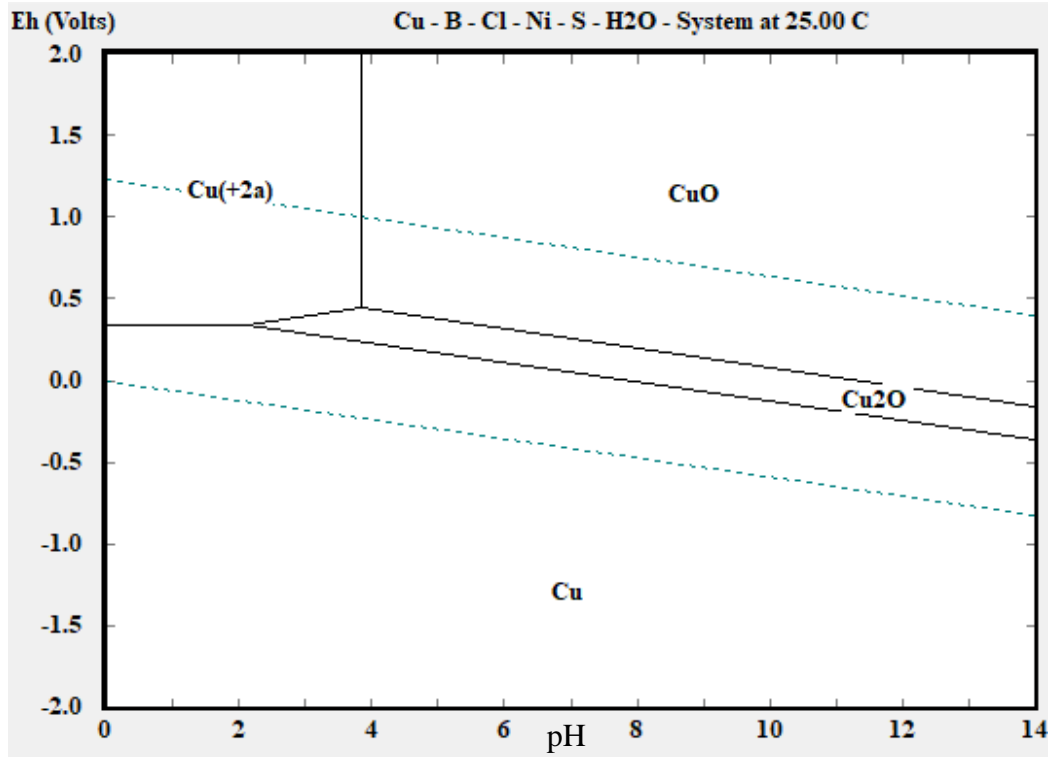
Yu, Y., Guo, M., Yuan, M., Liu, W., & Hu, J. (2016). Nickel nanoparticle-modified electrode for ultra-sensitive electrochemical detection of insulin. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.09.036>

Apéndices

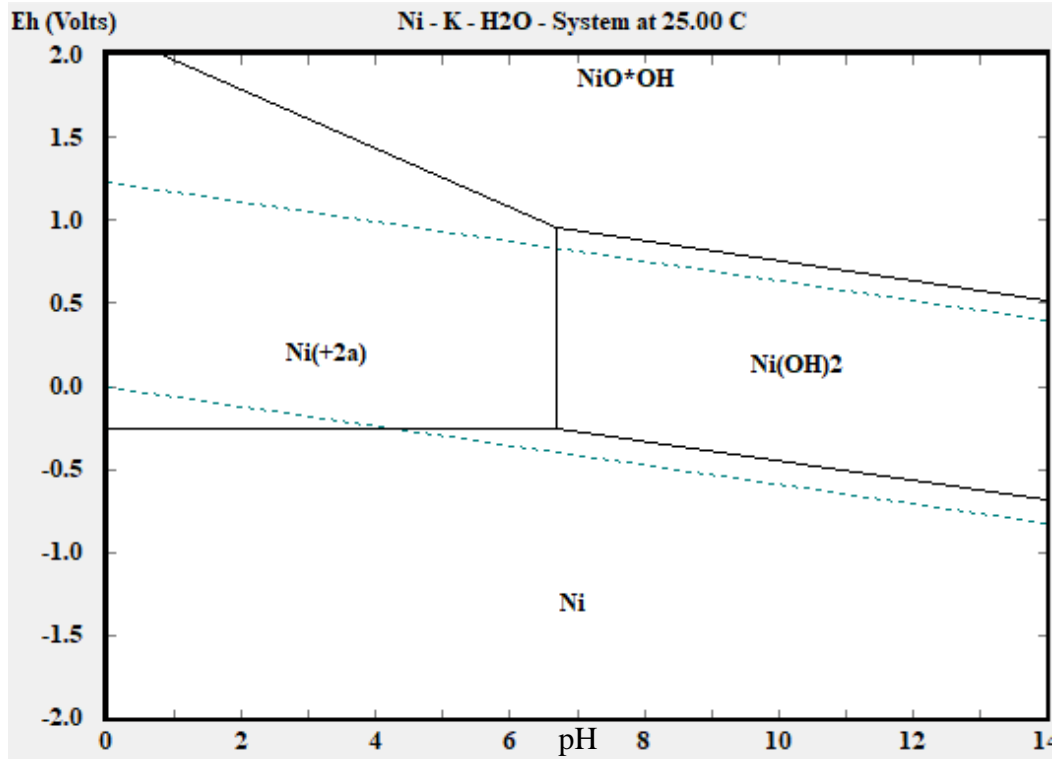
Apéndice A. Resultados del estudio preliminar de la oxidación de glucosa sobre electrodos de níquel.



Apéndice B. Diagrama de Pourbaix del Cobre (Cu)



Apéndice C. Diagrama de Pourbaix del Níquel (Ni)



Apéndice D. Cálculos para determinar la cobertura superficial del electrodo en KOH 0.1 M y pico anódico correspondiente al ensayo de voltametría cíclica llevado a cabo a 50mV

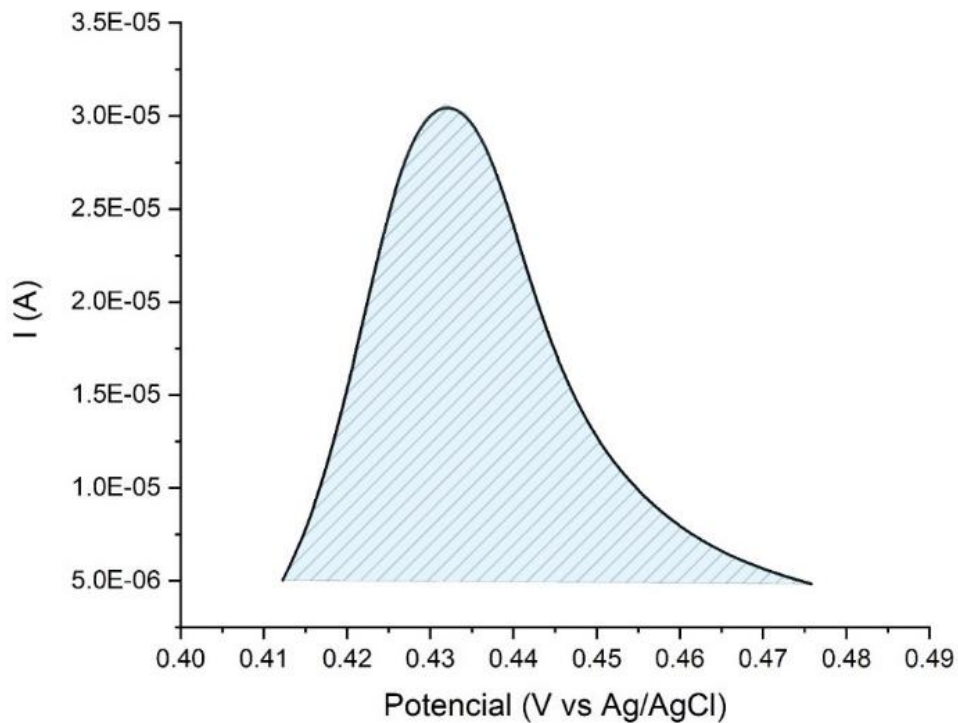
KOH 0.1 M, el área bajo la curva se relaciona con la cobertura superficial.

$$i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A v}{4RT}$$

$$0.02015 = \frac{n^2 F^2 \Gamma A}{4RT}$$

$$\Gamma = \frac{4 * 0.02015 * 8.314 * 298.15}{(1 \text{ eq})^2 * 96485^2 * 0.033}$$

$$\Gamma = 6.5034 \times 10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{cm}^2}$$



Apéndice E. Pico anódico correspondiente al ensayo de voltametría cíclica llevado a cabo a 50mV en presencia de insulina, el área bajo la curva se relaciona con la cobertura superficial.

