



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

Trabajo de actualización bibliográfica

***Sensores de glucosa con derivados de
compuestos ferrocenilicos.***

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ RUIZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Audelo Méndez Irene Sara
VOCAL: Dra. Elena Ivanovna Klimova
SECRETARIO: Colin Segundo Alberto
1^{er}. SUPLENTE: Flores Hernández Ricardo
2^{do}. SUPLENTE: García Sánchez Reina

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio 201 del edificio F de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor del tema:

Dra. Elena Ivanovna Klimova

Supervisor técnico:

Dra. Jessica Jazmín Sánchez García

Sustentante:

Carlos Alberto Velázquez Ruiz

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio 201, del Edificio “F”, del departamento de Química Orgánica, de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), bajo la dirección de la Dra. Elena Klimova Ivanovna, con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT Ciencia básica No. 251437**), al programa de Apoyo a la Investigación y el posgrado (**PAIP-5000-9059**) y al programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (**PAPIIT-IN-217421**).

Agradecimientos

*Enséñanos de tal modo a contar
nuestro días, Que traigamos al
corazón sabiduría.*

Doy gracias a Dios por prestarme la vida y por poner a las personas correctas en mi camino para cumplir esta meta.

A mis padres Gadiel Velázquez Reyes y Gloria Laura Ruiz Murillo por darme todo el amor, cariño, paciencia y el apoyo para culminar mis estudios de licenciatura.

A todos los integrantes de mi familia por su compañía y todos los consejos que me dieron a lo largo de mi estancia universitaria.

A mi novia Regina Sánchez por todo el apoyo y amor que me brindo durante todo este proceso.

A mis amigos Julio, Erick, Denisse, Fernando, y Antonio por hacer mi estancia universitaria más amena.

Por último, quiero agradecer a la Dra. Elena Ivanovna Klimova, a la Dra. Jessica Jazmín Sánchez y al Ing. Gustavo Huerta Vargas por la supervisión de este trabajo y a todos mis compañeros del laboratorio 201 ya que sin ellos no hubiera sido posible este trabajo.

Contenido

Capítulo 1. Conceptos de Electroquímica.....	7
1.1. Reacciones redox.....	7
A) Aplicaciones de las reacciones redox (Celdas electroquímicas).....	8
1.2. Métodos de caracterización electroquímica.....	9
1.3. Voltamperometría cíclica.....	10
a) Fundamentos de Voltamperometría cíclica.....	11
1.4. Amperometría.....	12
Capítulo 2. Sensores químicos y biosensores.....	14
2.1 Fundamentos teóricos.....	14
A) Sensores electroquímicos.....	16
B) Biosensores.....	16
C) Receptores biológicos.....	18
Capítulo 3. El ferroceno.....	23
3.1 Historia.....	23
3.2 Propiedades.....	24
a) Físicoquímicas.....	24
b) Electroquímicas.....	25
3.3 Aplicaciones del ferroceno.....	28
a) Medicina.....	29
b) Polímeros.....	30
c) Catálisis.....	30
d) Industria.....	30
e) Agricultura.....	31
Capítulo 4. Sensores basados en ferroceno.....	33
4.1 Características generales de sensores ferrocenilicos.....	33
a) Sensor electroquímico para In(III).....	34
b) Sensor óptico-electroquímico para Hg(II).....	36
c) Sensor electroquimioluminiscente de ADN basado en “Quenching”.....	37
d) Sensores de triple canal de iones de Pb(II).....	39
e) Sensor para monitoreo de Cu(II).....	41

Capítulo 5. Biosensores de glucosa	44
5.1 La glucosa	44
5.2 Historia de los biosensores de glucosa	45
a) Primera generación de biosensores de glucosa	46
b) Segunda generación de los biosensores.....	47
c) Tercera generación de biosensores.....	49
Capítulo 6. Biosensores de glucosa con sustituyentes ferrocenilicos	51
6.1 Síntesis de polímeros a base de ferroceno y derivados	53
a) Polipirroles y Politiofenos	53
b) Ciclodextrina	55
c) Polietilenimina	57
d) Polivinilferroceno.....	58
e) Derivados a base de quitosano	59
6.2 Aplicaciones de polímeros a base de ferroceno en biosensores de glucosa	61
a) Polipirroles y Politiofenos de ferroceno.....	61
b) Ciclodextrina	62
c) Polietilenimina	63
d) Polivinilferroceno.....	65
e) Derivados a base de quitosano	66
Retroalimentación	68
Referencias	73

Capítulo 1.

Conceptos de Electroquímica



El origen de la electroquímica data a finales del siglo XVIII, debido al descubrimiento de Luigi Galvani, en el cual observó cómo se movía las ancas de una rana al estar en contacto con dos hilos metálicos diferentes unidos entre sí. Tiempo después Alessandro Volta estudio este fenómeno y así obtuvo la invención de la pila voltaica.¹ Sin embargo, la electroquímica fue institucionalizada como una ciencia a partir de las investigaciones realizadas por Michael Faraday, John Daniell y Johann Hittorf.

La electroquímica se puede definir como una rama de la química la cual estudia la relación que existe entre la energía eléctrica y la energía química dado un sistema, en el cual se encuentra un conductor eléctrico y un conductor iónico, es decir: estudia los cambios químicos producidos mediante la transferencia de electrones y la producción de electricidad mediante reacciones químicas.²

1.1. Reacciones redox.

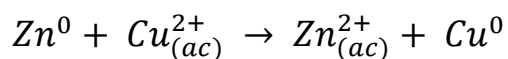
Una reacción redox implica la transferencia de electrones de una especie a otra. En este tipo de reacciones podemos encontrar dos especies una que se oxida y otra que se reduce, es decir, la oxidación se refiere a la pérdida de electrones y la reducción a la ganancia de electrones. Un agente oxidante o simplemente oxidante se define como aquella sustancia que toma

¹ Costa, J. (2005). La electroquímica: Cuando el pasado era presente. *Departamento de Química Física, Facultad de Química, Universidad de Barcelona.*

² Martínez, Y., & Hernández, R. (2004). Electroquímica: Energía y Ambiente. *Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16741/energia_ambient_e.pdf.*

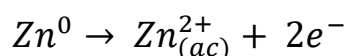
electrones de otra y se reduce, por lo tanto, un agente reductor, o simplemente reductor es aquella sustancia capaz de ceder electrones a otra y en este proceso se oxida.

Una reacción de óxido-reducción (Esquema 1) se puede dividir en dos partes o semirreacciones: una semirreacción muestra la especie reactiva que se oxida (Esquema 2) y la otra en la cual la especie reactiva se reduce (Esquema 3) ³.

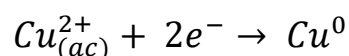


Esquema 1. Reacción óxido-reducción.

En el esquema 1 se puede observar como el Zn^0 se oxida y el Cu^{2+} se reduce de acuerdo con las siguientes semirreacciones:



Esquema 2. Semirreacción de oxidación.



Esquema 3. Semirreacción de reducción.

A) Aplicaciones de las reacciones redox (Celdas electroquímicas)

Una celda electroquímica es un dispositivo simple que consta de dos conductores llamados electrodos los cuales se encuentran sumergidos en una solución electrolítica. Estos actúan como interfase entre un conductor iónico (puente salino) y uno eléctrico (potenciómetro), en la que ocurre una reacción de oxidación y reducción, el cátodo en una celda electroquímica es el electrodo en el cual se produce la reducción, mientras que el ánodo es el electrodo en el cual tiene lugar la oxidación.

En la actualidad hay dos tipos fundamentales de celdas electroquímicas (Voltaicas y Electrolíticas) en las cuales se presenta la transformación de una forma de energía a otra⁴. Las Celdas Voltaicas o Galvánicas (Figura1), son celdas electroquímicas en las cuales la energía química liberada en forma espontánea se convierte en energía eléctrica, por lo general, consta de dos metales diferentes conectados por un puente salino. Las Celdas Electrolíticas (Figura 2), son dispositivos capaces de producir reacciones químicas a partir de la introducción de energía eléctrica, esta celda se da la electrólisis y tiene un dispositivo

³ Harris, D. C., Análisis Químico Cuantitativo. 3a. Edición / correspondiente a la 6a. del original, Barcelona, España, Editorial Reverté S.A., 2007.

⁴ Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. Crouch, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 9ª. Edición, México, Cengage Learning, 2015.

adicional que es la fuente de energía para estos procesos electrolíticos se usa generadores de corriente continua.

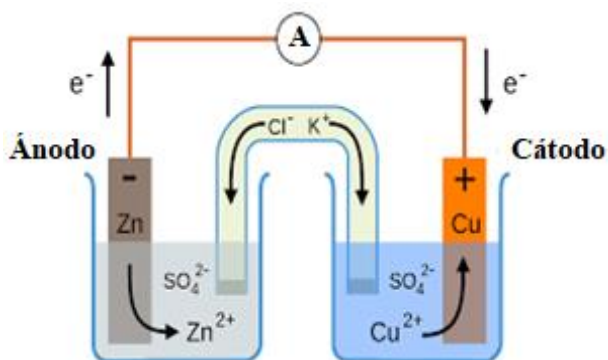


Figura 1. Celda Galvánica.

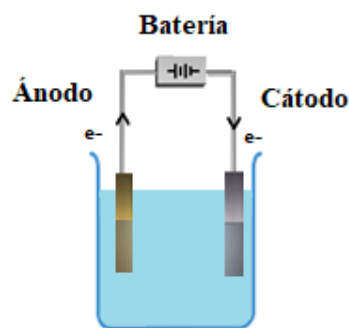


Figura 2. Celda electrolítica.

1.2. Métodos de caracterización electroquímica

Los métodos electroanalíticos se encargan de estudiar las propiedades eléctricas que presenta una disolución en una celda electroquímica. Estas técnicas se caracterizan debido a que presentan una alta sensibilidad, gran selectividad y elevada precisión.

Las variables fundamentales en un sistema electroanalítico son: intensidad de corriente, potencial y composición del sistema. En el diagrama tridimensional (Figura 3), se describen distintas relaciones entre estas variables y las técnicas implicadas en su estudio⁵.

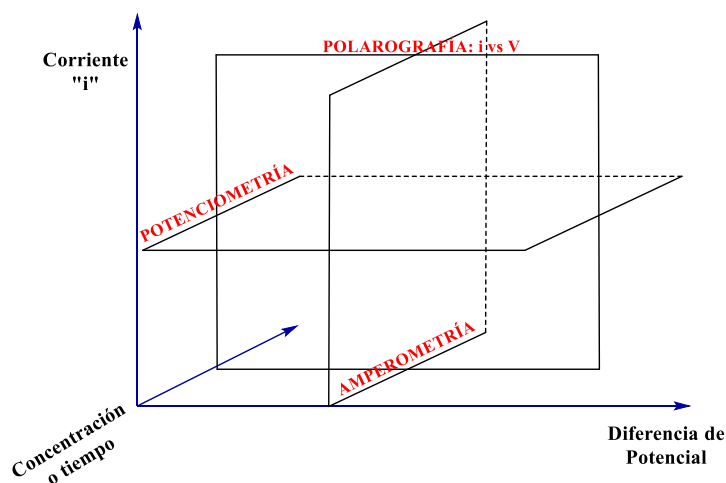
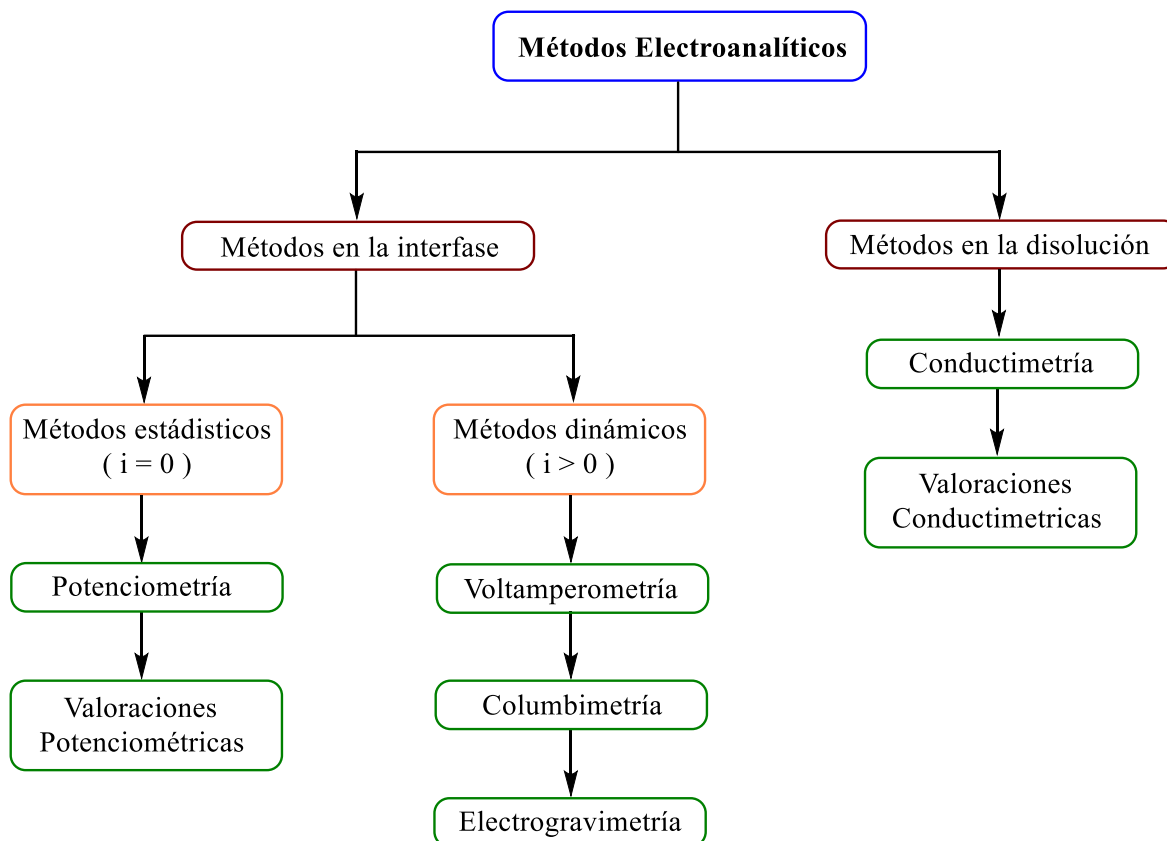


Figura 3. Representación tridimensional de las distintas técnicas electroanalíticas.

⁵ Gómez-Biedma, S., Soria, E., & Vivó, M. (2002). Análisis electroquímico. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 51(1), 18-27.

Otra forma de clasificar los métodos electroanalíticos es en dos grandes grupos, los cuales dependen de que parte del sistema se desea estudiar ya sea la interfase o en la disolución (Esquema4).



Esquema 4. Clasificación de métodos analíticos en la interfase y la disolución.

Métodos potenciométricos: estudian la relación entre la fem y la actividad del analito por aplicación de la ecuación de Nernst.

Métodos coulombimétricos: estudian la relación entre la cantidad de carga empleada y la concentración de analito.

Métodos voltamperométricos: estudian la relación entre la intensidad de corriente y el voltaje aplicado en la celda.

1.3. Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica (VC) es una técnica electroanalítica usada para el estudio de especies electroactivas. Otorga una facilidad para identificar los potenciales de oxidación y reducción, por lo que es empleada ampliamente en los campos de la electrosíntesis,

bioquímica, química orgánica e inorgánica, entre otras. La VC es normalmente el primer experimento para el estudio electroquímico de un compuesto, material biológico, o una superficie de electrodo. Su principal ventaja radica en la efectividad para observar rápidamente los procesos redox sobre un amplio intervalo de potencial. El voltamperograma cíclico resultante es análogo a un espectro convencional, este transmite información como una función de un barrido de energía⁶.

a) Fundamentos de Voltamperometría cíclica.

La VC consiste en ciclar el potencial de un electrodo, el cual está sumergido en una solución electrolítica, y mide la corriente resultante. El potencial del electrodo trabajo (ET) está controlado contra un electrodo de referencia (Electrodo de Calomel Saturado (ECS), o Ag/AgCl). El potencial controlado aplicado a través de estos dos electrodos puede ser considerado como una señal de excitación. La señal de excitación para la voltamperometría cíclica es un barrido lineal de potencial con una forma triangular.

Esta técnica de barrido lineal que se basa en el muestreo de la respuesta de la corriente en un electrodo ante la aplicación de un potencial que crece y decrece linealmente formando un ciclo. Generalmente, el experimento comienza a potenciales donde no hay reacciones ocurriendo en el electrodo, dicho potencial va aumentando hasta llegar a lo que se conoce como potencial de inversión. Los intervalos se escogen teniendo en cuenta los valores en los que se produce la oxidación o la reducción controlado por la difusión de uno o varios analitos.⁷

El Voltamperograma (Figura 4) obtenido depende de diversos factores, como la especie electroquímicamente activa a analizar (su concentración y coeficiente de difusión), el electrolito soporte elegido (si es acuoso o no, su concentración y su constante dieléctrica, ya que es el medio de transporte de los electrones en la disolución), la fuerza iónica (en función de la sal utilizada y la concentración en que se utilice), la velocidad de barrido, la temperatura,

⁶ Allen, B.J., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 1980, Canadá: John Wiley & Sons.

⁷ Charlot, G.; Badoz-Lambling, J.; Trémillon, B. *Las reacciones electroquímicas*. España: Toray-Masson (1969) 347-352.

la atmósfera, barreras (catódica y anódica) del disolvente, electrodos (E_T , E_S y E_R) empleados y los fenómenos de adsorción que ocurran en el E_T , etc.⁸

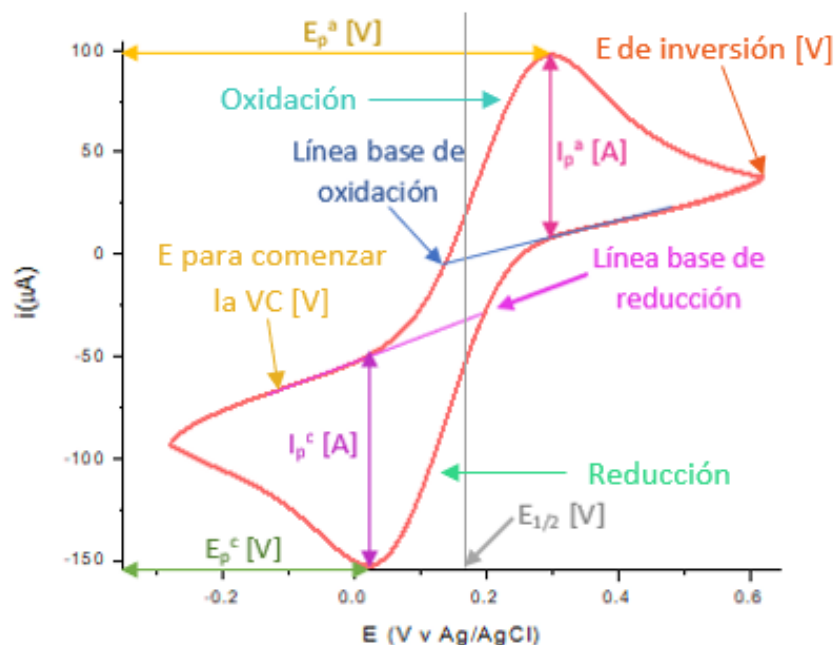


Figura 4. Voltamperograma y su interpretación.

La voltamperometría cíclica convencional es especialmente informativa sobre los aspectos cualitativos de un proceso de electrodo.

El programa de perturbación aplicado produce una señal triangular, es decir, a un número de ciclos dados sobre un electrodo estacionario, estático y en régimen de difusión pura. Esta técnica permite estudiar mecanismos de reacción al electrolizar una especie e invertir el potencial para comprobar la formación de su par redox.⁹

1.4. Amperometría

Esta técnica tiene como principal objetivo en medir la cantidad de corriente que circula por un circuito de medida, tras un determinado salto de potencial aplicado (Figura 5). Esta técnica

⁸Delahay, P., & Mamantov, G. (1955). Voltammetry at constant current: Review of theoretical principles. *Analytical Chemistry*, 27(4), 478-483.

⁹Matsuda, H., & Ayabe, Y. (1955). The theory of the cathode-ray polarography of Randles-Sevcik. *Zeitschrift fuer Elektrochemie und Angewandte Physikalische Chemie*, 59, 494-503.

se puede realizar debido a que la variación de la intensidad de corriente se encuentra en función de la concentración de la especie electroactiva a un potencial fijo (Figura 6).¹⁰

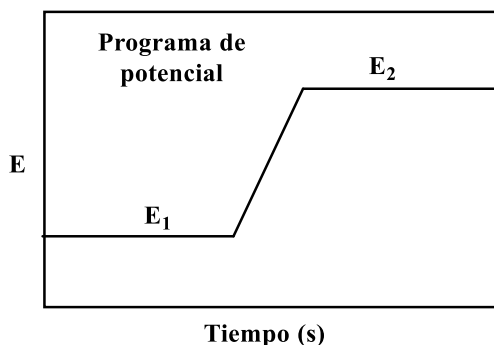


Figura 5. Programa de potencial.

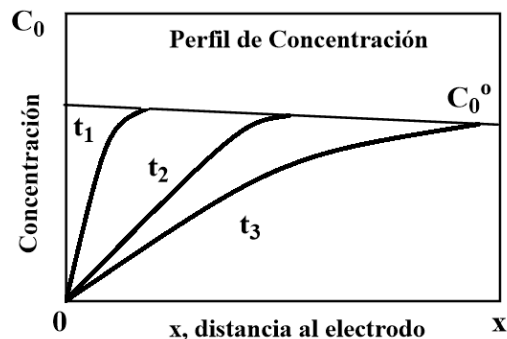


Figura 6. Perfil de concentración.

Para poder llevar a cabo este método con electrodos sólidos, se trabaja con un valor constante de potencial y se registra el valor de la corriente. Para la relación intensidad-concentración se trata con el modelo matemático basado en la Ley de Fick (Ecuación 4).

$$I = nFAD_0 \frac{\delta(C_0(o, t))}{\delta x}$$

Ecuación 1. Representación de la Ley de Fick para electrodos sólidos.

Tabla 1. Variantes de la Ecuación	
A	Área del electrodo de trabajo
D ₀	Coefficiente de difusión
C ₀	Concentración del analito
x	Distancia de la doble capa

Para el caso particular donde la solución se encuentra agitada constantemente, se considera que “x” se mantiene constante y que se corresponde con el tamaño de la de difusión (δ). Por lo tanto, la Ecuación 4 se puede simplificar para el estudio de una relación lineal entre la intensidad medida y la concentración del analito (Ecuación 5).

$$I = \frac{nFAD_0}{\delta} C_0$$

Ecuación 2. Solución de la Ley de Fick para electrodos sólidos donde x = constante.

¹⁰ Martínez, Y., & Hernández, R. (2004). Electroquímica: Energía y Ambiente. Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16741/energia_ambient_e.pdf.

Capítulo 2. Sensores químicos y biosensores



Los biosensores son un dispositivo que ha revolucionado la industria con el paso del tiempo, el primer biosensor desarrollado y comercializado data de los años 60, este fue aplicado para uso clínico y de impacto bioquímico. Este biosensor consta de un sensor enzimático para determinar la concentración de glucosa presente en la sangre, utilizando como medio de medición la reacción catalizada por glucosa oxidasa, es decir que se acopla la glucosa oxidasa a un electrodo selectivo de oxígeno.”

2.1 Fundamentos teóricos

El sensor químico es un dispositivo capaz de interpretar la información química de una muestra en una señal analítica¹². Los sensores químicos se componen de un sistema de reconocimiento conocido como receptor y un transductor (Figura 7).

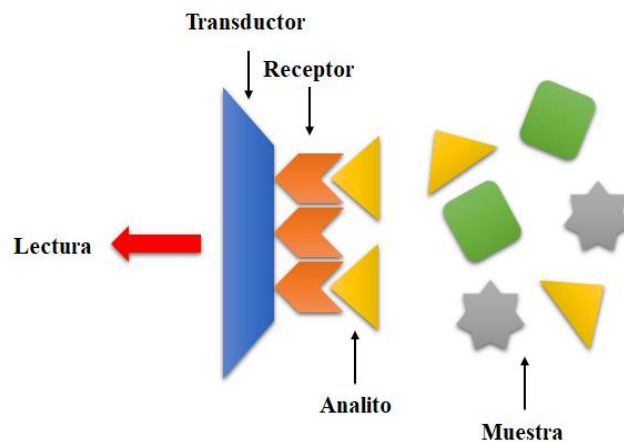


Figura 7. Esquema general de un sensor.

¹¹ Jiménez, C., & León, D. E. (2009). Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1), 144-154.

¹² L. Ristic. Sensor technology and devices, ed. I. Artech House. (1994), Norwood.

El receptor reconoce la información química presente en la muestra, la convierte de forma que pueda ser reconocida por el transductor, lo transforma de una señal primaria a una secundaria que sea más fácilmente procesable, generalmente lo transforma en una señal óptica u eléctrica.

Existen tres tipos de receptores¹³ :

Físicos: Detectan cambios en las propiedades extensivas como volumen, presión, flujo de masa, etc.

Químicos: Detectan cambios provenientes de una reacción química, cambio de concentración, pH, etc.

Biológicos: Detectan el material de procedencia biológica. Por ejemplo, enzimas, anticuerpos, ADN, células, etc. Este tipo de sensor es denominado un biosensor Fig 8.

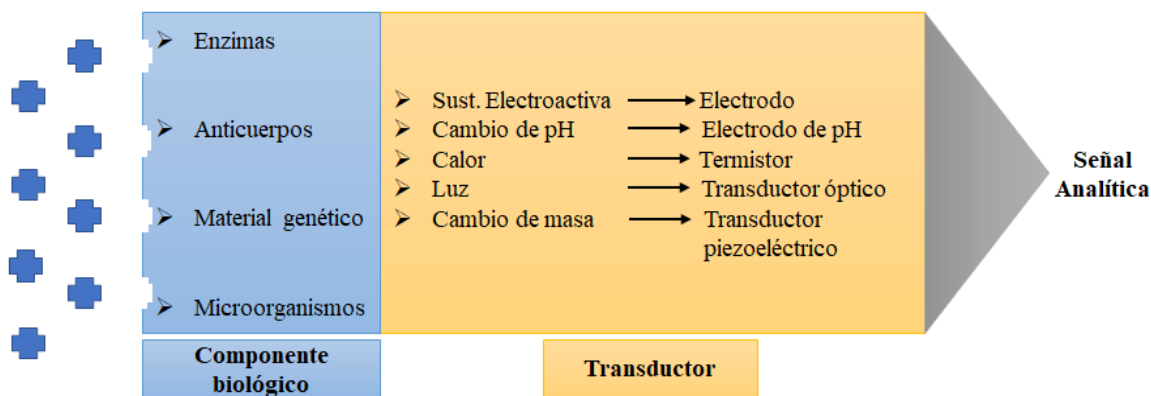


Figura 8. Esquema genérico de los biosensores.

La clasificación de los sensores y biosensores se realiza dependiendo de ciertos criterios, el más común es por el tipo de transductor utilizado (Tabla 2).

¹³ A.K. Turner, Isao. Biosensor: fundamentals and applications, ed. O.U. Press., New York (1987).

Ópticos	Transforman los cambios producidos en una señal óptica por la interacción de un analito con un receptor
Electroquímicos	La señal transformada es debida a una interacción electroquímica entre el analito y el electrodo
Térmicos	Son dispositivos capaces de medir el cambio de calor sobre la superficie del electrodo
Pizeoeléctricos	Son dispositivos que transforman un cambio de masa que se da sobre el electrodo modificado con materiales con propiedades pie

Tabla 2. Clasificación de sensores químicos y biosensores según el transductor utilizado.

A) Sensores electroquímicos

Bajo la denominación de sensores electroquímicos se agrupan tres tipos de sensores¹⁴:

- potenciométricos
- conductímetros
- amperométricos

Los sensores potenciométricos son aquellos en los cuales la señal primaria se obtiene a partir de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento, obteniendo como lectura un potencial eléctrico, cuya medida se realiza normalmente a intensidad nula con ayuda de un elemento adicional denominado electrodo de referencia¹³.

Los sensores amperométricos se basan en la aplicación de un potencial fijo sobre un electrodo de trabajo, generalmente de platino, oro o grafito, respecto a un electrodo de referencia

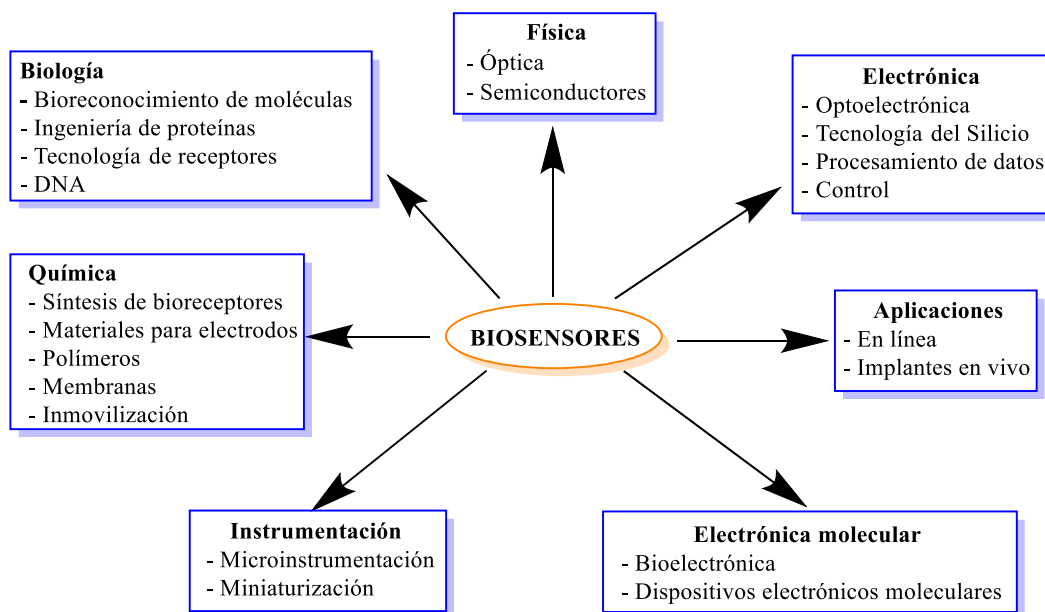
Los biosensores amperométricos son los que han mostrado un mayor avance debido a su extensa aplicación dentro del campo del análisis médico. Ejemplos significativos de estos avances son los biosensores para medidas en sangre y suero.

B) Biosensores

Los biosensores son dispositivos que proporcionan información cualitativa, cuantitativa o semicuantitativa del medio ambiente que lo rodea a partir de reacciones

¹⁴ Alegret, S., del Valle, M., & Merkoçi, A. (2004). *Sensores electroquímicos: introducción a los quimiosensores y biosensores: curso teórico-práctico* (Vol. 147). Univ. Autònoma de Barcelona.

bioquímicas específicas. De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés), un biosensor es un dispositivo que usa reacciones bioquímicas específicas mediadas por receptores biológicos como: enzimas, anticuerpos, organelos, tejidos o células completas para detectar compuestos químicos usualmente por señales eléctricas, térmicas u ópticas¹⁵.



Esquema 5. Aplicaciones de los biosensores.

Los receptores biológicos funcionan como elementos de reconocimiento, es decir, entran en contacto directo con el compuesto químico de nuestro interés (llamado analito), generando un cambio particular, esta señal es tomada por transductor y lo convierte en una señal fácilmente medible. En algunas ocasiones, entre el elemento de reconocimiento y el transductor se coloca un tercer componente conocido como la interfase, su finalidad es amplificar la señal o brindar mayor estabilidad al dispositivo (Figura 9).

¹⁵ FLORINEL-GABRIEL, Banica. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*, First Edition. JohnWiley & Sons, 2012.

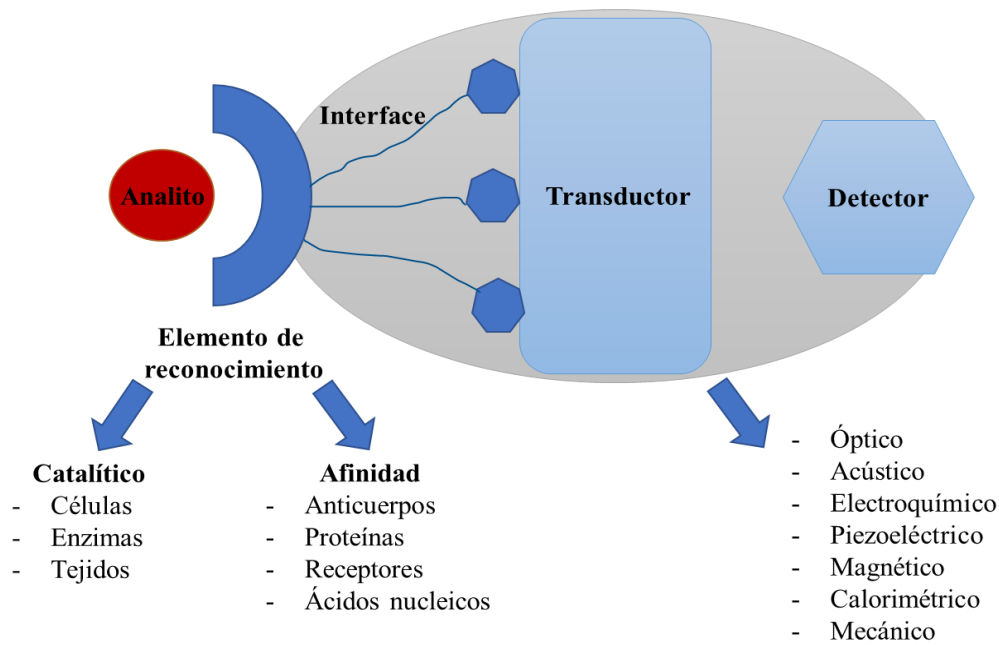


Figura 9. Representación esquemática de un biosensor¹⁶

C) Receptores biológicos

Un receptor biológico¹⁷ es definido como una fracción estructural de un biopolímero (enzima, ácido nucleico, etc.) que generalmente se encuentra en las membranas celulares y estas reciben constantemente estímulos eléctricos y químicos a fin de controlar el transporte de las moléculas al interior de las células, además transforma regularmente unas moléculas en otras. Con la finalidad de ligarse a un compuesto endógeno o exógeno, para iniciar una respuesta celular.

Existen diferentes tipos de bioreceptores que se pueden inmovilizar sobre transductores electroquímicos como:

- Anticuerpos
- Ácidos nucleicos
- Microorganismos

¹⁶ Torres Ramírez, Eduardo, Alia Méndez Albores "**Biosensores enzimáticos**" Revista Digital Universitaria [en línea]. 1 de noviembre de 2014, Vol. 15, No.11 [Consultada:]. Disponible en Internet: <<http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art97/index.html>> ISSN: 1607-6079.

¹⁷ Laura Cristina C. P. (2007). Síntesis, caracterización estructural y termodinámica de cavidades moleculares derivadas de 1,3-fenilendimina, como prospectos biomiméticos de receptores biológicos [Título profesional, Instituto politécnico nacional] Laura-tesis (ipn.mx).

- Enzimas
- Tejidos

- **Anticuerpos**

Los anticuerpos son de los agentes biológicos más selectivos que existen, debido a su estructura tridimensional que puede enlazarse con un antígeno de manera muy selectiva.

En los últimos diez años, se han realizado grandes esfuerzos para desarrollar inmunosensores de esta especie¹⁸. Desafortunadamente este tipo de materiales para aplicaciones en la fabricación de biosensores no cuenta con una capacidad catalítica,¹⁹ lo que implica el uso de anticuerpos o antígenos marcados, con un isótopo radiactivo, enzimas, partículas luminiscentes, etc.

- **Ácidos nucleicos**

Los ácidos nucleicos presentan una alta selectividad sobre los pares de bases (adenina/timina y citosina/guanina) distribuidas a lo largo de la doble hélice que forma la cadena de ADN lo convierte en un material de interés para la fabricación de los biosensores.

Como en otros biosensores, las cadenas cortas de ADN (sADN) están inmovilizadas sobre superficies en forma de electrodos, chips o cristales según el tipo de transductor utilizado. La hibridación de esta molécula inmovilizada con su par es detectada por el transductor. Como en el caso de los anticuerpos, este tipo de material no tiene capacidad catalítica, por lo tanto, su detección necesita ser marcado²⁰. En el caso de utilizar transductores amperométricos, éstos suelen estar modificados con enzimas. Este tipo de detección es muy reciente, debido a esto no se ha podido aprovechar el gran potencial^{21,22}.

¹⁸ Pastorino, L., Soumetz, F. C., Giacomini, M., & Ruggiero, C. (2006). Development of a piezoelectric immunosensor for the measurement of paclitaxel. *Journal of immunological methods*, 313(1-2), 191-198.

¹⁹ Valero, M. L., Camarero, J. A., Haack, T., Mateu, M. G., Domingo, E., Giralt, E., & Andreu, D. (2000). Native-like cyclic peptide models of a viral antigenic site: finding a balance between rigidity and flexibility. *Journal of Molecular Recognition*, 13(1), 5-13.

²⁰ Eiggins, B. R. (2002). *Chemical sensors and biosensors* (Vol. 2). John Wiley & Sons.

²¹ Zhai, J., Cui, H., & Yang, R. (1997). DNA based biosensors. *Biotechnology advances*, 15(1), 43-58.

²² Zhang, S., Wright, G., & Yang, Y. (2000). Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction. *Biosensors and Bioelectronics*, 15(5-6), 273-282.

- **Microorganismos**

Los microorganismos pueden asimilar compuestos orgánicos y generar un cambio que es detectado por el transductor. En diferentes publicaciones se utilizan sensores amperométricos con microorganismos inmovilizados para el control de calidad de las aguas residuales^{23, 24}.

- **Tejidos orgánicos celulares**

Los tejidos orgánicos pueden ser utilizados como elemento de reconocimiento con nula o ninguna preparación. Al contener una gran variedad de enzimas inmovilizadas no son tan selectivos como otros materiales biológicos. Sin embargo, una de sus grandes ventajas es que se encuentra en su medio natural y es más difícil su degradación, lo que incrementa el tiempo de vida del biosensor.

- **Enzimas**

Las enzimas son proteínas capaces de catalizar una reacción química, estas reaccionan de manera selectiva con el analito o familia de analitos, acelerando la reacción química sin consumirse.

La actividad enzimática, está regulada por el pH del medio, la fuerza iónica, la temperatura, y en algunos casos requiere la presencia de un cofactor. El cofactor es un producto químico no proteico necesario para que la reacción enzimática se lleve a cabo, por ejemplo, NAD⁺ u oxígeno.

Las enzimas están conformadas por una estructura tridimensional compuesta por péptidos, con una zona activa que reacciona con el sustrato. Esta zona activa, que confiere especificidad a la enzima, suele estar situada en el interior del enzima.

Existen diferentes tipos de enzimas (Tabla 3), clasificados según el tipo de reacción que llevan a cabo.

²³ Vaiopoulou, E., Melidis, P., Kampragou, E., & Aivasidis, A. (2005). On-line load monitoring of wastewaters with a respirographic microbial sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(2), 365-371.

²⁴ Ruan, C., Yang, L., & Li, Y. (2002). Rapid detection of viable *Salmonella typhimurium* in a selective medium by monitoring oxygen consumption with electrochemical cyclic voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 519(1-2), 33-38.

Tabla 3. Clasificación de las enzimas según el tipo de reacción.	
Nombre de enzima	Características
Transferasas	Catalizan la transferencia de un grupo químico de un sustrato a otro.
Hidrolasas	Catalizan reacciones donde se involucre la hidrólisis.
Liasas	Catalizan adiciones de grupos a dobles enlaces o formaciones de dobles enlaces por eliminación de grupos.
Isomerasas	Catalizan la Inter conversión de isómeros.
Ligasas	Catalizan la formación de enlaces C-C, C-S, C-O y C-N por reacciones de condensación acopladas a la hidrólisis de ATP.
Oxidoreductasas	Catalizan reacciones de oxidoreducción, es decir, transferencia de hidrógeno o electrones de un sustrato a otro.

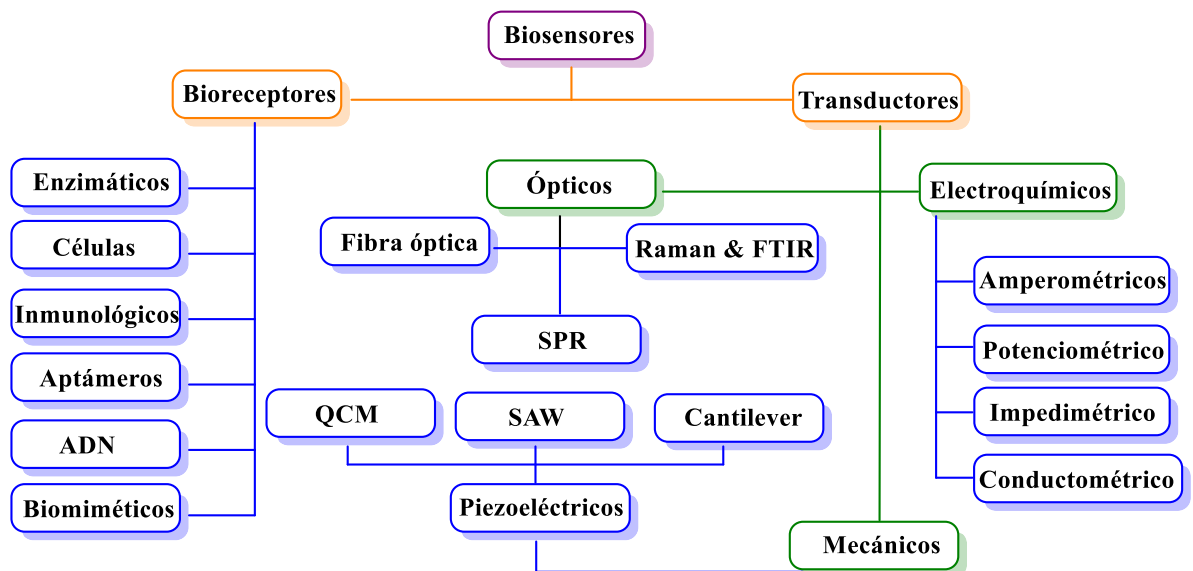
Debido a esta capacidad redox que presentan las enzimas oxidoreductasas, son el candidato ideal para su utilización como bioreceptores en biosensores amperométricos.

Las enzimas fueron los primeros bioreceptores utilizados, y siguen siendo hoy en día los más empleados para la fabricación de biosensores. Una de las grandes ventajas de la utilización de enzimas, a parte de su alta selectividad, es su menor tiempo de respuesta en relación con los otros tipos de biosensores. Como inconvenientes, se debe tener en cuenta que pierden actividad al ser inmovilizadas sobre la superficie del electrodo y tienen un tiempo de vida relativamente corto. Dos claros ejemplos de biosensores basados en enzimas son los utilizados para la determinación de glucosa^{25, 26} y urea²⁷.

²⁵Sulak, M. T., Gökdoğan, Ö., Gülce, A., & Gülce, H. (2006). Amperometric glucose biosensor based on gold-deposited polyvinylferrocene film on Pt electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(9), 1719-1726.

²⁶ De Benedetto, G. E., Palmisano, F., & Zambonin, P. G. (1996). One-step fabrication of a bienzyme glucose sensor based on glucose oxidase and peroxidase immobilized onto a poly (pyrrole) modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 11(10), 1001-1008.

²⁷ Adeloju, S. B., Shaw, S. J., & Wallace, G. G. (1996). Polypyrrole-based amperometric flow injection biosensor for urea. *Analytica Chimica Acta*, 323(1-3), 107-113.



Esquema 6. Clasificación general de los tipos de biosensores.

En la Tabla 10 se pueden observar la clasificación general de los biosensores, donde podemos observar que se dividen en seis categorías, los transductores en tres categorías (Electroquímicos, mecánicos y ópticos) que a su vez se subdividen en otras subcategorías²⁸.

²⁸ Mendoza-Madrigal, A. G., Chanona-Perez, J. J., Hernández-Sánchez, H., Palacios-González, E., Calderon-Dominguez, G., Mendez-Mendez, J. V., ... & Villa-Vargas, L. A. (2013). Biosensores mecanicos en el area biologica y alimentaria. *Revista mexicana de ingeniería química*, 12(2), 205-225.

Capítulo 3. El ferroceno

En el año 1973 se le concedió el premio nobel a los autores Ernst Otto Fischer junto con Sir Geoffrey Wilkinson gracias a los trabajos sobre la química de los compuestos organometálicos tipo “sandwich”.



Figura 10. Protagonistas de la historia del ferroceno: Peter L. Pauson, Ernst Otto Fischer, Geoffrey Wilkinson, and Robert B. Woodward.²⁹

3.1 Historia

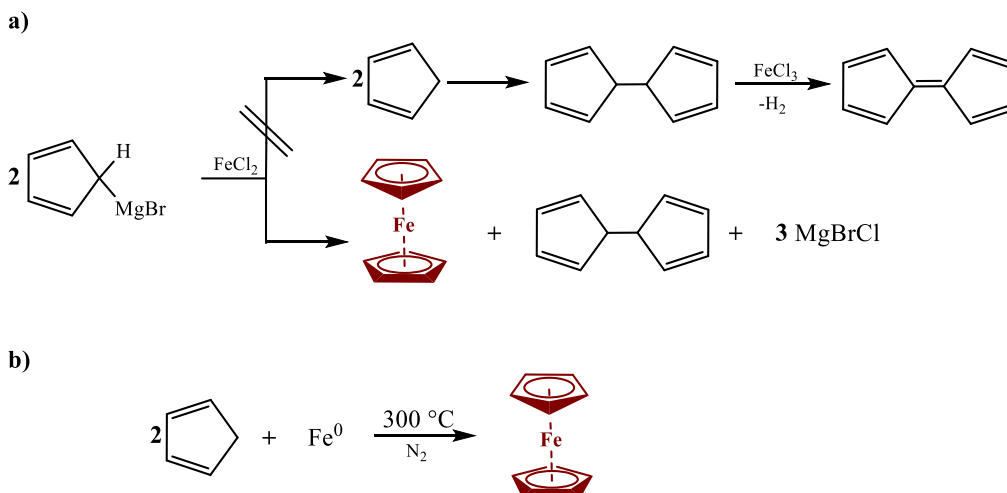
El biseiclopentadienilhierro (II) o mejor conocido como ferroceno fue sintetizado por Kealy y Pauson en 1951, debido a que buscaban la obtención del hidrocarburo fulvaleno a partir de la oxidación del bromuro de ciclopentadienil magnesio y cloruro férrico anhidro en éter, dio como resultado un compuesto estable cristalino de color anaranjado³⁰.

En su publicación ambos autores proponían una estructura que consistía en dos anillos planos de ciclopentadienilo unido a un átomo central de hierro, sin embargo Robert Woodward y sir Geoffrey Wilkinson determinaron que la estructura propuesta era incorrecta, ya que presentaba incoherencias en las propiedades químicas, mediante estudios de espectroscopia de infrarrojo, diamagnetismo y del momento dipolar se determinó que se trata de un compuesto con el metal centrado entre dos anillos ciclopentadienilo y alternos.

Años más tarde el investigador Woodward corroboró la aromaticidad del ferroceno mediante reacciones de sustitución Friedel-Crafts, y le otorgo el nombre de “Ferroceno” debido a su similitud con la molécula del benceno.

²⁹ Okuda, J. (2017). Ferrocene–65 Years After. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017(2), 217-219.

³⁰ Kealy, T. J., & Pauson, P. L. (1951). A new type of organo-iron compound. *Nature*, 168(4285), 1039-1040.

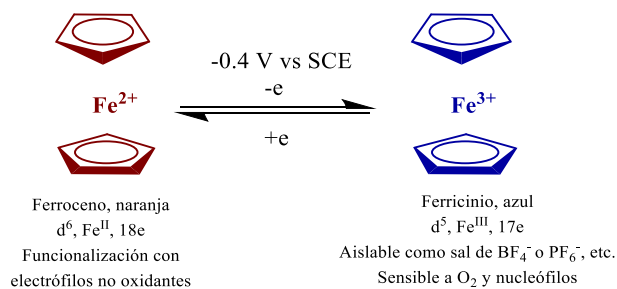


Esquema 7. Síntesis del ferroceno.

3.2 Propiedades

a) Físicoquímicas

El ferroceno es un compuesto sólido, color naranja, que puede presentarse como un cristal anaranjado o un polvo naranja-amarillo³¹, tiene un punto de fusión entre 173-174 °C, es insoluble en agua, pero es soluble en disolventes orgánicos tales como alcohol, éter etílico, benceno. Las distancias interatómicas entre los enlaces C-C de 1.42 Å, Fe-ciclopentadienilo 1.65 Å y Fe-C 2.04 Å³². Su oxidación es leve y reversible alrededor de +0,4 V frente al electrodo saturado de Calomel (SCE), (Figura 2).



Esquema 8. Oxidación del ferroceno.

³¹National Toxicology Program. Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health (NTP). 1992. *National Toxicology Program Chemical Repository Database*. Research Triangle Park, North Carolina.

³² Seiler, P., & Dunitz, J. D. (1982). Low-temperature crystallization of orthorhombic ferrocene: structure analysis at 98 K. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 38(6), 1741-1745.

Es objeto de estudio debido a su alta estabilidad térmica, fácil funcionalización y sus propiedades redox.

b) Electroquímicas

El ferroceno es una molécula neutra que es soluble en distintos disolventes orgánicos. Se oxida fácilmente y de forma reversible forma al catión ferrocenio en condiciones ambientales por medios químicos o electroquímicos.

El potencial redox para el par ferroceno/ferrocenio depende del disolvente utilizado y es $E_0=0,31$ V frente al electrodo de calomel saturado (SCE) en acetonitrilo³³ (Figura 11).

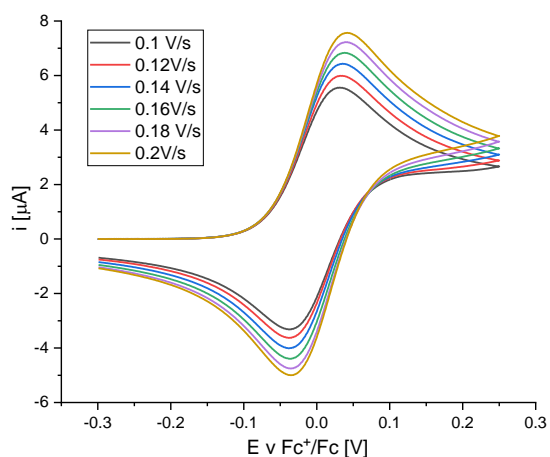


Figura 11. Voltamperometría cíclica de Ferroceno [2 mM] BAHFP como electrolito soporte [0.1 M] en acetonitrilo. Arreglo de tres electrodos: Electrodo de carbón vítreo de $r=0.05155$ cm (ET), alambre de platino de área equivalente (EA) y electrodo de Ag/AgCl (ER).³⁴

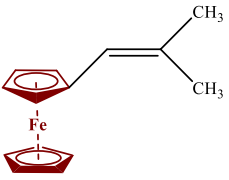
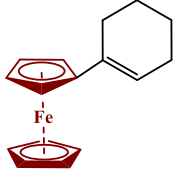
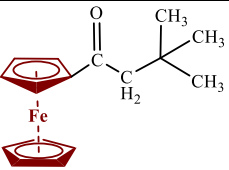
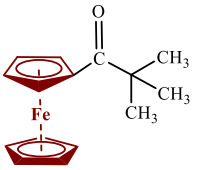
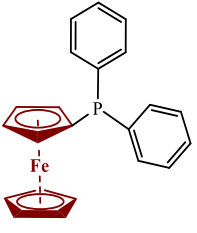
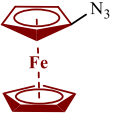
Debido a su reversibilidad electroquímica, el par ferroceno/ferrocenio se utiliza a menudo como referencia interna junto con un pseudoelectrodo de referencia (por ejemplo, un hilo de platino sumergido en el electrolito) en muchos sistemas orgánicos en los que no se dispone de un electrodo de referencia adecuado³⁵.

³³ N.J. Long, *Metalloenes – An Introduction to Sandwich Complexes*. Blackwell Science: London, UK (1998)

³⁴ García David.

³⁵ Connelly, N. G., & Geiger, W. E. (1996). Chemical redox agents for organometallic chemistry. *Chemical Reviews*, 96(2), 877-910.

El potencial de oxidación del par ferroceno/ferrocenio cambia según la naturaleza y el número de sustituyentes (Tabla 4)³⁶.

Tabla 4. Diferencia de potencial de derivados del ferroceno en función de número de sustituyentes.			
Clase	Estructura	Compuesto	Potencial de oxidación
A	Fc-C(Y)=Z		-0.025
			-0.005
B	Fc-COY		0.245
			0.255
C	FcX		0.06
			0.125

³⁶ Silva, M. E. N., Pombeiro, A. J., da Silva, J. J. F., Herrmann, R., Deus, N., & Bozak, R. E. (1994). Redox potential and substituent effects in ferrocene derivatives: II. *Journal of organometallic chemistry*, 480(1-2), 81-90.

El efecto del sustituyente es importante en el diseño de las moléculas receptoras para que el valor de E° sea un parámetro disponible para la selección del rango de potencial de trabajo del sensor, sin embargo, debe señalarse que debido a que el efecto del sustituyente está presente tanto en el receptor libre como en las formas complejas de la molécula, no hace ninguna contribución neta al desplazamiento del potencial a menos que la unión del huésped conduzca a un cambio adicional en la electrofilia del sustituyente.

Un acontecimiento inevitable cuando el sustituyente pasa de las formas no complejas a las formas complejas con el huésped. La importancia práctica de este cambio depende de la magnitud, de la influencia del huésped complejado en la electrofilia del sustituyente.

En el caso de los receptores de ferroceno, el sustituyente combina el grupo espaciador y la fracción del receptor, debido a su mayor proximidad al centro del ferroceno, el grupo espaciador ejerce una mayor influencia que la fracción del receptor en el potencial redox de la molécula libre del receptor. Sin embargo, cuando un huésped forma un complejo con la fracción receptora, la electrofilia del grupo espaciador puede cambiar en función de la naturaleza polarizante (donante o retrayente) y de la potencia del huésped, así como de la polarizabilidad del grupo espaciador (saturado o conjugado). Este es un factor especialmente importante y complicado que debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar receptores de ferroceno para detectar un huésped específico y debe tratarse en casos individuales.

La transferencia directa de electrones entre un electrodo y la molécula de enzima es cinéticamente difícil debido a la profunda ubicación del centro redox dentro de la gran enzima, que tiene un tamaño de unos pocos nanómetros. En estos casos, se necesita un mediador que transmita la transferencia de electrones desde el electrodo hasta el centro redox activo en el interior de la molécula de la enzima.

Las moléculas donantes de ferroceno se han utilizado ampliamente como mediadores de la transferencia de electrones. El éxito de la mediación requiere que el potencial redox del par ferroceno/ferrocenio de la molécula donante de ferroceno, $E^{\circ} \text{Fc}$, sea más positivo que el del par Ez^+/Ez de la enzima huésped, $E^{\circ} \text{Ez}$. Dado que el valor de $E^{\circ} \text{Fc}$ puede variarse significativamente cambiando la electrofilia de los sustituyentes, es posible utilizar moléculas donantes de ferroceno para sondear o detectar muchas enzimas y otras biomoléculas.

La voltamperometría de la transferencia de electrones mediada por el ferroceno se caracteriza por su único proceso electrocatalítico: la corriente del pico de oxidación de la solución de la enzima aumenta significativamente al añadir el compuesto donante de ferroceno. Si el voltamperograma se registra primero en la solución del compuesto donante de ferroceno, la adición de la enzima también puede dar lugar a algún cambio en la corriente, pero es más probable que desplace negativamente el potencial del pico de corriente de oxidación³⁷.

El reconocimiento molecular electroquímico de una especie huésped depende de cómo se realicen las interacciones intramoleculares entre el huésped complejoado y el centro redox.

La transferencia acoplada de electrones a huéspedes puede lograrse mediante la incorporación de centro(s) redox en la estructura del receptor cíclico o acíclico. En tales moléculas receptoras, tras la complejación del huésped, la transferencia de electrones hacia o desde el/los centro(s) redox está directamente influenciada por la presencia del huésped.

3.3 Aplicaciones del ferroceno

Una propiedad exclusiva del ferroceno es su capacidad de sufrir una oxidación reversible a ion ferricinio, a lo que contribuye el menor potencial de oxidación del ferroceno para perder un electrón, creando así dos estados redox estables (Fe(II)/Fe(III) para Fc/Fc⁺ respectivamente)³⁸. Esta propiedad hace que el ferroceno se utilice ampliamente como patrón interno en las mediciones electroquímicas³⁹. La estabilidad térmica y fotoquímica⁴⁰, la baja biotoxicidad⁴¹, la disponibilidad comercial y la estabilidad en condiciones aeróbicas y húmedas hacen del ferroceno una molécula de interés universal. Además, el ferroceno puede ser fácilmente funcionalizado en uno o ambos anillos Cp con sustituyentes idénticos o diferentes. Los derivados organometálicos que contienen ferroceno han sido objeto de

³⁷ Farrow, N. J., Sanghera, G. S., & Walters, S. J. (2002). The influence of structure in the reaction of electrochemically generated ferrocenium derivatives with reduced glucose oxidase. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (16), 3187-3194.

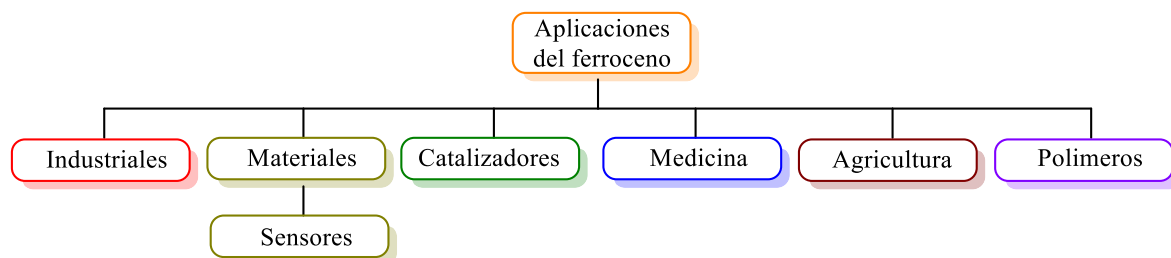
³⁸ Fabre, B. (2010). Ferrocene-terminated monolayers covalently bound to hydrogen-terminated silicon surfaces. Toward the development of charge storage and communication devices. *Accounts of chemical research*, 43(12), 1509-1518.

³⁹ Gagne, R. R., Koval, C. A., & Lisensky, G. C. (1980). Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. *Inorganic Chemistry*, 19(9), 2854-2855.

⁴⁰ Larik, F. A., Saeed, A., Fattah, T. A., Muqadar, U., & Channar, P. A. (2017). Recent advances in the synthesis, biological activities and various applications of ferrocene derivatives. *Applied Organometallic Chemistry*, 31(8), e3664.

⁴¹ Wu, J., Wang, L., Yu, H., Khan, R. U., & Haroon, M. (2017). Ferrocene-based redox-responsive polymer gels: Synthesis, structures and applications. *Journal of Organometallic Chemistry*, 828, 38-51.

estudio en las áreas de la biofísica, la ingeniería biomédica, los cristales líquidos conmutables⁴², la catálisis de velocidad de combustión, los biosensores⁴³, los quimiosensores^{44,45} los dispositivos electropticos, los medicamentos, la absorción de radiación, catalizadores, la bioelectrónica, etc (Esquema 9).



Esquema 9. Aplicaciones del ferroceno.

a) Medicina

Los derivados del ferroceno han despertado un gran interés como candidatos a fármacos anticancerígenos, antibacterianos, antifúngicos y antiparasitarios, fueron descubiertos en la década de 1990, los dos derivados más destacados, la ferroquina y el ferrocifeno⁴⁶, se han estudiado ampliamente para el tratamiento de la malaria y el cáncer, respectivamente. La fracción de ferroceno de estos dos compuestos participa en importantes modos de acción específicos del metal que contribuyen a la eficacia terapéutica global de las moléculas.

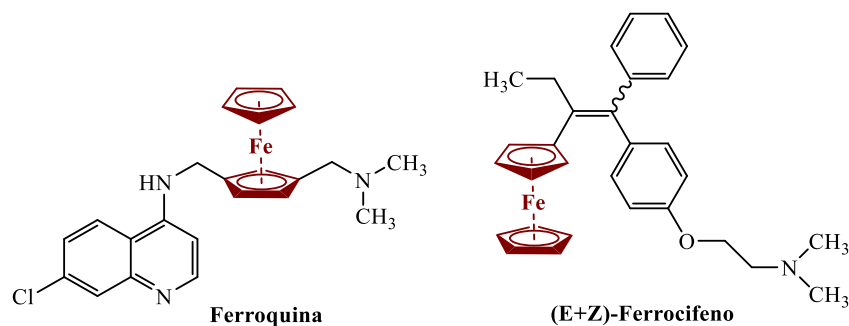


Figura 12. Derivados del ferroceno con propiedades farmacológicas.

⁴² Zhai, X., Yu, H., Wang, L., Deng, Z., Abdin, Z. U., Tong, R., ... & Saleem, M. (2016). Recent research progress in the synthesis, properties and applications of ferrocene-based derivatives and polymers with azobenzene. *Applied Organometallic Chemistry*, 30(2), 62-72.

⁴³ Wang, B., Takahashi, S., Du, X., & Anzai, J. I. (2014). Electrochemical biosensors based on ferroceneboronic acid and its derivatives: a review. *Biosensors*, 4(3), 243-256.

⁴⁴ Sun, R., Wang, L., Yu, H., Abdin, Z. U., Chen, Y., Huang, J., & Tong, R. (2014). Molecular recognition and sensing based on ferrocene derivatives and ferrocene-based polymers. *Organometallics*, 33(18), 4560-4573.

⁴⁵ Molina, P., Tárraga, A., & Caballero, A. (2008). Ferrocene-based small molecules for multichannel molecular recognition of cations and anions. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2008(22), 3401-3417.

⁴⁶ Sánchez Moreno, B. (2019). Derivados del ferroceno como agente antitumoral.

b) Polímeros

Los polímeros basados en ferroceno tienen muchas aplicaciones en biosensores amperométricos (Figura 13), inmunosensores para proteínas, ADN y antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), así como sensores de monóxido de carbono. Además, pueden utilizarse en la construcción de dispositivos lógicos ópticos.⁴⁷

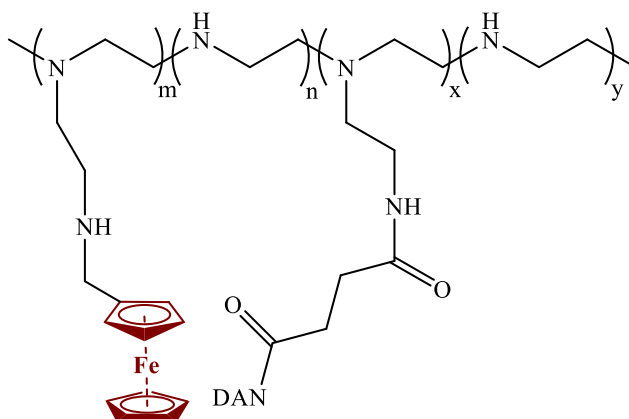


Figura 13. Estructura química del PEI-Fc-NAD.

c) Catálisis

Los ligandos quirales de ferroceno se han utilizado ampliamente en la catálisis asimétrica⁴⁸. Algunos de ellos han desempeñado un papel clave en el desarrollo de importantes sistemas catalíticos en procesos industriales. Un ejemplo típico son las 10.000 toneladas de herbicida que se producen al año utilizando un ligando de ferroceno bidentado P,P⁴⁹

d) Industria

Una de las aplicaciones más importantes para las que se ha considerado este singular organometálico, es su uso como aditivo para promover la combustión sin humo de los

⁴⁷ Amer, W. A., Wang, L., Amin, A. M., Ma, L., & Yu, H. (2010). *Recent Progress in the Synthesis and Applications of Some Ferrocene Derivatives and Ferrocene-Based Polymers*. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 20(4)

⁴⁸ Dai, L.-X., Tu, T., You, S.-L., Deng, W.-P., & Hou, X.-L. (2003). *Asymmetric Catalysis with Chiral Ferrocene Ligands*. *Accounts of Chemical Research*, 36(9), 659–667.

⁴⁹ Review: (a) Borman, S. (1996). Researchers probe steps of taxol biosynthesis. *Chemical & engineering news*, 74(27), 27-29. (b) Blaser, H. U., & Spindler, F. (1997). Enantioselective catalysis for agrochemicals: the case history of the DUAL MAGNUM® herbicide. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 51(6), 297-299. (c) Imwinkelried, R. (1997). Catalytic asymmetric hydrogenation in the manufacture of d-biotin and dextromethorphan. *Chimia*, 51(6), 300-300.

combustibles^{50, 51, 52} (Figura 14). Las bajas concentraciones de ferroceno y sus derivados tienen un marcado efecto en la reducción de la formación de carbono en los aceites para calefacción doméstica y en los combustibles para aviones. Además, el ferroceno ha demostrado tener importantes propiedades antidetonantes en los combustibles para motores de encendido por chispa.

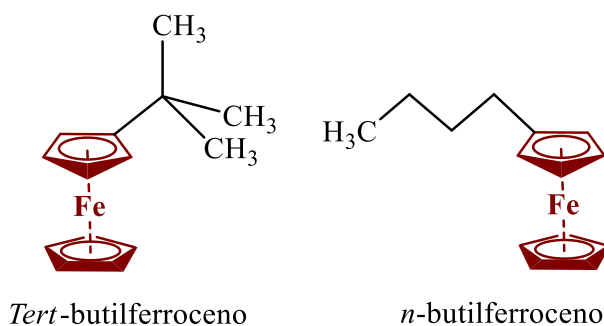


Figura 14. Catalizadores retardantes de combustión comerciales

e) Agricultura

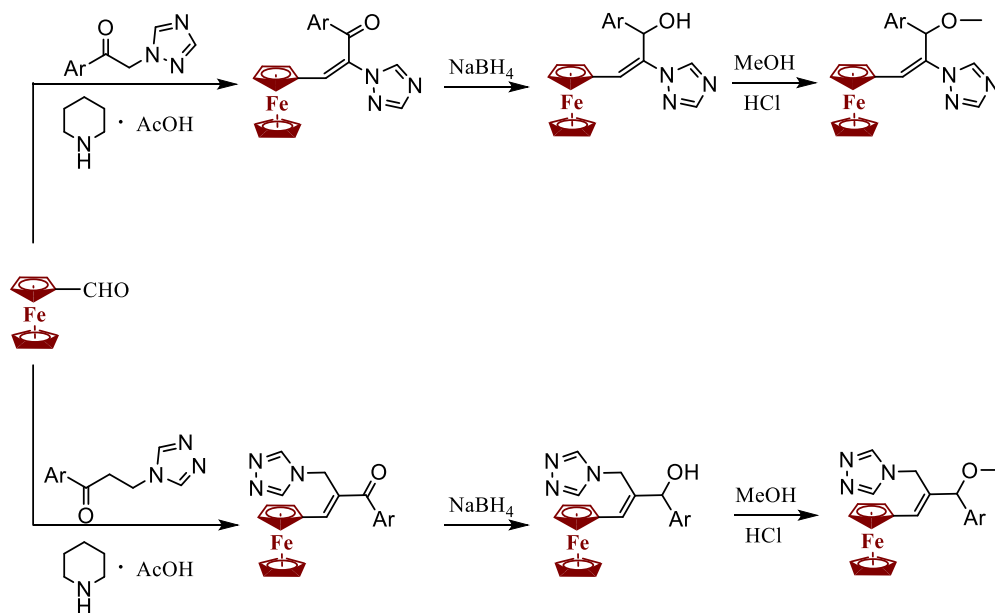
El ferroceno y sus derivados cuentan con numerosas aplicaciones en la agricultura, enfocados para la síntesis selectiva de agroquímicos. Además, pueden utilizarse como tensioactivos en la recuperación de suelos y como quimiosensores colorimétricos y electroquímicos selectivos para analitos de interés en la agricultura. Importantes agentes sistémicos con un amplio espectro de actividad fungicida contra los patógenos de las plantas son los derivados del 1H-1, 2,4-triazol⁵³, como los que se muestran en la Figura 15.

⁵⁰ Viktor, W. (1954). *U.S. Patent No. 2,694,721*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

⁵¹ Chemical Week, Jan. 22, 1956, p. 54.

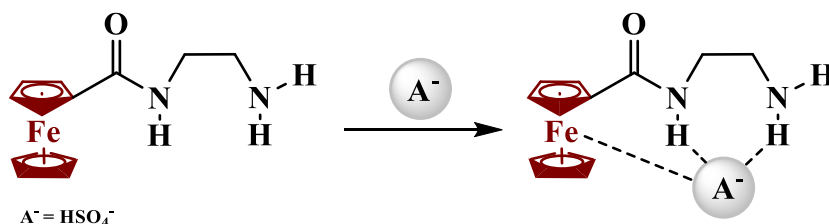
⁵² "Dicyclopentadienyliron" New Products Bulletin, E. I. du 77, 6205-7 (1955). Pont de Nemours & Co., May, 1955.

⁵³ Floris, B. (2015). Ferrocene in agriculture: from agrochemicals and soil remediation to selective chemosensors. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-14.



Esquema 9. Estrategias para la síntesis de agroquímicos a base de 1H-1,2,4-triazoles, partiendo de ferrocenilcarbaldehído.

Capítulo 4. Sensores basados en ferroceno



Esquema 10. Sensor basado en ferroceno con grupos N-H que interactúan selectivamente con HSO_4^- .⁵⁴

El ferroceno es uno de los centros redox que se utilizan para la fabricación de sensores, debido a la gran estabilidad que presenta la molécula, su reversibilidad y la facilidad que posee para funcionalizarse con una gran variedad de compuestos receptores.⁵⁵

4.1 Características generales de sensores ferrocenilicos

Las propiedades fisicoquímicas características del ferroceno han permitido el desarrollo de sensores electroquímicos. En la actualidad podemos encontrar artículos centrados en la aplicación del ferroceno como un constituyente de los electrodos y al mismo tiempo se ha analizado su comportamiento electroquímico.

El diseño de los biosensores y sensores generales basados en ferroceno requiere un control adecuado de sus características químicas y físicas, además de su inmovilización y funcionalización superficial⁵⁶. Las propiedades fotofísicas (brillo, fotoestabilidad, gama de longitudes de onda), las propiedades electroquímicas (cambio en el potencial redox o la intensidad de la corriente) y las propiedades bioquímicas (afinidad y especificidad por el

⁵⁴ Beer, P. D., Graydon, A. R., Johnson, A. O., & Smith, D. K. (1997). Neutral ferrocenoyl receptors for the selective recognition and sensing of anionic guests. *Inorganic chemistry*, 36(10), 2112-2118.

⁵⁵ Villar, R. (2004). Química supramolecular y de coordinación en el desarrollo de sensores químicos. *Educación química*, 15(4), 420-424.

⁵⁶ Beitollahi, H., Khalilzadeh, M. A., Tajik, S., Safaei, M., Zhang, K., Jang, H. W., & Shokouhimehr, M. (2020). *Recent Advances in Applications of Voltammetric Sensors Modified with Ferrocene and Its Derivatives*. *ACS Omega*.

metal objetivo) de los sensores, se debe de tener en cuenta una serie de factores influyentes para la fabricación de un sensor de potencial para acceder a las reservas de iones metálicos en diversos entornos. Por ejemplo, la concentración del sensor no debe exceder en gran medida la concentración de iones metálicos, de lo contrario, el sensor puede tomar todo el conjunto de iones metálicos. Además, para obtener la alta selectividad, la afinidad del sensor debe ser muy alta y la concentración es sustancial, entonces el sensor puede participar en el intercambio competitivo con los complejos metálicos endógenos unidos.⁵⁷

a) Sensor electroquímico para In (III)

En el año 2011 Cao y colaboradores, sintetizaron un sensor electroquímico basado de ferroceno para In³⁺ con amida y tiourea como sitios de unión (Figura 15), logrando obtener la difracción de rayos x para el producto sustituido con azufre (Figura 16). Entre varios iones metálicos, muestra cambios de señal electroquímica altamente selectivos para In³⁺ sobre otros iones metálicos⁵⁸.

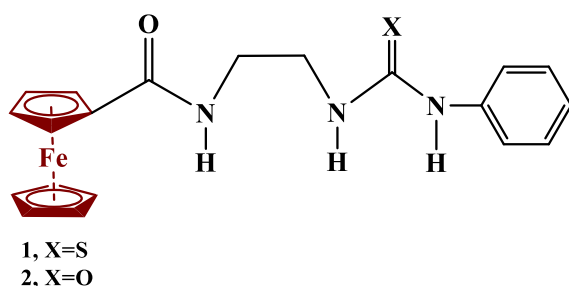


Figura 15. Sensor electroquímico basado en ferroceno para In³⁺.

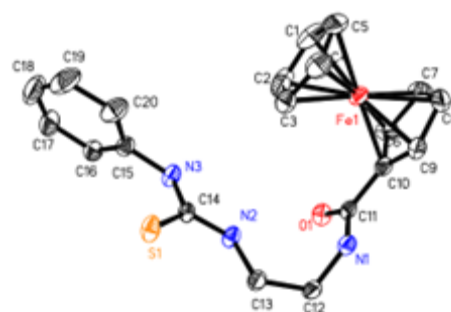


Figura 16. Difracción de rayos X del sensor electroquímico basado en ferroceno para In³⁺ sustituido con azufre.

El sensor sustituido con azufre (receptor 1) y su análogo sustituido con oxígeno (referencia 2), fueron obtenidos mediante la condensación de [((2-diaminoetil)aminocarbonil]

⁵⁷Pal, A., Bhatta, S. R., & Thakur, A. (2021). Recent advances in the development of ferrocene based electroactive small molecules for cation recognition: A comprehensive review of the years 2010–2020. *Coordination Chemistry Reviews*, 431, 213685.

⁵⁸Cao, Q. Y., Zhang, J. F., Ren, W. X., Choi, K., & Kim, J. S. (2011). Ferrocene-based novel electrochemical In³⁺ sensor. *Tetrahedron letters*, 52(34), 4464-4467.

ferroceno⁵⁹ con el mismo equivalente de isotiocianato de fenilo o isocianato de fenilo en presencia de trietilamina en solución de CH₂Cl₂.

Los VCs y DPVs de evolución de 1 tras la adición de varias cantidades de In³⁺ se muestran en la Figura 17. Tras la adición de In³⁺, el comportamiento electroquímico de 1 exhibe dos señales (una catódica y una anódica)^{60,61}, el potencial redox anódico de 1 está presente en 0.27 V mientras que al adicionar In³⁺ dicho potencial anódico ahora se observa en 0.38 V, lo cual se explica mediante la formación del complejo 1-In³⁺. La sustitución de la señal inicial por la nueva se completa tras la adición de 0.5 equivalentes de In³⁺, lo que indica una interacción 2:1 entre el receptor y el ion metálico (Esquema 11).

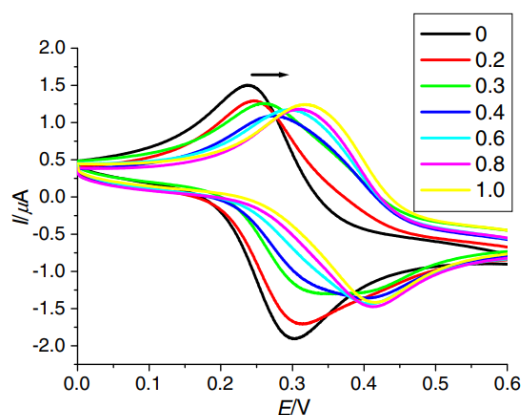
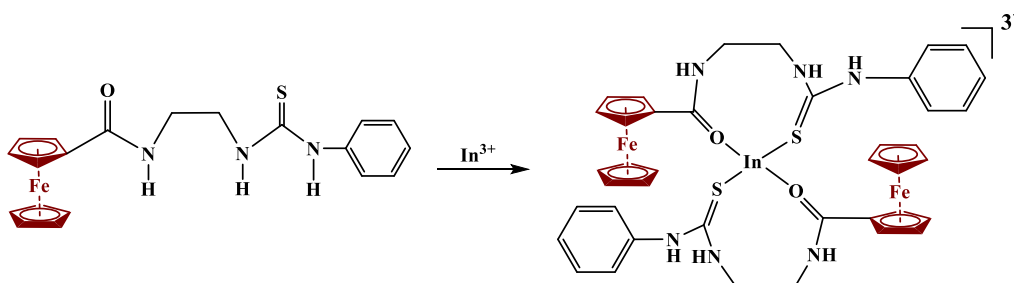


Figura 17. Voltamperograma cíclico del receptor selectivo a In³⁺.



Esquema 11. Receptor y ion metálico.

⁵⁹ Beer, P. D., Graydon, A. R., Johnson, A. O., & Smith, D. K. (1997). Neutral ferrocenoyl receptors for the selective recognition and sensing of anionic guests. *Inorganic chemistry*, 36(10), 2112-2118.

⁶⁰ Zapata, F., Caballero, A., Tarraga, A., & Molina, P. (2010). Ferrocene-substituted nitrogen-rich ring systems as multichannel molecular chemosensors for anions in aqueous environment. *The Journal of Organic Chemistry*, 75(1), 162-169.

⁶¹ Labande, A., Ruiz, J., & Astruc, D. (2002). Supramolecular gold nanoparticles for the redox recognition of oxoanions: syntheses, titrations, stereoelectronic effects, and selectivity. *Journal of the American Chemical Society*, 124(8), 1782-1789.

Este receptor muestra una alta selectividad electroquímica hacia el In^{3+} a través de sus donantes O y S con un modo de complejación 2:1, acompañado de un desplazamiento al rojo en la espectroscopia de absorción UV-vis. Por lo tanto, el ferroceno con amida y tiourea como marco quimiosensor para la detección de iones In^{3+} es bastante interesante, y el diseño basado en el presente artículo puede ser modificado para construir sistemas más desarrollados para otros iones metálicos.

b) Sensor óptico-electroquímico para $\text{Hg}(\text{II})$

Se presenta la síntesis de un nuevo sensor basado en rodamina (B) con un sustituyente de ferroceno (Figura 18), se demostró que tiene una selectividad para el ion Hg^{2+} sobre otros iones metálicos (Figura 19). Los cambios de señalización múltiple se observan a través de la absorción UV/vis, la emisión de fluorescencia y las mediciones electroquímicas. Además, mediante experimentos de microscopía confocal de barrido láser, se demuestra que puede utilizarse como sonda fluorescente para monitorizar el Hg^{2+} en células vivas⁶².

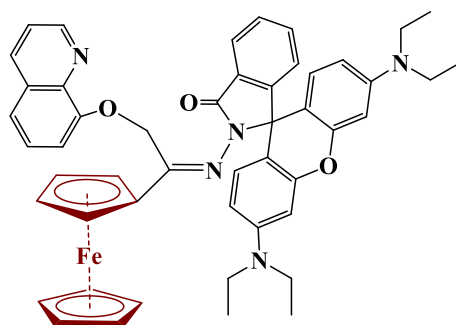


Figura 18. Sensor derivado de rodamina con sustituyente ferrocenilico.



Figura 19. Estudio de selectividad y fluorescencia del sensor selectivo de Hg^{2+} .

⁶²Yang, H., Zhou, Z., Huang, K., Yu, M., Li, F., Yi, T., & Huang, C. (2007). Multisignaling optical-electrochemical sensor for Hg^{2+} based on a rhodamine derivative with a ferrocene unit. *Organic Letters*, 9(23), 4729-4732.

El sensor selectivo de Hg^{2+} se sintetizó mediante una reacción de condensación entre un producto intermedio, la 1-ferroceno-2-(quinolin-8-il-oxi)etanona, y el grupo amino de la hidrazida de rodamina con un rendimiento del 75%. La estructura del sensor se confirmó mediante datos de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Espectrometría de masas EM.

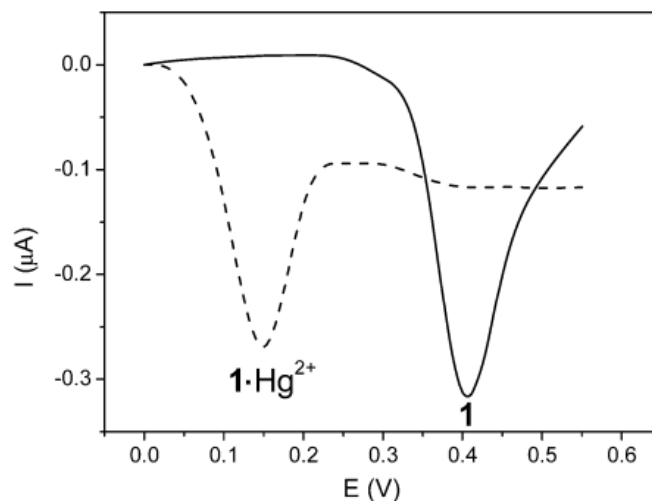


Figura 20. Voltamperograma diferencial de pulsos ($100\mu\text{M}$) en una solución de etanol en presencia de 1.3 equivalentes de Hg^{2+} con $n\text{-Bu}_4\text{NPF}_6$ como electrolito soporte.

Como se esperaba, el sensor muestra un cambio evidente en sus ciclos redox reversibles de ferroceno/ferricinio. Las curvas de voltamperometría diferencial de pulsos (VDP) del sensor de Hg^{2+} se registraron en una solución de etanol que contenía hexafluorofosfato de n-tetrabutilamonio $0,1\text{ M}$ ($n\text{-Bu}_4\text{NPF}_6$) como electrolito de soporte en ausencia y presencia de Hg^{2+} . Como se muestra en la Figura 20 tras la adición de Hg^{2+} , se observó una clara evolución de la señal de oxidación (E_a) frente al decametilferroceno de $0,40$ a $0,15\text{ V}$.

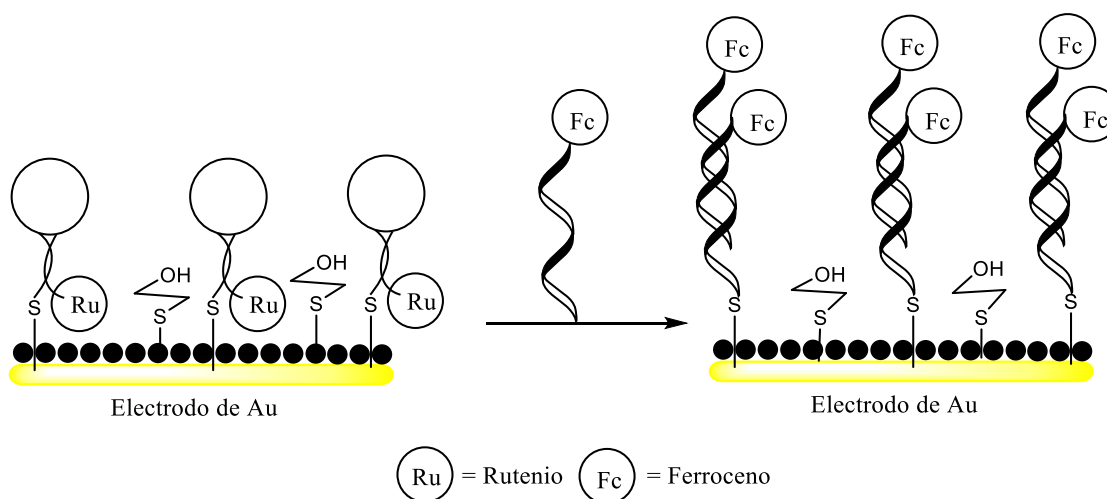
Las características estructurales de las moléculas de rodamina y ferroceno en esta sonda desempeñan un papel muy importante en el diseño del quimiosensor de señalización múltiple.

c) Sensor electroquimioluminiscente de ADN basado en “Quenching”

Se presenta un nuevo sensor electro quimioluminiscente de ADN con alta sensibilidad y gran selectividad mediante la combinación de la mejora en la señal de nanopartículas de oro y el proceso de quenching de la señal luminiscente asociada al ferroceno.

El sensor ECL-ADN se fabricó utilizando un complejo de rutenio modificado como sonda de captura. La sonda de ADN utilizada fue sintetizada a medida para tener seis bases

complementarias en ambos extremos. Como primer paso el ADN de la sonda se autoensambló en la superficie del nanoelectrodo de oro por medio de una unión oro-tiol, seguida de una pasivación con 2-mercaptoetanol (ME) para desplazar los oligonucleótidos unidos inespecíficamente y mantener la superficie sin ensamblar. En segundo lugar, el electrodo modificado se sumergió en una solución de alta fuerza iónica para formar una estructura de bucle de tallo. La etiqueta ECL se mantuvo muy cerca de la superficie del electrodo y dio lugar a una alta señal ECL, como se muestra en el Esquema 12⁶³.



Esquema 12. Ilustración del sensor ECL-DNA basado en la mejora de la señal de nano oro y el quenching del ferroceno.

El ADN2 marcado con ferroceno (ADN2-Fc) se sintetizó de acuerdo con la literatura (Takenaka et al., 1994) con pocas modificaciones⁶⁴.

Los experimentos de Voltamperometría Cíclica (VC) del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ se realizaron para monitorear el proceso de modificación del electrodo y el proceso de hibridación de ADN.

En la Figura 21 muestra la voltamperometría cíclica del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4/3}$ en el nano-electrodo de oro en diferentes etapas. Cuando el nanoelectrodo de oro se modificó con una solución de pDNA-Ru 1 mM (10 mM PBS, 0,1 M NaCl, 5 mM MgCl_2 , 1 mM TCEP, pH 7,4) durante 18

⁶³ Yao, W., Wang, L., Wang, H., Zhang, X., Li, L., Zhang, N., ... & Xing, N. (2013). An electrochemiluminescent DNA sensor based on nano-gold enhancement and ferrocene quenching. *Biosensors and Bioelectronics*, 40(1), 356-361.

⁶⁴Takenaka, S., Uto, Y., Kondo, H., Ihara, T., & Takagi, M. (1994). Electrochemically active DNA probes: detection of target DNA sequences at femtomole level by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical biochemistry*, 218(2), 436-443.

horas a temperatura ambiente, las corrientes de pico de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4/3}$ disminuyeron y la diferencia de potencial de pico (ΔE) aumentó notablemente en comparación con las del nanoelectrodo de oro sin modificar.

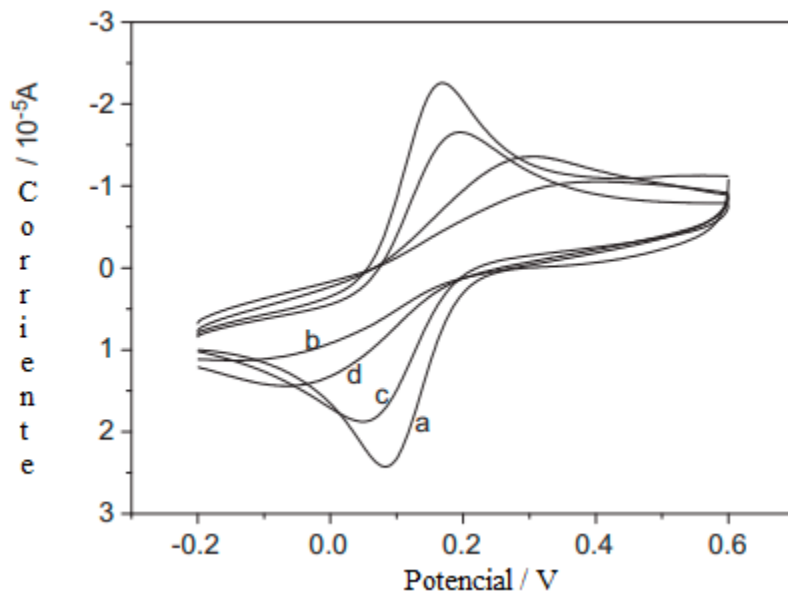


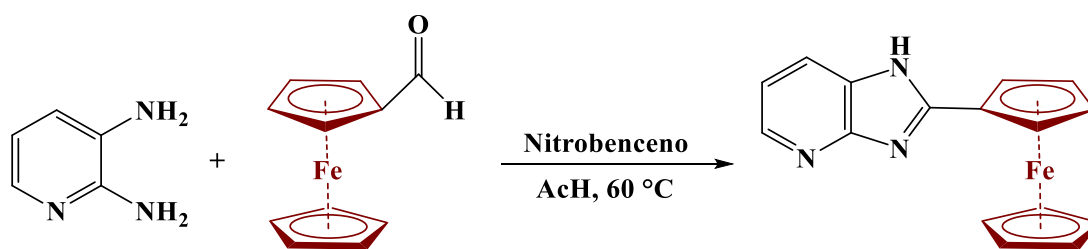
Figura 21. Voltamperometría cíclica de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ en KCl a pH=7.2 (buffer de fosfatos) con nanoelectrodo de oro con diferentes modificaciones.

Los procesos de modificación del electrodo y el procedimiento de hibridación se caracterizaron mediante VC y EIS. A diferencia de otros sensores ECL-ADN, el sensor ECL-ADN descrito aquí integró tanto el realce de nano-oro como consecuencia quenching del ferroceno, lo que resultó en una mejora significativa de la sensibilidad. Además, el principio del sensor ECL-ADN también se discutió a fondo. El sensor ECL-ADN descrito puede proporcionar un enfoque alternativo para la detección ECL de ADN en el diagnóstico y el análisis de genes.

d) Sensores de triple canal de iones de $\text{Pb}(\text{II})$

Una nueva molécula quimiosensora redox, cromogénica y fluorescente basada en un anillo de diazapurina detecta selectivamente el Pb^{2+} acuoso en acetonitrilo frente a otros iones

metálicos examinados. Se presentó un cambio de color pasando de ser incoloro a naranja y un cambio de emisión de 620 veces, con un límite de detección sin precedentes de 2,7 $\mu\text{g/L}$.⁶⁵



Esquema 13. Síntesis del 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina.

En el Esquema 13 podemos observar el método de síntesis del compuesto 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina, el cual fue estudiado para desarrollar un sistema de canal triple, donde el indicador fluorescente está integrado y la unidad redox está unida al sitio de unión del catión huésped. A pesar de su fácil síntesis⁶⁶ sus propiedades fotofísicas⁶⁷ y sus aplicaciones biológicas⁶⁸ las imidazo[4,5-*b*]piridinas y (1- diazapurinas) nunca se han utilizado con fines de detección, hasta donde se sabe.

El compuesto 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina, presenta un proceso de oxidación reversible de un electrón a $E_{1/2} = 0.59$ V frente al decametilferroceno, debido al par redox ferroceno/ferrocenio (Figura 22). Al añadir por etapas iones Pb^{2+} , se observó una clara evolución del potencial de oxidación hasta $E_{1/2} = 0.74$ V obteniendo $\Delta E_{1/2} = 0.15$ V, y la máxima perturbación del voltamperograma cíclico (VC) se obtuvo con 1 equivalentes de iones Pb^{2+} añadidos. También mostró una perturbación de la señal de oxidación en presencia de iones Zn^{2+} y Hg^{2+} .

⁶⁵ Zapata, F., Caballero, A., Espinosa, A., Tárraga, A., & Molina, P. (2008). Triple channel sensing of Pb (II) ions by a simple multiresponsive ferrocene receptor having a 1-deazapurine backbone. *Organic Letters*, 10(1), 41-44.

⁶⁶ Yutilov, Y. M. (2005). Imidazopyridines: 1-and 3-deazapurines. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 89, 159-270.

⁶⁷ Adler, T. K. (1962). Fluorescence Properties of Mono-and Poly-azaindoles. *Analytical Chemistry*, 34(6), 685-689.

⁶⁸ Heitsch, H., Becker, R. H., Kleemann, H. W., & Wagner, A. (1997). 3N-Methylbiphenylsulfonyleurea and-carbamate substituted imidazo [4, 5-b] pyridines. Potent antagonists of the ANG II AT1 receptors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 5(4), 673-678.

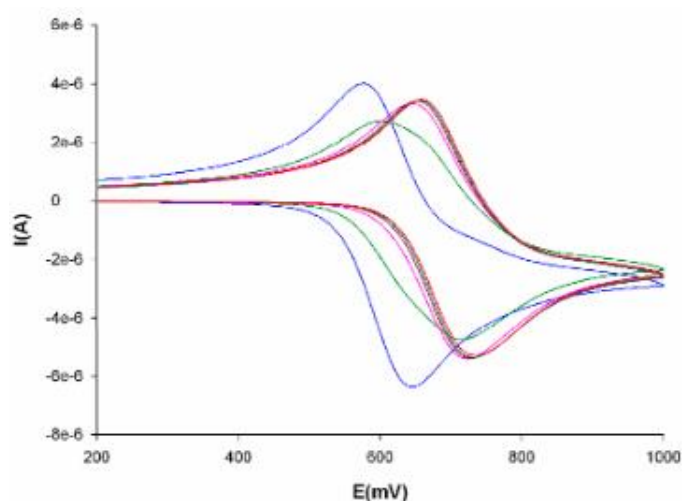


Figura 22. Evolución del voltamperograma cíclico del 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina (1mM) en CH₃CN/[*n*-Bu)₄]ClO₄ analizado a 0.1 V s⁻¹ en presencia de Zn²⁺.

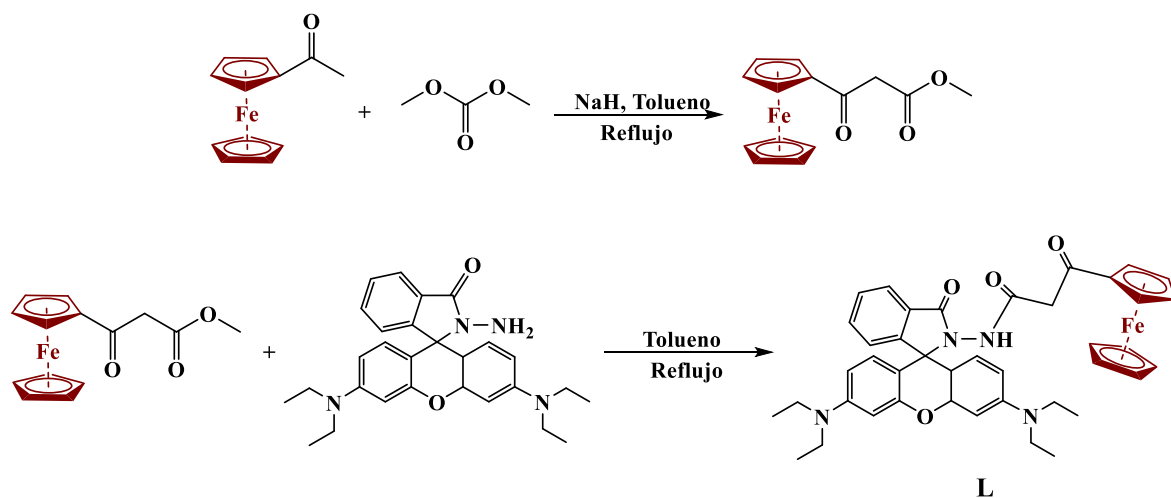
La 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina es un compuesto estructuralmente sencillo y de fácil sintetizar, no sólo muestra una fuerte interacción entre el anillo de azapurina y los iones Pb²⁺, sino que también distingue este catión metálico de otros iones metálicos, incluidos a los cationes competidores Hg²⁺ y Zn²⁺. Cabe destacar que la 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina, representa el primer ejemplo de una molécula quimiosensora de Pb²⁺ que combina la detección redox y la sensibilidad de la fluorescencia (2,7 µg L⁻¹) con la comodidad de un ensayo colorimétrico (Figura 23). Otra ventaja que ofrece **1** es que imita la interacción de las purinas naturales con los iones metálicos.



Figura 23. Características visuales observadas en soluciones de CH₃CN, 2-ferrocenilimidazo[4,5-*b*]piridina con Pb²⁺.

e) Sensor para monitoreo de Cu(II)

Fei Ge y *colaboradores*, reportaron un nuevo sensor de fluorescencia basada en la hidrazona de rodamina y una unidad de ferroceno para monitorear el nivel de Cu^{2+} intracelular en células vivas (Esquema 14). El sensor muestra una respuesta de fluorescencia hacia el Cu^{2+} bajo condiciones fisiológicas con alta sensibilidad y selectividad, facilita la detección a simple vista del Cu^{2+} .⁶⁹



Esquema 14. Síntesis del sensor fluorescente y colorimétrico de Cu^{2+} .

En el estudio de voltamperometría cíclica (VC) para el componente **L** se observó un proceso redox reversible de un solo electrón en torno a 0.65 V frente a Fc^+/Fc . No se observó ninguna perturbación de la VC al añadir iones metálicos alcalinos o terrestres, o iones metálicos Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ag^+ y Pb^{2+} . Además, se observó una evolución del pico de oxidación ($E_{1/2}$) frente a Fc^+/Fc de 0.596 V a 0.584 V al añadir 1.3 equivalentes de Cu^{2+} . La reversibilidad del par redox ferroceno/ferrocenio de **L** en presencia de 1.3 equivalentes de Cu^{2+} fue confirmada por la relación lineal entre las corrientes de pico y la raíz cuadrada de las velocidades de barrido (Figura 24b), la pequeña diferencia entre las corrientes de pico anódicas y catódicas, así como las pequeñas separaciones de potencial entre picos⁷⁰.

⁶⁹Ge, F., Ye, H., Luo, J. Z., Wang, S., Sun, Y. J., Zhao, B. X., & Miao, J. Y. (2013). A new fluorescent and colorimetric chemosensor for Cu (II) based on rhodamine hydrazone and ferrocene unit. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181, 215-220.

⁷⁰Huang, W., Song, C., He, C., Lv, G., Hu, X., Zhu, X., & Duan, C. (2009). Recognition preference of rhodamine-thiospirolactams for mercury (II) in aqueous solution. *Inorganic Chemistry*, 48(12), 5061-5072.

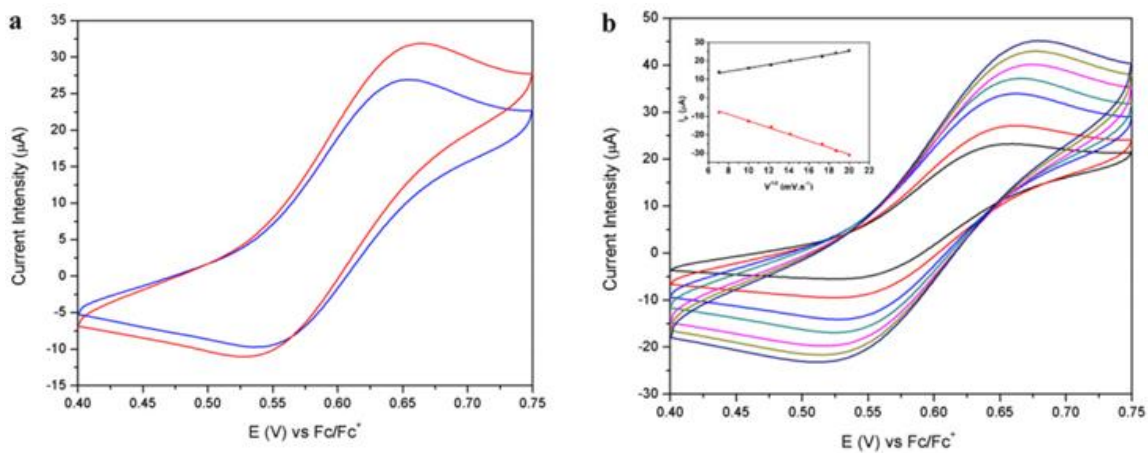


Figura 24. a) Voltamperometria cíclica (VC) de L (azul) y VC con 1.3 equivalentes de Cu²⁺ en CH₃CN:H₂O y b) VC's del compuestos de complejación L-Cu²⁺.

Capítulo 5. Biosensores de glucosa

La diabetes melitus es una de las enfermedades más antiguas reportadas en escritos que datan del siglo XV a.C. (papiro Ebers), donde se mencionan los síntomas que se presentaban.⁷¹ No fue hasta el año 1962 cuando Clark y Lyons muestran el primer electrodo enzimático para glucosa tomando como investigación previa el electrodo de Clark.⁷²



5.1 La glucosa

La glucosa es el carbohidrato más abundante en la naturaleza (Figura 25), también se le conoce como azúcar sanguínea, azúcar de uva, o dextrosa. Los animales obtienen glucosa al comer plantas o al comer alimentos que la contienen. Las plantas obtienen glucosa por un proceso llamado fotosíntesis. El organismo humano depende de niveles estables de glucosa en sangre para mantener sus necesidades metabólicas. La glucosa se considera como la fuente de energía más importante, partiendo de la glucólisis como la vía metabólica principal.⁷³

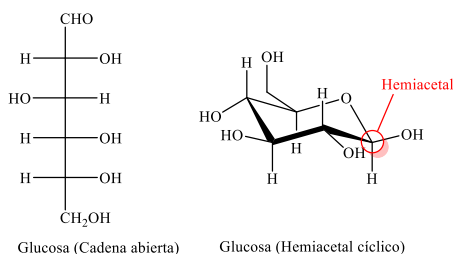


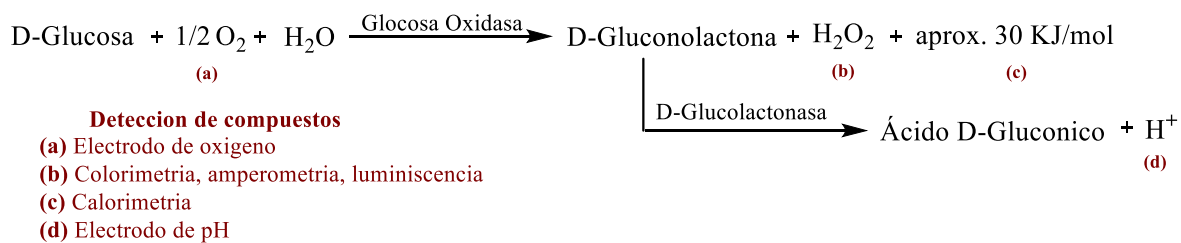
Figura 25. Estructuras de la glucosa.

⁷¹ Ramírez-Domínguez, S. E., Estrada-López, J. J., & López-Huerta, F. Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica.

⁷² Clark Jr, L. C., & Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of sciences*, 102(1), 29-45.

⁷³ Cherkas, Holota, Mdzinarashvili, Gabbianelli, & Zarkovic. (2020). *Glucose as a Major Antioxidant: When, What for and Why It Fails? Antioxidants*, 9(2), 140.

La glucosa cuenta con tres enzimas específicas conocidas como la glucosa oxidasa (GOx), la glucosa deshidrogenasa (GDH) y la glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G-6-PHD). La glucosa oxidasa es utilizada para aplicaciones analíticas, ya que oxida la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrogeno, con lo cual se obtiene un monitoreo de la glucosa (Esquema 15).⁷⁴



Esquema 15. Determinación de glucosa

La determinación de glucosa se realiza a través de la detección amperométrica del peróxido de hidrogeno generado, se puede llevar a cabo mediante el monitoreo del H₂O₂, o bien a través del monitoreo electroquímico de un mediador de la reacción enzimática de la peroxidasa.

5.2 Historia de los biosensores de glucosa

En la actualidad los biosensores de glucosa son lo más utilizados para la medición de azúcar en la sangre, sin embargo, el primer medidor no era un biosensor. Fue el Ames Reflectance Meter (ARM) (Figura 26) (Miles Laboratories, Elkhart, IN, USA) basado en un reflectómetro y el Dextrostix introducido en 1971. Dextrostix fue la primera tira de glucosa (Figura 27) en sangre estaba disponible desde 1965, y fue diseñada originalmente para mostrar los cambios de color^{75,76 77}; la muestra de sangre se lavaba suavemente después de un minuto, antes de insertar la tira en el medidor. Aunque el ARM era caro y de uso engorroso, sustituyó al analizador de glucosa Ames Eyetone. Las primeras versiones de los dispositivos de detección de glucosa se basaban en el reflectómetro.

⁷⁴ Wagner, G., & Schmid, R. D. (1990). Biosensors for food analysis. *Food Biotechnology*, 4(1), 215-240.

⁷⁵ Drury, M. I., Timoney, F. J., & Delaney, P. (1965). Dextrostix--A Rapid Method of Estimating Blood Glucose Levels. *Journal of the Irish Medical Association*, 56, 52-53.

⁷⁶ Jensen, M. S. (1965). Clinical tests with the dextrostix. A new method for rapid blood sugar determination. *Ugeskrift for Laeger*, 127(22), 709-712.

⁷⁷Korp, W. (1965). A new rapid blood-sugar determination at bedside (dextrostix). *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)*, 115, 435-437.



Figura 26. Ames Reflectance Meter (ARM).

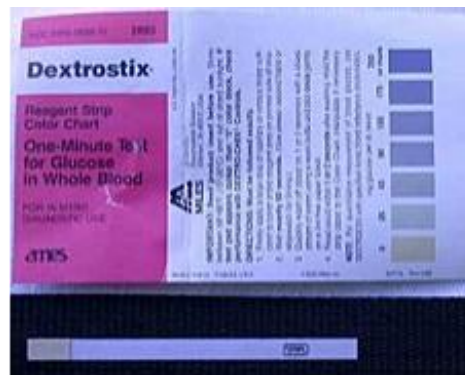


Figura 27. Primera tira de glucosa usada en la década de los 60's.

a) Primera generación de biosensores de glucosa

El concepto del biosensor para medir los niveles de glucosa fue propuesto por primera vez en 1962 por Clark y Lyons del Hospital Infantil de Cincinnati.⁷⁸ Este biosensor de glucosa estaba compuesto por un electrodo de oxígeno, una membrana interna semipermeable al oxígeno, una fina capa de Glucosa Oxidasa (GOx) y una membrana externa de diálisis. Las enzimas podían inmovilizarse en un detector electroquímico para formar un electrodo enzimático. La disminución de la concentración de oxígeno medida era proporcional a la concentración de glucosa.

Updike y Hicks simplificaron significativamente el ensayo electroquímico de la glucosa al inmovilizar el GOx^{79,80} con ayuda de un gel de poliacrilamida en un electrodo de oxígeno por primera vez y así logrando medir la concentración de glucosa en fluidos biológicos.⁸¹ El primer biosensor de glucosa comercialmente exitoso que utilizó la tecnología de Clark fue el analizador de Yellow Springs Instrument Company (Analizador YSI modelo 23A) para la medición directa de la glucosa en 1975, que se basaba en la detección amperométrica del peróxido de hidrógeno. Este analizador se utilizaba exclusivamente en los laboratorios clínicos debido a su elevado coste por el electrodo de platino.

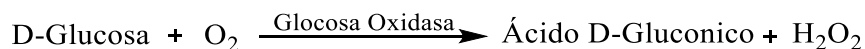
⁷⁸ Clark Jr, L. C., & Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of sciences*, 102(1), 29-45.

⁷⁹Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The enzyme electrode. *Nature*, 214(5092), 986-988.

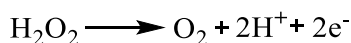
⁸⁰ Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). Reagentless substrate analysis with immobilized enzymes. *Science*, 158(3798), 270-272.

⁸¹ Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The enzyme electrode. *Nature*, 214(5092), 986-988.

Los biosensores de glucosa de primera generación se basaban en el uso de sustrato de oxígeno natural (Esquema 16) y en la detección del peróxido de hidrógeno producido (Esquema 17). Las mediciones de la formación de peróxido tienen la ventaja de ser más sencillas, especialmente cuando se consideran dispositivos en miniatura.⁸²



Esquema 16. Reacción de glucosa con oxígeno.



Esquema 17. Monitoreo de la liberación del peróxido de hidrogeno.

Sin embargo, el principal problema de la primera generación de biosensores de glucosa era que la medición amperométrica del peróxido de hidrógeno requería un alto potencial de operación para obtener una alta selectividad. A finales de la década de 1980 se dedicaron considerables esfuerzos a minimizar la interferencia de las especies electroactivas endógenas, como el ácido ascórbico, el ácido úrico y ciertos fármacos. Otro inconveniente era la restringida solubilidad del oxígeno en los fluidos biológicos, que producía fluctuaciones en la tensión de oxígeno, conocidas como "déficit de oxígeno".⁸³

b) Segunda generación de los biosensores

Las limitaciones mencionadas de los biosensores de glucosa de primera generación se superaron mediante el uso de biosensores de glucosa mediados, es decir, sensores de glucosa de segunda generación. Las mejoras se lograron sustituyendo el oxígeno por aceptores de electrones no fisiológicos, denominados mediadores redox, capaces de transportar electrones desde la enzima hasta la superficie del electrodo de trabajo.⁸²

La actualización de esta generación es formada por un mediador reducido en lugar del peróxido de hidrógeno, este mediador se reoxida en el electrodo, generando una señal amperométrica y regenerando la forma oxidada del mediador.⁸⁴

⁸² Wang, J. (2008). Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews*, 108(2), 814-825.

⁸³ Liu, J., & Wang, J. (2001). A novel improved design for the first-generation glucose biosensor. *Food technology and biotechnology*, 39(1), 55-58.

⁸⁴ Turner, A. P., Chen, B., & Piletsky, S. A. (1999). In vitro diagnostics in diabetes: meeting the challenge. *Clinical chemistry*, 45(9), 1596-1601.

Investigaciones reportadas en los años 80's y actuales han analizado algunos mediadores de electrones, los cuales muestran un mejor rendimiento del sensor algunos ejemplos de estos compuestos son: el ferroceno, ferrocianidina, quininas, tetratrafalvaleno (TTF), tetracianoquinodimetano (TCNQ), tionina, el azul de metileno y el metil viológeno (Figura 28).^{85,86,87,88}

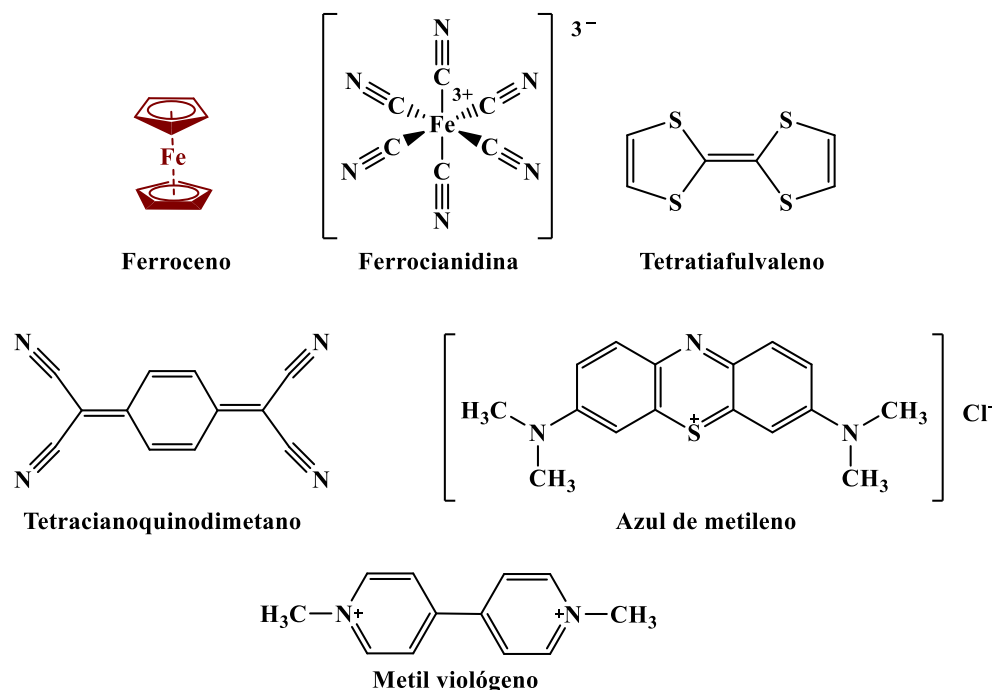


Figura 28. Mediadores de electrones.

El uso de mediadores artificiales para la transferencia de electrones entre el centro del dinucleótido de flavina y adenina (FAD) y la superficie del electrodo, está representado por el Esquema 18.⁸⁹

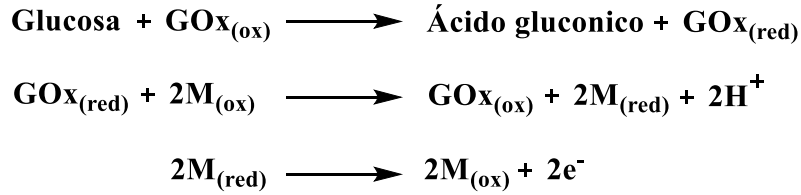
⁸⁵ Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.

⁸⁶ Frew, J. E., & Hill, H. A. O. (1987). Electrochemical biosensors. *Analytical chemistry*, 59(15), 933A-944A.

⁸⁷ Shichiri, M., Yamasaki, Y., Kawamori, R., Hakui, N., & Abe, H. (1982). Wearable artificial endocrine pancreas with needle-type glucose sensor. *The Lancet*, 320(8308), 1129-1131.

⁸⁸ Chaubey, A., & Malhotra, B. (2002). Mediated biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(6-7), 441-456.

⁸⁹ Wang, J. (2001). Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 13(12), 983-988.



Esquema 18. Método de medición de glucosa con mediadores artificiales.

En el esquema anterior se presentan la forma reducida y oxidada del mediador representadas por $\text{M}_{(\text{red})}$ y $\text{M}_{(\text{ox})}$ respectivamente. La señal que indica la medición de glucosa se obtiene al reoxidarse el mediador en el electrodo, mientras se genera la forma oxidada, siendo la última etapa que se muestra en el esquema. En la Figura 29 se puede apreciar de mejor manera como se lleva a cabo todo el proceso.

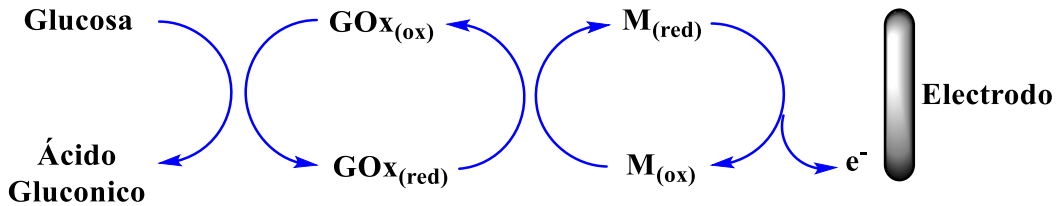


Figura 29. Proceso de medición de glucosa con mediadores de electrones.

c) Tercera generación de biosensores

Los biosensores de glucosa de la tercera generación tratan de no presentar intermediario para poder realizar la medición de la glucosa, es decir, que se trata de una transferencia directa entre la enzima y el electrodo.⁹⁰ Como principal característica de esta generación de biosensores de glucosa es el uso de compuestos orgánicos basados en complejos de transferencia de carga, los cuales son menos tóxicos.^{91, 92}

Los biosensores de glucosa de esta generación han dado paso a nuevos dispositivos que funcionan para poder monitorear de forma in vitro la glucosa en sangre. Estudios muestran

⁹⁰ Yoo, E. H., & Lee, S. Y. (2010). Glucose biosensors: an overview of use in clinical practice. *Sensors*, 10(5), 4558-4576.

⁹¹ Khan, G. F., Ohwa, M., & Wernet, W. (1996). Design of a stable charge transfer complex electrode for a third-generation amperometric glucose sensor. *Analytical chemistry*, 68(17), 2939-2945.

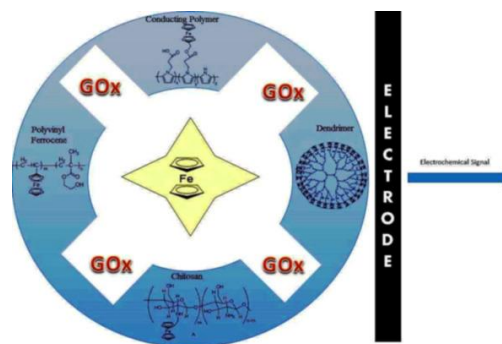
⁹² Palmisano, F., Zambonin, P. G., Centonze, D., & Quinto, M. (2002). A disposable, reagentless, third-generation glucose biosensor based on overoxidized poly (pyrrole)/tetrathiafulvalene-tetracyanoquinodimethane composite. *Analytical chemistry*, 74(23), 5913-5918.

que sales orgánicas conductoras como la tetratrafalvaleno-tetracianoquinodimetano (TTF-TCNQ) se utilizan para medir la electroquímica de las enzimas pirrol-quinolinaquinona (GDH-PQQ), así como de las flavoproteínas (GOx). Sin embargo, se ha observado que pocas enzimas presentan una transferencia directa en los electrones en su superficie normal, entre estas enzimas se encuentran las peroxidasas.⁹³

⁹³ Zhang, W., & Li, G. (2004). Third-generation biosensors based on the direct electron transfer of proteins. *Analytical sciences*, 20(4), 603-609.

Capítulo 6. Biosensores de glucosa con sustituyentes ferrocenilicos

Para el año 1984 se ha observado que derivados del ferroceno es utilizado como medidores de GOx⁹⁴ y para el año 2015 se han reportado más de 9000 artículos para estos compuestos.⁹⁵



Los biosensores de glucosa con sustituyentes ferrocenilicos pertenecen a la segunda generación, las investigaciones muestran que los biosensores que utilizan un intermediario ferrocenilico, son los más adecuados, ya que se ajusta a todos los puntos de referencia, eso debido a que no interactúa con el O₂ sin importar el pH en el cual se está trabajando, debido a la estabilidad formada por el ferroceno en su forma oxidada o reducida, obteniendo una medición en su cinética de transferencia de electrones reversible y responde rápido cuando interactúa con una enzima.⁹⁶

El mecanismo de funcionamiento general (Figura 30)⁹⁷ de los mediadores basados en ferroceno (Fc-MET) en la superficie del electrodo para el mecanismo de generación de señales es el siguiente:

⁹⁴ Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.

⁹⁵ Saleem, M., Yu, H., Wang, L., Khalid, H., Akram, M., Abbasi, N. M., & Huang, J. (2015). Review on synthesis of ferrocene-based redox polymers and derivatives and their application in glucose sensing. *Analytica chimica acta*, 876, 9-25.

⁹⁶ Chaubey, A., & Malhotra, B. (2002). Mediated biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(6-7), 441-456.

⁹⁷ Gracia, R., & Mecerreyes, D. (2013). Polymers with redox properties: materials for batteries, biosensors and more. *Polymer Chemistry*, 4(7), 2206-2214.

- La enzima se implica en la reacción redox por medio del sustrato.
- Luego se reoxida por el Fc-MET.
- Y por último se reestablece sucesivamente para completar el ciclo.

En el ciclo los mediadores circulan constantemente entre la enzima y el electrodo, generando una secuencia cíclica de estados oxidados y reducidos, lo cual genera una corriente catalítica. Y así se obtiene un sistema de biodetección de transferencia de electrones más eficiente, al agregar mediadores redox a un material polimérico adicionado en la superficie del electrodo.^{98,99}

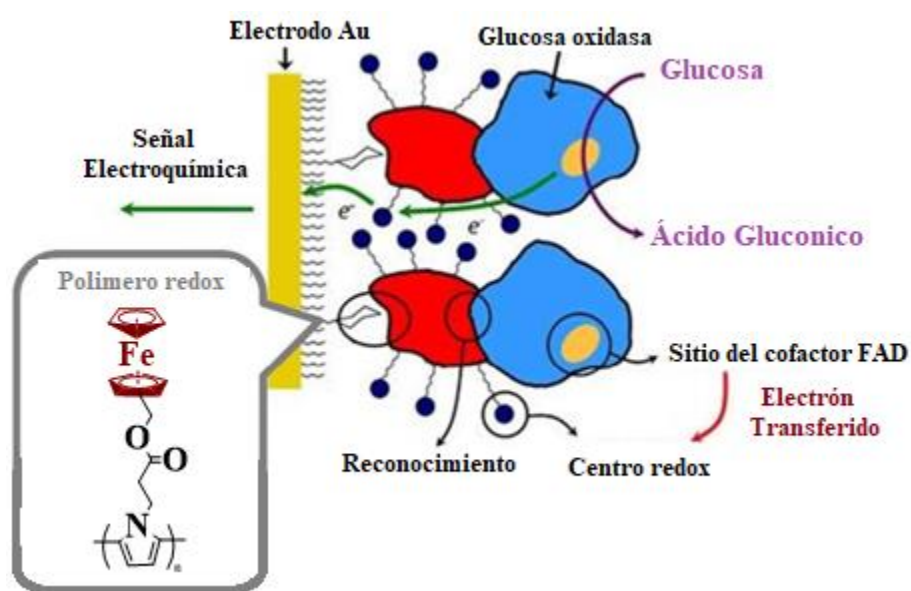


Figura 30. Mecanismo general de biosensores basados en ferroceno.

Los polímeros y derivados a base de ferroceno (FBPDs) para el desarrollo de biosensores de glucosa (GBs) como mediadores redox han acaparado la atención de los científicos, especialmente en los biosensores de segunda generación, ya que se han sintetizado un gran número de moléculas capaces de proporcionar un análisis óptimo de la presencia de glucosa en la sangre. Estos sensores siguen siendo comúnmente considerados como mediadores de

⁹⁸ Qiu, J. D., Liang, R. P., Wang, R., Fan, L. X., Chen, Y. W., & Xia, X. H. (2009). A label-free amperometric immunosensor based on biocompatible conductive redox chitosan-ferrocene/gold nanoparticles matrix. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(4), 852-857.

⁹⁹ Zhang, M., & Gorski, W. (2005). Electrochemical sensing platform based on the carbon nanotubes/redox mediators-biopolymer system. *Journal of the American Chemical Society*, 127(7), 2058-2059.

transporte de electrones entre el GOx y los electrodos.^{100,101} La función del electrodo es detectar la cantidad de electrones transferidos y esta transferencia de electrones es comparativa con la cantidad de glucosa presente en la sangre.¹⁰²

6.1 Síntesis de polímeros a base de ferroceno y derivados

El ferroceno es una molécula que presenta un gran interés a los investigadores, debido a que presenta una actividad química noble, es decir se dedicaron a investigar métodos de síntesis y he investigar sus aplicaciones de estos derivados. Se ha reportado que desde el año 1984 hay diversas investigaciones de compuestos ferrocenilicos con aplicación en la medición de glucosa, entre algunos de estos derivados se pueden observar en la Tabla 5.

Tabla 5. Derivados de ferroceno con aplicación en biosensores de glucosa.
Polipirroles y Politiofenos
Ciclodextrina
Polietilenimina
Dendrímeros
Polivinilferroceno
Derivados de quitosano

a) Polipirroles y Politiofenos

Los polímeros conjugados de polipirroles¹⁰³, politiofenos¹⁰⁴ y politiofenos sustituidos (PTS)¹⁰⁵ son compuestos de gran interés para la investigación, debido a que, se ha observado

¹⁰⁰ Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.

¹⁰¹ Ballarin, B., Cassani, M. C., Mazzoni, R., Scavetta, E., & Tonelli, D. (2007). Enzyme electrodes based on sono-gel containing ferrocenyl compounds. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(7), 1317-1322.

¹⁰² Pillai, C. K., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in polymer science*, 34(7), 641-678.

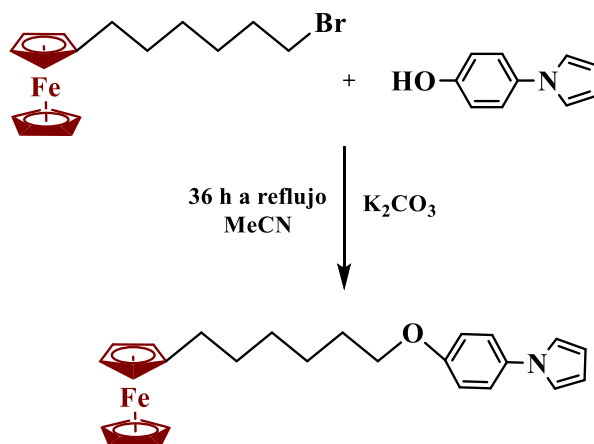
¹⁰³ Wu, A., Kolla, H., & Manohar, S. K. (2005). Chemical synthesis of highly conducting polypyrrole nanofiber film. *Macromolecules*, 38(19), 7873-7875.

¹⁰⁴ Ramey, M. B., Jeri'Ann Hille r, ‡, Rubner, M. F., Tan, C., Schanze, K. S., & Reynolds, J. R. (2005). Amplified fluorescence quenching and electroluminescence of a cationic poly (p-phenylene-co-thiophene) polyelectrolyte. *Macromolecules*, 38(2), 234-243.

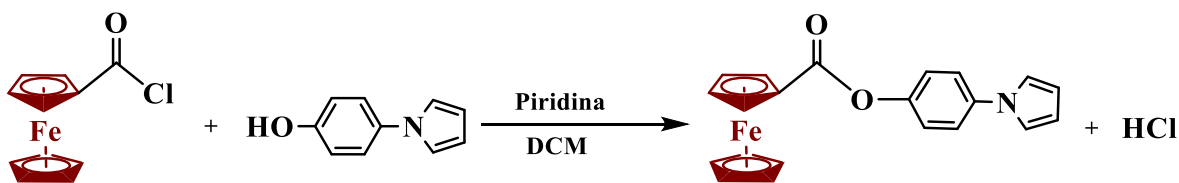
¹⁰⁵ Bulut, U., & Cirpan, A. (2005). Dual-type electrochromic devices based on conducting copolymers of thiophene-functionalized monomers. *Synthetic metals*, 148(1), 65-69.

que tiofenos y tertiofeno sustituidos con ferroceno presentan características que los hace atractivos como compuestos para biosensores.¹⁰⁶

Geok Hong Soon y *et al.*,¹⁰⁷ realizaron estudios de copolimerización sobre la síntesis de derivados de pirroles ferrocenilicos, donde lograron reportar la síntesis, caracterización y realizar el estudio de los compuestos a partir de su voltamperometría cíclica (Figura 31) del [6-(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)hexil]ferroceno (Esquema 19) y el [(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)carbonil]ferroceno (Esquema 20).



Esquema 19. Método de síntesis del [6-(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)hexil]ferroceno.



Esquema 20. Método de síntesis del [(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)carbonil]ferroceno.

¹⁰⁶ Chen, J., Burrell, A. K., Collis, G. E., Officer, D. L., Swiegers, G. F., Too, C. O., & Wallace, G. G. (2002). Preparation, characterisation and biosensor application of conducting polymers based on ferrocene substituted thiophene and terthiophene. *Electrochimica Acta*, 47(17), 2715-2724.

¹⁰⁷ Soon, G. H., Deasy, M., Worsfold, O., & Dempsey, E. (2011). Synthesis, co-polymerization, and electrochemical evaluation of novel ferrocene-pyrrole derivatives. *Analytical letters*, 44(11), 1976-1995.

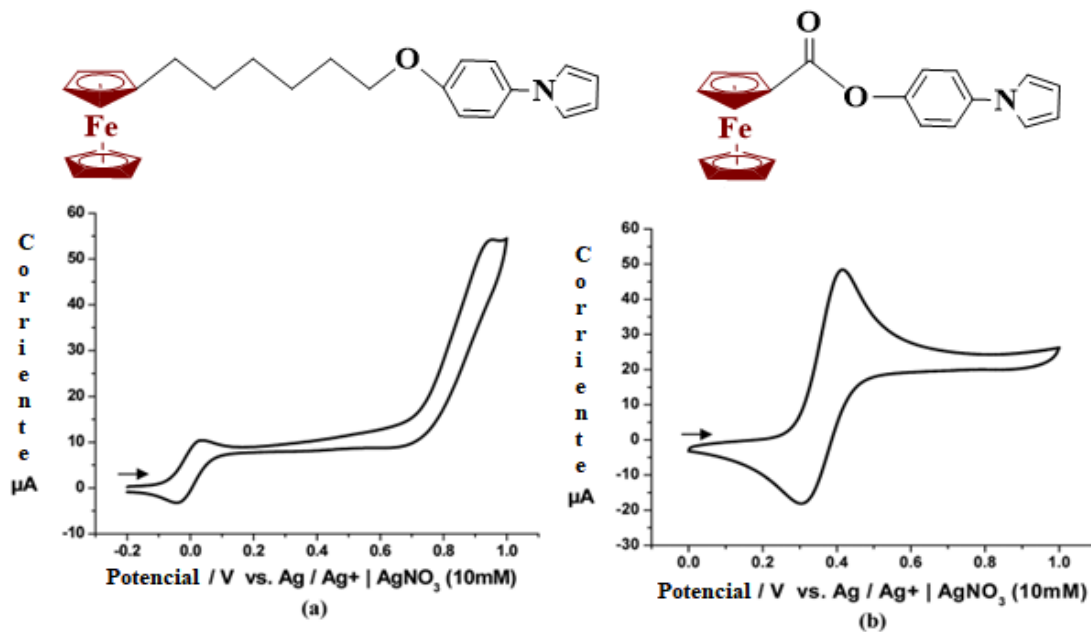


Figura 31. Voltamperometría cíclica de a) [6-(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)hexil]ferroceno (1mM) en 0.1 M de TBAPF₆-ACN con electrodo de trabajo carbón vítreo a 10 mVs frente Ag/Ag⁺ AgNO₃ (10 mM); b) [(4-(1H-pirrol-1-il)fenoxi)carbonil]ferroceno (1mM) en 0.1 M de TBAPF₆-ACN con electrodo de trabajo carbón vítreo a 10 mVs frente Ag/Ag⁺ AgNO₃ (10 mM).

b) Ciclodextrina

Los compuestos derivados de las ciclodextrinas (CD), presentan una amplia investigación ya que estas moléculas presentan la formación de complejos de inserción en medios acuosos por una gran cantidad de moléculas orgánicas hidrofóbicas.¹⁰⁸

La investigación de Casas y *colaboradores*,¹⁰⁸ muestran que el Ferroceno y sus derivados, son excelentes huéspedes para la β-ciclodextrina (β-CD) (Figura 32) y estos forman complejos en relación 1:1 estables en agua (Esquema 21), obteniendo como resultado la transferencia de un electrón del ferroceno, generando cambios significativos en la naturaleza de la interacción.

¹⁰⁸ Casas-Solvas, J. M., Ortiz-Salmerón, E., Fernández, I., García-Fuentes, L., Santoyo-González, F., & Vargas-Berenguel, A. (2009). Ferrocene-β-Cyclodextrin Conjugates: Synthesis, Supramolecular Behavior, and Use as Electrochemical Sensors. *Chemistry—A European Journal*, 15(33), 8146-8162.

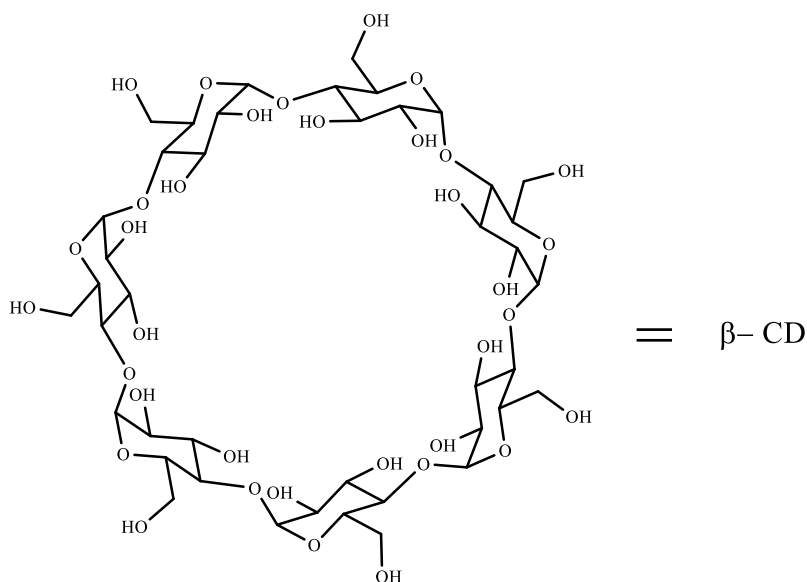
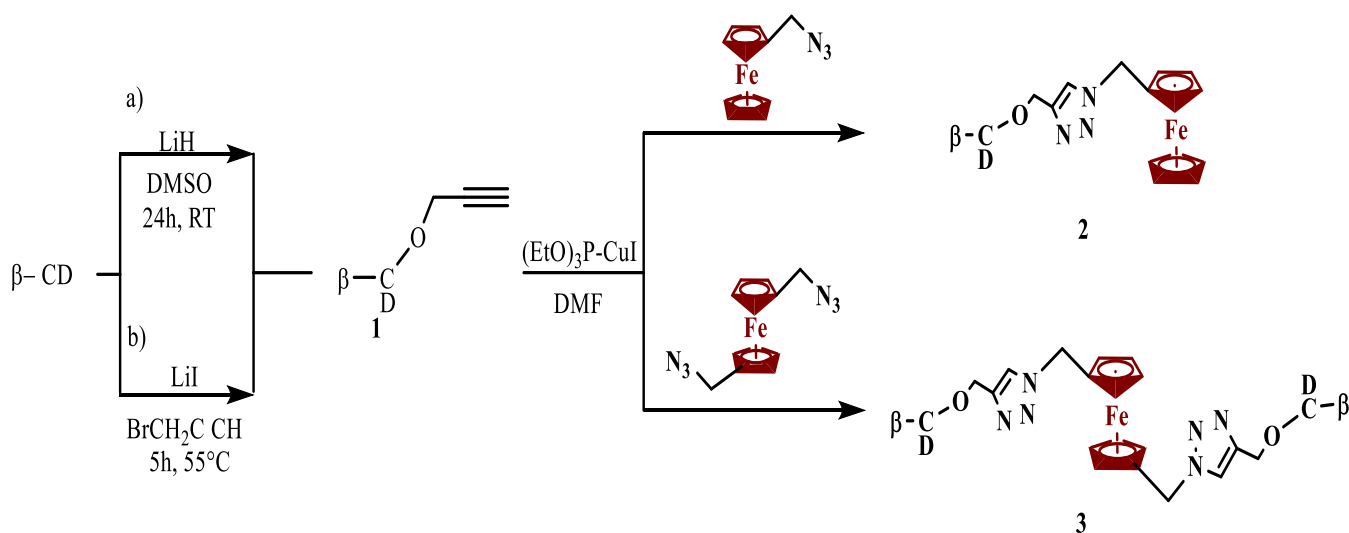


Figura 32. β -Ciclodextrina



Esquema 21. Síntesis del 2'-O{[1-(ferrocenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil} ciclomaltoheptaosa (2) y del 1,1'-bis{[4-(2'-O-ciclomaltoheptaosil)-1h-1,2,3-triazol-1-il]metil} ferroceno (3).

Casas y colaboradores, estudiaron las propiedades electroquímicas a partir de estudios de voltamperometría cíclica VC (Figura 33), donde se puede observar los cambios progresivos del potencial de media onda para la oxidación del Fc en la cavidad del β -CD.

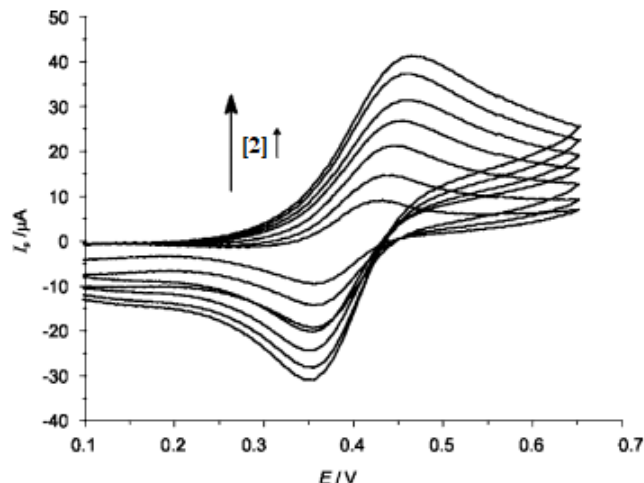


Figura 33. Voltamperometría cíclica del 2'-O{[1-(ferrocenilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil} ciclomaltoheptaosa, electrodo de Pt en soluciones de (0.2-0.8 mM) y 20 mM de tris(hidroximetil)amoniometano (TRIS) en buffer pH=7.2 con NaCl (50 mM) sobre la superficie del electrodo.

c) Polietilenimina

Se ha reportado la síntesis de polímeros redox de ferroceno basados en polietilenimina lineal (LPEI) y polietilenimina ramificada (BPEI), los cuales son modificados para producir transportes mediadores entre la enzima y el electrodo.¹⁰⁹ Glatzhofer y colaboradores,¹¹⁰ estudiaron los polímeros redox basados en ferroceno del tipo LPEI y BPEI (Figura 34) los cuales presentaron interacciones eléctricas con los centros redox de enzimas, analizando la influencia del pH de la disolución y el grado de entrecruzamiento.

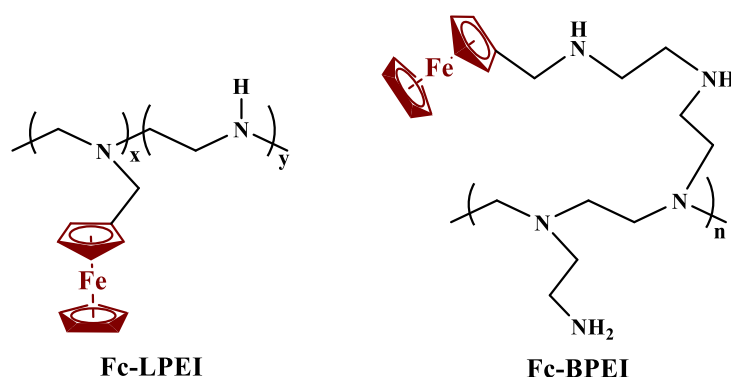


Figura 34. Estructuras de LPEI y BPEI modificadas con derivados ferrocenilicos.

¹⁰⁹ Chuang, C. L., Wang, Y. J., & Lan, H. L. (1997). Amperometric glucose sensors based on ferrocene-containing B-polyethylenimine and immobilized glucose oxidase. *Analytica chimica acta*, 353(1), 37-44.

¹¹⁰ Merchant, S. A., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2007). Effects of electrolyte and pH on the behavior of cross-linked films of ferrocene-modified poly(ethylenimine). *Langmuir*, 23(22), 11295-11302.

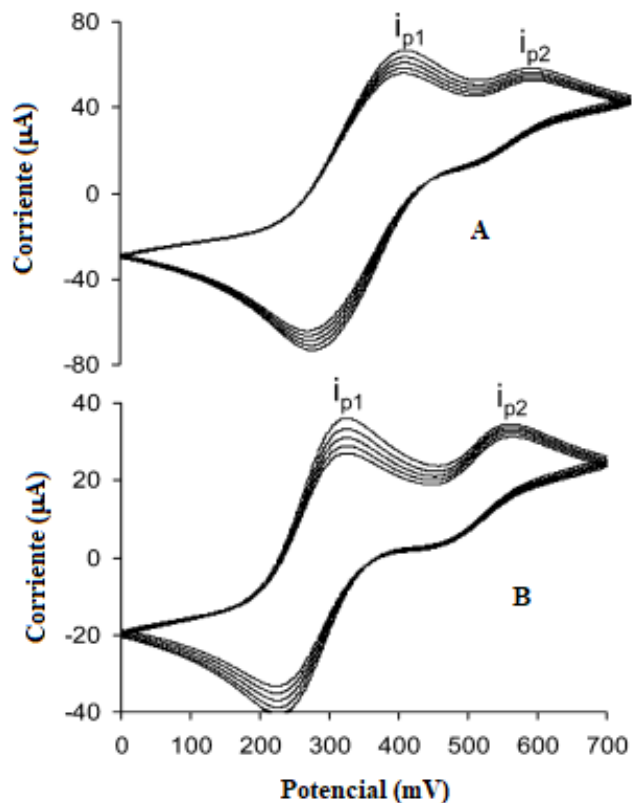


Figura 34. Voltamperometría cíclica de películas reticuladas de Fc-BPEI (A) y Fc-LPEI en buffer de fosfato salino a pH=7.4 a 50 mV/s.

Los estudios de VC para los compuestos Fc-BPEI y Fc-LPEI fueron analizados para determinar una posible aplicación para biosensores y celdas de biocombustibles. Ambos VC muestran un pico de oxidación inicia que ronda en 300-400 mV y un pico de oxidación secundario a 600 mV. Sin embargo, estos estudios concluyeron en que son moléculas inestables y dan lecturas muy desfasadas, aunque si pueden ser utilizadas como cables moleculares para conectar los centros redox de una enzima.¹¹⁰

d) Polivinilferroceno

Los electrodos modificados con polivinilferroceno (PVF) han sido de gran interés debido a que estos presentan una mejor transferencia de electrones. Se ha reportado la deposición de PVF en el electrodo de carbono.¹¹¹ El estudio de VC para el electrodo modificado con PVF

¹¹¹ Nguyen, A. L., & Luong, J. H. (1993). Mediated glucose biosensor based on polyvinylferrocene. *Applied biochemistry and biotechnology*, 43(2), 117-132.

muestra un proceso redox reversible a 218 mV y para la solución salina de diclorometano de PVF ha 170 mV.

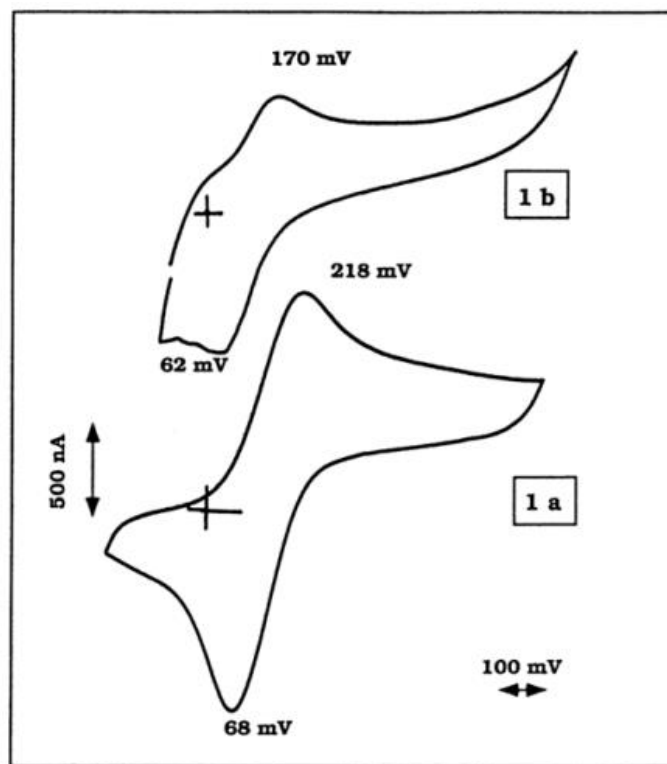


Figura 35. Voltamperometría cíclica a 10mV/s, electrodo de referencia Ag/AgCl. a) electrodo de carbono depositado con PVF y como buffer fosfato salino. b) electrodo de carbono en solución de diclorometano de PVF y tetrafluoroborato de tetrabutilamoni (0.1 mg/mL).¹¹¹

Topcu Sulak y *colaboradores*,¹¹² reportaron la síntesis de películas de PVF depositadas en oro, las cuales podrían ser un gran candidato para la detección de glucosa, ya que presenta una gran sensibilidad y una densidad de corriente con un rango más amplio.

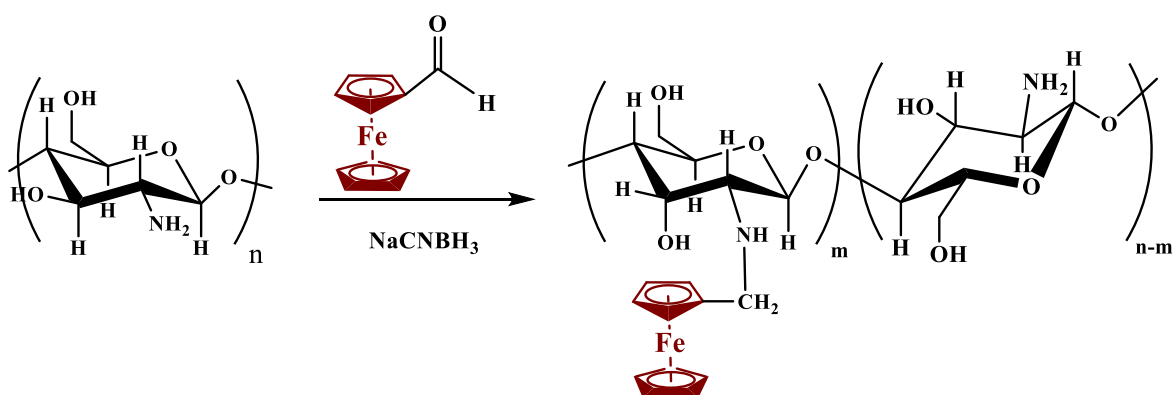
e) Derivados a base de quitosano

Las investigaciones reportadas en el año 2007 realizadas por Yang y *colaboradores*,¹¹³ muestran que se puede hacer reaccionar ferrocenil carboxilaldehído con un grupo NH₂ del quitosano (CHIT) a través de una base de Schiff y después reducir el producto con NaCNBH₃

¹¹² Sulak, M. T., Gökdoğan, Ö., Gülce, A., & Gülce, H. (2006). Amperometric glucose biosensor based on gold-deposited polyvinylferrocene film on Pt electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(9), 1719-1726.

¹¹³ Yang, W., Zhou, H., & Sun, C. (2007). Synthesis of ferrocene-branched chitosan derivatives: redox polysaccharides and their application to reagentless enzyme-based biosensors. *Macromolecular rapid communications*, 28(3), 265-270.

(Esquema 22). El producto de la reacción denominado CHIT-Fc es utilizado como matriz funcionalizada para inmovilizar GOx en los electrodos de carbon vitreo.



Esquema 22. Síntesis de derivados de quitosano ramificados con ferroceno.

Yang realizó el estudio electroquímico de los electrodos con la película de CHIT-Fc/GOx, en ausencia de glucosa y genera el voltamperograma del CHIT-Fc (Figura 36).

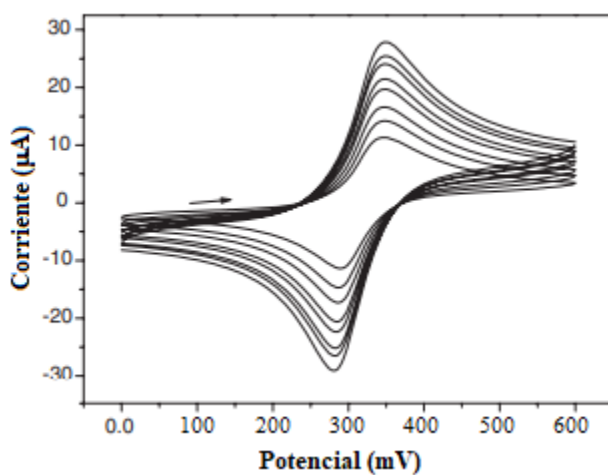
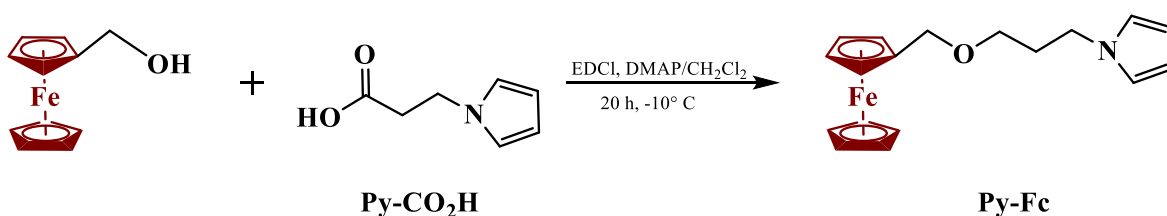


Figura 36. Voltamperograma cíclico del electrodo con la película del CHIT-Fc/GOx, en una solución buffer de fosfato 0.1 M (PBS, pH 6.9) a diferentes velocidades de barrido.

6.2 Aplicaciones de polímeros a base de ferroceno en biosensores de glucosa

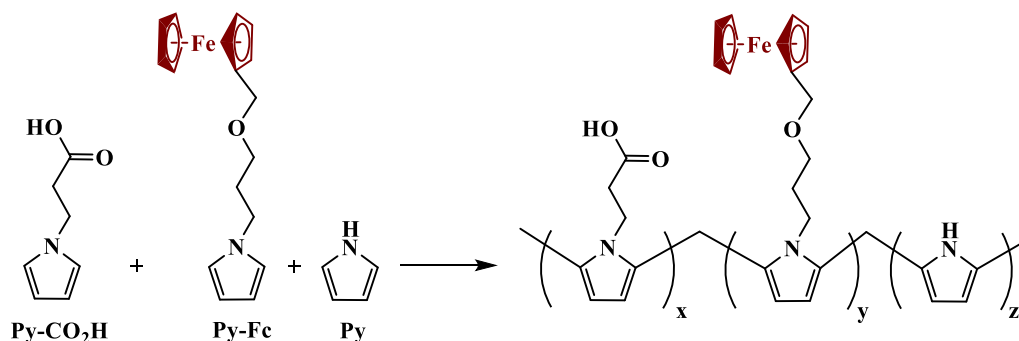
a) Polipirroles y Politiofenos de ferroceno

En el año 2011 un estudio realizado por Mehmet,¹¹⁴ muestran que la glucosa oxidasa (GOx) fue inmovilizada covalentemente por un copolímero de polipirrol ramificado con ferroceno, el cual fue sintetizado para la construcción de un biosensor amperométrico de glucosa. Su método de síntesis consistió en hacer reaccionar ferrocenil metanol y 1-(2-carboxietil)pirrol (Py-CO₂H), agregando gota a gota 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en una solución de diclorometano a una temperatura de reacción de -10°C, durante 20 horas en atmosfera inerte de argón (Esquema 23).



Esquema 23. Síntesis de los monómeros Py-Fc.

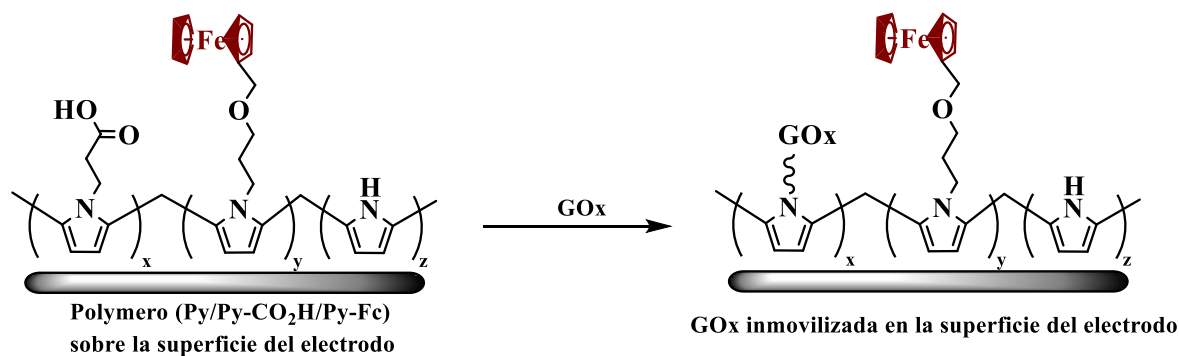
Una vez obtenido el monómero Py-Fc, realizo la polimerización a partir de un método electroquímico, donde se estudió la variación de la concentración de los monómeros Py-CO₂H, Py-Fc, pirrol (Py) y sal sódica de ácido *p*-toluenosulfónico a un voltaje fijo de 1.2 V vs Ag/AgCl (Esquema 24).



Esquema 24. Polimerización electroquímica de los monómeros Py-CO₂H, Py-Fc y Py.

¹¹⁴ Şenel, M. (2011). Construction of reagentless glucose biosensor based on ferrocene conjugated polypyrrole. *Synthetic metals*, 161(17-18), 1861-1868.

La inmovilización de la GOx realizado por Mehmet consistió, en sumergir el electrodo que se encontraba recubierto con la película del copolímero Py/ Py-CO₂H/ Py-Fc, en solución de GOx dejándolo reposar en un periodo de 24 horas a 4°C (Esquema 25).



Esquema 25. Inmovilización de la Glucosa Oxidasa en la superficie del electrodo.

Una de las principales características que presenta el electrodo enzimático de glucosa realizado por Mehmet es que muestra una respuesta rápida y es sensible a la glucosa y relativamente económico. Se cree que el copolímero sintetizado puede ser de gran interés para poder incorporar otras enzimas y parejas de sustratos durante la construcción de biosensores para una variedad de bioanálisis.

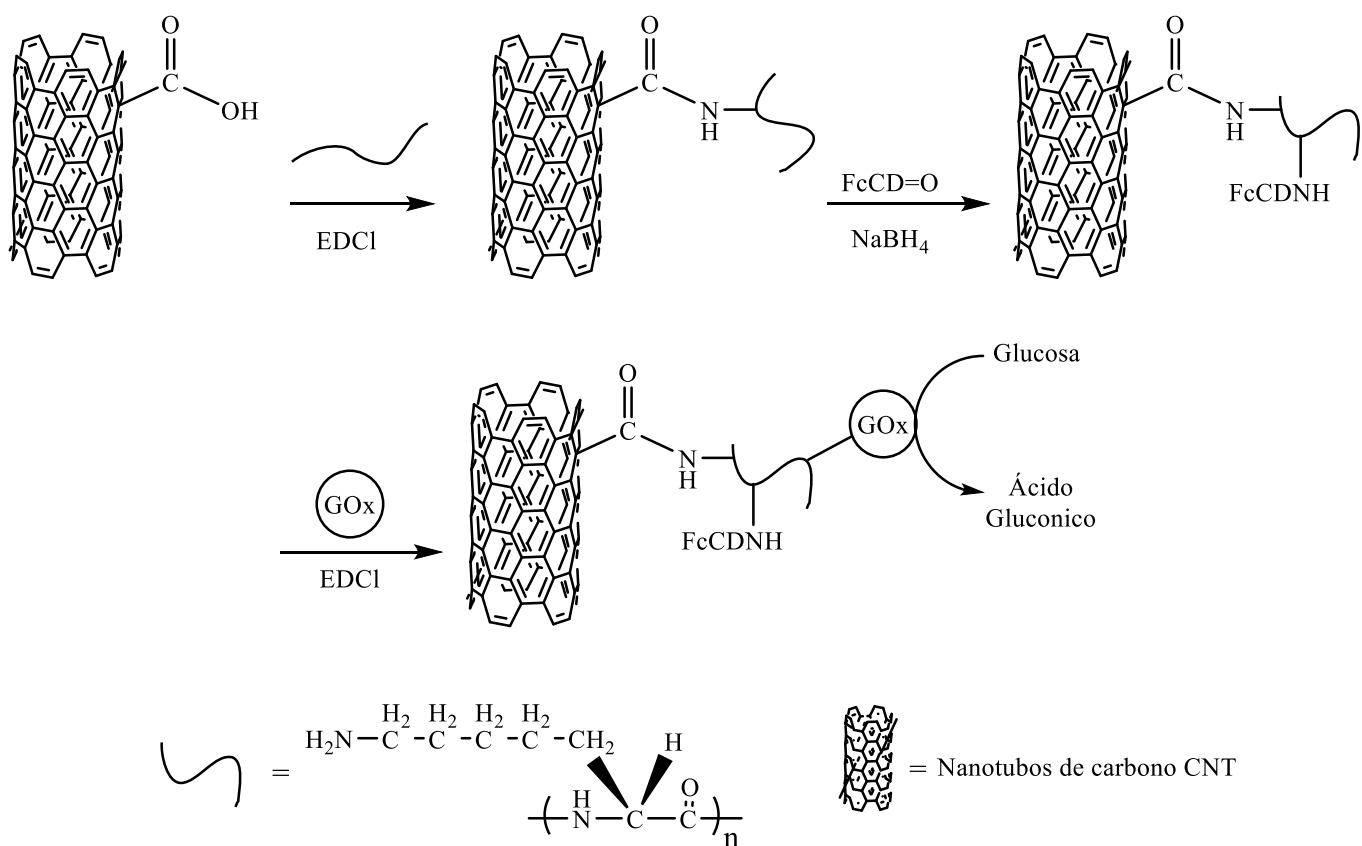
b) Ciclodextrina

El uso de la ciclodextrina natural es muy limitado debido a la escasa solubilidad en agua en particular la β -CD. Sin embargo, se ha reportado que las β -CD con sustituyentes ferrocenilicos mejoran su solubilidad,^{108,115} obteniendo un excelente complemento ideal para los orificios hidrofóbicos de la CD en medios acuosos.

Las investigaciones realizadas por Zheng y colaboradores,¹¹⁵ muestra una nueva técnica para obtener un derivado de la β -CD soluble en agua (Carbonil- β -cilodextrina) mediante la oxidación parcial de la β -CD, adicionando ferroceno en la cavidad del carbonil- β -ciclodextrina, para formar el complejo de inclusión Fc-carbonil- β -ciclodextrina. El complejo mostro una alta solubilidad y demostró ser una buena sonda electroquímica y un medidor eficiente para bio electrocatálisis de la GOx.

¹¹⁵ Zheng, L., Xiong, L., Li, J., Li, X., Sun, J., Yang, S., & Xia, J. (2008). Synthesis of a novel β -cyclodextrin derivative with high solubility and the electrochemical properties of ferrocene-carbonyl- β -cyclodextrin inclusion complex as an electron transfer mediator. *Electrochemistry communications*, 10(2), 340-345.

En el año 2010 Zheng y colaboradores,¹¹⁶ desarrollaron un nuevo biosensor de glucosa constituido por un complejo de ferroceno-carbonil-β-ciclodextrina (FcCD) como mediador para llevar a cabo la transferencia de electrones y nanotubos de carbono (CNT) como promotores para la transferencia de electrones (Esquema 26). El complejo ferrocenilico FcCD y la GOx fueron unidas a los nanotubos de carbono mediante la poli-L-lisina (PLL), obteniendo como resultado un biosensor de glucosa. La oxidación electrocatalítica de la glucosa en el biosensor fue llevada a cabo, por debajo de los 200mV, evitando la interferencia en muestras reales que contienen una concentración cinco veces mayor a la L-cisteína, ácido ascórbico y ácido úrico. Los resultados que obtuvieron en esta investigación del nuevo biosensor fueron favorables, ya que, presentaba una respuesta rápida para la glucosa.



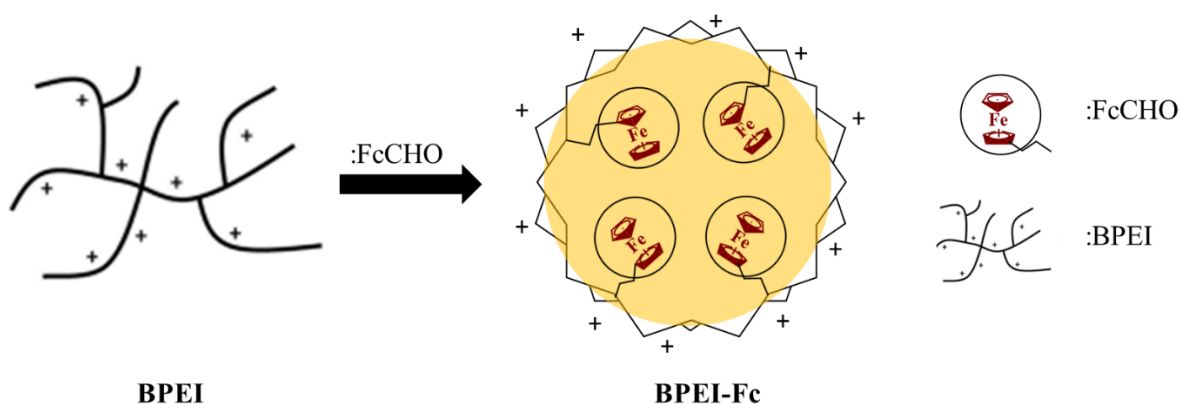
Esquema 26. Proceso de modificación del electrodo modificado CNT-PLL-FcCD-GOx.

c) Polietilenimina

¹¹⁶ Zheng, L., Li, J., Xu, J., Xiong, L., Zheng, D., Liu, Q., ... & Xia, J. (2010). Improvement of amperometric glucose biosensor by the immobilization of FcCD inclusive complex and carbon nanotube. *Analyst*, 135(6), 1339-1344.

Chuang y *colaboradores*,¹¹⁷ estudiaron la polietilenimina ramificada a base de ferroceno el cual participa como un intermediario para llevar a cabo la transferencia de electrones, debido a que en conjunto presentan una alta concentración de aminoácidos y su cadena flexible. Se ha encontrado que las modificaciones realizadas a las polietilenimina con sustituyentes ferrocenilicos han aumentado 40 veces más el coeficiente de difusión de electrones en comparación de otros polímeros.¹¹⁸

Estudios realizados Yuan y *colaboradores*,¹¹⁹ realizaron un estudio donde incorporaron nanoesferas de polieilenamina ramificada con ferroceno (BPEI-Fc) mediante un proceso químico simple y otros polímeros para mejorar la transferencia de carga y optimizar la canalización de la GOx. Su método de síntesis para la formación del BPEI-Fc, consistió en hacer reaccionar BPEI en metanol anhidro, agregando gota a gota ferrocenil carboxaldehído (FcCHO) (Esquema 27), siguiendo el protocolo reportado en el año 2009 por Meredith y *colaboradores*.¹²⁰



Esquema 27. Método de síntesis del BPEI-Fc.

Yuan y *colaboradores*, realizaron la elaboración de los electrodos BPEI-Fc/GOx/SPCE y BPEI/PEDOT:PSS/GOx/SPCE, usando las nanoesferas de la polietilenimina con

¹¹⁷ Chuang, C. L., Wang, Y. J., & Lan, H. L. (1997). Amperometric glucose sensors based on ferrocene-containing B-polyethylenimine and immobilized glucose oxidase. *Analytica chimica acta*, 353(1), 37-44.

¹¹⁸ Merchant, S. A., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2007). Effects of electrolyte and pH on the behavior of cross-linked films of ferrocene-modified poly (ethylenimine). *Langmuir*, 23(22), 11295-11302.

¹¹⁹ Wang, J. Y., Chen, L. C., & Ho, K. C. (2013). Synthesis of redox polymer nanobeads and nanocomposites for glucose biosensors. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(16), 7852-7861.

¹²⁰ Merchant, S. A., Tran, T. O., Meredith, M. T., Cline, T. C., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2009). High-sensitivity amperometric biosensors based on ferrocene-modified linear poly (ethylenimine). *Langmuir*, 25(13), 7736-7742.

sustituyentes ferrocenilicos (BPEI-Fc) sintetizadas, Glucosa oxidasa (GOx), el electrodo de carbono (SPCE) y poli(3,4-etilendioxitiofeno):poli(estirenosulfonato) (PEDOT:PSS) (Figura 37).¹¹⁹

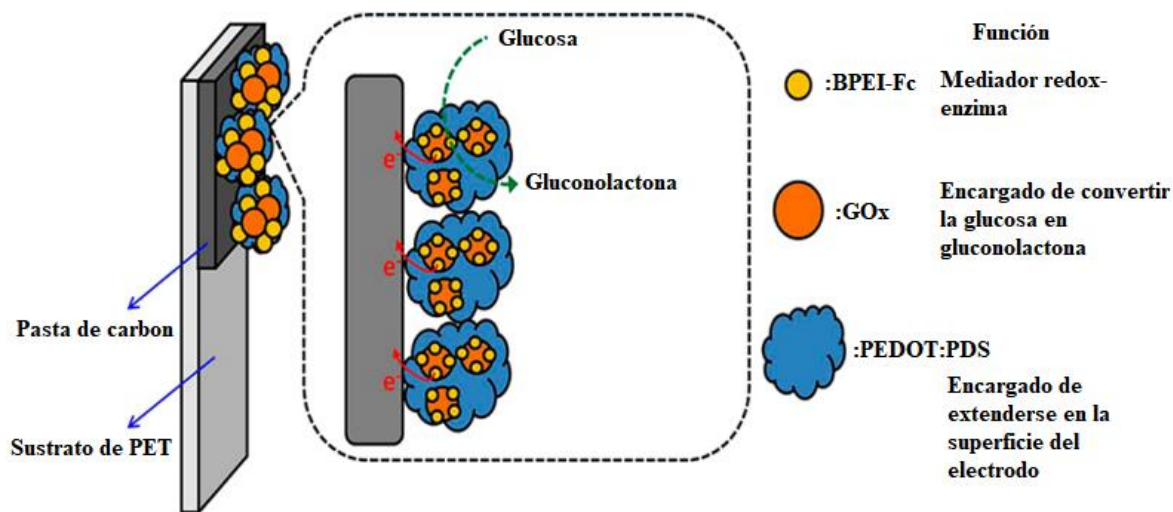


Figura 37. Diagrama del electrodo BPEI-Fc/PEDOT/GOx/SPCE.

d) Polivinilferroceno

Investigaciones muestran que los monómeros de vinilo presentan propiedades hidrofílicas las cuales presentan una alta compatibilidad con la enzima. Debido a que los monómeros vinílicos presentan una amplia atracción hacia el agua, esto permite que la adherencia a la superficie del electrodo se lleve a cabo con mayor facilidad.⁹⁵

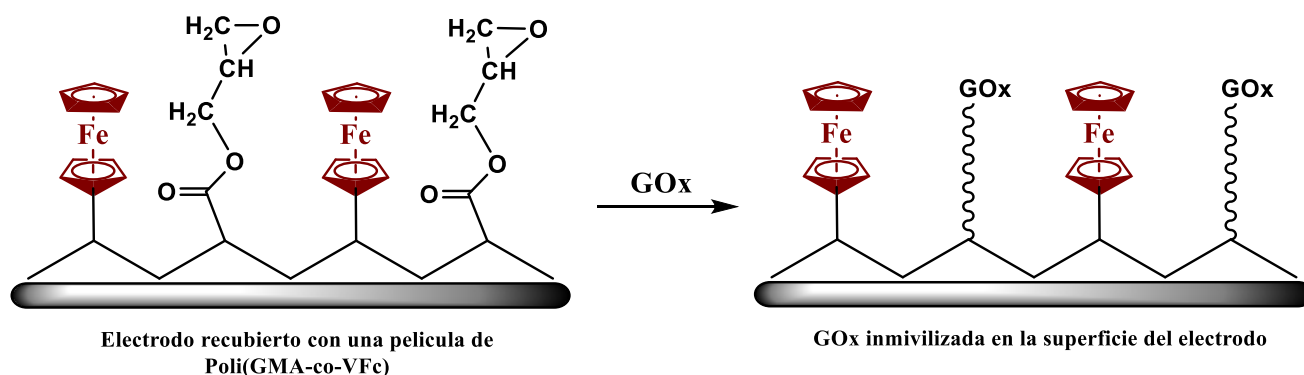
Las investigaciones realizadas por Smith y *colaboradores*,¹²¹ han reportado que el vinilferroceno (VFc) es un excelente mediador para las oxidasas, la polimerización de lleva a cabo por radicales libres,¹²² para la obtención del polivinilferroceno.¹²³

¹²¹ Smith, T. W., Kuder, J. E., & Wychick, D. (1976). Voltammetric behavior of poly (vinylferrocene). *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 14(10), 2433-2448.

¹²² Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.

¹²³ Nguyen, A. L., & Luong, J. H. (1993). Mediated glucose biosensor based on polyvinylferrocene. *Applied biochemistry and biotechnology*, 43(2), 117-132.

En el año 2010 Mehmet y Abasiyanik,¹²⁴ desarrollaron un nuevo biosensor de glucosa utilizando como recurso la unión covalente directa de la GOx en un grupo epoxi, el cual presenta un mediador polimérico para llevar a cabo la transferencia de electrones, poli(glicidilmetacrilato-co-vinilferroceno). El copolímero fue obtenido al hacer reaccionar los monómeros de vinilferroceno (VFc) y Metacrilato de glicidilo (GMA) en atmosfera inerte de argón. Una vez purificado el poli(GMA-co-VFc). La inmovilización de la GO fue adherido a un electrodo de carbón vítreo mediante la unión covalente (Esquema 28).



Esquema 28. Inmovilización de la GOx en la superficie del electrodo recubierto con una película de poli(GMA-co-VFc).

e) Derivados a base de quitosano

La síntesis de sensores de quitosano (CHIT), se han estudiado ampliamente como material de inmovilización, debido a las propiedades contiene,^{125, 126} sin embargo, la baja eficiencia de transferencia de electrones ha limitado su aplicación, para erradicar ese problema se adiciona un mediador redox basado en el ferroceno y así obtener una mejor transferencia de electrones.^{127, 128}

¹²⁴ Şenel, M., & Abasiyanik, M. F. (2010). Construction of a novel glucose biosensor based on covalent immobilization of glucose oxidase on poly (glycidyl methacrylate-co-vinylferrocene). *Electroanalysis*, 22(15), 1765-1771.

¹²⁵ Pillai, C. K., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in polymer science*, 34(7), 641-678.

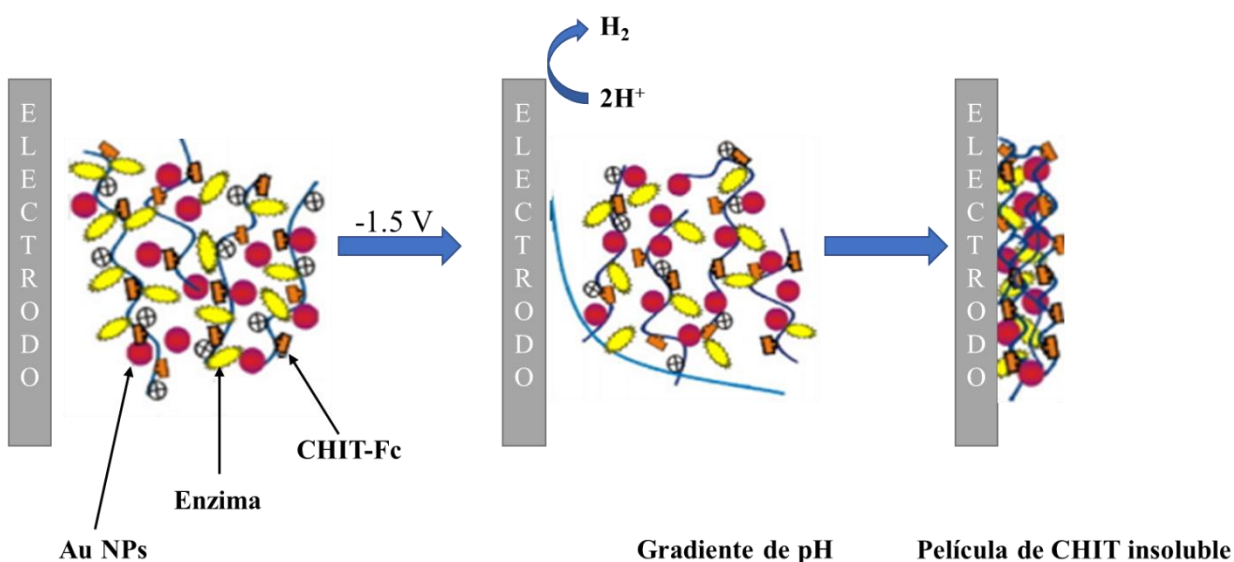
¹²⁶ Honarkar, H., & Barikani, M. (2009). Applications of biopolymers I: chitosan. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 140(12), 1403-1420.

¹²⁷ Zhang, M., & Gorski, W. (2005). Electrochemical sensing platform based on the carbon nanotubes/redox mediators-biopolymer system. *Journal of the American Chemical Society*, 127(7), 2058-2059.

¹²⁸ Qiu, J. D., Wang, R., Liang, R. P., & Xia, X. H. (2009). Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2920-2925.

El enlace covalente que presentan el CHIT-Fc también puede reducir el problema principal de la fuga de mediadores de bajo peso molecular.¹²⁹ Cabe destacar que los grupos ferrocenilicos mejoran el proceso de transferencia de electrones entre la superficie del electrodo y el biocatalizador inmovilizado, lo cual puede generar biosensores más sensibles y estables entre los cuales se encuentran lo biosensores de GOx.

En el año 2009 Qui y *colaboradores*,¹³⁰ publicaron un estudio donde describen un método simple de electrodeposición, para la fabricación de una película de nanocompuesto de quitosano-ferroceno, nanopartículas de oro y glucosa oxidasa (CHIT-Fc/ Au NPs/GOx), este biosensor tiene como ventajas que se obtiene una respuesta rápida, excelente reproducibilidad y alta estabilidad (Esquema 29).



Esquema 29. Fabricación electroquímica del electrodo con la película de (CHIT-Fc/ Au NPs/GOx).

¹²⁹ Kandimalla, V. B., Tripathi, V. S., & Ju, H. (2006). A conductive ormosil encapsulated with ferrocene conjugate and multiwall carbon nanotubes for biosensing application. *Biomaterials*, 27(7), 1167-1174.

¹³⁰ Qiu, J. D., Wang, R., Liang, R. P., & Xia, X. H. (2009). Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2920-2925.

Retroalimentación

Tabla 6. Biosensores de glucosa	
Definición: Un biosensor es una unidad o dispositivo analítico compacto que incorpora un elemento de reconocimiento sensible biológico integrado o asociado con un transductor fisicoquímico. ¹³¹	
Generación	Característica
Primera	<p style="text-align: center;"><i>Ventajas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Se basaban en el uso de sustratos de oxígeno natural. - Las mediciones de la formación de peróxido tienen la ventaja de ser más sencillas, especialmente cuando se consideran dispositivos en miniatura.
	<p style="text-align: center;"><i>Desventajas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Genera muchas variaciones en su lectura, debido a la dependencia de factores externos, por ejemplo, la concentración de O₂. - Dificultad para realizar la experimentación.
Segunda	<p style="text-align: center;"><i>Ventajas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Incorporan una molécula con propiedades oxido-reducción (mediador redox). - Reaccionan de forma más eficiente con la enzima.
	<p style="text-align: center;"><i>Desventajas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - El mediador debe cumplir con ciertos parámetros electroquímicos. - El mediador debe presentar un potencial cercano a cero con respecto al electrodo normal de hidrógeno.
Tercera	<p style="text-align: center;"><i>Ventajas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Presentan una transferencia de electrones directa (DET), entre el electrodo y la enzima. - Mayor selectividad y sensibilidad, ya que trabajan a potenciales cercanos a los que trabaja la enzima.
	<p style="text-align: center;"><i>Desventaja</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Pérdida de la actividad catalítica de la enzima, debido a los cambios conformacionales generados.

¹³¹ Turner, A. P. (2000). Biosensors--sense and sensitivity. *Science*, 290(5495), 1315-1317.

Tabla 7. Biosensores Ferrocenilicos

Definición: Son aquellos biosensores que utilizan un intermediario ferrocenilico, los cuales son más adecuados para realizar mediciones, debido a que, se ajusta a todos los puntos de referencia, ya que no interactúa con el O₂ sin importar el pH en el cual se está trabajando.

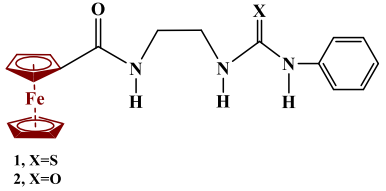
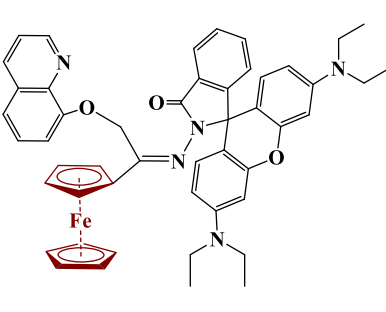
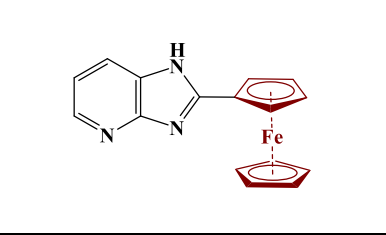
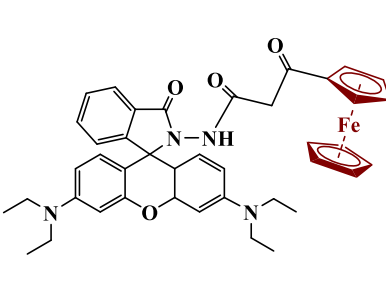
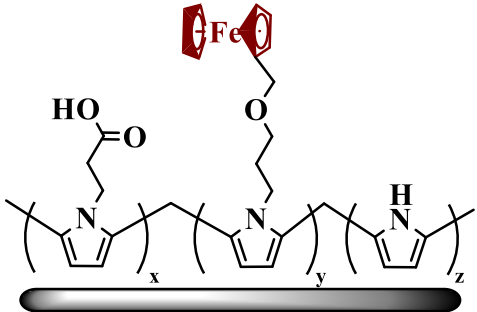
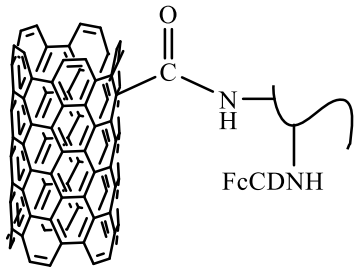
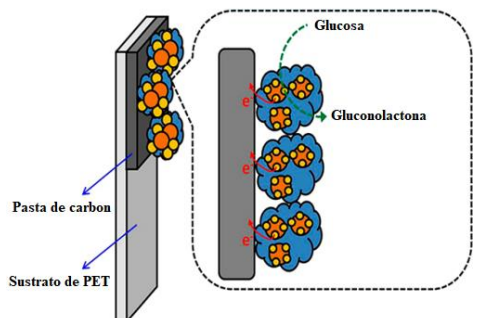
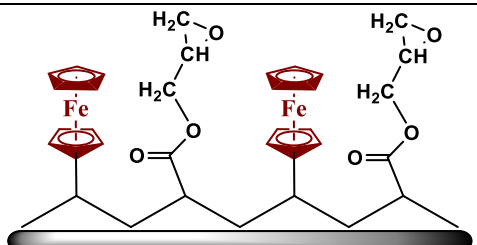

Metal	Molécula	Nombre	Método de síntesis
In ³⁺	 <p>1, X=S 2, X=O</p>	<ol style="list-style-type: none"> [2-(3-feniltioureido)etil]ferricenilcarbámico [2-(3-fenilureido)etil]ferricenilcarbámico 	Condensación de [(2-aminoetil)carbonil]ferroceno con isotiocianato de fenilo en presencia de trietilamina.
Hg ²⁺		(E)-N-(3',6'-bis (diethyl-amino)-3-oxospiro [isoindolina-1,9'-xanteno]-2-il)-2-(quinolin-8-iloxi) ferrocenil acetimidoilo	Condensación entre 1-ferroceno-2-(quinolin-8-iloxi)etanona y el grupo amino del hidróxido de la rodamina
Pb ²⁺		2-ferrocenilimidazo[4,5-b]piridina	Se obtiene a partir de la reacción de ferrocenilcarboxaldehído con 2,3-diaminopiridina en nitrobenzono en presencia de ácido acético
Cu ²⁺		N-[3',6'-bis(diethylamino)-3-oxospiro(isoindolina-1,9'-xanteno)-2-il]-3-oxo-3-ferrocenilpropanamida	Se obtiene a partir de la reacción del 3-oxo-3-ferrocenilpropanoato de metilo y el 2-amino-3',6'-bis(diethylamino)espiro(isoindolina-1,9-xanteno)-3-ona en tolueno a temperatura de reflujo.

Tabla 8. Biosensores de glucosa con sustituyente ferrocenilicos

Definición: Estos sensores son considerados como mediadores de transporte de electrones entre el GOx y los electrodos y se encuentran clasificados en la segunda generación de los biosensores de glucosa.

Molécula	Nombre del electrodo	Referencia	Detección de glucosa
Polipirroles y politiofenos			
	Py/Py-Co2H/Py-Fc	Şenel, M. (2011). Construction of reagentless glucose biosensor based on ferrocene conjugated polypyrrole. <i>Synthetic metals</i> , 161(17-18), 1861-1868.	1-50 mM 18- 900 mg/dl
Ciclodextrina			
	CNT-PLL-FcCD	Zheng, L., Li, J., Xu, J., Xiong, L., Zheng, D., Liu, Q., & Xia, J. (2010). Improvement of amperometric glucose biosensor by the immobilization of FcCD inclusive complex and carbon nanotube. <i>Analyst</i> , 135(6), 1339-1344.	10 – 25 mg/dl
Polietilenimina			
	BPEI-Fc/PEDOT/GOx /SPCE	Wang, J. Y., Chen, L. C., & Ho, K. C. (2013). Synthesis of redox polymer nanobeads and nanocomposites for glucose biosensors. <i>ACS Applied Materials & Interfaces</i> , 5(16), 7852-7861.	3.0 mM 55 mg/dl
Polivinilferroceno			
	Poli(GMA-co-VFc)	Şenel, M., & Abasıyanık, M. F. (2010). Construction of a novel glucose biosensor based on covalent immobilization of glucose oxidase on poly (glycidyl methacrylate-co-	1.3-22 mM 23 – 22 mg/dl

		vinylferrocene). <i>Electroanalysis</i> , 22(15), 1765-1771.	
Quitosano		Qiu, J. D., Wang, R., Liang, R. P., & Xia, X. H. (2009). Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 24(9), 2920-2925.	0.2 Molar 360 mg/dl

Conclusiones

1. Los biosensores de Glucosa revolucionaron la medicina, debido a que fue posible la fabricación de aparatos más accesibles en costo para la medición de la glucosa en la sangre.
2. Los derivados ferrocenilicos son buenos mediadores redox en la síntesis de nuevos biosensores de glucosa.
3. Los biosensores con sustituyentes ferrocenilicos forman películas sobre la base de electrodos los cuales ayudan a la lectura de la glucosa oxidasa (GOx).
4. Las investigaciones de biosensores de glucosa con sustituyentes ferrocenilicos ha sido de gran interés, debido a que es una nueva área de desarrollo.

Referencias

1. Costa, J. (2005). La electroquímica: Cuando el pasado era presente. *Departamento de Química Física, Facultad de Química, Universidad de Barcelona*.
2. Martínez, Y., & Hernández, R. (2004). Electroquímica: Energía y Ambiente. *Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16741/energia_ambient_e.pdf*.
3. Harris, D. C., Análisis Químico Cuantitativo. 3a. Edición / correspondiente a la 6a. del original, Barcelona, España, Editorial Reverté S.A., 2007.
4. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. Crouch, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 9ª. Edición, México, Cengage Learning, 2015.
5. Gómez-Biedma, S., Soria, E., & Vivó, M. (2002). Análisis electroquímico. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 51(1), 18-27.
6. Allen, B.J., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 1980, Canadá: John Wiley & Sons.
7. Charlot, G.; Badoz-Lambling, J.; Trémillon, B. *Las reacciones electroquímicas*. España: Toray-Masson (1969) 347-352.
8. Delahay, P., & Mamantov, G. (1955). Voltammetry at constant current: Review of theoretical principles. *Analytical Chemistry*, 27(4), 478-483.
9. Matsuda, H., & Ayabe, Y. (1955). The theory of the cathode-ray polarography of Randles-Sevcik. *Zeitschrift fuer Elektrochemie and Angewandte Physikalische Chemie*, 59, 494-503.
10. Martínez, Y., & Hernández, R. (2004). Electroquímica: Energía y Ambiente. *Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16741/energia_ambient_e.pdf*.
11. Jiménez, C., & León, D. E. (2009). Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1), 144-154.
12. L. Ristic. *Sensor technology and devices*, ed. I. Artech House. (1994), Norwood.
13. A.K. Turner, Isao. *Biosensor: fundamentals and applications*, ed. O.U. Press., New York (1987).
14. Alegret, S., del Valle, M., & Merkoçi, A. (2004). *Sensores electroquímicos: introducción a los quimiosensores y biosensores: curso teórico-práctico* (Vol. 147). Univ. Autònoma de Barcelona.
15. FLORINEL-GABRIEL, Banica. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*, First Edition. JohnWiley & Sons, 2012.
16. TORRES Ramírez, Eduardo, Alia Méndez Albores "Biosensores enzimáticos" *Revista Digital Universitaria* [en línea]. 1 de noviembre de 2014, Vol. 15, No.11 [Consultada:].

Disponible en Internet: <<http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art97/index.html>>
ISSN: 1607-6079.

17. Laura Cristina C. P. (2007). Síntesis, caracterización estructural y termodinámica de cavidades moleculares derivadas de 1-3 fenilendimina, como prospectos biomiméticos de receptores biológicos [Título profesional, Instituto politécnico nacional] Laura-tesis (ipn.mx).
18. Pastorino, L., Soumetz, F. C., Giacomini, M., & Ruggiero, C. (2006). Development of a piezoelectric immunosensor for the measurement of paclitaxel. *Journal of immunological methods*, 313(1-2), 191-198.
19. Valero, M. L., Camarero, J. A., Haack, T., Mateu, M. G., Domingo, E., Giralt, E., & Andreu, D. (2000). Native-like cyclic peptide models of a viral antigenic site: finding a balance between rigidity and flexibility. *Journal of Molecular Recognition*, 13(1), 5-13.
20. Eggins, B. R. (2002). *Chemical sensors and biosensors* (Vol. 2). John Wiley & Sons.
21. Zhai, J., Cui, H., & Yang, R. (1997). DNA based biosensors. *Biotechnology advances*, 15(1), 43-58.
22. Zhang, S., Wright, G., & Yang, Y. (2000). Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction. *Biosensors and Bioelectronics*, 15(5-6), 273-282.
23. Vaiopoulou, E., Melidis, P., Kampragou, E., & Aivasidis, A. (2005). On-line load monitoring of wastewaters with a respirographic microbial sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(2), 365-371.
24. Ruan, C., Yang, L., & Li, Y. (2002). Rapid detection of viable *Salmonella typhimurium* in a selective medium by monitoring oxygen consumption with electrochemical cyclic voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 519(1-2), 33-38.
25. Sulak, M. T., Gökdoğan, Ö., Gülce, A., & Gülce, H. (2006). Amperometric glucose biosensor based on gold-deposited polyvinylferrocene film on Pt electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(9), 1719-1726.
26. De Benedetto, G. E., Palmisano, F., & Zambonin, P. G. (1996). One-step fabrication of a bienzyme glucose sensor based on glucose oxidase and peroxidase immobilized onto a poly (pyrrole) modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 11(10), 1001-1008.
27. Adeloju, S. B., Shaw, S. J., & Wallace, G. G. (1996). Polypyrrole-based amperometric flow injection biosensor for urea. *Analytica Chimica Acta*, 323(1-3), 107-113.
28. Mendoza-Madrigal, A. G., Chanona-Perez, J. J., Hernández-Sánchez, H., Palacios-González, E., Calderon-Dominguez, G., Mendez-Mendez, J. V., Villa-Vargas, L. A. (2013). Biosensores

- mecanicos en el area biologica y alimentaria. *Revista mexicana de ingeniería química*, 12(2), 205-225.
29. Okuda, J. (2017). Ferrocene–65 Years After. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017(2), 217-219.
 30. Kealy, T. J., & Pauson, P. L. (1951). A new type of organo-iron compound. *Nature*, 168(4285), 1039-1040.
 31. National Toxicology Program. Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health (NTP). 1992. *National Toxicology Program Chemical Repository Database*. Research Triangle Park, North Carolina.
 32. Seiler, P., & Dunitz, J. D. (1982). Low-temperature crystallization of orthorhombic ferrocene: structure analysis at 98 K. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 38(6), 1741-1745.
 33. N.J. Long, *Metallocenes – An Introduction to Sandwich Complexes*. Blackwell Science: London, UK (19998)
 34. García David.
 35. Connelly, N. G., & Geiger, W. E. (1996). Chemical redox agents for organometallic chemistry. *Chemical Reviews*, 96(2), 877-910.
 36. Silva, M. E. N., Pombeiro, A. J., da Silva, J. J. F., Herrmann, R., Deus, N., & Bozak, R. E. (1994). Redox potential and substituent effects in ferrocene derivatives: II. *Journal of organometallic chemistry*, 480(1-2), 81-90.
 37. Forrow, N. J., Sanghera, G. S., & Walters, S. J. (2002). The influence of structure in the reaction of electrochemically generated ferrocenium derivatives with reduced glucose oxidase. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (16), 3187-3194.
 38. Fabre, B. (2010). Ferrocene-terminated monolayers covalently bound to hydrogen-terminated silicon surfaces. Toward the development of charge storage and communication devices. *Accounts of chemical research*, 43(12), 1509-1518.
 39. Gagne, R. R., Koval, C. A., & Lisensky, G. C. (1980). Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. *Inorganic Chemistry*, 19(9), 2854-2855.
 40. Larik, F. A., Saeed, A., Fattah, T. A., Muqadar, U., & Channar, P. A. (2017). Recent advances in the synthesis, biological activities and various applications of ferrocene derivatives. *Applied Organometallic Chemistry*, 31(8), e3664.
 41. Wu, J., Wang, L., Yu, H., Khan, R. U., & Haroon, M. (2017). Ferrocene-based redox-responsive polymer gels: Synthesis, structures and applications. *Journal of Organometallic Chemistry*, 828, 38-51.

42. Zhai, X., Yu, H., Wang, L., Deng, Z., Abdin, Z. U., Tong, R., ... & Saleem, M. (2016). Recent research progress in the synthesis, properties and applications of ferrocene-based derivatives and polymers with azobenzene. *Applied Organometallic Chemistry*, 30(2), 62-72.
43. Wang, B., Takahashi, S., Du, X., & Anzai, J. I. (2014). Electrochemical biosensors based on ferroceneboronic acid and its derivatives: a review. *Biosensors*, 4(3), 243-256.
44. Sun, R., Wang, L., Yu, H., Abdin, Z. U., Chen, Y., Huang, J., & Tong, R. (2014). Molecular recognition and sensing based on ferrocene derivatives and ferrocene-based polymers. *Organometallics*, 33(18), 4560-4573.
45. Molina, P., Tárraga, A., & Caballero, A. (2008). Ferrocene-based small molecules for multichannel molecular recognition of cations and anions. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2008(22), 3401-3417.
46. Sánchez Moreno, B. (2019). Derivados del ferroceno como agente antitumoral.
47. Amer, W. A., Wang, L., Amin, A. M., Ma, L., & Yu, H. (2010). *Recent Progress in the Synthesis and Applications of Some Ferrocene Derivatives and Ferrocene-Based Polymers. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 20(4)
48. Dai, L.-X., Tu, T., You, S.-L., Deng, W.-P., & Hou, X.-L. (2003). *Asymmetric Catalysis with Chiral Ferrocene Ligands. Accounts of Chemical Research*, 36(9), 659-667.
49. Review: (a) Borman, S. (1996). Researchers probe steps of taxol biosynthesis. *Chemical & engineering news*, 74(27), 27-29. (b) Blaser, H. U., & Spindler, F. (1997). Enantioselective catalysis for agrochemicals: the case history of the DUAL MAGNUM® herbicide. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 51(6), 297-299. (c) Imwinkelried, R. (1997). Catalytic asymmetric hydrogenation in the manufacture of d-biotin and dextromethorphan. *Chimia*, 51(6), 300-300.
50. Viktor, W. (1954). *U.S. Patent No. 2,694,721*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
51. Chmical Week, Jan. 22, 1956, p. 54.
52. "Dicyclopentadienyliron" New Products Bulletin, E. I. du 77, 6205-7 (1955). Pont de Nemours & Co., May, 1955.
53. Floris, B. (2015). Ferrocene in agriculture: from agrochemicals and soil remediation to selective chemosensors. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-14.
54. Beer, P. D., Graydon, A. R., Johnson, A. O., & Smith, D. K. (1997). Neutral ferrocenoyl receptors for the selective recognition and sensing of anionic guests. *Inorganic chemistry*, 36(10), 2112-2118.

55. Villar, R. (2004). Química supramolecular y de coordinación en el desarrollo de sensores químicos. *Educación química*, 15(4), 420-424.
56. Beitollahi, H., Khalilzadeh, M. A., Tajik, S., Safaei, M., Zhang, K., Jang, H. W., & Shokouhimehr, M. (2020). *Recent Advances in Applications of Voltammetric Sensors Modified with Ferrocene and Its Derivatives*. ACS Omega.
57. Pal, A., Bhatta, S. R., & Thakur, A. (2021). Recent advances in the development of ferrocene based electroactive small molecules for cation recognition: A comprehensive review of the years 2010–2020. *Coordination Chemistry Reviews*, 431, 213685.
58. Cao, Q. Y., Zhang, J. F., Ren, W. X., Choi, K., & Kim, J. S. (2011). Ferrocene-based novel electrochemical In³⁺ sensor. *Tetrahedron letters*, 52(34), 4464-4467.
59. Beer, P. D., Graydon, A. R., Johnson, A. O., & Smith, D. K. (1997). Neutral ferrocenoyl receptors for the selective recognition and sensing of anionic guests. *Inorganic chemistry*, 36(10), 2112-2118.
60. Zapata, F., Caballero, A., Tarraga, A., & Molina, P. (2010). Ferrocene-substituted nitrogen-rich ring systems as multichannel molecular chemosensors for anions in aqueous environment. *The Journal of Organic Chemistry*, 75(1), 162-169.
61. Labande, A., Ruiz, J., & Astruc, D. (2002). Supramolecular gold nanoparticles for the redox recognition of oxoanions: syntheses, titrations, stereoelectronic effects, and selectivity. *Journal of the American Chemical Society*, 124(8), 1782-1789.
62. Yang, H., Zhou, Z., Huang, K., Yu, M., Li, F., Yi, T., & Huang, C. (2007). Multisignaling optical-electrochemical sensor for Hg²⁺ based on a rhodamine derivative with a ferrocene unit. *Organic Letters*, 9(23), 4729-4732.
63. Yao, W., Wang, L., Wang, H., Zhang, X., Li, L., Zhang, N., ... & Xing, N. (2013). An electrochemiluminescent DNA sensor based on nano-gold enhancement and ferrocene quenching. *Biosensors and Bioelectronics*, 40(1), 356-361.
64. Takenaka, S., Uto, Y., Kondo, H., Ihara, T., & Takagi, M. (1994). Electrochemically active DNA probes: detection of target DNA sequences at femtomole level by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical biochemistry*, 218(2), 436-443.
65. Zapata, F., Caballero, A., Espinosa, A., Tarraga, A., & Molina, P. (2008). Triple channel sensing of Pb (II) ions by a simple multiresponsive ferrocene receptor having a 1-deazapurine backbone. *Organic Letters*, 10(1), 41-44.
66. Yutilov, Y. M. (2005). Imidazopyridines: 1-and 3-deazapurines. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 89, 159-270.

67. Adler, T. K. (1962). Fluorescence Properties of Mono-and Poly-azaindoles. *Analytical Chemistry*, 34(6), 685-689.
68. Heitsch, H., Becker, R. H., Kleemann, H. W., & Wagner, A. (1997). 3N-Methylbiphenylsulfonylurea and-carbamate substituted imidazo [4, 5-b] pyridines. Potent antagonists of the ANG II AT1 receptors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 5(4), 673-678.
69. Ge, F., Ye, H., Luo, J. Z., Wang, S., Sun, Y. J., Zhao, B. X., & Miao, J. Y. (2013). A new fluorescent and colorimetric chemosensor for Cu (II) based on rhodamine hydrazone and ferrocene unit. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 181, 215-220.
70. Huang, W., Song, C., He, C., Lv, G., Hu, X., Zhu, X., & Duan, C. (2009). Recognition preference of rhodamine-thiospirolactams for mercury (II) in aqueous solution. *Inorganic Chemistry*, 48(12), 5061-5072.
71. Ramírez-Domínguez, S. E., Estrada-López, J. J., & López-Huerta, F. *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*.
72. Clark Jr, L. C., & Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of sciences*, 102(1), 29-45.
73. Cherkas, Holota, Mdzinarashvili, Gabbianelli, & Zarkovic. (2020). *Glucose as a Major Antioxidant: When, What for and Why It Fails? Antioxidants*, 9(2), 140.
74. Wagner, G., & Schmid, R. D. (1990). Biosensors for food analysis. *Food Biotechnology*, 4(1), 215-240.
75. Drury, M. I., Timoney, F. J., & Delaney, P. (1965). Dextrostix--A Rapid Method of Estimating Blood Glucose Levels. *Journal of the Irish Medical Association*, 56, 52-53.
76. Jensen, M. S. (1965). Clinical tests with the dextrostix. A new method for rapid blood sugar determination. *Ugeskrift for Laeger*, 127(22), 709-712.
77. Korp, W. (1965). A new rapid blood-sugar determination at bedside (dextrostix). *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)*, 115, 435-437.
78. Clark Jr, L. C., & Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of sciences*, 102(1), 29-45.
79. Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The enzyme electrode. *Nature*, 214(5092), 986-988.
80. Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). Reagentless substrate analysis with immobilized enzymes. *Science*, 158(3798), 270-272.
81. Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The enzyme electrode. *Nature*, 214(5092), 986-988.
82. Wang, J. (2008). Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews*, 108(2), 814-825.
83. Liu, J., & Wang, J. (2001). A novel improved design for the first-generation glucose biosensor. *Food technology and biotechnology*, 39(1), 55-58.

84. Turner, A. P., Chen, B., & Piletsky, S. A. (1999). In vitro diagnostics in diabetes: meeting the challenge. *Clinical chemistry*, 45(9), 1596-1601.
85. Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.
86. Frew, J. E., & Hill, H. A. O. (1987). Electrochemical biosensors. *Analytical chemistry*, 59(15), 933A-944A.
87. Shichiri, M., Yamasaki, Y., Kawamori, R., Hakui, N., & Abe, H. (1982). Wearable artificial endocrine pancreas with needle-type glucose sensor. *The Lancet*, 320(8308), 1129-1131.
88. Chaubey, A., & Malhotra, B. (2002). Mediated biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(6-7), 441-456.
89. Wang, J. (2001). Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 13(12), 983-988.
90. Yoo, E. H., & Lee, S. Y. (2010). Glucose biosensors: an overview of use in clinical practice. *Sensors*, 10(5), 4558-4576.
91. Khan, G. F., Ohwa, M., & Wernet, W. (1996). Design of a stable charge transfer complex electrode for a third-generation amperometric glucose sensor. *Analytical chemistry*, 68(17), 2939-2945.
92. Palmisano, F., Zambonin, P. G., Centonze, D., & Quinto, M. (2002). A disposable, reagentless, third-generation glucose biosensor based on overoxidized poly (pyrrole)/tetrathiafulvalene– tetracyanoquinodimethane composite. *Analytical chemistry*, 74(23), 5913-5918.
93. Zhang, W., & Li, G. (2004). Third-generation biosensors based on the direct electron transfer of proteins. *Analytical sciences*, 20(4), 603-609.
94. Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.
95. Saleem, M., Yu, H., Wang, L., Khalid, H., Akram, M., Abbasi, N. M., & Huang, J. (2015). Review on synthesis of ferrocene-based redox polymers and derivatives and their application in glucose sensing. *Analytica chimica acta*, 876, 9-25.
96. Chaubey, A., & Malhotra, B. (2002). Mediated biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(6-7), 441-456.

97. Gracia, R., & Mecerreyes, D. (2013). Polymers with redox properties: materials for batteries, biosensors and more. *Polymer Chemistry*, 4(7), 2206-2214.
98. Qiu, J. D., Liang, R. P., Wang, R., Fan, L. X., Chen, Y. W., & Xia, X. H. (2009). A label-free amperometric immunosensor based on biocompatible conductive redox chitosan-ferrocene/gold nanoparticles matrix. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(4), 852-857.
99. Zhang, M., & Gorski, W. (2005). Electrochemical sensing platform based on the carbon nanotubes/redox mediators-biopolymer system. *Journal of the American Chemical Society*, 127(7), 2058-2059.
100. Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.
101. Ballarin, B., Cassani, M. C., Mazzoni, R., Scavetta, E., & Tonelli, D. (2007). Enzyme electrodes based on sono-gel containing ferrocenyl compounds. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(7), 1317-1322.
102. Pillai, C. K., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in polymer science*, 34(7), 641-678.
103. Wu, A., Kolla, H., & Manohar, S. K. (2005). Chemical synthesis of highly conducting polypyrrole nanofiber film. *Macromolecules*, 38(19), 7873-7875.
104. Ramey, M. B., Jeri'Ann Hiller, ‡, Rubner, M. F., Tan, C., Schanze, K. S., & Reynolds, J. R. (2005). Amplified fluorescence quenching and electroluminescence of a cationic poly (p-phenylene-co-thiophene) polyelectrolyte. *Macromolecules*, 38(2), 234-243.
105. Bulut, U., & Cirpan, A. (2005). Dual-type electrochromic devices based on conducting copolymers of thiophene-functionalized monomers. *Synthetic metals*, 148(1), 65-69.
106. Chen, J., Burrell, A. K., Collis, G. E., Officer, D. L., Swiegers, G. F., Too, C. O., & Wallace, G. G. (2002). Preparation, characterisation and biosensor application of conducting polymers based on ferrocene substituted thiophene and terthiophene. *Electrochimica Acta*, 47(17), 2715-2724.
107. Soon, G. H., Deasy, M., Worsfold, O., & Dempsey, E. (2011). Synthesis, co-polymerization, and electrochemical evaluation of novel ferrocene-pyrrole derivatives. *Analytical letters*, 44(11), 1976-1995.
108. Casas-Solvas, J. M., Ortiz-Salmerón, E., Fernández, I., García-Fuentes, L., Santoyo-González, F., & Vargas-Berenguel, A. (2009). Ferrocene-β-Cyclodextrin Conjugates: Synthesis, Supramolecular Behavior, and Use as Electrochemical Sensors. *Chemistry—A European Journal*, 15(33), 8146-8162.

109. Chuang, C. L., Wang, Y. J., & Lan, H. L. (1997). Amperometric glucose sensors based on ferrocene-containing B-polyethylenimine and immobilized glucose oxidase. *Analytica chimica acta*, 353(1), 37-44.
110. Merchant, S. A., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2007). Effects of electrolyte and pH on the behavior of cross-linked films of ferrocene-modified poly (ethylenimine). *Langmuir*, 23(22), 11295-11302.
111. Nguyen, A. L., & Luong, J. H. (1993). Mediated glucose biosensor based on polyvinylferrocene. *Applied biochemistry and biotechnology*, 43(2), 117-132.
112. Sulak, M. T., Gökdoğan, Ö., Gülce, A., & Gülce, H. (2006). Amperometric glucose biosensor based on gold-deposited polyvinylferrocene film on Pt electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(9), 1719-1726.
113. Yang, W., Zhou, H., & Sun, C. (2007). Synthesis of ferrocene-branched chitosan derivatives: redox polysaccharides and their application to reagentless enzyme-based biosensors. *Macromolecular rapid communications*, 28(3), 265-270.
114. Şenel, M. (2011). Construction of reagentless glucose biosensor based on ferrocene conjugated polypyrrole. *Synthetic metals*, 161(17-18), 1861-1868.
115. Zheng, L., Xiong, L., Li, J., Li, X., Sun, J., Yang, S., & Xia, J. (2008). Synthesis of a novel β -cyclodextrin derivative with high solubility and the electrochemical properties of ferrocene-carbonyl- β -cyclodextrin inclusion complex as an electron transfer mediator. *Electrochemistry communications*, 10(2), 340-345.
116. Zheng, L., Li, J., Xu, J., Xiong, L., Zheng, D., Liu, Q., & Xia, J. (2010). Improvement of amperometric glucose biosensor by the immobilization of FcCD inclusive complex and carbon nanotube. *Analyst*, 135(6), 1339-1344.
117. Chuang, C. L., Wang, Y. J., & Lan, H. L. (1997). Amperometric glucose sensors based on ferrocene-containing B-polyethylenimine and immobilized glucose oxidase. *Analytica chimica acta*, 353(1), 37-44.
118. Merchant, S. A., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2007). Effects of electrolyte and pH on the behavior of cross-linked films of ferrocene-modified poly (ethylenimine). *Langmuir*, 23(22), 11295-11302.
119. Wang, J. Y., Chen, L. C., & Ho, K. C. (2013). Synthesis of redox polymer nanobeads and nanocomposites for glucose biosensors. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(16), 7852-7861.

120. Merchant, S. A., Tran, T. O., Meredith, M. T., Cline, T. C., Glatzhofer, D. T., & Schmidtke, D. W. (2009). High-sensitivity amperometric biosensors based on ferrocene-modified linear poly (ethylenimine). *Langmuir*, 25(13), 7736-7742.
121. Smith, T. W., Kuder, J. E., & Wychick, D. (1976). Voltammetric behavior of poly (vinylferrocene). *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 14(10), 2433-2448.
122. Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins, I. J., ... & Turner, A. P. (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical chemistry*, 56(4), 667-671.
123. Nguyen, A. L., & Luong, J. H. (1993). Mediated glucose biosensor based on polyvinylferrocene. *Applied biochemistry and biotechnology*, 43(2), 117-132.
124. Şenel, M., & Abasıyanık, M. F. (2010). Construction of a novel glucose biosensor based on covalent immobilization of glucose oxidase on poly (glycidyl methacrylate-co-vinylferrocene). *Electroanalysis*, 22(15), 1765-1771.
125. Pillai, C. K., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in polymer science*, 34(7), 641-678.
126. Honarkar, H., & Barikani, M. (2009). Applications of biopolymers I: chitosan. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 140(12), 1403-1420.
127. Zhang, M., & Gorski, W. (2005). Electrochemical sensing platform based on the carbon nanotubes/redox mediators-biopolymer system. *Journal of the American Chemical Society*, 127(7), 2058-2059.
128. Qiu, J. D., Wang, R., Liang, R. P., & Xia, X. H. (2009). Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2920-2925.
129. Kandimalla, V. B., Tripathi, V. S., & Ju, H. (2006). A conductive ormosil encapsulated with ferrocene conjugate and multiwall carbon nanotubes for biosensing application. *Biomaterials*, 27(7), 1167-1174.
130. Qiu, J. D., Wang, R., Liang, R. P., & Xia, X. H. (2009). Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(9), 2920-2925.
131. Turner, A. P. (2000). Biosensors-sense and sensitivity. *Science*, 290(5495), 1315-1317.