

# UN LARGO VIAJE DESDE DONDE CANTAN LOS COYUYOS HASTA EL APASIONANTE MUNDO DE LOS BIOSENSORES <sup>1</sup>

**Palabras clave:** Biosensores, Nanomateriales, Biomarcadores.  
**Key words:** Biosensors, Nanomaterials, Biomarkers.

A través de un apasionante recorrido biográfico, el autor nos introduce en el fascinante mundo de los biosensores, en el que se usan elementos biológicos (enzimas, tejidos celulares) para detectar y medir cuantitativamente sustancias químicas. El escrito incorpora sus aventuras por tierras argentinas y españolas, así como rememora sus exploraciones en el desierto White Sands (Nuevo México) escenario de las andanzas de “Billy the Kid”. Sus discípulos más cercanos reivindican su generosidad, sensibilidad, vanguardismo, nobleza e integridad en su trabajo como director, así como la experticia que le mereció ser descripto “el abanderado de los biosensores”. Gustavo nos relata, en fin, cómo la pasión y la avidez por aprender se constituyeron en el principal motor para recorrer el camino de la investigación.

## ■ Gustavo A. Rivas

INFIQC-CONICET. Departamento de Físicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria. 5000 Córdoba

[grivas@fcq.unc.edu.ar](mailto:grivas@fcq.unc.edu.ar)/[gustavo.rivas@unc.edu.ar](mailto:gustavo.rivas@unc.edu.ar)

<sup>1</sup> Editor asignado: **Miguel A. Blesa**

## ■ DEL CAMINO RECORRIDO ANTES DE LA UNIVERSIDAD

Inicié mi camino en una ciudad del sudeste santiagueño, Bandera, donde las siestas y las tardes de verano se alegraban con las bellas melodías que ejecutaban los coyuyos. Incentivado por mis padres, mi vida siempre estuvo ligada a los libros. Ellos me inculcaron el gran valor del estudio y el sentido de la responsabilidad y del compromiso. Me enseñaron que un camino fácil y sin grandes desafíos es demasiado llano y que, en cambio, un camino

empinado, con metas importantes, siempre ofrece el sabor de la recompensa. La vida quiso que fuera hijo único y eso me generó un elevado nivel de auto-exigencia del que recién fui consciente con el paso de los años. Humberto, mi padre, trabajó como empleado de correo y en otros emprendimientos comerciales y fue un hombre culto, inteligente, apasionado por la lectura y un gran escritor. Su deseo era que estudiara Medicina, pero logré que comprendiera que no tenía vocación de médico. Mi madre, Pierina, quien to-

avía me acompaña, fue maestra de grado, profesora de secundario y directora de escuela. Fue una docente de excelencia, que tuvo el reconocimiento de toda la comunidad de Bandera por su profunda vocación y por la entrega sin límites a su profesión. Sin duda que ese ejemplo tuvo una gran influencia en mi temprano interés por la docencia, ejercitada en numerosas ocasiones con mis amigos y compañeros.

En marzo de 1965, cuando yo tenía algo más de 4 años, mi madre solicitó permiso para inscribirme

como alumno “oyente” en el primer grado de mi querida Escuela Provincial José J. Berutti Nro. 204. Dado que mi rendimiento en el primer bimestre fue muy bueno, quedé como alumno efectivo y así empecé a engarzar los primeros eslabones de la larga cadena de la educación. A los 11 años comencé la escuela secundaria en el único colegio que había en la ciudad, el Instituto Secundario Monseñor José Weimann, donde me gradué de bachiller en 1976, como integrante de la segunda promoción. Siempre fui un alumno aplicado, con un enfoque crítico a la hora de estudiar y con gran interés por consultar bibliografía de diversas fuentes, y esa dedicación se vio recompensada con el hermoso premio de llevar la bandera en ambos colegios (Figura 1).

En cuarto año del secundario tuve mi primer encuentro con la Química y hubo un amor a primera vista. Conforme fue pasando el tiempo, me di cuenta cuánto me gustaba y supe que mi futuro estaría ligado a ella. Dudé entre Ingeniería Química y Bioquímica, pero finalmente opté por Bioquímica, y la Universidad Nacional de Córdoba (UNC) fue la elegida porque mis abuelos vivían en la ciudad de Córdoba.

#### ■ DE MIS AÑOS COMO ESTUDIANTE UNIVERSITARIO

En enero de 1977, con sólo 16 años, me trasladé a Córdoba con una maleta cargada de ilusiones. Ese año se había establecido que el ingreso a las universidades sería con examen y cupo, el cual, en Ciencias Químicas había sido de 180 alumnos para una larga lista de alrededor de 1200 postulantes. Hice el curso de ingreso y estudié con mucha dedicación y, como siempre, el esfuerzo rindió sus frutos y pude ingresar en un muy buen lugar. Así comencé a transitar una hermosa etapa de mi

vida en la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la UNC, de la que ya nunca me apartaría. En el curso de ingreso conocí a María Elena Ferrero, mi compañera de estudios inseparable a lo largo de toda la carrera y una amiga entrañable. En primer año mis expectativas se vieron satis-

fechas porque me encontré con docentes de excelencia. Los profesores Maiztegui (<https://aargentinapciencias.org/la-aapc-recuerda-a-alberto-maiztegui/>) y Macagno (<https://aargentinapciencias.org/publicaciones/revista-resenas/resenas-tomo-1-no-4-2013/>) me deleitaron con sus



**Figura 1:** Acto de entrega de la bandera de ceremonias al finalizar la escuela primaria. (1971). Escuela Provincial Nro. 204 José J. Berutti

clases de Física y Química, por la claridad de sus explicaciones y por su gran capacidad de transformar, mediante ejemplos muy didácticos, conceptos complejos en conceptos fácilmente entendibles. El profesor Arola me deslumbró con sus clases, por la rigurosidad, la claridad y la contundencia con que enseñaba el formalismo matemático. Y no puedo dejar de mencionar a mi jefa de trabajos prácticos de química, María Teresa Brarda, quien, con su carisma y el dinamismo de sus clases, me hizo disfrutar la Química General I y la Química General II. En segundo año comencé mis actividades docentes como ayudante-alumno *ad-honorem* en el Departamento de Físicoquímica (DFQ) y en tercer año me inicié efectivamente en la docencia como Ayudante-alumno. Esa actividad docente fue una excelente inversión del escaso tiempo libre del que disponía mientras cursaba la carrera, porque me dejó una gran enseñanza para los años venideros como docente.

En 1981, luego de realizar las prácticas en el Hospital Nacional de Clínicas, tuve la gran alegría de graduarme como Bioquímico. Después de un pequeño paréntesis por el servicio militar, seguí trabajando como jefe de trabajos prácticos de Química General en el DFQ y de Química Clínica II en el Departamento de Bioquímica Clínica, y decidí cursar las ocho materias requeridas para terminar la carrera de Farmacia, la que logré finalizar en 1984.

### ■ DE MI TESIS DOCTORAL

En 1985 el Dr. Macagno, profesor del DFQ, me ofreció hacer investigación en ese departamento, en una nueva línea que iba a iniciar la Dra. Velia Solís dirigida a la Bioelectroquímica y a la Electroanalítica, temáticas de gran importancia en el mundo y de muy escaso desarrollo

en el país. Así fue como desarrollé mi tesis doctoral bajo la dirección de Velia Solís, la cual fue titulada "Estudio del comportamiento electroquímico de L-Tirosina y sustancias afines". En esta tesis se desarrolló una novedosa metodología para la determinación electroquímica de los parámetros cinéticos de la enzima polifenol oxidasa empleando L-tirosina como sustrato, lo que dio lugar a mi primer trabajo científico, publicado en la mejor revista de *Química Analítica* de ese momento (Rivas y Solís, 1991). Esta metodología se extendió al uso de otros sustratos de relevancia clínica y ambiental como L-dopa y fenol (Rivas y Solís 1992, 1994).

En el grupo al que me integré tuve la alegría de conocer a Mabel Yudi, una excelente compañera y una amiga desinteresada, noble y generosa, capaz de alegrarse por cada uno de mis logros y de ser el soporte firme para los momentos difíciles. Con ella compartimos desde el escritorio hasta el dictado de asignaturas de grado y la dirección del DFQ.

Con la idea de comenzar a incursionar en el campo de los sensores electroquímicos, temática que me interesaba para mi futuro, trabajé en el diseño de sensores basados en un material que, por su gran versatilidad y bajo costo, era la "estrella" de ese momento, el famoso compuesto de grafito llamado "pasta de carbono". Se propusieron biosensores obtenidos mediante la modificación de la pasta de carbono con tejidos de diferentes vegetales como fuentes de la polifenol oxidasa, y se encontró una interesante correlación entre la procedencia de la enzima y la actividad biocatalítica de los biosensores resultantes frente a diferentes fenoles y catecoles (Forzani y col. 1997).

### ■ DE MIS TIEMPOS DE POST-DOCTORADO

Una vez finalizada la tesis doctoral, tomé la decisión de continuar mi carrera científica en la Química Analítica, rama de la Química de gran auge en el mundo, pero muy deprimida en nuestra universidad y en nuestro país. Hacia finales de 1993 obtuve una Beca para Investigadores Iberoamericanos otorgada por la *Generalitat Valenciana* para realizar actividades postdoctorales en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química, Universidad de Valencia (España) bajo la dirección del Prof. José Martínez Calatayud, y en enero de 1994 emprendí mi viaje hacia tierras españolas.

Las investigaciones estuvieron dirigidas al desarrollo de estrategias analíticas para la detección de fármacos basadas en el Análisis por Inyección en Flujo, técnica que concitaba gran atención por aquellos tiempos. Se diseñaron columnas reactivas mediante el uso de matrices poliméricas con agentes complejantes para la cuantificación de ácido salicílico por espectroscopía de absorción atómica, y compuestos oxidantes para la determinación de noradrenalina por espectroscopía de fluorescencia (Rivas y Martínez Calatayud 1995, Laredo-Ortiz y col. 1997). Otro aspecto interesante que se abordó en esta etapa fue la determinación espectrofotométrica de tioridazina a través de su fotooxidación *on-line*. (Rivas et al. 1996). Por último, se incursionó en la espectroscopía de derivadas asociada con el Análisis por Inyección en Flujo para la determinación simultánea de adrenalina y noradrenalina. La estadía postdoctoral en Valencia fue una experiencia muy interesante y enriquecedora en todo sentido, en el plano científico porque tuve la inmejorable oportunidad de incur-

sionar en importantes y variados aspectos de la Química Analítica que serían de gran utilidad para mi futuro, y en el plano personal, porque coseché muy buenos amigos (Figura 2).

Mientras realizaba la estadía en España, esperaba con muchas ansias el resultado de una beca solicitada a CONICET para realizar una estadía postdoctoral en *New Mexico State University*, Las Cruces, USA, bajo la dirección del Prof. Joseph Wang. La elección de ese lugar surgió luego de haber leído una gran cantidad de trabajos de Wang y col. en el campo de los Sensores y Biosensores Electroquímicos, muy interesantes e innovativos, escritos de manera clara y contundente, y publicados en las mejores revistas de la Química Analítica.

Así, gracias a una beca de CONICET, me encaminé hacia Las Cruces, situada en el estado de *New Mexico*, la tierra del chile, con reminiscencias coloniales de su pasado mexicano, de reservas indígenas, del famoso desierto *White Sands* y escenario de las andanzas de "*Billy The Kid*" (Figura 3). Un 1 de mayo de 1995 comencé mi estadía postdoctoral en el laboratorio del Prof. Wang, un centro de primer nivel, donde se desarrollaban proyectos que marcaban tendencia en el mundo. Para mí fue un verdadero honor que Joseph Wang me recibiera en su laboratorio ya que se trata del número uno indiscutido en el mundo de los Sensores Electroquímicos (al día de hoy cuenta con 1170 publicaciones, 130000 citas y un índice h de 170). El ambiente de trabajo

era muy estimulante y la adrenalina con la que se vivía día a día era algo adictivo por el tenor de los desafíos planteados, al punto que trabajé incansablemente de lunes a lunes con gran alegría y con la curiosidad y la avidez de conocimientos de un niño que va descubriendo el mundo. Un hecho que me impactó fue la dedicación y la eficiencia de Joseph Wang, quien -a pesar de todos sus galardones- era el primero en llegar al laboratorio y celebraba un nuevo trabajo aceptado con tanta alegría como si fuera el primero. Como un gran valor agregado, tuve la posibilidad de conocer durante mi estadía a científicos muy prestigiosos dentro de la especialidad, entre los que merece un especial comentario el mundialmente reconocido profesor Emil Palecek, padre de la electroquímica



**Figura 2:** Grupo de trabajo de Valencia (1994).

de los ácidos nucleicos, con quien también tuve el placer de realizar varios proyectos en colaboración durante sus visitas al laboratorio de Joe Wang como profesor invitado.

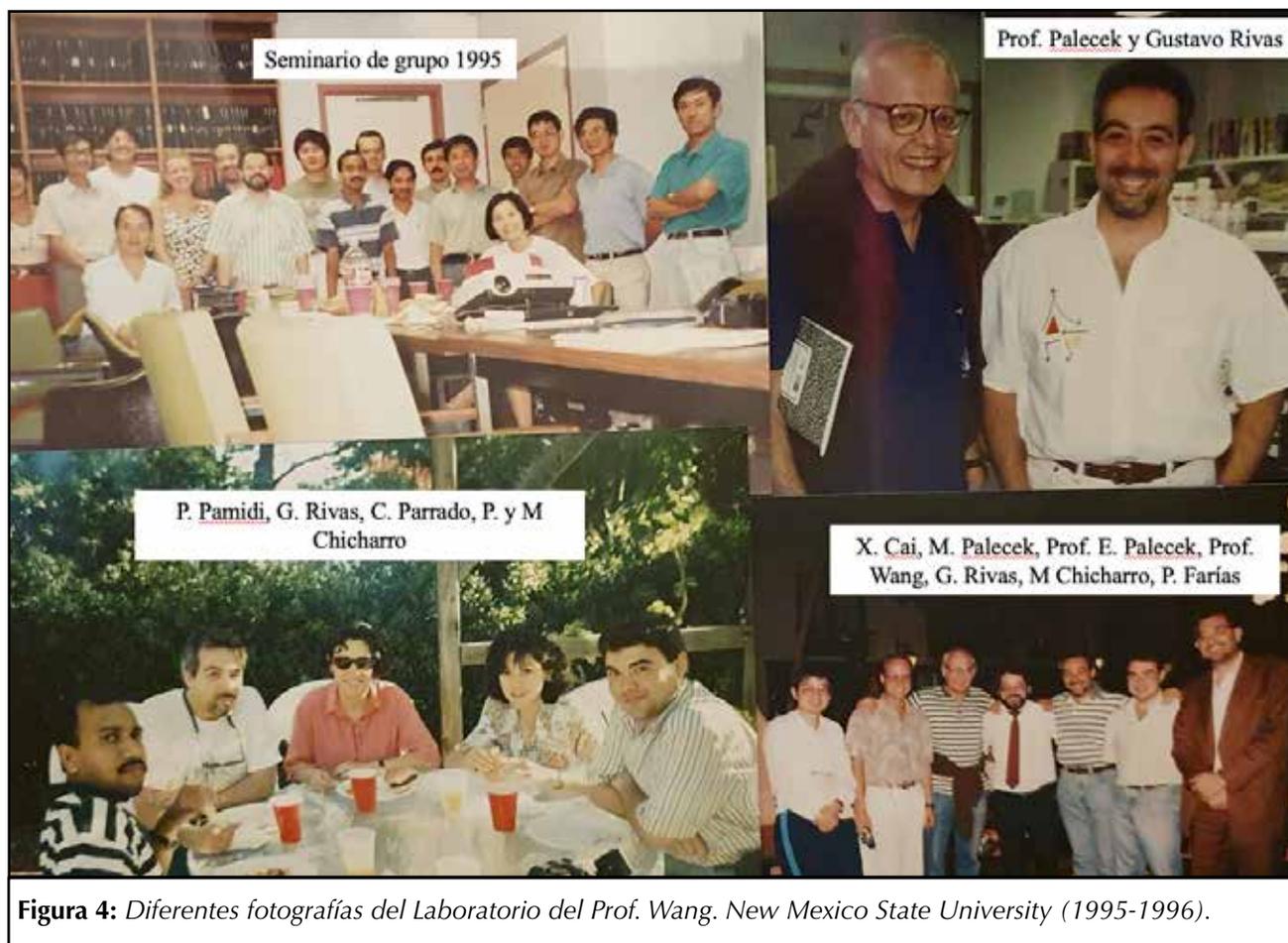
En el marco de la beca postdoctoral se estudiaron biosensores enzimáticos para la detección de peróxidos orgánicos y de glucosa mediante la inmovilización de catalasa por atrapamiento en una matriz polimérica y de glucosa oxidasa por atrapamiento en una red metalizada sobre ultramicroelectrodos de carbono o por incorporación en compósitos de grafito (Wang y col., 1997a). Sin embargo, la mayor parte de mi tra-

bajo postdoctoral estuvo focalizada en el apasionante mundo de los sensores basados en ADN o genosensores, los que, en ese momento, se encontraban en sus comienzos. Se desarrollaron biosensores con ADN o análogos como elementos de reconocimiento tendientes a detectar el evento de hibridación y el daño del ADN. Se desarrollaron biosensores de hibridación para la determinación de secuencias cortas de ADN del HIV-1, de *M. tuberculosis*, de *C. parvum* y de *E. coli* empleando electrodos de carbono con sondas de ADN inmovilizadas electroquímicamente y complejos metálicos como indicadores rédox (Wang y col.

1996a, Wang y col. 1997b). Se describió por primera vez el comportamiento electroquímico de análogos del ADN, los *peptide nucleic acids* (PNA) (Wang y col. 1996b) y se propuso el primer biosensor basado en el uso de PNA como elemento de reconocimiento para la determinación de una mutación puntual en el gen p53 (Wang y col. 1997c). Se desarrollaron biosensores electroquímicos para estudiar la interacción de fármacos con el ADN (Wang y col. 1996c), como así también el daño que producen sobre el ADN ciertos agentes químicos del tipo de hidrazina y aminas aromáticas (Wang y col. 1996d y 1996e) o agentes físi-



**Figura 3:** Fotografías de Las Cruces, New Mexico (USA) (1995-1996).



**Figura 4:** Diferentes fotografías del Laboratorio del Prof. Wang. New Mexico State University (1995-1996).

cos como la radiación ultravioleta (Wang y col. 1997d).

La estadía post-doctoral en el laboratorio de Joseph Wang marcó un antes y un después en mi carrera, no sólo por la excelente producción científica lograda, sino por todo lo que aprendí, porque tuve el placer de sentarme a discutir ideas y resultados y a redactar *papers* con un científico brillante, porque pude conocer la manera de gestionar y abordar importantes proyectos y de dirigir con altísima eficiencia un enorme grupo de trabajo con personas de diferentes procedencias. Pero Joseph Wang no sólo me abrió las puertas de su laboratorio y fue un jefe muy generoso que siempre confió en mí, sino que también me abrió las puertas de su casa y así es como al día de hoy mantengo una

hermosa amistad con él y con su encantadora esposa Ruth. Esta excelencia académica de Joseph Wang le valió la designación como Profesor Honorario de la UNC en ocasión de una visita a Argentina para participar como conferencista plenario del "II Congreso Argentino de Química Analítica" que me tocó organizar en Huerta Grande (Córdoba) en 2003.

Sin lugar a dudas, esta fue una etapa maravillosa e inolvidable, no sólo en los aspectos científicos, sino también en el plano personal, ya que tuve la dicha de conocer a colegas de diversos lugares del mundo y de cosechar numerosos amigos. Dos de ellos, Manuel Chicharro, de la Universidad Autónoma de Madrid, y Concepción Parrado, de la Universidad Complutense de Madrid, -Manolo y Concha- son grandes amigos

con quienes, además de haber trabajado en proyectos conjuntos a lo largo de estos años, mantengo una profunda amistad (Figuras 4 y 5).

#### ■ DE MI RETORNO AL PAÍS Y CREACIÓN DEL GRUPO

Poco tiempo antes de retornar a Argentina, tuve la gran alegría de obtener mi primer subsidio de investigación, otorgado por la Fundación Antorchas, el cual resultó de gran utilidad para comenzar a equipar lo que sería mi futuro laboratorio.

A mi regreso a Córdoba, sentí que era el momento de capitalizar todo lo aprendido durante mis estadías en España y USA, y la manera de hacerlo fue iniciar una línea de investigación en Química Analítica que tuviera mi impronta. Así surgió

lo que sería la línea de los *Biosensores electroquímicos enzimáticos y de afinidad dirigidos a la cuantificación de analitos de relevancia clínica y ambiental*. Los comienzos no fueron fáciles, pero con el correr del tiempo el camino se fue allanando. A finales de 1997 obtuve el ingreso a la Carrera del Investigador de CONICET como Investigador Adjunto sin director, a mediados de 2000 obtuve un cargo de Profesor Adjunto en el DFQ, y poco a poco fui consiguiendo subsidios de Fundación Antorchas, del entonces CONICOR, de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNC y de la Asociación de Bioquímicos de Córdoba, los que me permitieron ir equipando mi laboratorio, y así, entre 1998 y 2000 pude recibir a mis cuatro primeras tesis de doctorado.

Un hecho digno de destacar es que, en 1999, convocado por colegas de la Universidad de San Luis, un grupo de entusiastas investigadores en Química Analítica de diferentes lugares del país, fundamos la Asociación Argentina de Químicos Analíticos (AAQA). Gracias al trabajo mancomunado, logramos consolidar la Química Analítica en el país y darle la entidad que corresponde. Hoy, al ver la pujanza y la fuerte presencia de la Química Analítica en el concierto nacional y la participación de una gran cantidad de jóvenes en los congresos organizados por la AAQA, siento la inefable alegría de haber cumplido con la misión de contribuir a la consolidación de la Química Analítica en el país.

#### ■ DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DESDE LA CREACIÓN DEL GRUPO *BIOSENSORES ENZIMÁTICOS*

En 1998 comenzó a trabajar en el grupo quien sería mi primera tesis de doctorado, la Dra. Marcela Rodríguez, hoy Profesora Asociada



**Figura 5:** Acto de Designación del Prof. Joseph Wang como Profesor Honorario de la Universidad Nacional de Córdoba. En la fotografía superior: Joseph y Ruth Wang. (2003).

e Investigadora Independiente de CONICET en el DFQ. Su tesis recibió el Premio Catoggio otorgado por la AAQA a la mejor tesis del país en Química Analítica en el bienio 2003-2005, lo cual fue un motivo de gran alegría.

Los primeros proyectos abordados por mi grupo estuvieron focalizados en el diseño de biosensores enzimáticos para la cuantificación de glucosa, fenoles y catecoles mediante el uso de glucosa oxidasa y polifenol oxidasa como elementos de biorreconocimiento, respectivamente. Esta temática fue abordada por la Dra. Rodríguez y por otra de las primeras tesis con las que comenzó mi grupo, la Dra. Silvia Miscoria, hoy Profesora Adjunta de la Universidad de la Patagonia Austral San Juan Bosco, quien realizó su tesis doctoral en el marco de una colaboración establecida en el año 2000 entre nuestro grupo y su facultad para impulsar el desarrollo de la Química Analítica en dicha Universidad.

Se desarrollaron biosensores enzimáticos para la cuantificación de glucosa mediante el atrapamiento de glucosa oxidasa en una red metálica de cobre obtenida por co-deposición en la superficie de carbono vítreo o a través de su incorporación en compósitos de grafito modificados con partículas de cobre, lográndose, en ambos casos, biosensores altamente competitivos con exitosa aplicación en muestras de suero sanguíneo humano (Rodríguez y Rivas 2001). La incorporación de diferentes combinaciones de micropartículas de cobre, iridio, rodio, rutenio, platino y paladio en compósitos de grafito modificados con glucosa oxidasa permitió lograr una importante mejora en la sensibilidad y la selectividad de la cuantificación de glucosa gracias al sinergismo obtenido por la asociación de

los distintos catalizadores (Miscoria y col. 2002). Otra alternativa innovativa fue la asociación de glucosa oxidasa y rodio con politiramina electrogenerada *in-situ* lográndose así efectos anti-interferencia y robustez adicionales (Miscoria y col. 2006). En cuanto a los biosensores de fenoles y catecoles, se siguieron dos estrategias. En un caso, la inmovilización de polifenol oxidasa se efectuó por incorporación en un material compósito de carbono muy poco explotado hasta ese momento, obtenido con microesferas de carbono vítreo en lugar de grafito (Rodríguez y Rivas 2002). Una importante aplicación de este sensor fue el estudio de los productos de la biodegradación enzimática de 2,4-dinitrotolueno (Rodríguez y col. 2006). Una técnica de preparación de biosensores que en esos momentos recibía gran atención por su versatilidad era el autoensamblado capa-por-capo (Miscoria y col. 2006). Así, la otra estrategia de preparación de biosensores para fenoles y catecoles estuvo centrada en la construcción de una arquitectura supramolecular mediante autoensamblado capa-por-capo de quitosano modificado para tener carga positiva permanente (llamado quitosano cuaternario) y polifenol oxidasa. Esta alternativa fue abordada no sólo desde el punto de vista experimental sino también a través de modelado, lo que permitió obtener interesante información sobre las propiedades fisicoquímicas de la plataforma biosensora resultante (Coche-Guerente y col. 2005).

#### ■ POLÍMETROS MELÁNICOS Y SENSORES ELECTROQUÍMICOS DE NEUROTRANSMISORES

Otra línea abordada a partir de 1999 por mi segunda tesista de doctorado, la Dra. Dolores Rubianes, hoy Profesora Adjunta e Investigadora Independiente de CONICET en el DFQ, fue la síntesis de polí-

meros melánicos con propiedades permselectivas y su aplicación para el desarrollo de sensores electroquímicos dirigidos a la cuantificación de neurotransmisores. Reportamos por primera vez la síntesis de un polímero melánico a partir de la oxidación electroquímica de L-dopa, mimetizando la producción de melanina *in-vivo* (Rubianes y Rivas 2001). Los polímeros resultantes demostraron excelentes propiedades de preconcentración de dopamina y de barrera selectiva hacia compuestos cargados negativamente, posibilitando el desarrollo de sensores electroquímicos para medir niveles nanomolares de dopamina aún en presencia de un gran exceso de ácido ascórbico, su principal interferente, y de dopac, su producto metabólico más importante. El éxito de este material polimérico permitió abrir nuevos caminos. Por un lado, se evaluó el uso de electrodos modificados con el polímero como detectores electroquímicos para electroforesis capilar y Análisis por Inyección en Flujo (Chicharro y col. 2004). Por otro lado, se investigó la síntesis de polímeros melánicos empleando otras catecolaminas como monómeros de partida. Se obtuvo una interesante correlación entre la naturaleza del catecol, la estabilidad y las propiedades permselectivas y de preconcentración de los polímeros melánicos sintetizados, y la sensibilidad hacia dopamina de los sensores resultantes. Especial mención merece la síntesis de un polímero melánico obtenido a partir de dopamina, reportado por primera vez por nuestro grupo y que en la actualidad es ampliamente usado para la construcción de una gran diversidad de (bio)sensores electroquímicos (González y col. 2004).

## ■ GENOSENSORES ELECTROQUÍMICOS

En los albores de la nueva centuria, comenzamos otra línea de trabajo, la de los Biosensores electroquímicos basados en ADN o genosensores electroquímicos, temática en la que fuimos pioneros en el país y en la región. El trabajo fue realizado por una de las primeras cuatro tesis con quienes comenzó el grupo, la Dra. María Laura Pedano, quien actualmente es Investigadora Independiente de CONICET en el Instituto Balseiro de Bariloche. Estudiamos la adsorción y electrooxidación de diversos ADNs sobre carbono vítreo, lo que permitió encontrar una interesante correlación entre el número y tipo de bases y la eficiencia en su adsorción, electrooxidación y accesibilidad de la capa inmovilizada para detectar eventos de hibridación (Pedano y Rivas 2003, 2005). Esta tesis fue premiada por la Asociación Química Argentina, con el *Premio Herrera-Ducloux*.

En otros trabajos realizados en el grupo, se estudió la interacción de naranja de acridina, un conocido intercalador, con ADN de doble hebra de timo de ternera inmovilizado mediante autoensamblado capa-por-capo sobre electrodos de oro (Ferreyra y Rivas, 2009). Se propuso una interesante metodología para efectuar la liberación de genes electroquímicamente controlada, empleando microelectrodos de oro modificados con ADNs tiolados y microelectrodos de pasta de grafito conteniendo ADNs inmovilizados electroquímicamente (Wang y col. 1999a, 1999b). Se diseñó una estrategia para la cuantificación simultánea de dos secuencias de ADNs que son importantes biomarcadores de cáncer de mama, empleando partículas magnéticas, hibridación tipo sándwich, separación magnética y transducción voltamperométrica a

partir de los productos de dos reacciones enzimáticas (Wang y col. 2002).

Luego del retorno de la Dra. Rodríguez de su estadía postdoctoral en *Arizona State University*, comenzamos con una nueva línea de biosensores basados en el uso de aptámeros, también llamados anticuerpos químicos, como elementos de biorreconocimiento. En este tema nuestro grupo ha sido también pionero a nivel nacional y latinoamericano. Se propuso un aptasensor electroquímico para la cuantificación directa de lisozima sin marcadores redox, a partir de los cambios en la oxidación intrínseca del aptámero, con muy buenas características analíticas (Rodríguez y Rivas 2007).

## ■ NANOMATERIALES Y (BIO)SENSORES ELECTROQUÍMICOS

Los sensores electroquímicos no fueron ajenos a la revolución producida por la Nanotecnología en diversas ramas de la ciencia. En efecto, el advenimiento de nuevos nanomateriales produjo cambios significativos, no sólo en el diseño de las plataformas de biorreconocimiento sino también en la obtención de las señales analíticas de los sensores. Los nanosensores obtenidos en nuestro grupo estuvieron basados en el uso de nanotubos de carbono, materiales grafenáceos, *quantum dots* de carbono y nanopartículas magnéticas, metálicas y de óxidos mixtos.

## ■ NANOZYMES Y (BIO)SENSORES ELECTROQUÍMICOS

En la última década, la síntesis de diferentes nanomateriales con actividad pseudoenzimática (especialmente peroxidasa-mimética), llamados *nanozymes*, y su aplicación para el desarrollo de sensores electroquí-

micos ha cobrado gran relevancia debido a las ventajas que ofrecen estos materiales en comparación con las enzimas en cuanto a estabilidad y costos. En nuestro grupo se reportó por primera vez la actividad peroxidasa-mimética de nanopartículas de magnetita electrogeneradas las que, a diferencia de las ampliamente conocidas partículas de magnetita sintetizadas químicamente, no habían sido empleadas para el desarrollo de sensores electroquímicos a pesar de las importantes ventajas que ofrecen (Comba y col. 2010). Un resultado muy interesante, no reportado hasta entonces, obtenido de manera accidental como tantos resultados en la ciencia, fue el efecto de diversas proteínas en la dispersión de nanopartículas de magnetita en compósitos de grafito, el cual se tradujo en una notable mejora en la sensibilidad de los sensores resultantes. Este efecto fue altamente dependiente de la estructura terciaria de la proteína y de su densidad de residuos hidrofóbicos (Comba y col. 2012).

En otro trabajo muy interesante se reportó por primera vez la actividad pseudo-peroxidasa de perovskitas  $\text{La}_{1-x}\text{A}_x\text{MnO}_3$  dispersas en compósitos de grafito, y se demostró que su actividad catalítica hacia la reducción de peróxido de hidrógeno es altamente dependiente de la naturaleza del catión A y del tiempo de calcinación empleado durante la síntesis, siendo  $\text{La}_{0.66}\text{Sr}_{0.33}\text{MnO}_3$  la más activa (Luque y col. 2009).

También se estudió la actividad peroxidasa-mimética de nanopartículas *core-shell* Cu@PtPd/C, demostrándose que las nanoestructuras resultantes presentan claros efectos sinérgicos en su actividad catalítica comparados con los componentes individuales. Ello posibilitó la obtención de sensores electroquímicos no enzimáticos para la cuantificación altamente sensible y selectiva de pe-

róxido de hidrógeno, un biomarcador de enfermedades degenerativas y un analito de relevancia en la industria (Gutiérrez y col. 2018).

### ■ NANOTUBOS DE CARBONO Y (BIO)SENSORES ELECTROQUÍMICOS: COMPÓSITOS DE NANOTUBOS DE CARBONO

Desde su descubrimiento en 1991 los nanotubos de carbono recibieron una enorme atención en diversos campos de la ciencia y de la industria. En consonancia con las ventajas que se reportaban acerca de la incorporación de nanotubos de carbono en sensores electroquímicos, y en la búsqueda de estrategias novedosas, en las vacaciones de verano de 2003 me surgió la idea de diseñar un material compósito basado en nanotubos de carbono el que, de acuerdo con mi hipótesis, debía resultar muy exitoso. Dolores Rubianes, quien estaba en sus últimos meses de tesis doctoral, fue la encargada de llevar adelante ese proyecto, y luego de un trabajo muy intenso, en unos pocos meses tuvimos el electrodo desarrollado y el artículo publicado. El nuevo electrodo fue llamado “*Carbon Nanotubes Paste Electrode*” (CNTPE) o pasta de nanotubos de carbono, un compósito análogo al “*Carbon Paste Electrode*”, que comparte características en cuanto a versatilidad, pero que resulta mucho más activo por los efectos catalíticos inherentes a las nanoestructuras (Rubianes y Rivas 2003). Tuvimos la satisfacción de ser pioneros a nivel mundial y este trabajo fue uno de los diez más citados de la revista *Electrochemistry Communications* en sus primeros diez años y uno de los más citados de mi carrera, con 387 citas al día de la fecha. Este fue el puntapié inicial para el desarrollo de una línea muy exitosa dentro del grupo, que nos permitió obtener resultados de gran relevancia. El CNTPE fue usado para

la cuantificación de trazas de ácidos nucleicos (Pedano y Rivas 2004) y como detector en Análisis por Inyección en Flujo y en Electroforesis capilar, lo que permitió lograr importantes ventajas en las sensibilidades obtenidas y en la reproducibilidad de las determinaciones aun trabajando con compuestos cuyos productos de oxidación son altamente pasivantes (Chicharro y col. 2005).

Se diseñó un sensor electroquímico que permitió la cuantificación de aminoácidos electroactivos y no electroactivos, a bajos potenciales y a pH neutro, tanto en estático como en Análisis por Inyección en Flujo y Electroforesis capilar, mediante la incorporación de micropartículas de cobre en CNTPE. Este diseño representó una alternativa muy superadora respecto de los sensores existentes, que presentan el inconveniente de requerir condiciones drásticas de pH y potencial (Luque y col. 2007, Sánchez-Arribas y col. 2006).

### ■ NANOTUBOS DE CARBONO Y (BIO)SENSORES ELECTROQUÍMICOS: BIOFUNCIONALIZACIÓN Y APLICACIONES

En 2007 comenzamos con una nueva línea dentro de los nanosensores electroquímicos, la que, con las adaptaciones requeridas por los desafíos actuales, aún sigue vigente. Esta línea está dirigida a la funcionalización “inteligente” de nanotubos de carbono con biomoléculas críticamente seleccionadas para lograr la exfoliación de las nanoestructuras y, lo que es más importante aún, para conferirles propiedades particulares que permitan lograr plataformas biosensoras “hechas a medida”

Se seleccionaron diferentes polipéptidos como agentes de biofuncionalización (polilisisina, polihistidina, politirosina y poliarginina) para la construcción de diversos sensores

y biosensores electroquímicos. Se tomó ventaja de la carga de los polipéptidos escogidos para lograr el anclaje de biomoléculas cargadas negativamente y de su capacidad de preconcentración de cofactores enzimáticos o de autogeneración de catalizadores de la oxidación de dichos cofactores. De este modo, se obtuvieron sensores para la detección simultánea de ácido ascórbico y paracetamol (Dalmasso y col. 2012a y b), la determinación de polifenoles a bajos sobrepotenciales (Eguílaz y col. 2016a) y la cuantificación altamente sensible de ácido úrico (Gutiérrez y col. 2018). También se desarrollaron biosensores enzimáticos para la cuantificación de glucosa (Dalmasso y col. 2013) y etanol (Eguílaz y col. 2016b, Gallay y col. 2019), y genosensores para cuantificar un importante biomarcador de cáncer, el microRNA-21. Los aminoácidos también demostraron ser interesantes agentes de biofuncionalización y un ejemplo modelo fue la cisteína, la cual ofreció la gran ventaja de una eficiente preconcentración de Cd(II) por acomplejamiento y su detección a niveles de sub-ppb (Gutiérrez y col. 2017).

Otra estrategia innovativa de funcionalización de los nanotubos de carbono fue el uso de enzimas, las que demostraron no sólo una eficiente acción como agentes exfoliantes, sino que, a pesar de la desnaturalización parcial experimentada por las condiciones drásticas empleadas durante la funcionalización de las nanoestructuras, mantuvieron sus propiedades como biocatalizadores. Se emplearon glucosa oxidasa (Gutiérrez y col. 2012) y citocromo c (Eguílaz y col. 2016c, d) y en ambos casos se logró la transferencia de carga directa del centro redox de las enzimas y se obtuvieron biosensores enzimáticos para glucosa y etanol con excelentes características analíticas.

Otro desafío planteado fue el uso de un ADN con un muy elevado número de pares de bases tal como el ADN de doble hebra de timo de ternera (Primo y col. 2013). Esta biomolécula que posibilitó no sólo una excelente desagregación de los nanotubos de carbono sino que, aún con la desnaturalización parcial producto del enrollamiento de las nanoestructuras, mantuvo sus propiedades de biorreconocimiento, obteniéndose un genosensor para la cuantificación de un conocido intercador, el fármaco prometazina, a niveles nanomolares (Primo y col. 2014).

En los últimos cuatro años, nuestro grupo hizo aportes muy interesantes en cuanto a un nuevo concepto de “funcionalización inteligente” para lograr la construcción de plataformas multifuncionales que permitan el desarrollo de distintos tipos de biosensores de acuerdo con el elemento de biorreconocimiento anclado. Este concepto estuvo focalizado en el uso de proteínas con sitios de reconocimiento específicos como concanavalina A y avidina, a través de las conocidas interacciones lectina-glicoproteína/azúcar y avidina-biotina.

La funcionalización de nanotubos de carbono con concanavalina A permitió obtener una plataforma exitosa para la construcción de sensores bienzimáticos de glucosa altamente sensibles y selectivos a través del anclaje sitio-específico de las glicoproteínas glucosa oxidasa y peroxidasa de rábano (Ortiz y col. 2019). La biofuncionalización de los nanotubos de carbono con avidina dio lugar a otra plataforma muy exitosa que fue usada para la construcción de diversos biosensores. En efecto, se desarrollaron biosensores enzimáticos para peróxido de hidrógeno y glucosa empleando las correspondientes enzimas biotiniladas con excelente “performance” ana-

lítica (Gutiérrez y col. 2019, Gallay y col. 2019). Estos genosensores de hibridación para la detección de niveles atomolares de una secuencia de BCRA-1, un importante biomarcador de cáncer de mama, a través del uso de una sonda de ADN biotinilada.

En los últimos años ha cobrado gran importancia el desarrollo de nanosensores electroquímicos basados en nanomateriales híbridos por las propiedades superadoras que ofrecen respecto de los nanomateriales individuales. Desarrollamos biosensores enzimáticos para la cuantificación de glucosa empleando dos estrategias. En una de ellas, se trabajó con nanotubos de carbono y nanopartículas de oro polifuncionalizadas con un tiol y un derivado del ácido borónico a fin de favorecer el anclaje de la glucosa oxidasa (Eguílaz y col. 2015), y en otro, se efectuó la asociación de los nanotubos de carbono-avidina con nanopartículas de rutenio y glucosa oxidasa biotinilada (Gallay y col. 2020), lográndose excelentes características analíticas. También se diseñaron biosensores basados en nanomateriales híbridos a base de sílica, nanotubos de carbono dispersos en nafion y hemoglobina para la cuantificación altamente sensible de ácido tricloroacético y nitrito (Eguílaz y col. 2018).

#### ■ MATERIALES GRAFENÁCEOS Y (BIO)SENSORES ELECTROQUÍMICOS

El grafeno, nanomaterial por el que se otorgó el Premio Nobel de Química en 2014, recibió considerable atención en diversas ramas de la ciencia y en particular en el campo de los sensores electroquímicos, debido a sus excelentes propiedades. Así fue como también dirigimos nuestro trabajo a la incorporación de diversos materiales grafenáceos en los (bio)sensores electroquímicos

(óxido de grafeno, óxido de grafeno química o electroquímicamente reducido, grafeno) a fin de explotar sus conocidas ventajas. Se desarrolló un material compuesto de grafeno químicamente sintetizado a partir de grafito (Gasnier y col. 2013, Gutiérrez y col. 2014) y un electrodo basado en un material híbrido obtenido a partir de la oxidación controlada de nanotubos de carbono (Hernández y col. 2014). Más recientemente se propuso un biosensor impedimétrico para la detección femtomolar de miRNA-21, basado en una arquitectura supramolecular de óxido de grafeno reducido modificado con quitosano y una sonda de ADN (López Mujica y col. 2021).

#### ■ BIOUSENSORES PLASMÓNICOS

A finales de la primera década de este siglo el grupo adquirió un equipo de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) para ampliar el espectro de esquemas de transducción de los biosensores y obtener valiosa información acerca de la construcción de las plataformas sensoras en tiempo real. Se desarrolló un aptasensor dirigido a la cuantificación altamente sensible y selectiva de trombina humana (Jalit y col. 2013); un inmunosensor para galectina-3, biomarcador emergente de enfermedades cardiovasculares (Primo y col. 2018a y b), y un genosensor para la cuantificación subfemtomolar de microRNA-21 (López Mujica y col. 2020). Este último trabajo fue seleccionado por el Editor de *Analytical and Bioanalytical Chemistry* como “Forefront paper”.

#### ■ DE LAS ACTIVIDADES DE GESTIÓN Y EVALUACIÓN

A lo largo de todos estos años he desarrollado diversas actividades de gestión como consejero en los Consejos del DFCQ y del INFIQC; Director Alterno y Director del DFCQ; Director Alterno de la Comisión Ase-

sora de doctorado y maestría (CAD-yM) de la FCQ, y como integrante de numerosas comisiones de la FCQ y del INFIQC. En lo que se refiere a actividades de evaluación, he sido Coordinador de la Comisión de Química de la Agencia Córdoba Ciencia, de la Comisión de Química de CONICET, de la Comisión *Ad-Hoc* para la promoción de Investigadores Superiores de CONICET y de la Comisión de Química de FONCyT. He participado como jurado de numerosas tesis doctorales en la FCQ, en otras universidades del país y en el exterior. He sido jurado de numerosos concursos docentes en diferentes universidades del país.

#### ■ DE LAS DISTINCIONES RECIBIDAS

En este largo caminar recibí importantes distinciones que fueron como una dulce caricia para el espíritu y resultaron muy gratificantes.

En 2001 recibí el Premio Ranwell Caputto otorgado por la Academia Nacional de Ciencias de Argentina; en 2004, el Premio Rafael Labriola otorgado por la Asociación Química Argentina; en 2013, el Premio Konex en Nanotecnología otorgado por la Fundación Konex y, en 2016, el Premio Consagración otorgado por la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. En 2016 fui incorporado como Académico correspondiente de la Academia Nacional de Ciencias de Argentina y en 2020 como Académico de número de dicha Academia (Figura 6). En 2013 fui designado Investigador Superior de CONICET. Tuve el gran honor de que mis colegas me eligieran vice-presidente (2003-2005) y Presidente (2005-2007) de la Asociación Argentina de Químicos Analíticos. Fui miembro del Comité Editorial de *Analytical Letters* y *Sensors and Actuators B. Chemical* y soy miembro del Comité Editorial

de *Electroanalysis*. En 2011 recibí con enorme alegría la invitación de *Sensors and Actuators B: Chemical*, una de las revistas más prestigiosas de la Química Analítica (*impact factor*: 7,1) para actuar como Editor y desde 2018 como Co-Editor-en-Jefe. En los últimos años también tuve el gran honor de ser convocado por "The Nobel Committees for Physical and Chemistry" para nominar al candidato para el Premio Nobel en Química.

#### ■ DE LOS AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Blesa por su generosa invitación para contar algunos aspectos relevantes del camino que recorrí. Debo reconocer que me sentí muy honrado con la propuesta, pero al mismo tiempo me di cuenta que no sería una tarea simple. Sin embargo, al desempolvar el baúl de los recuerdos, un cúmulo de



**Figura 6:** Acto de incorporación como Académico de la Academia Nacional de Ciencias. Entrega el diploma el Presidente de la Academia, Dr. Tirao. (2016).

vivencias se agolparon en mi mente y las palabras comenzaron a fluir con gran facilidad, convirtiendo esta experiencia en algo muy placentero.

Tengo palabras de agradecimiento para todos los docentes que me educaron, desde la escuela primaria hasta la universidad, pero los profesores del secundario merecen una mención especial porque trabajaron gratis hasta que el colegio estuvo incorporado en el presupuesto nacional, sólo motivados por su vocación y por el convencimiento de que la ciudad necesitaba imperiosamente la enseñanza secundaria.

Agradezco a Velia Solís por haberme enseñado los primeros pasos en la investigación científica, por haberme brindado la oportunidad de realizar la tesis doctoral bajo su dirección, y por haberme inculcado siempre la rigurosidad del trabajo científico.

No puedo concluir esta reseña sin agradecer a las instituciones que, a través de sus subsidios, hicieron posible la realización de mi trabajo, las provinciales (el entonces llamado CONICOR luego Agencia Córdoba Ciencia), las nacionales (SECyT-UNC, CONICET, ANPCyT) y las internacionales (ECOS (Francia), FONDECyT (Chile) y MINCyT-CO-NACYT (Chile), MINCyT-Ministerio de Educación (España), Banco Santander-Universidad Autónoma de Madrid (España)), así como algunas instituciones privadas (Fundación Antorchas, Asociación de Bioquímicos de Córdoba, Banco Río). La Fundación Antorchas merece una mención muy especial porque, entre otros, me otorgó un subsidio trianual de reinstalación que me permitió comprar el equipamiento más costoso y, por lo tanto, jugó un papel muy importante en la consolidación de mi laboratorio.

Indudablemente, todos estos logros no son individuales y sólo son posibles si se cuenta con un grupo que trabaja con ahínco y con entrega, y soy plenamente consciente que una de las características de mi grupo ha sido siempre un ritmo de trabajo muy intenso. Por eso, agradezco profundamente a todos los que hoy integran mi grupo, en especial a Marcela y a Dolores, quienes me acompañan desde los albores del grupo, por el apoyo incondicional que me brindaron a lo largo de todos estos años, por haberse puesto en todo momento la "camiseta" del grupo y por haber estado siempre presente donde hizo falta sin pedir algo a cambio. A Pablo D. por haberme elegido para dar el gran salto en su postdoctorado desde la Química Atmosférica a los Biosensores Electroquímicos, por el gran apoyo brindado durante los años que llevamos trabajando juntos y por sus valiosas contribuciones en esta nueva etapa. A Pablo G. por haber decidido mudarse desde Tucumán para realizar su postdoctorado en mi grupo, por elegirme para que dirija su carrera como investigador y por su gran dedicación y compromiso para llevar adelante su trabajo; a Antonella, mi cuarta nieta científica, por haber elegido a mi grupo para realizar su doctorado y por todo lo realizado a lo largo de estos años; a Michael, por la pasión con que abraza cada proyecto, por sus inagotables ganas de trabajar, por estar, como los *boy-scouts*, siempre listo para un nuevo desafío y por haber inundado el grupo con su alegría caribeña; a Fabrizio, por su gran esfuerzo para compatibilizar las actividades como Químico en Villa María y las correspondientes a la maestría en nuestro grupo, por las ganas con que afronta sus investigaciones y por su gran sentido de la responsabilidad. A las nuevas "adquisiciones del grupo", Alejandro, Virginia y Daiana; a Alejandro, por haber considerado

mi temprana propuesta de hacer su doctorado en mi grupo, por la responsabilidad y el compromiso con que realiza su trabajo y por su gran dedicación; a Virginia, por haber elegido al grupo para incursionar en el campo de los Biosensores electroquímicos, por enriquecernos (junto a Alejandro) con sus aportes ingenieriles, por el empeño con que realiza su trabajo y por su disposición para afrontar con responsabilidad cada desafío; y a Daiana, la última en llegar a nuestro grupo, a quien todavía no conozco personalmente debido a las restricciones de la pandemia, por haber venido desde su Catamarca natal para formarse como estudiante de doctorado en nuestro grupo y ser mi próxima nieta científica.

También quiero expresar mi gran agradecimiento a quienes formaron parte de mi grupo y ahora se encuentran desarrollando sus actividades en otros centros (Nancy, María Laura P., Guillermina, Emiliano, Fabiana, Marcos, Aurelien, Silvia, Virginia, Guillermina, Fausto, Victoria, y mis tres nietas científicas, Yamile, Cecilia y María Laura R) y a todos los pasantes que trabajaron en el laboratorio. Las figuras 7 a 14 muestran fotografías de los integrantes del grupo de trabajo en diferentes etapas a lo largo de estos años.

Quiero expresar un GRACIAS muy grande a todos los investigadores con quienes realizamos trabajos en colaboración, ya sea en el marco de proyectos formales como ECOS (Francia), MINCyT-Ministerio de Educación de España, MINCyT-CO-NACYT (Chile), FONDECyT (Chile), Universidad Autónoma de Madrid-Banco Santander de España, Universidad Autónoma de Madrid-UNC; o como parte de proyectos establecidos de manera directa entre investigadores de la Universidad de Santiago de Chile, Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa (Mé-



**Figura 7:** Fotografía del grupo. De izquierda a derecha: Guillermina Luque, Dolores Rubianes, Marcela Rodríguez, Julien Fatisson, Gustavo Rivas, María Laura Pedano, Alberto Sánchez-Arribas. (2003).



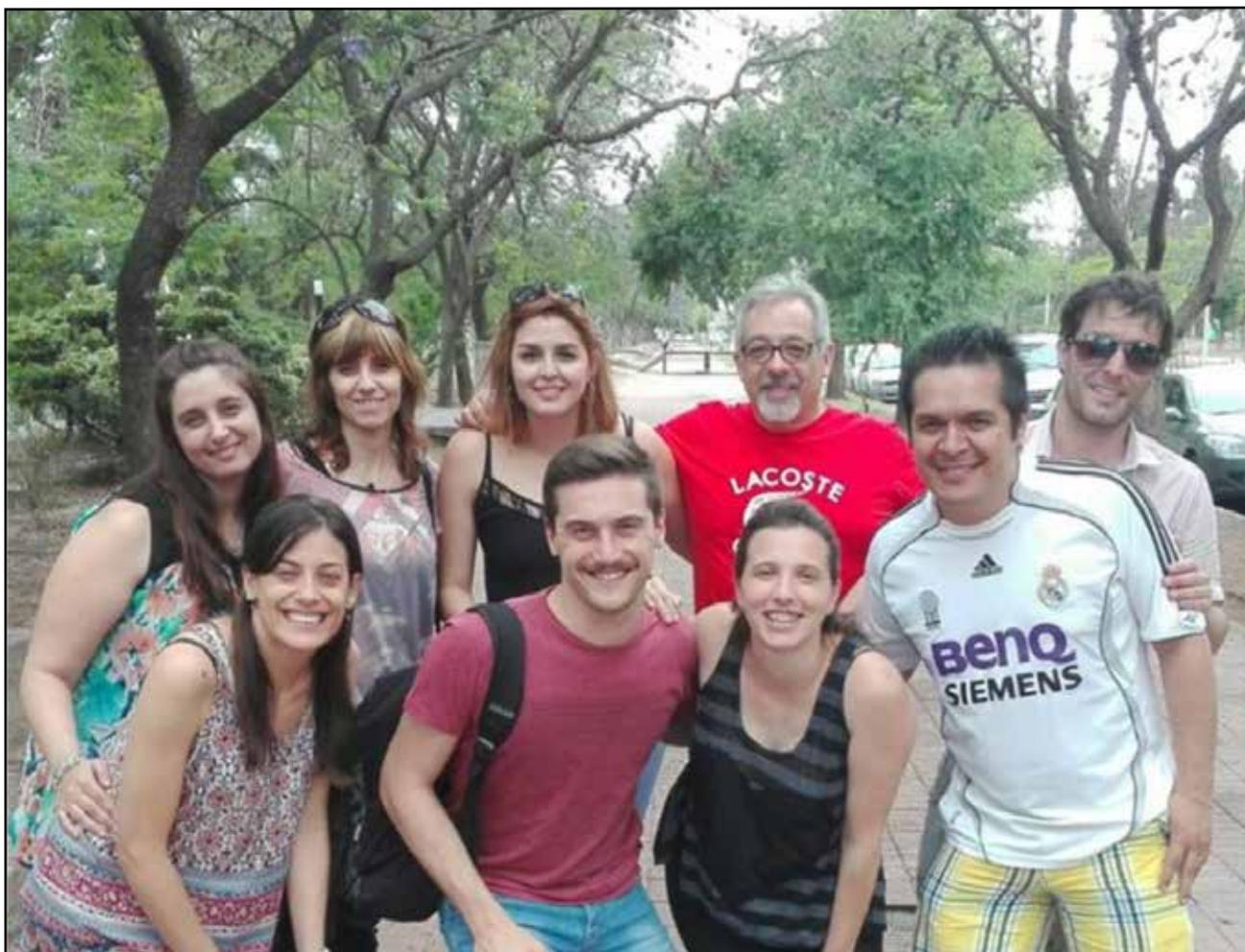
**Figura 8:** Fotografía del grupo. Adelante, de izquierda a derecha: Dolores Rubianes, Marcela Rodríguez, Nancy Ferreyra; Detrás, de izquierda a derecha: Silvia Miscoria, Gustavo Rivas, Guillermina Luque, María Laura Pedano. (2005).



**Figura 9:** Fotografía del grupo. De izquierda a derecha: Jose Sandoval, Nancy Ferreyra, Gustavo Rivas, Marcela Rodríguez, Yamile Jalit, Guillermina Luque, Victoria Bracamonte. (2006).



**Figura 10:** Fotografía del grupo. De izquierda a derecha: Adelante: Pilar Herrasti, Laura Galicia, María Luisa Lozano, Nancy Ferreyra, Yamile Jalit, Virginia Bracamonte; Detrás: Dolores Rubianes, Marcela Rodríguez, Gustavo Rivas, Fausto Comba. (2008).



**Figura 11:** Fotografía del grupo. Adelante: de izquierda a derecha: Cecilia Tetamantti, Emiliano Primo, Antonella Montemerlo, Alejandro Gutiérrez; Detrás, de izquierda a derecha: Fabiana Gutierrez, Dolores Rubianes, Constanza Venegas, Gustavo Rivas, Marcos Eguílaz. (2015).



**Figura 12:** Festejo de mis 50 años organizado por el grupo: De izquierda a derecha: Fausto Comba, Yamile Jalit, Emiliano Primo, Nancy Ferreyra, María Laura Pedano, Marcela Rodríguez, Gustavo Rivas, Dolores Rubianes, Fabiana Gutierrez, Gallina Dubacheva, Virginia Bracamonte, Guillermina Luque, Pablo Dalmaso. (2010).



**Figura 13:** Fotografía del grupo. Adelante, de izquierda a derecha: Dolores Rubianes, Marcela Rodríguez, Antonella Montemerlo, Gustavo Rivas, Cecilia Tetamantti, María Laura Ramírez, Marcos Eguílaz, Fabrizio Perreacione; Detrás: Jorge Saldaña, Pablo Gallay. (2017).



**Figura 14:** Fotografía del grupo. De izquierda a derecha: Cecilia Tetamantti, Antonella Montemenrlo, Fabiana Gutierrez, María Laura Ramírez, Dolores Rubianes, Marcela Rodríguez, Gustavo Rivasm Pablo Gallay, Marcos Eguílaz, Pabo Dalmasso, Michael López Mujica. (2018).

xico), Universidad de Guanajuato (México), Universidad Complutense de Madrid (España) y New Mexico State University (USA). Agradezco la inestimable contribución de los

investigadores nacionales (Dres. Argaña y Monti (CIQUIBIC-FCQ), Dra. Ortega (FCQ), Dr. Bocco (CIBICI-FCQ), Dres. Sánchez, Oviedo y Leiva (INFIQC-FCQ), Dra. Leyva

(CNEA)). También agradezco a los investigadores extranjeros por su valiosísima colaboración, las Dras. Bollo, Yáñez y Venegas de la Universidad de Chile; los Dres. Chicharro,

Herrasti, Bermejo, Sánchez, Moreno y Recio de la Universidad Autónoma de Madrid; Dres. Parrado, Villalonga y Pingarrón de la Universidad Complutense de Madrid; Dr. Zapardiel de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (Madrid); Dres. Martínez, Hernández-Ferrer, Laporta, González-Domínguez y Ansón Casares del Instituto del Carbono de Zaragoza (España); Dres. Labbé, Guerente, Desbrieres y Defranc de la Universidad Joseph Fourier de Grenoble (Francia); Dres. Bedioui y Zhang de Chimie ParisTech, PSL University, Institute of Chemistry for Life and Health Sciences de París (Francia); Dres. Gutiérrez S., Gutiérrez A. y Saldaña de la Universidad de Guanajuato (México); Dr. Sandoval de la Universidad de Saltillo (México); Dres. Galicia y Lozano y Mg. Ortiz de la Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa (México); Dres. Venegas y Hermosilla de la Universidad de Santiago de Chile. El trabajo que hemos realizado ha sido muy fructífero gracias al gran aporte realizado. Ha sido un placer compartir tan buenos momentos con todos ellos.

Un agradecimiento muy especial para Joseph Wang por todo lo que me enseñó, por confiar siempre en mí, por su gran generosidad y porque gracias a que me abrió las puertas de su laboratorio, mi carrera tuvo una gran propulsión. ¡Joe, muchísimas gracias por todo, y en especial, por la hermosa amistad que hemos cultivado desde 1995 a la fecha!

Por último, pero no por eso menos importante, un enorme agradecimiento a mi familia, por comprender mi pasión por la ciencia, por compartirme siempre con ella y por acompañarme en este hermoso y loco camino recorrido.

Por los senderos de la ciencia, la vida me ha premiado con la posibili-

dad de conocer científicos que, además, son amigos entrañables con los que tengo el placer de juntarme no sólo a planear experimentos y discutir resultados, sino también a hablar de la vida, de las alegrías y de las tristezas y a compartir momentos inolvidables, junto a unas copas de Carmenero, o unas tapas de jamón serrano y tortilla española, o unas porciones de guacamole y chile... ¡Amigos, gracias por estar siempre, por hacer invisibles las distancias geográficas que nos separan y por su gran amistad!

Vaya un agradecimiento a mis colegas/amigas del DFQ, Mabel, Betty y Patricia, por el hermoso tiempo compartido, por los almuerzos, por las charlas tan gratas y enriquecedoras, y por ser el apoyo necesario cuando arreciaban los embates de la vida. ¡Muchas gracias!

#### ■ DEL BALANCE FINAL

Estoy muy feliz con el camino recorrido y agradecido con la vida por los frutos cosechados. He dedicado mi vida a la ciencia con enorme pasión, y esa pasión ha sido siempre el motor propulsor para recorrer este largo camino, para sortear dificultades y para superar con éxito los desafíos más duros. Hoy, al volver mi mirada hacia aquel niño inquieto y ávido por aprender, allá en la tierra donde cantan los coyuyos, siento el corazón henchido de alegría porque he cumplido mis sueños y porque he capitalizado todas las enseñanzas de mis padres y de mis maestros. La vida me ha demostrado que se puede llegar tan lejos como uno se lo proponga, sólo hay que mirar hacia adelante y trabajar cada día como si fuera el primero.

#### ■ BIBLIOGRAFÍA

Rivas G. A. (1991) "Estudio del comportamiento electroquímico de

L-Tirosina y sustancias afines en diferentes medios." Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba.

Rivas G. A., Solís V. M. (1991) "Indirect Electrochemical Determination of L-Tyrosine

Using Mushroom Tyrosinase in Solution", *Analytical Chemistry* 63, 2762-2765.

Rivas G.A., Solís V. M. (1992) "Electrochemical Determination of the Kinetic Parameters of Mushroom Tyrosinase", *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 29, 19-28.

Rivas G. A., Solís V. M. (1994) "Electrochemical Quantification of Phenol Using Mushroom Tyrosinase. Determination of the Kinetics Parameters of the Enzyme", *Electroanalysis* 6, 1136-1140.

Forzani E. S., Rivas G. A., Solís V. M.. (1997) "Amperometric Determination of Dopamine on Vegetal-Tissue-Enzymatic Electrodes. Analysis of Interferents and Enzymatic Selectivity", *Journal of Electroanalytical Chemistry* 435, 77-84.

Rivas G. A., Martínez Calatayud J. (1995) "FIA-AAS Determination of Salicylic Acid by a Solid-Phase Reactor of Copper Carbonate Incorporated in Polyester Resin Beads", *Talanta* 42, 1285-1289.

Laredo Ortiz S., Rivas G. A, Martínez Calatayud J. (1997) "FIA Fluorimetric Assembly for the Determination of Noradrenaline Hydrochloride by a Solid-Phase Reactor With Immobilized Hexacyanoferrate (III)", *Microchimica Acta* 126, 69-72.

Rivas G. A., Mellado Romero A., Martínez Calatayud J. (1996)

- "Photochemical Derivatization and Spectrophotometric Determination of Thioridazine by Flow Injection", *Analytica Chimica Acta* 326, 23-28.
- Wang J., Rivas G., Chicharro M. (1997a) "Glucose microsensor based on electrochemical deposition of iridium and glucose oxidase onto carbon fiber electrodes", *Journal of Electroanalytical Chemistry* 439, 55-61.
- Wang J., Cai X., Rivas G., Shiraishi H., Dontha N., Fariás P. A. M. (1996a) "DNA Electrochemical Biosensor for the Detection of Short DNA Sequences of Human Immunodeficiency Virus", *Analytical Chemistry* 68, 2629-2634.
- Wang J., Rivas G., Cai X., Dontha N., Shiraishi H., Luo D., Valera F. (1997b) "Sequence-Specific Electrochemical Biosensing of *M. tuberculosis* DNA", *Analytica Chimica Acta*, 337, 41-48.
- Wang J., Palecek E., Nielsen P., Rivas G., Cai X., Shiraishi H., Dontha N., Luo D., Farias P. A. M. (1996b) "Peptide Nucleic Acid Probes for Sequence-Specific DNA Biosensors", *Journal of American Chemical Society*, 118 (1996) 7667-7670.
- Wang J., Rivas G., Cai X., Chicharro M., Parrado C., Dontha N., Begleiter A., Mowat M., Palecek E., Nielsen P. (1997c) "Detection of point mutation in the p53 gene using a peptide nucleic acid biosensor", *Analytica Chimica Acta* 344, 111-118.
- Wang J., Rivas G., Cai X., Shiraishi H., Farias P. A. M., Dontha N., Luo D. (1996c) "Accumulation and Trace Measurements of Phenothiazine Drugs at DNA-Modified Electrodes", *Analytica Chimica Acta* 332, 139-144.
- Wang J., Chicharro M., Rivas G., Cai X., Dontha N., Farias P. A. M., Shiraishi H. (1996d) "DNA Biosensor for the Detection of Hydrazines", *Analytical Chemistry* 68, 2251-225.
- Wang J., Rivas G., Luo D., Cai X., Valera F., Dontha N. (1996e) "DNA-Modified Electrode for the detection of Aromatic Amines", *Analytical Chemistry* 68, 4365-4369.
- Wang J., Rivas G., Ozsoz M., Grant D. H., Cai X., Parrado C. (1997) "Microfabricated electrochemical sensor for the detection of radiation-induced DNA damage", *Analytical Chemistry* 69, 1457-1460.
- Rodríguez M. C., Rivas G. A. (2001) "Highly Selective First Generation Glucose Biosensor Based on Carbon Paste Containing Copper and Glucose Oxidase", *Electroanalysis*, 13 1179-1184.
- Miscoria S., Barrera G., Rivas G. (2002) "Analytical performance of a glucose biosensor prepared by immobilization of glucose oxidase and different metals in a carbon paste electrode", *Electroanalysis* 14, 981-987.
- Miscoria S., Barrera G. D., Rivas G. A. (2006) "Glucose Biosensor Based on the Immobilization of Glucose Oxidase and Polytyramine on Rhodinized Glassy Carbon and Screen Printed Electrodes", *Sensors and Actuators B. Chemical*, 115, 205-211.
- Rodríguez M. C., Rivas G. A. (2002) "Glassy Carbon Paste Electrodes Modified With Polyphenol Oxidase. Analytical Applications", *Analytica Chimica Acta* 459, 43-51.
- Rodríguez M. C., Monti M., Argaraña C., Rivas G. A. (2006) "Enzymatic biosensor for the electrochemical detection of 2,4-dinitrotoluene biodegradation derivatives", *Talanta* 68, 1671-1676.
- Miscoria S. A., Desbrieres J., Labbé P., Barrera G. D., Rivas G. A. (2006) "Glucose Biosensor Based on the Layer-by-layer Self Assembly of Glucose Oxidase and Chitosan Derivatives on a Thiolated Gold Surface", *Analytica Chimica Acta*, 578, 137-144.
- Coche-Guerente L., Desbrieres J., Labbé P., Rodríguez M. C., Rivas G. A. (2005) "Physicochemical characterization of the layer-by-layer self-assembly of polyphenol oxidase and chitosan on glassy carbon electrode", *Electrochimica Acta*, 50, 2865-2877.
- Rubianes M. D., Rivas G. A. (2001) "Highly Selective Dopamine Quantification at Melanin-Type Polymer Modified Glassy Carbon Electrode", *Analytica Chimica Acta*, 440, 99-108.
- Chicharro M., Sanchez A., Zapardiel A., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2004) "Capillary Electrophoresis of Neurotransmitters with Amperometric Detection at Melanin-type Polymer Carbon Modified Electrodes", *Analytica Chimica Acta* 523, 185-191.
- Gonzalez R., Sanchez A., Chicharro M., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2004) "Dopamine and Glucose Sensors Based on Glassy Carbon Electrodes Modified with Melanin Polymers", *Electroanalysis* 16, 1244-1253.

- Pedano M. L., Rivas G. A. (2003) "Immobilization of DNA on glassy carbon electrodes for the development of affinity biosensors", *Biosensors and Bioelectronics* 18, 269-277.
- Pedano M. L., Rivas G. A. (2005) "Immobilization of DNA at Glassy Carbon Electrodes. A critical Study of the Adsorbed Layer", *Sensors* 5, 424-447.
- Ferreira N. F., Rivas G. A. (2009) "Self-Assembled Multilayers of Polyethylenimine and DNA: Spectrophometric and Electrochemical Characterization and Application for the Determination of Acridine Orange Interaction", *Electroanalysis* 21, 1665-1671.
- Wang J., Zhang X., Parrado C., Rivas G. (1999a) "Controlled Release of DNA from Carbon Paste Microelectrodes", *Electrochemistry Communications*, 197-202.
- Wang J., Rivas G., Zhang X., Jiang M. (1999b) "Electrochemically-Induced Release of DNA From Gold Ultramicroelectrodes", *Langmuir*, 15, 6541-6545.
- Wang J., Kawde A.- N., Musameh M., Rivas G. (2002) "Dual Enzyme Electrochemical Coding for Detecting DNA Hybridization", *The Analyst* 127, 1279-1282.
- Rodríguez M. C., Rivas G. A. (2009) "Label-free Electrochemical Aptasensor for the Detection of Lysozyme", *Talanta* 78, 212-216.
- Comba F. N., Rubianes M. D., Cabrera L., Gutiérrez S., Herrasti P., Rivas G. A. (2010) "Highly sensitive and selective glucose biosensing at carbon paste electrodes modified with electrogenerated magnetite nanoparticles and glucose oxidase", *Electroanalysis* 22, 1566-1572.
- Comba F. N., Gutierrez F., Herrasti P., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2012) "Effect of the incorporation of proteins on the performance of carbon paste electrodes modified with electrogenerated magnetite nanoparticles towards the reduction of hydrogen peroxide", *Electroanalysis* 24, 1541-1546.
- Luque G. L., Ferreira N. F., Leyva G., Rivas G. A. (2009) "Characterization of carbon paste electrodes modified with manganese based perovskites-type oxides from the amperometric determination of hydrogen peroxide", *Sensors and Actuators: B. Chemical* 142, 331.
- Gutierrez F. A., Giordana I. S., Fuentes V. C., Montemerlo A., Sieben J. M., Alvarez A.E., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2018) "Analytical applications of Cu@PtPd/C nanoparticles for the quantification of hydrogen peroxide", *Microchemical Journal* 141, 240-246.
- Rubianes M. D., Rivas G. A. (2003) "Carbon Nanotubes Paste Electrodes", *Electrochemistry Communications*, 5, 689-694.
- Pedano M. L., Rivas G. A. (2004) "Adsorption and Electrooxidation of Carbon Nanotubes Paste Electrodes", *Electrochemistry Communications* 6, 10-16.
- Chicharro M., Sánchez A., Bermejo E., Zapardiel A., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2005). "Carbon Nanotubes Paste Electrodes as New Detectors for Capillary Electrophoresis", *Analytica Chimica Acta* 543, 84-91.
- Luque G. L., Ferreira N. F., Rivas G. A. (2007) "Electrochemical Sensor for Amino Acids and Albumin Based on Composites Containing Carbon Nanotubes and Copper Microparticles", *Talanta* 71, 1282-1288
- Sánchez Arribas A., Chicharro M., Bermejo E., Zapardiel A., Luque G., Ferreira N. Rivas G. (2006). "Analytical applications of a Carbon Nanotube Composite Modified with Copper Microparticles as Detector in Flow Systems", *Analytica Chimica Acta* 577, 183-189.
- Dalmasso P., Pedano M. L., Rivas G. A. (2012a) "Dispersion of multiwall carbon nanotubes in polyhistidine: characterization and analytical applications", *Analytica Chimica Acta* 710, 58-64.
- Dalmasso P., Pedano M. L., Rivas G. A. (2012b) "Electrochemical determination of ascorbic acid and paracetamol in pharmaceutical formulations using a glassy carbon electrode modified with multi-wall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine", *Sensors and Actuators B: Chemical* 173, 732-736.
- Eguílaz M., Gutiérrez A., Gutierrez F., Gonzalez-Dominguez M., Ansón-Casaos A., Hernández-Ferrer J., Ferreira N. F., Martínez M. T, Rivas G.A. (2016a) "Covalent functionalization of single-walled carbon nanotubes with polytyrosine: characterization and analytical applications for the sensitive quantification of polyphenols", *Analytica Chimica Acta* 909, 51-59.
- Gutiérrez A., Gutiérrez F., Eguílaz M., Parrado C., Rivas G. A. (2018) "Non-covalent functionalization of multi-wall carbon nanotubes

- with polyarginine: characterization and analytical applications for uric acid quantification", *Electroanalysis* 30, 1416-1424.
- Dalmasso P., Pedano M. L., Rivas G. A. (2013) "Supramolecular architecture based on the self-assembly of multiwall carbon nanotubes dispersed in polyhistidine and glucose oxidase: characterization and analytical applications for glucose biosensing", *Biosensors and Bioelectronics* 39, 76-81.
- Eguílaz M., Gutierrez F., González-Domínguez J. M., Martínez M. T., Rivas G. A. (2016b) "Single-walled carbon nanotubes covalently functionalized with polytyrosine: a new material for the development of NADH-based biosensors", *Biosensors and Bioelectronics* 86, 308-314.
- Gallay P., Eguílaz M., Rivas G. (2019) "Multi-walled carbon nanotubes non-covalently functionalized with polyarginine: a new nanobiocomposite for the construction of reagentless dehydrogenase based biosensors", *Electroanalysis* 31, 805-812.
- Gutierrez F. A., González-Domínguez J. M., Ansón-Casaos A., Hernández-Ferrer J., Rubianes M. D., Martínez M. T., Rivas G. A. (2017) "Single-walled carbon nanotubes covalently functionalized with cysteine: A new alternative for the highly sensitive and selective Cd(II) quantification", *Sensors and Actuators B. Chemical* 249, 506-514.
- Gutiérrez F., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2012) "Dispersion of multi-wall carbon nanotubes in glucose oxidase: characterization and analytical applications for glucose biosensing", *Sensors and Actuators B. Chemical* 161, 191-197.
- Eguílaz M., Gutierrez A., Rivas G. A. (2016c) "Non-covalent functionalization of multi-walled carbon nanotubes with cytochrome c: enhanced direct electron transfer and analytical applications", *Sensors and Actuators B. Chemical* 216, 629-637.
- Eguílaz M., Venegas C., Gutiérrez A., Rivas G. A., Bollo S. (2016d) "Carbon nanotubes non-covalently functionalized with cytochrome c: a new bioanalytical platform for building bienzymatic biosensors", *Microchemical Journal* 128, 161-165.
- Primo E. N., Cañete-Rosales P., Bollo S., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2013) "Dispersion of Bamboo Type Multi-wall Carbon Nanotubes in Calf-thymus Double Stranded DNA", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 108, 329-336.
- Primo E., Oviedo B., Sánchez C., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2014) "Electrochemical Biosensing of Promethazine Using Glassy Carbon Electrodes Modified with Bamboo Type Multi-Walled Carbon Nanotubes Dispersed in Double Stranded Calf-Thymus DNA", *Bioelectrochemistry* 99, 8-16.
- Ortiz E., Gallay P., Galicia L., Eguílaz M., Rivas G. (2019) "Nanoarchitectures based on multi-walled carbon nanotubes non-covalently functionalized with concanavalin a: a new building-block with supramolecular recognition properties for the development of electrochemical biosensors", *Sensors and Actuators B. Chemical* 292, 254-262.
- Gutierrez F., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2019) "New bioanalytical platform based on the use of avidin for the successful exfoliation of multi-walled carbon nanotubes and the robust anchoring of biomolecules. Application for hydrogen peroxide biosensing", *Analytica Chimica Acta* 1065, 12-20.
- Gallay P. A., Rubianes M. D., Gutierrez F. A., Rivas G. A. (2019) "Avidin and glucose oxidase non-covalently functionalized multi-walled carbon nanotubes: a new analytical tool for building a bienzymatic glucose biosensor", *Electroanalysis* 31, 1888-1894.
- Eguílaz M., Villalonga R., Pingarrón J. M., Ferreyra N. F., Rivas G. A. (2015) "Functionalization of bamboo-like carbon nanotubes with 3-mercaptophenylboronic acid-modified gold nanoparticles for the development of a hybrid glucose enzyme electrochemical biosensor", *Sensors and Actuators B: Chemical* 216, 629-637.
- Gallay P. A., Eguílaz M., Rivas G. (2020) "Designing electrochemical interfaces based on nano-hybrids of avidin functionalized-carbon nanotubes and ruthenium nanoparticles as peroxidase-like nanozyme with supramolecular recognition properties for site-specific anchoring of biotinylated residues", *Biosensors and Bioelectronics* 148, 111764.
- Eguílaz M., Villalonga R., Rivas G. (2018) "Electrochemical biointerfaces based on carbon nanotubes-mesoporous silica hybrid material: bioelectrocatalysis of hemoglobin and biosensing applications", *Biosensors and Bioelectronics* 111, 144-151.

- Gasnier A., Pedano M. L., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2013) "Graphene paste electrode: electrochemical behavior and analytical applications for the quantification of NADH", *Sensors and Actuators B: Chemical* 176, 921-926.
- Gutierrez F., Comba F. N., Gasnier A., Gutierrez A., Galicia L., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2014) "Graphene paste electrode: analytical applications for the quantification of catechols and ethanol", *Electroanalysis* 26, 1694-1701.
- Hernández-Ferrer J., Laporta L., Gutiérrez F., Rubianes M. D., Rivas G., Martínez M. T. (2014) "Multi-walled carbon nanotubes/Graphene Nanoribbons Hybrid Materials: Characterization and Electrochemical Performance", *Electrochemistry Communications* 39, 26-29.
- López Mujica M., Zhang Y., Gutiérrez F., Bédioui F., Rivas G. (2021) "Non-amplified impedimetric genosensor for quantification of miRNA-21 based on the use of reduced graphene oxide modified with chitosan", *Microchemical Journal* 160, 105653
- Jalit Y, Gutierrez F. A., Dubacheva G., Goyer C., Coche-Guerente L., Defranq E., Labbé P., Rivas G. A., Rodríguez M. C.. (2013) "Characterization of a modified gold platform for the development of an anti-thrombin aptasensor", *Biosensors and Bioelectronics*, 41 424–429.
- Primo E. N., Bollo S., Rubianes M. D., Rivas G. A. (2018a) "Immobilization of graphene-derived materials at gold surfaces: Towards a rational design of protein-based platforms for electrochemical and plasmonic applications", *Electrochimica Acta* 259 (2018) 723-732.
- Primo E., Kogan M., Verdejo H., Bollo S., Rubianes M. D., Rivas G. (2018b) "Label-free graphene oxide based-SPR immunosensor for the quantification of galectin-3, a novel cardiac biomarker", *ACS Applied Materials and Interfaces* 10, 23501-23508.
- López Mujica M., Zhang Y., Bédioui F., Gutierrez F., Rivas G. (2020) "Label-free graphene oxide based-SPR genosensor for the quantification of microRNA-21", *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 412, 3539–3546.