UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO DE DIVERSOS MÉTODOS MICROELECTROANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE POTASIO EN MUESTRAS DE INTERÉS FARMACÉUTICO Y CLÍNICO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

ALLAN NOÉ DOMÍNGUEZ ROMERO

MÉXICO, D.F. **2010**

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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: Profesor: José Alejandro Baeza Reyes

VOCAL: Profesor: José de Jesús García Valdés

SECRETARIO: Profesor: María del Socorro Cecilia Reyna Rodríguez

1er. SUPLENTE: Profesor: María del Pilar Cañizares Macías

2° SUPLENTE: Profesor: Luz María del Rocío Valdés Gómez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Electroquímica Analítica, Investigación y Enseñanza Experimental. Anexo 3F, Edificio A, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Alejandro Baeza Reyes

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q.F.B. Adrián de Santiago Zarate

SUSTENTANTE:

Allan Noé Domínguez Romero

AGRADECIMIENTOS

"Para empezar un gran proyecto, hace falta valentía. Para terminar un gran proyecto, hace falta perseverancia."

A mi Universidad Nacional Autónoma de México y a mi Facultad de Química, que me ofreció la oportunidad de formación profesional.

A mi asesor el Dr. José Alejandro Baeza Reyes, por compartir su conocimiento y enriquecer mi camino profesional.

A mis padres: Porfirio Domínguez y Guadalupe Romero, por heredarme los mejores cimientos de este proyecto, gracias a ellos empecé a moldear el gusto y exquisitez de la educación.

A mis hermanos: Sandra Jazmin y Amin Josafat, que son apoyo y testigos incondicionales en cada paso de mi vida.

Contenido

Agradecimientos..... 3
Abreviaturas y símbolos..... 7
Introducción..... 9
Objetivos…..... 11
Hipótesis..... 11
Capítulo 1: Antecedentes generales…..... 12
1.1 Electrodos selectivos a iones (ISEs)…..... 13
1.1.1 Breve explicación del método potenciométrico mediante ecuaciones matemáticas….15
1.1.2 Ecuación de Nikolsky- Eisenman (Selectividad)……..... 20
1.1.3 Tipos de electrodos indicadores de interés clínico y farmacéutico……..... 21
1.1.3.1 Electrodos metálicos…..…..... 21
1.1.3.2 Electrodos de Membrana…..... 23
1.2 Definición y conceptos de Polarografía……..... 28
1.2.1 Historia……..... 29
1.2.2 Corriente de difusión y electrolito soporte……..... 31
1.2.3 Procesos reversibles e irreversibles……..... 33
1.2.4 Máximos polarográficos de corriente..... 34
1.2.5 Oxígeno……..... 34
1.3 Voltamperometría de barrido lineal y cíclica……..... 35
1.3.1 Voltamperometría de barrido lineal……..... 35
1.3.2 Voltamperometría de barrido triangular……..... 35
1.4 Cronoamperometría..... 37
1.5 Conductimetría…..…… 37
1.6 Hexanitrocobaltato (III) de sodio..... 39
1.7 Métodos de análisis en Química Clínica……..... 41
1.7.1 Análisis de potasio……..... 41
1.7.2 Desnaturalización de proteínas……..... 43
1.7.3 Valores de referencia para sodio y potasio……..... 44
Capítulo 2: Parte experimental: Metodología y desarrollo..... 45
2.1 Diseño y construcción de electrodos de ión selectivo (ISEs)…..... 46
2.1.1 Materiales y reactivos……..... 46

2.1.2 Diseños estructurales para ISEs: Electrodos de membrana cristalina heterogénea…47
2.1.2.1 Diseño A……..... 47
2.1.2.2 Diseño B……..... 48
2.1.2.3 Diseño C……..... 49
2.2 Diseño y construcción de una microcelda electroanalítica a tres electrodos para monitoreo del ión potasio (K+)…..... 52
2.2.1 Materiales y reactivos 52
2.2.2 Diseño y construcción del electrodo de trabajo (Et), electrodo de referencia (Er) y electrodo auxiliar (Ea)..... 53
2.2.3 Construcción de la microcelda electroanalítica a tres electrodos……..... 55
2.3 Diseño y construcción de una microcelda conductimetrica…..... 56
2.3.1 Materiales y reactivos……..... 56
2.3.2 Construcción y medición en la microcelda conductimétrica……..... 57
Capítulo 3: Resultados y discusión…..... 59
3.1 Resultados y análisis para electrodos de ión selectivo (ISEs). Electrodos de membrana cristalina heterogénea……..... 60
3.1.1 ISEs: Diseño A……..... 60
3.1.1.1 Experimento No. 1……..... 60
3.1.1.2 Experimento No. 2……..... 62
3.1.2 ISEs: Diseño B……..... 64
3.1.3 ISEs: Diseño C……..... 65
3.1.3.1 Experimento No. 1……..... 65
3.1.3.2 Experimento No. 2……..... 66
3.1.3.3 Experimento No. 3……..... 67
3.2 Resultados y análisis para la microcelda electroanalítica……..... 68
3.2.1 Ensayo Voltamperométrico de la microcelda electroanalítica a tres electrodos……... 68
3.2.1.1 Programas de perturbación para Voltamperometría de barrido lineal y cíclico… 69
3.2.1.2 Resultados obtenidos de la Voltamperometría de barrido triangular respecto al sistema químico en estudio..... 71
3.2.1.3 Resultados obtenidos de la Voltamperometría lineal respecto al sistema químico en estudio……..... 73

3.2.2 Resultado Cronoamperométrico de la microcelda electroanalítica a tres electrodos.. 74
3.2.2.1 Programa de perturbación para Cronoamperometría……..... 74
3.2.2.2 Resultado obtenido para cronoamperometría respecto al sistema químico en estudio……..…. 75
3.2.3 Resultados previos de Conductimetría para determinar los intervalos de concentración de potasio a utilizar en la microcelda electroanalítica……..... 76
3.2.3.1 Calibración de la celda conductimétrica……..... 76
3.2.3.2 Comportamiento del Hexanitrocobaltato (III) de sodio en la celda conductimétrica y definición de los intervalos de concentración de potasio para elaborar curvas de calibración……..... 76
3.2.4 Resultados de Polarografía clásica para la celda electroanalítica a tres electrodos... 79
3.2.4.1 Programa de perturbación para polarografía clásica……..... 79
3.2.4.2 Ensayos de polarografía clásica…..... 79
3.2.4.3 Tratamiento de muestras comerciales: Farmacéutica…..…..... 82
3.2.4.3.1 Forma farmacéutica: Solución, electrolitos orales…..…..... 82
3.2.4.3.2 Forma farmacéutica: Grageas con recubrimiento entérico……..... 84
3.2.4.4 Tratamiento de muestras comerciales: Alimenticias……..... 86
3.2.4.4.1 Presentación alimenticia: Bebida energizante……..... 86
3.2.4.5 Tratamiento de muestras biológicas……..... 88
3.2.4.5.1 Muestra: Suero humano desproteinizado de tres voluntarios. 88
3.2.4.5.2 Muestra: Mezcla de sueros humanos desproteinizado de varios voluntarios… 89
3.2.4.5.3 Resultados generales para sueros de tres voluntarios y mezcla de sueros de voluntarios sanos……..... 90
Capítulo 4: Conclusión y bibliografía…..... 92
4.1 Conclusiones……..... 93
4.2 Bibliografía……..... 94

Abreviaturas y símbolos

ECG	Electrocardiograma	a_i	Actividad del ión interferente
Er	Electrodo de referencia	$k_{A,i}$	Coeficiente de selectividad potenciométrico
Ei	Electrodo de indicador	$E°$	Potencial formal
HV	Humor vítreo	i_d	Corriente de difusión
ISE	Ion selective electrode	$E_{1/2}$	Potencial de semionda
LCR	Líquido cefalorraquídeo	$[Cl]_0$	Concentración en el seno de la solución
LP	Líquido pericárdico	$[Cl]_s$	Concentración en la superficie del electrodo
LS	Líquido sinovial	n	Número de electrones por cada molécula que interviene en la reacción redox
pH	-log[H+]	C	Concentración de la especie electroactiva
GMP	Good manufacturing practice	m	Velocidad de la caída del mercurio
PVC	Cloruro de polivinilo	t	Tiempo de la vida de la gota
ISFET	Transistor de efecto de campo sensible a iones	i	Corriente
q_M	Carga total del metal	E_i	Potencial de inicio
q_s	Carga en la solución	E_λ	Potencial de inversión
$\Delta\Phi$	Diferencia de potencial	E_{pa}	Potencial de pico anódico
μ_i	Potencial electroquímico	E_{pc}	Potencial de pico catódico
$(\mu_i)_e$	Potencial electroquímico de las especies en el electrodo	I_{pa}	Corriente de pico anódico
$(\mu_i)_s$	Potencial electroquímico de las especies en solución	I_{pc}	Corriente de pico catódico
F	Constante de Faraday	I_p	Corriente de pico
z	Carga del ión	D	Coeficiente de difusión
$A°$	Amstrong	$\vec{k}_c$	Frecuencia con que el ión salta la barrera de energía por difusión
k_b	Constante de Boltzmann	T	Temperatura
h	Constante de Planck	$\Delta\vec{G}_c^{0*}$	Variación de energía para que el ión alcance la energía de activación cuando el campo eléctrico es nulo
C_{A+}	Concentración del ión A^+	$\vec{V}_c$	Velocidad de reducción en campo nulo
β	Factor de simetría	$\vec{V}_e$	Velocidad de reducción con influencia de un campo

$\vec{k}_e$	Constante de velocidad de la reacción electroquímica	$\vec{I}$	Corriente de reducción
R	Constante de los gases	C_B	Concentración de la especie B
$\overleftarrow{V}_e$	Velocidad de oxidación con influencia de un campo eléctrico	$\Delta\Phi_{neq}$	Diferencia de potencial en un estado de no equilibrio
$\Delta\Phi_{eq}$	Diferencia de potencial de equilibrio	η	Qué tanto esta alejado el potencial del equilibrio
a_{A^+}	Actividad del ión A^+ en solución	E	Potencial de celda
R	Resistencia eléctrica	ρ	Resistividad eléctrica
A	Área	l	Longitud
k_{celda}	Constante de celda conductimétrica	L	Conductancia
κ	Conductividad específica		

Introducción

La determinación del pH y la concentración de algunos iones en la sangre (K^+, Ca^{2+}, Na^+) son importantes en situaciones clínicas. Así por ejemplo el valor de pH en la sangre es un indicador útil de eficiencia respiratoria, el potasio en el ritmo cardiaco y el calcio en otros procesos fisiológicos importantes como la coagulación de la sangre y la actividad de las enzimas. Cuándo hay grandes cambios en las cantidades de estos iones por alguna razón, por ejemplo, en el caso de una cirugía cardiaca, terapia intensiva o la diálisis renal, esta información es crítica para la elección del tratamiento o terapia administrada por el médico.

En el caso de cirugía cardiaca, el electrocardiograma (ECG) es de gran eficacia en el diagnóstico, permite revelar si el latido del corazón es regular, si la actividad de sus cuatro cavidades es correcta o si un dolor torácico se debe a una afección cardiaca o no. Sin embargo no es específico para detectar la causa, en particular a las primeras horas de evolución, por lo que siempre debe interpretarse prudentemente los resultados de un ECG. Además, durante una cirugía a corazón abierto, el órgano puede estar artificialmente parado y por lo consiguiente el electrocardiograma no es fiable para detectar una lesión miocárdica (Isquemia).

En medicina forense, la determinación de la causa de muerte, requiere del conocimiento de distintas circunstancias y datos en el contexto de una determinada situación, por ejemplo, la tanatoquimia es una ayuda que reúne información bioquímica de los diferentes fluidos corporales después de la muerte, aunque tiene sus limitaciones. Se reconoce las alteraciones de los constituyentes bioquímicos en el periodo postmortem, especialmente en la sangre y en, en ocasiones está sujeta a controversia. Por esta razón se ha enfatizado el examen de fluidos que no se alteran o contaminan con tanta rapidez como la sangre después de la muerte. El humor vítreo (HV), el líquido cefalorraquídeo (LCR), el líquido pericárdico (LP) o el líquido sinovial (LS) se han utilizado con estos fines [(1)]. El humor vítreo sin embargo es anatómicamente aislado y se deteriora lentamente, lo cual permite ser una muestra esencial para ser analizada y determinar la cantidad de potasio y relacionarla con el tiempo posmortem de un individuo [(2)].

En el concepto de garantía de calidad, las buenas prácticas de manufactura que por sus siglas en inglés (GMP) constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo a las normas de calidad adecuadas para el uso que se le da al producto y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización [(3)]. El uso de

nuevas metodologías de análisis para potasio en medicamentos, favorece ingeniosas alternativas que reduce el costo económico de los análisis convencionales.

Por lo tanto, hace falta desarrollar microsensores electroanalíticos químicos y nuevas metodologías de análisis que puedan indicar con precisión los cambios metabólicos que se desarrollan cuando se manifiesta la isquemia miocárdica, la determinación del tiempo posmortem y la cuantificación de potasio en medicamentos para fines de control de calidad.

Las rápidas transformaciones sociales, económicas e industriales de los últimos tiempos, requieren de constante esfuerzo en la investigación para ofrecer nuevas e ingeniosas soluciones a los problemas planteados, especialmente en los sistemas de análisis electroquímicos, donde a veces sus aplicaciones están limitadas por el tamaño o las características de los electrodos sensibles a los iones que utiliza.

En los últimos años se han desarrollado sensores basados en la combinación de la tecnología electrónica y de membranas para la determinación de parámetros químicos. Estos dispositivos presentan una serie de ventajas con respecto a las técnicas tradicionales, como son la miniaturización de dimensiones, el bajo coste económico y la estructura sólida que les confiere una mayor resistencia mecánica. Estas características son muy importantes en aplicaciones como el control medioambiental y en la biomedicina.

Un sensor es un dispositivo que recibe y responde a una señal o estímulo. Un sensor electroquímico es un dispositivo químico que responde a cambios específicos en el potencial o en la corriente eléctrica, como consecuencia de una especie química que interactúa con él [(4)].

Este trabajo pretende realizar un monitoreo en el diseño, construcción y una breve caracterización de un sensor electroanalítico al ión potasio, utilizando técnicas electroquímicas miniaturizadas con el fin de aprovechar las aplicaciones que puedan tener para resolver problemas de interés en Química forense, Medicina, Farmacia, Biología etc.

En el laboratorio de Electroquímica Analítica, se investiga cotidianamente la miniaturización y caracterización de sensores electroanalíticos con métodos potenciodinámicos y potenciostáticos que representan una oportunidad de combinar las disciplinas de la Química con aplicaciones de gran importancia en muchas áreas para el Químico Farmacéutico Biólogo.

Objetivos

- Desarrollo de instrumentación de bajo costo, para la determinación de potasio en pequeñas cantidades de muestra.
- Utilizar el hexanitrocobaltato (III) de sodio como reactivo, para determinar cuantitativamente la cantidad de potasio en alguna matriz de interés farmacéutico o clínico.
- Estudio de diversos métodos microanalíticos para la determinación de potasio en muestras de interés farmacéutico y clínico con el equipo producido en el laboratorio.
- Análisis de muestras farmacéuticas y clínicas de interés para el Químico Farmacéutico Biólogo.
- Concientizar a las futuras generaciones del daño ecológico, por el uso de grandes cantidades de reactivos, que día a día son desperdiciados por cada uno de nosotros para determinar diferentes parámetros. Y hoy, la mayoría de esas determinaciones pueden realizarse con volúmenes no más allá de 100μL.

Hipótesis

- Para el desarrollo de la instrumentación de bajo costo, se plantea utilizar materiales de libre comercio y de precio moderado. Plantear varios diseños de construcción basados en: la imaginación, comparación de instrumentos comerciales, resistencia mecánica, reproducibles y fundamento de la técnica.
- Se utilizará el hexanitrocobaltato (III) de sodio, reactivo que se utilizaba como prueba cualitativa para detecta potasio. Ahora se realizará como prueba cuantitativa, utilizando diferentes métodos microanalíticos.
- En el estudio de diversos métodos microanalíticos, se considera desarrollar un diseño de experimentos para ensayar las metodologías analíticas propuestas y así, la determinación de potasio.
- Se realizará la experimentación previa con los equipos construidos en el laboratorio y posteriormente el análisis de potasio en muestras farmacéuticas y clínicas.
- Conforme se realice este trabajo de tesis, se tratará de difundir la concientización del daño ecológico, por el uso de grandes cantidades de reactivos químicos y que hoy en día se pueden utilizar en pequeñas cantidades, por ejemplo: microlitros.

CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES GENERALES

1.1 Electrodos selectivos a iones (ISEs)

La potenciometría es una técnica bien conocida por los químicos, siendo los electrodos selectivos a iones, que por sus siglas en inglés (ISE), son una pequeña parte de este campo de la electroanalítica. La base de la potenciometría fue establecida por Nernst, en 1888, cuando describió el origen del potencial de electrodo entre un metal y una solución que contiene iones de este metal, y el potencial redox entre un metal inerte y una solución que contiene un sistema redox [(5)].

A principios del siglo XX, la necesidad de cuantificar el grado de acidez era grande, lo que hizo que hubiera numerosos trabajos de investigación en este tema. El primer sensor potenciométrico usado para medir la acidez de una solución acuosa fue el electrodo de hidrógeno, propuesto por Nernst en 1897 [(6)] que, debido a su complejidad, no tenía aplicación práctica. En 1906 Cremer [(7)] desarrolló el electrodo de vidrio para medidas de acidez, el cual ha sido posteriormente perfeccionado por Haber y Klemensiewicz [(8)].

Sin embargo, había dos problemas a resolver en la medida de acidez: definir unidades y mejorar la instrumentación para conseguir una lectura más reproducible. Curiosamente, el perfeccionamiento tecnológico del electrodo de vidrio se originó en la comunidad académica, mientras que los fundamentos teóricos, sobre las unidades de medida de acidez, surgió de la industria. Sörense, quien trabajó para la empresa Carlsberg, propuso la escala de pH, debido a la necesidad de definir la influencia de la acidez sobre una serie de reacciones enzimáticas [(9)]. Casi al a mismo tiempo, las empresas Radiometer y Beckman comercializaron el primer medidor de pH en 1935 [(10)] [(11)], probablemente inspiradas en el trabajo pionero de Elder y Wright [(12)] sobre medidas de pH con electrodo de vidrio y potenciómetro de tubo de vacío. Así, la cooperación entre industria y academia contribuyó al desarrollo de la potenciometría, volviéndola una técnica consagrada y enfocada en la medida de pH [(9)].

A pesar de que la potenciometría surgió a finales del siglo XIX, la era de oro de los ISEs empezó a partir de 1957, con los trabajos teóricos de Eisenman y Nikolski [(13)] [(14)], aunque en 1937, Kolthoff y Sander [(15)] diseñan el primer electrodo selectivo de iones (capaz de medir Cl^- empleando perlas fabricadas de AgCl). La primera gran revolución en la fabricación de los ISEs puede ser atribuida a Ross [(16)], quien en 1966, propuso un nuevo concepto de electrodo selectivo al calcio basado en membrana líquida. Posteriormente desarrolló, en la colaboración con Frant [(17)] el electrodo de fluoruro a base de cristal de LaF_3. Simultáneamente Stefance y Simon [(18)] descubrieron la posibilidad de utilizar polipéptidos como materiales electroactivos,

denominados cargadores neutros. Este trabajo culminó con la utilización de la valinomicina para la fabricación de ISEs selectivos al potasio, los cuales presentaban una impresionante selectividad respecto a este ión, frente a los otros iones de metales alcalinos o amonio. La segunda revolución ocurrió en 1970, cuando Moody y colaboradores usaron, por primera vez, electrodos de membrana líquida a base del polímero PVC (cloruro de polivinilo) [(19)]. La introducción del PVC en la membrana simplificó bastante la fabricación de los ISEs. La importancia de estos trabajos está demostrado por el hecho de que el ISE de potasio basado en valinomicina y matriz de PVC está actualmente utilizado en casi todo los analizadores clínicos comerciales [(9)]. El desarrollo de los ISEs enzimáticos causó la tercera gran revolución en este campo [(20)], permitiendo que los sensores potenciométricos pudieran ser utilizados para medir substancias biológicas no iónicas. Esos dispositivos, llamados biosensores, se basan en la inmovilización de un material biológicamente activo, en general enzimas, sobre la superficie de un transductor, en este caso un ISE que responde a la especie formada en la reacción enzimática. Finalmente, se puede considerar que la última revolución de los ISEs ocurrió con el desarrollo del transistor de efecto de campo sensible a iones (ISFET) [(21)].

Durante casi un siglo, desde la aparición del electrodo de vidrio [(7)], han surgido muchas sugerencias para explicar el mecanismo de funcionamiento de los ISEs basados en membranas. Inicialmente, el mecanismo más difundido era basado en el potencial de Donann [(22)], donde una distribución desigual de iones entre dos fases separadas por una membrana semi-permeable ocurría cuando los iones eran capaces de pasar a través de dicha membrana, provocando así, un equilibrio electroquímico y consecuentemente, un potencial eléctrico se establecía entre los dos lados de la membrana. Otro mecanismo fue el basado en la teoría de intercambio iónico entre la membrana y la solución [(23)] [(24)]. En 1935-36, Teorell [(25)] y Meyer [(26)] comprobaron que el mecanismo de intercambio iónico no podía explicar el desarrollo del potencial en un ISE y propusieron el potencial de fase-límite (boundary-potencial), pero mantuvieron los conceptos teóricos de membrana porosa que contiene cargas en sitios fijos. Posteriormente, Pungor y Tóth [(27)] supusieron que el potencial se desarrollaba solamente en la superficie del electrodo. Actualmente, el concepto de la doble capa eléctrica y doble capacidad, especialmente en la interfase electrodo-solución ha sido la propuesta más reciente para explicar el desarrollo del potencial eléctrico en los ISEs [(28)]. Así, los principios básicos de funcionamiento de un ISE están directamente asociados con lo que ocurre en la interfase electrodo-solución.

1.1.1 Breve explicación del método potenciométrico mediante ecuaciones matemáticas

Las deducciones en este apartado son válidas para los electrodos metálicos, sin embargo, se extienden también a los electrodos de membrana. Cuando se introduce un electrodo metálico en una disolución electrolítica que contiene iones de ese metal, en la inmersión el metal esta eléctricamente neutro, cuando la carga total del metal es nula ($\boldsymbol{q_M = 0}$) y tampoco hay un exceso de carga en la solución ($\boldsymbol{q_S = 0}$). Así, en la interfase, la diferencia de potencial ($\Delta\boldsymbol{\Phi}$) y el campo eléctrico son nulos. En una reacción espontánea dada la transferencia de electrones depende de si el sistema está o no en equilibrio. Para que no ocurra transferencia de carga a través de la interfase, el sistema debe estar en un estado de energía libre mínima, lo que corresponde a la igualdad de los potenciales electroquímicos (μ_i) de las especies en el electrodo ($\boldsymbol{e}$) y en la solución ($\boldsymbol{s}$) que pueden atravesar la interfase:

$$(\bar{\mu}_i)_e = (\bar{\mu}_i)_s \qquad \text{Ecuación (1.1)}$$

El potencial electroquímico es el trabajo necesario para transportar un mol de una sustancia dada desde el infinito a un punto dado en el seno de la interfase. Cuando se trata de una interfase electrodo / solución, según el modelo de la doble capa eléctrica si la especie en cuestión está cargada, habrá influencia de las cargas positivas y negativas de la interfase, así como los dipolos del disolvente. Luego, el trabajo neto será la suma del trabajo eléctrico y el trabajo químico, este último se debe a las interacciones ión-disolvente, ión-ión y disolvente-disolvente. Por lo que el potencial electroquímico de la especie ($\boldsymbol{i}$) será:

$$\bar{\mu}_i = \mu_i + zF\Delta\Phi \qquad \text{Ecuación (1.2)}$$

Donde:

$\Delta\boldsymbol{\Phi}$ = Diferencia de potencial de la interfase cargada.

$\boldsymbol{F}$ = Constante de Faraday.

$\boldsymbol{z}$ = Carga del ión ($\boldsymbol{i}$).

Así, la diferencia del potencial electroquímico da origen al transporte de especies cargadas, el transporte de difusión y de conducción de los iones en la solución. Si el campo eléctrico es nulo, la igualdad de los potenciales electroquímicos se refleja en la igualdad de los potenciales químicos, y estando la interfase en equilibrio los potenciales químicos de la especie ($\boldsymbol{i}$) son iguales en ambos lados de la interfase. Cuando se sigue este razonamiento, se

considera que el ión positivo se desplaza algunos amstrong (Å) a través de la doble capa eléctrica, desde la solución hacia la superficie del metal. Aunque se trate de un fenómeno electroquímico, donde la misma reacción química implica la formación de un campo eléctrico y éste influye en la misma, se considera en un principio, solamente el proceso químico. A medida que un ión se mueve hacia la superficie del electrodo, su energía varía, y la transferencia de carga ocurre después de que el ión positivo vence la energía de activación necesaria.

La frecuencia $(\vec{\boldsymbol{k}}_{\boldsymbol{c}})$ con que el ión salta la barrera de energía por difusión (constante de velocidad) viene dada por:

$$\vec{\boldsymbol{k}}_{\boldsymbol{c}} = \frac{\boldsymbol{k_b T}}{\boldsymbol{h}} \boldsymbol{e}^{-(\Delta \vec{\boldsymbol{G}}_{\boldsymbol{c}}^{\boldsymbol{0}*}/\boldsymbol{RT})} \qquad \text{Ecuación (1.3)}$$

Donde:

$\boldsymbol{k_b}$ = Constante de Boltzmann.

$\boldsymbol{h}$ = Constante de Planck.

$\boldsymbol{\Delta \vec{G}_c^{0*}}$ = La variación de energía libre necesaria para que el ión alcance la energía de activación cuando el campo eléctrico es nulo.

Al multiplicar esta frecuencia por la concentración del ión A^+ (C_{A^+}) en la interfase, se obtiene la velocidad de reacción de reducción en un campo eléctrico nulo:

$$\vec{\boldsymbol{V}}_{\boldsymbol{c}} = \frac{\Delta \boldsymbol{C}_{\boldsymbol{A}^+}}{\Delta \boldsymbol{t}} = \vec{\boldsymbol{k}}_{\boldsymbol{c}} \boldsymbol{C}_{\boldsymbol{A}^+} = \boldsymbol{C}_{\boldsymbol{A}^+} \frac{\boldsymbol{k_b T}}{\boldsymbol{h}} \boldsymbol{e}^{-(\Delta \vec{\boldsymbol{G}}_{\boldsymbol{c}}^{\boldsymbol{0}*}/\boldsymbol{RT})} \qquad \text{Ecuación (1.4)}$$

El sentido de la flecha sobre $\boldsymbol{V_c}$ indica que la reacción es de reducción el índice (c), que se trata de una reacción química en campo nulo.

Luego, en el momento de la inmersión del electrodo en una solución electrolítica, aunque no haya diferencia de potencial ($\Delta \boldsymbol{\Phi}$) ni campo eléctrico a través de la interfase, ésta puede no estar en equilibrio, y en este caso una reacción de transferencia de carga puede ocurrir. En este caso, la velocidad de la reacción de transferencia de carga en el campo eléctrico nulo es determinada a través de parámetros cinéticos y químicos. Sin embargo, cuando la reacción de transferencia de electrones ocurre del electrodo a la especie iónica receptora (A^+), el electrodo adquiere una carga eléctrica positiva y la solución negativa, dando lugar a una interface cargada, la cual es equivalente a una capacidad. Esta separación de cargas en la interfase implica el desarrollo de una diferencia de potencial ($\Delta \boldsymbol{\Phi}$) y la aparición de un campo eléctrico. Como el campo eléctrico afecta la velocidad de movimiento de las cargas,

la velocidad de reacción electroquímica esta afectada por el campo en la interfase y la energía química se transforma en electroquímica. Considerando un ión positivo que pasa de la disolución hacia el electrodo, la energía libre de activación química viene dada por:

$$\Delta\vec{G}^{0*} = \Delta\vec{G}_c^{0*} + \boldsymbol{\beta F \Delta \Phi} \qquad \text{Ecuación (1.5)}$$

El término $\boldsymbol{\beta F \Delta \Phi}$ se debe a la energía eléctrica, donde:

$\boldsymbol{\beta}$ = Factor de simetría (número comprendido entre 0 y 1).

$\boldsymbol{\beta \Delta \Phi}$ es la fracción de la diferencia de potencial ($\Delta\boldsymbol{\Phi}$) en la doble capa eléctrica y corresponde al paso del ión de su posición inicial hasta el punto en que su energía sobrepasa la barrera de energía de activación, donde la reacción ocurre espontáneamente. Así, la velocidad de reducción puede ser escrita como:

$$\vec{V}_e = C_{A^+}\frac{k_b T}{h}e^{-(\Delta\vec{G}_c^{0*}/RT)} = C_{A^+}\frac{k_b T}{h}e^{-\frac{\Delta\vec{G}_c^{0*}+\beta F\Delta\Phi}{RT}} = \vec{V}_c e^{-\frac{\beta F\Delta\Phi}{RT}} = C_{A^+}\vec{k}_c e^{-\frac{\beta F\Delta\Phi}{RT}} = C_{A^+}\vec{k}_e \qquad \text{Ecuación (1.6)}$$

Donde:

El índice ($\boldsymbol{e}$) indica la influencia de un campo eléctrico.

$\vec{k}_e$ = es la constante de velocidad de la reacción electroquímica.

La velocidad de la reacción electroquímica representa el número de iones/gramo que reaccionan por segundo atravesando la unidad de área de la interfase. Multiplicando esta velocidad, por la carga del mol, se obtiene la densidad de corriente de reducción ($\vec{I}$), o sea la cantidad de carga que pasa por unidad de tiempo y de área del electrodo, de acuerdo con:

$$\vec{I} = \vec{V}_e = FC_{A^+}\vec{k}_c e^{-\frac{\beta F\Delta\Phi}{RT}} \qquad \text{Ecuación (1.7)}$$

La ecuación (1.7) establece la relación entre el campo eléctrico y la velocidad de transferencia de electrones a través de la interfase. Siendo está una función exponencial, para pequeñas variaciones en el campo de la misma, ocurre una gran alteración en el valor de la densidad de corriente.

En electroquímica, el equilibrio existente es dinámico, donde los iones se mueven de la disolución al electrodo y en el sentido opuesto. Al principio, la reacción redox se desplaza más en un sentido y en el equilibrio las velocidades directa e inversa son iguales. Considerando que

las cargas son sensibles al movimiento según el campo eléctrico o contra él, si en la reacción de redución los iones positivos se mueven contra el campo, para la reacción inversa (oxidación) de los iones se mueven con el campo. Luego, tiene que suministrarse una energía al ión positivo para vencer una diferencia de potencial ($\boldsymbol{\beta}\Delta\boldsymbol{\Phi}$) en el sentido directo, mientras en términos eléctricos la especie B ($\boldsymbol{C_B}$) pasa espontáneamente generando una diferencia de potencial ($\lfloor \mathbf{1} - \boldsymbol{\beta} \rfloor \Delta\boldsymbol{\Phi}$), en la reacción de oxidación. Así, la velocidad de reacción de oxidación y la densidad de corriente de oxidación viene dada respectivamente por:

$$\overleftarrow{V}_e = C_B \overleftarrow{k}_c e^{-\frac{(1-\beta)F\Delta\Phi}{RT}} \qquad \text{Ecuación (1.8)}$$

$$\vec{I} = FC_{A^+} \vec{k}_c e^{-\frac{\beta F\Delta\Phi}{RT}} \qquad \text{Ecuación (1.9)}$$

En el equilibrio, las corrientes de oxidación y reducción se igualan y reciben la misma designación, que es, la densidad de corriente de intercambio en el equilibrio ($\boldsymbol{I_0}$). Resumiendo, en el momento de la inmersión del electrodo en la disolución electrolítica, el campo eléctrico lo vuelve positivo y la solución negativa en la interfase. Pero, ocurre también la reacción inversa, oponiéndose al aumento de cargas positivas en el electrodo. Si no existe una fuente externa de electrones, se alcanza un equilibrio entre las reacciones de reducción y oxidación, el valor de campo eléctrico y de una diferencia de potencial donde las velocidades de pérdida y ganancia de electrones en el electrodo se vuelven iguales, así como, las corrientes de reducción y oxidación. La interfase metal/solución, en el equilibrio, no presenta intensidad de corriente resultante, ni variación de potencial o campo eléctrico, ocurre solamente reacciones de oxidación y reducción a la misma velocidad. Sin embargo, cuando hay un flujo resultante de electrones, consecuencia del hecho de que las corrientes de reducción y oxidación son diferentes, este flujo resultante es igual a la transferencia de cargas debido a cada una de las reacciones, directa e inversa, implicando una intensidad de corriente resultante y transformaciones químicas, indicando que la interfase no está en equilibrio.

La intensidad de corriente resultante viene dada por la diferencia entre la densidad de corriente de oxidación y la de reducción. Considerando que la diferencia de potencial existe en la doble capa en un estado de no equilibrio ($\Delta\boldsymbol{\Phi_{neq}}$) es la suma de dos contribuciones, una debida al potencial de equilibrio ($\Delta\boldsymbol{\Phi_{eq}}$) y la otra a una fuente extra ($\boldsymbol{\eta}$), que indica en cuanto el potencial del electrodo está alejado en relación a su valor en el equilibrio. Entonces, la densidad de corriente resultante puede ser descrita con base a las ecuaciones (1.7) y (1.9) en los siguientes términos:

$$\boldsymbol{I = \left\{ F C_B \overleftarrow{k_c} \left[e^{-\frac{(1-\beta) F \Delta \Phi_{eq}}{RT}} \right] \left[e^{-\frac{(1-\beta) F \eta}{RT}} \right] \right\} - \left\{ F C_{A^+} \vec{k}_c \left[e^{-\frac{-\beta F \Delta \Phi_{eq}}{RT}} \right] \left[e^{-\frac{-\beta F \eta}{RT}} \right] \right\}} \quad \text{Ecuación (1.10)}$$

$$\boldsymbol{I = I_0 \left\{ \left[e^{-\frac{(1-\beta) F \eta}{RT}} \right] - \left[e^{-\frac{-\beta F \eta}{RT}} \right] \right\}} \quad \text{Ecuación (1.11)}$$

Esta es la ecuación de Butler – Volmer, que establece la densidad de corriente en una interfase metal/solución es un estado de no equilibrio dependiente de ($\boldsymbol{\eta}$), y de la misma forma como ésta es exponencial, pequeñas variaciones de ($\boldsymbol{\eta}$) causan grandes variaciones en ($\boldsymbol{I}$). Así, en un sistema electroquímico donde se aplica un potencial (célula electrolítica), el potencial en exceso ($\boldsymbol{\eta}$). En ambos casos se utiliza el término sobretensión para designar ($\boldsymbol{\eta}$).

Ahora, considerando un sistema electroquímico en equilibrio, la sobretensión ($\boldsymbol{\eta}$) es nula y la densidad de corriente ($\boldsymbol{I}$) también lo es. Así, las densidades de corriente de oxidación y reducción son iguales. Dividiendo la ecuación (1.7) por (1.9), se obtiene:

$$\boldsymbol{\frac{C_{A^+} \vec{k}_c}{C_B \overleftarrow{k}_c} e^{-\frac{-F \Delta \Phi_{eq}}{RT}} = 1} \quad \text{Ecuación (1.12)}$$

Aplicando el logaritmo a la ecuación (1.12), se obtiene:

$$\boldsymbol{\Delta \Phi_{eq} = \frac{RT}{F} ln \frac{\vec{k}_c}{\overleftarrow{k}_c} + \frac{RT}{F} ln \frac{C_{A^+}}{C_B}} \quad \text{Ecuación (1.13)}$$

El segundo término de la ecuación (1.13), el cual es función de las constantes de velocidad de oxidación y reducción de la reacción, es igual al valor de $\Delta\boldsymbol{\Phi}$ cuando la relación de las concentraciones $\boldsymbol{C_{A^+}/C_B}$ es igual a la unidad, y se denomina por conveniencia $\boldsymbol{\Delta \Phi^0_{eq}}$**.** Por lo tanto sustituyendo estos valores en la ecuación (1.13) se obtiene:

$$\boldsymbol{\Delta \Phi_{eq} = \Delta \Phi^0_{eq} + \frac{RT}{F} ln \frac{C_{A^+}}{C_B}} \quad \text{Ecuación (1.14)}$$

Esta es la expresión de Nernst para una interfase en equilibrio. Pero, como sólo se puede medir el potencial en una célula electroquímica donde pasa la corriente a través de la célula y dos electrodos, la diferencia de potencial de ésta, es la suma de la diferencia de potencial correspondiente a la primera doble capa eléctrica, al paso de la corriente a través de la solución y aquella debida a la segunda doble capa eléctrica y considerando la concentración del metal como igual a la unidad, la ecuación (1.14) se vuelve:

$$\Delta E = AE^{0} + \frac{RT}{F} ln C_{A^{+}} \qquad \text{Ecuación (1.15)}$$

Es importante recordar que la concentración de una especie iónica en disolución está afectada por la fuerza iónica. Esta propiedad altera la capacidad reactiva de los iones en solución debido a las interacciones electrostáticas (atracción y repulsión) entre los mismos, siendo más pronunciada con el aumento de la concentración. La capacidad reactiva de los iones en la solución se denomina actividad. La actividad del ión está relacionada con la concentración por el coeficiente de actividad, el cual mide la eficiencia con que una especie influye en un equilibrio, en el cual participa. En disoluciones muy diluidas la fuerza iónica es mínima y no afecta al comportamiento de los iones. Además del efecto de la fuerza iónica, todas las deducciones fueron hechas para un ión es disolución de carga unitaria que sufre reducción. Así, se debe añadir a la ecuación (1.15), el efecto de la carga del ión (z), y el segundo término de la ecuación se vuelve negativo cuando el ión en la disolución está sufriendo una oxidación. Entonces, la expresión general de Nernst viene dada por:

$$\Delta E = \Delta E^{0} \pm \frac{RT}{F} ln a_{A^{z+}} \qquad \text{Ecuación (1.16)}$$

Donde (a_A) es la actividad del ión en disolución. Cabe resaltar que, a pesar de que la ecuación de Nernst establece una relación entre el potencial desarrollado en el electrodo y la actividad del ión en disolución, generalmente en los cálculos se utilizan las concentraciones. (Ecuación 1.15).

1.1.2 Ecuación de Nikolsky- Eisenman (Selectividad)

En el inicio del desarrollo de los electrodos potenciométricos, la comunidad científica consideró que eran específicos. Pero, con el paso del tiempo, los investigadores comenzaron a descubrir que la especificidad de los sensores potenciométricos no es tan grande como se pensaba y entonces el término selectivo comenzó a utilizarse, en sustitución a lo específico.

En la ecuación de Nernst (Ecuación 1.16), se supone que el electrodo responde sólo para el ión de interés. En la práctica, ningún electrodo responde exclusivamente para el ión específico. La respuesta real en una mezcla de los iones principal y interferentes viene dada por la ecuación de Nernst modificada por Nicolsky – Eisenman. [13] [14].

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{F} ln \left[a_A + \sum_i^n K_{A,i} (a_i)^{\frac{Z_A}{Z_i}} \right] \qquad \text{Ecuación (1.17)}$$

Donde:

$\boldsymbol{E}$ = Potencial de celda.

$\frac{\boldsymbol{RT}}{\boldsymbol{F}}$ = Pendiente Nernstiana.

$\boldsymbol{a_A}$ = Actividad del ión principal.

$\boldsymbol{a_i}$ = Actividad del ión interferente.

$\boldsymbol{Z_A}$ = Carga del ión principal, incluido el signo.

$\boldsymbol{Z_i}$ = Carga del ión interferente, incluido el signo.

$\boldsymbol{K_{A,i}}$ = Coeficiente de selectividad potenciométrico.

$\boldsymbol{E^\circ}$ = Constante que incluye el potencial estándar del electrodo indicador, el potencial de referencia y el potencial de unión líquida.

Los coeficientes de selectividad potenciométricos, representan los efectos relativos de los diversos iones sobre el potencial y dependen de la concentración de la especie que actúa como interferente.

La respuesta de este tipo de electrodos a la especie de interés varía linealmente con el logaritmo de la concentración, manteniendo condiciones experimentales controladas.

1.1.3 Tipos de electrodos indicadores de interés clínico y farmacéutico

1.1.3.1 Electrodos metálicos

- 1ª, 2ª y 3ª Clase
- Oxido-Reducción

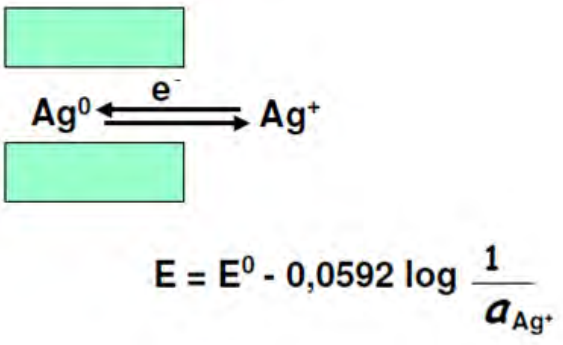
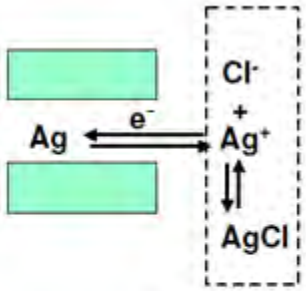


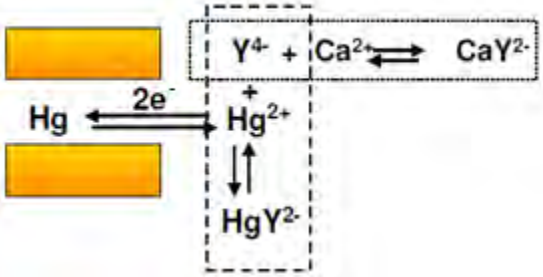
Figura **1.1.3.1.a**. Electrodo metálico de 1ª Clase.



$$E = E^0 - 0{,}0592 \log \frac{a_{Cl^-}}{Kps}$$

$$E = E^0_{(AgCl)} - 0{,}0592 \log a_{Cl^-}$$

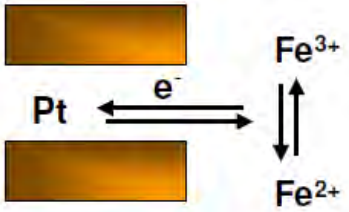
Figura **1.1.3.1.b.** Electrodos metálicos de 2ª Clase.



$$E = E^0 - \frac{0{,}0592}{2} \log \frac{a_{HgY^{2-}} K_{fCaY^{2-}}}{a_{CaY^{2-}}} - \frac{0{,}0592}{2} \log a_{Ca^{2+}}$$

$$E = Constante \log a_{Ca^{2+}}$$

Figura **1.1.3.1.c**. Electrodos metálicos de 3ª Clase.



$$E = E^0 - 0{,}0592 \log \frac{a_{Fe^{2+}}}{a_{Fe^{3+}}}$$

Figura **1.1.3.1.d**. Electrodos metálicos de Oxido-Reducción

1.1.3.2 Electrodos de Membrana

- Electrodo de vidrio
- Electrodo de estado sólido o precipitado
- Electrodos de membrana líquida
- Electrodos sensores de gases
- Electrodos enzimáticos y biomembranas (biosensores)

1.- Mínima Solubilidad
Debe aproximarse a cero

2.- Conductividad eléctrica
Aunque sea pequeña

3.- Reactividad selectiva con el analito.
Los componentes de la matriz de la membrana deben enlazarse selectivamente con el analito

Figura **1.1.3.2.a.** Electrodos de membrana y sus propiedades que las representan.

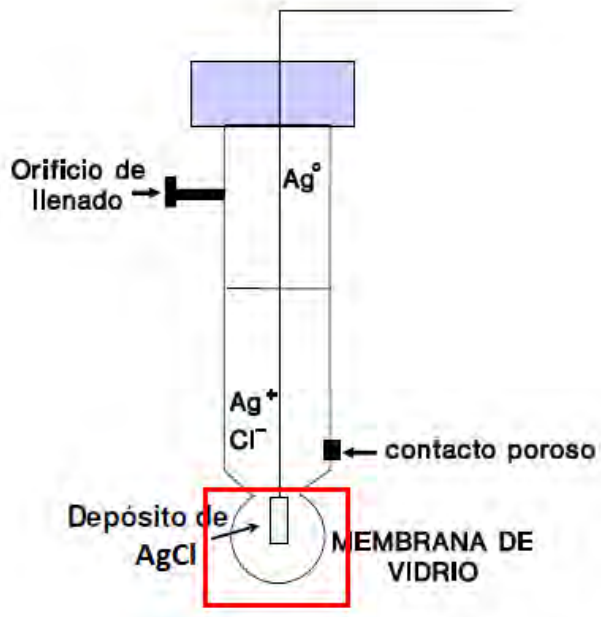


Figura **1.1.3.2.b.** Electrodo de vidrio para determinación del pH.

Analito	Composición de la membrana	Coeficientes de selectividad
Na^+	11% Na_2O, 18% Al_2O_3, 71% SiO_2	$K_{Na}^+/_{H}^+ = 1000$ $K_{Na}^+/_{H}^+ = K_{Na}^+/_{Li}^+ = 10^{-3}$
Li^+	15% Na_2O, 25% Al_2O_3, 60% SiO_2	$K_{Li}^+/_{Na}^+ = 0.3$ $K_{Li}^+/_{K}^+ = 10^{-3}$
K^+	27% Na_2O, 5% Al_2O_3, 68% SiO_2	$K_{K}^+/_{Na}^+ = 0.05$
H^+	22% Na_2O, 6% CaO, 72% SiO_2	----------

Tabla **1.1.3.2.c.** Composición de la membrana y coeficientes de selectividad para algunos analitos de interés en electrodos de vidrio.

.

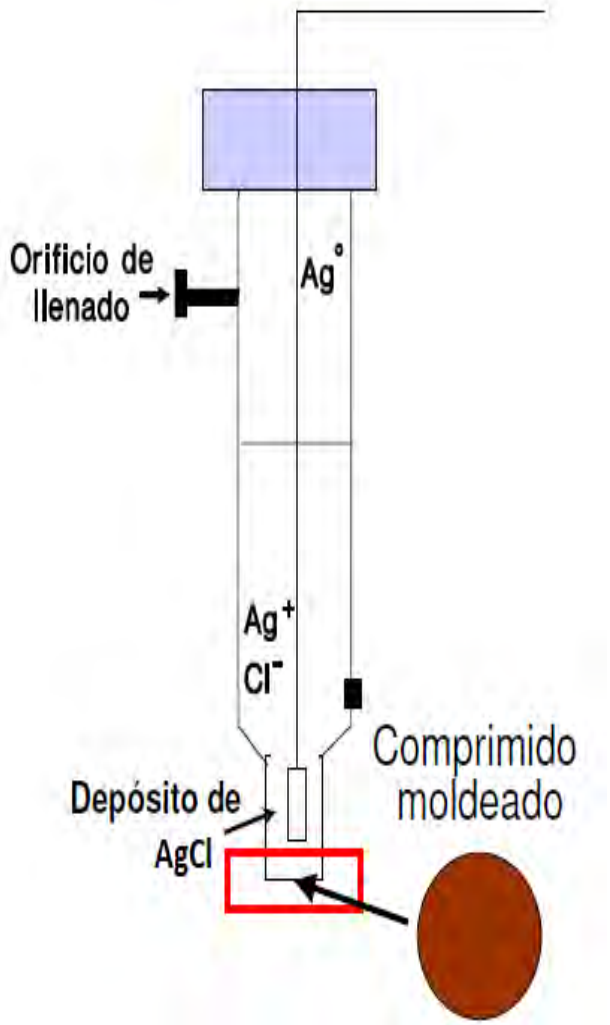


Figura **1.1.3.2.d.** Electrodo de estado sólido o precipitado.

Analito	Composición de la membrana	Coeficientes de selectividad
Ag^+	Ag_2S	$K_{Ag^+/Cu^+} = 10^{-6}$ $K_{Ag^+/Pb^+} = 10^{-10}$ Hg^{2+} actúa como interferente
Cd^{2+}	CdS/Ag_2S	$K_{Cd^{2+}/Fe^{2+}} = 200$ $K_{Cd^{2+}/Pb^{2+}} = 6$ No debe haber Ag^+, Hg^{2+}, Cu^{2+}
Cu^{2+}	CuS/Ag_2S	$K_{Cu^{2+}/Fe^{3+}} = 10$ $K_{Cu^{2+}/Cu^+} = 1$ No debe haber Ag^+, Hg^{2+}
Pb^{2+}	PbS/Ag_2S	$K_{Pb^{2+}/Fe^{3+}} = 1$ $K_{Cu^{2+}/Cd^{2+}} = 1$ No debe haber Ag^+, Hg^{2+}, Cu^{2+}
Br^-	$AgBr/Ag_2S$	$K_{Br^-/I^-} = 5000$ $K_{Br^-/CN^-} = 5x10^{-3}$ $K_{Br^-/OH^-} = 1x10^{-5}$ No debe haber S^{2-}
Cl^-	$AgCl/Ag_2S$	$K_{Cl^-/I^-} = 1x10^{6}$ $K_{Cl^-/CN^-} = 1x10^{4}$ $K_{Cl^-/OH^-} = 0.01$ No debe haber S^{2-}
CN^-	AgI/Ag_2S	$K_{CN^-/I^-} = 100$ $K_{CN^-/Br^-} = 1x10^{-4}$ $K_{CN^-/Cl^-} = 1x10^{-6}$ $K_{CN^-/OH^-} = 1x10^{-8}$ No debe haber S^{2-}
I^-	AgI/Ag_2S	$K_{I^-/S^{2-}} = 30$ $K_{I^-/CN^-} = 0.01$ $K_{I^-/Br^-} = 1x10^{-4}$ $K_{CN^-/Cl^-} = 1x10^{-6}$ $K_{CN^-/OH^-} = 1x10^{-7}$ No debe haber S^{2-}
SCN^-	$AgSCN/Ag_2S$	$K_{SCN^-/I^-} = 1000$ $K_{SCN^-/Br^-} = 100$ $K_{SCN^-/CN^-} = 100$ $K_{SCN^-/Cl^-} = 0.1$ $K_{SCN^-/OH^-} = 0.01$ No debe haber S^{2-}
S^{2-}	Ag_2S	Hg^{2+} actúa como interferente

Tabla **1.1.3.2.e.** Composición de la membrana y coeficientes de selectividad para algunos analitos de interés en electrodos de estado sólido o precipitado.

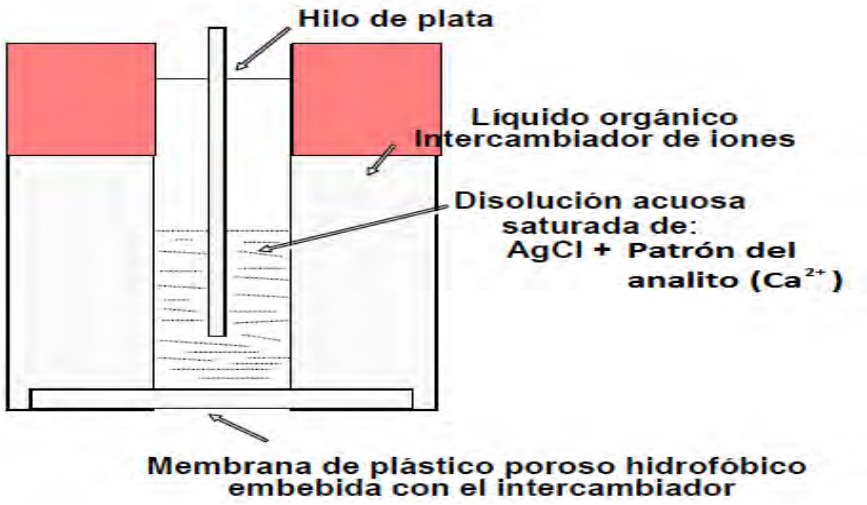
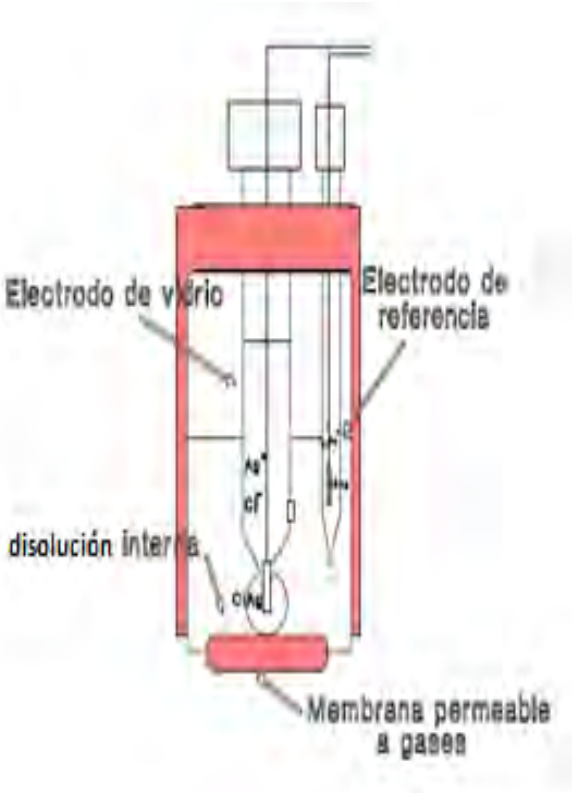


Figura **1.1.3.2.f.** Electrodo de membrana líquida.

Analito	Composición de la membrana	Coeficientes de selectividad
Ca^{2+}	di-(n-decil) fosfato en PVC	$K_{Ca^{2+}/Zn^{2+}} = 1\text{-}5$ $K_{Ca^{2+}/Al^{3+}} = 0.9$ $K_{Ca^{2+}/Mn^{2+}} = 0.38$ $K_{Ca^{2+}/Cu^{2+}} = 0.070$ $K_{Ca^{2+}/Mg^{2+}} = 0.38$
K^+	Valinomicina en PVC	$K_{K^+/Rb^+} = 1.9$ $K_{K^+/Cs^+} = 0.38$ $K_{K^+/Li^+} = 1x10^{-4}$ $K_{K^+/Na^+} = 1x10^{-5}$
Li^+	ETH 149 en PVC	$K_{Li^+/H^+} = 1$ $K_{Li^+/Na^+} = 0.05$ $K_{Li^+/K^+} = 7x10^{-3}$
NH_4^+	Nonactina y monactina en PVC	$K_{NH4^+/K^+} = 0.12$ $K_{NH4^+/H^+} = 0.016$ $K_{NH4^+/Li^+} = 4.2x10^{-3}$ $K_{NH4^+/Na^+} = 2x10^{-3}$
ClO_4^-	$Fe(o\text{-}fen)_3^{3+}$ en p-nitrocimeno con membrana porosa	$K_{ClO4^-/OH^-} = 1$ $K_{ClO4^-/I^-} = 0.012$ $K_{ClO4^-/NO3^-} = 1.5x10^{-3}$ $K_{ClO4^-/Br^-} = 5.6x10^{-4}$ $K_{ClO4^-/Cl^-} = 2.2x10^{-4}$
NO_3-	Tetradodecil nitrato amónico en PVC	$K_{NO3^-/Cl^-} = 6x10^{-3}$ $K_{NO3^-/F^-} = 9x10^{-4}$

Figura **1.1.3.2.g.** Composición de la membrana y coeficientes de selectividad para algunos analitos de interés en electrodos de membrana líquida.



Analito	Reacción en la disolución interna	Disolución interna	Electrodo selectivo a iones
CO_2	$CO_2 + 2H_2O \leftrightarrow HCO_3^- + H_3O^+$	0.01M $NaHCO_3$ 0.01M NaCl	Electrodo de pH de vidrio
HCN	$HCN + H_2O \leftrightarrow CN^- + H_3O^+$	0.01M $KAg(CN)_2$	Electrodo de membrana de Ag_2S
FH	$HF + H_2O \leftrightarrow F^- + H_3O^+$	1M H_3O^+	Electrodo de F^-
H_2S	$H_2S + H_2O \leftrightarrow HS^- + H_3O^+$	Buffer citrato a pH 5	Electrodo de membrana de Ag_2S
NH_3	$NH_3 + H_2O \leftrightarrow NH_4^+ + OH^-$	0.01M NH_4Cl 0.1M KNO_3	Electrodo de pH de vidrio
NO_2	$2NO_2 + 3H_2O \leftrightarrow NO_3^- + NO_2^- + 2H_3O^+$	0.02M $NaNO_2$ 0.1M KNO_3	Electrodo de pH de vidrio
SO_2	$SO_2 + 2H_2O \leftrightarrow HSO_3^- + H_3O^+$	0.001M $NaHSO_3$ pH 5	Electrodo de pH de vidrio

Figura **1.1.3.2.h.** Electrodo sensor de gases. Ejemplos: Reacción en la disolución interna e ISE utilizado para la medición del analito de interés.

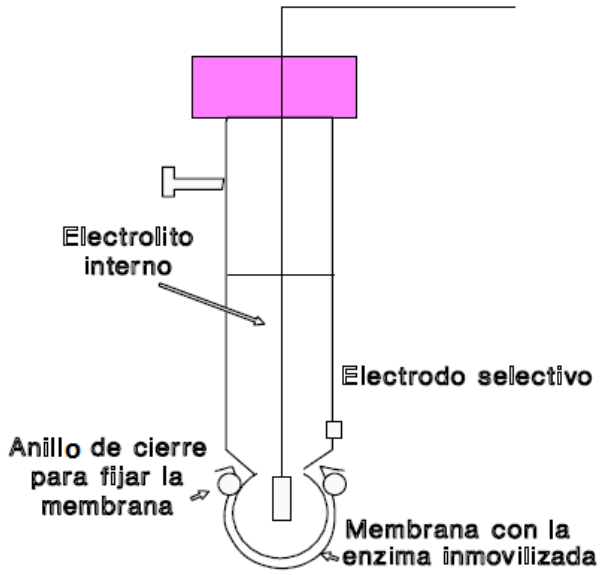


Figura **1.1.3.2.i.** Electrodo enzimático y biocatalítico (Biosensores)

ANALITO	BIOCATALIZADOR	ELECTRODO
Ac. Nicotínico	Lactobacillus Arabinosus	H^+
Ac. Nitrilo Acético	Especies de Pseudomonas	NH_3
Adenosina	Mucosa intestino delgado de ratón	NH_3
L-Arginina	Tejido Hepático Bovino	NH_3
L-Aspártico	Bacterium cadaveris	NH_3
L-Cisteína	Proteus morganii	SH_2
Glutamato	Mesocarpio de calabaza	CO_2
L-glutamina	Tejido cortical renalo porcino	NH_3
L-Histidina	Especies de Pseudomonas	NH_3
ADH	Tejido vegiga urinaria de rana	Na^+
Nitratos	Azobacter vinelandii	NH_3
L-serina	Clostridium acidiurici	NH_3
Tiroxina	Microsomas de Higado de rata	I^-

Figura **1.1.3.2.f.j.** Ejemplos de biocatalizadores para la detección del analito de interés.

1.2 Definición y conceptos de Polarografía

La Polarografía es un técnica de estudio en las curvas de despolarización electródicas (intensidad de corriente – voltaje), obtenidas en circunstancias tales que la corriente debida al proceso en el electrodo está regida exclusivamente por la difusión de las sustancias electroactivas que reaccionan hacia un microelectrodo de trabajo de gotas de mercurio. Para

conseguir estas condiciones es necesario que los analitos que reaccionan en el electrodo se encuentren en presencia de un electrólito soporte en una concentración mayor, este es un electrólito inerte que contribuye al trasporte de la electricidad a través de la disolución, pero que es farádicamente inactivo ante el electrodo en el intervalo de voltaje explorado.

Los analitos que directamente se utilizan en el método polarográfico, son electroactivos al electrodo de trabajo, es decir, son capaces de experimentar una oxidación o una reducción ante el mismo por efecto de la aplicación de un potencial procedente de un potenciostato/galvanostato. En el caso más general, se aplica a iones metálicos o compuestos orgánicos capaces de ser oxidadas o reducidas en el electrodo goteante de mercurio, durante un intervalo aproximado de 0.2V a -2.5V frente al electrodo de calomel saturado.

Lo característico de la Polarografía es que, por efecto de las condiciones electrolíticas citadas, la gráfica de intensidad de la corriente frente al voltaje aplicado presenta una forma representativa, con una meseta o límite superior de corriente; a esta curva se le llama onda polarográfica o polarograma. La corriente límite se denomina, corriente de difusión ($\boldsymbol{i_d}$) que es proporcional a la concentración del compuesto en disolución, y al potencial correspondiente a la mitad de esta corriente se le denomina, potencial de semionda ($\boldsymbol{E_{\frac{1}{2}}}$), que es característico de cada compuesto.

1.2.1 Historia [29]

El método polarográfico fue descubierto por Jeroslav Heyrovsky, hacia 1920, en Praga, mientras estudiaba las propiedades del electrodo de gotas de mercurio. Poco tiempo después, en 1925, el propio Heyrovsky, junto con el japonés Shikata, interviene en la construcción del primer polarógrafo, instrumento que habría de posibilitar la aplicación del método a la práctica rutinaria del laboratorio. A partir de este momento, el número de trabajos referentes a la Polarografía se multiplica de un modo progresivo.

El profesor Jerovslav Heyrovsky, por sus investigaciones conducentes a ensanchar el campo de la polarografía y a comprender los fundamentos de los misma; por ello su nombre, junto con los de sus notables colaboradores de la escuela de Praga, están unidos a la mayor parte de las diversas técnicas del método y a los avances de sus distintas facetas. Sus investigaciones valieron el premio Nobel de Química en 1959. Como dicen Kolthoff y Lingane, la

mayor parte de la literatura científica sobre la polarografía, hasta 1935, había aparecido en *Collections of the Czechoslovak Chemical Communications.*

Otro avance importante en el campo de la polarografía lo constituye la serie de trabajos realizados por Ilkovic, de la escuela checoslovaca, que culmina con el establecimiento de la fórmula de la corriente de difusión en el electrodo de gotas y su relación con la concentración del analito en estudio.

A partir de este momento, el interés de muchos investigadores se centra en estudiar las propiedades de la onda polarográfica. Lingane, Kolthoff y Müller estudian la variación del tiempo de goteo; Ilkovic calcula el efecto de la temperatura sobre la corriente de difusión, que experimentalmente había estudiado Nejedly y después estudiaron Von Stackelberg, Cols y Lingane. J; Heyrocsky y Vascantzanu analizan los máximos polarográficos, donde Ilkovic, Von Stackelberg, Antweiler, Brdicka y Frumkin han aportado estudios de interés.

La ecuación fundamental de la polarografía, que relaciona la intensidad de corriente en cada punto con su correspondiente potencial, fue calculada en primer lugar por Heyrovsky e Ilkovic, utilizándose primeramente la representación del potencial E, frente a ($\boldsymbol{logi(i_d - i)}$) por Thomes para estudiar las características de las ondas polarográficas. Lingane y Von Stackelberg han contribuido decisivamente a esclarecer la interpretación del potencial de semionda. La utilización del potencial de semionda para el estudio de iones complejos fue iniciada por Heyrovsky, Ilkovic y Von Stackelberg.

El electrodo de gotas de amalgamas fue introducido por Heyrovsky y Kalousek, Lingane y Von Stackelberg. Herasymenko y Slenkyk interpretaron por primera vez las ondas catalíticas de hidrógeno, que también estudió Ilkovic. R. Brdicka estudia por primera vez las ondas cinéticas junto a Koutecky.

El primer estudio sobre una sustancia orgánica fue el del nitrobenceno, llevado a cabo por Shikata; estudios que luego continuaron Shikata, Tachi y Michaelis. Merece destacarse en este sentido el estudio de las ondas catalíticas de las proteínas con iones cobalto, de gran trascendencia en los análisis clínicos y que ha extendido la denominación de “la reacción del filtrado de Brdicka” al diagnostico de cáncer y otras enfermedades.

1.2.2 Corriente de difusión y electrolito soporte

En la polarografía de corriente directa o llamada también polarografía clásica, el electrodo de trabajo es una gota de mercurio suspendida del extremo de un tubo capilar de vidrio. El analito puede ser oxidado o reducido en la gota de mercurio. La corriente que circula en un electrodo auxiliar cuya naturaleza es variada (platino, acero, carbón, grafito etc.), y un electrodo de referencia que puede ser un electrodo de calomel saturado o un electrodo de plata/cloruro de plata (Ag°|AgCl). El potencial de la gota de mercurio se mide con respecto al electrodo de referencia, en el que circula una corriente despreciable.

El electrodo goteante de mercurio es de gran interés, porque la superficie del mercurio expuesta al analito es continuamente renovada. Esto da como resultado una mayor reproducibilidad en el análisis que con una superficie estática, que cuyas características cambian con el uso, ejemplo: corrosión, saturación.

En una disolución en régimen de difusión pura, la reducción u oxidación es controlado por la difusión del analito hacia el electrodo, esto da como resultado la formación de una corriente límite llamada corriente de difusión.

La velocidad de difusión de un soluto hacia el seno de la disolución hasta el electrodo es proporcional a la diferencia de concentraciones entre las dos regiones:

$$\boldsymbol{corriente} \propto \boldsymbol{velocidad\ de\ difusión} \propto [\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{0}} - [\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{s}}.. \qquad \text{Ecuación (1.18)}$$

Donde $[\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{0}}$ es la concentración en el seno de la disolución y $[\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{s}}$, la concentración en la superficie del electrodo. A un potencial suficientemente negativo, la reducción es tan rápida que $[\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{s}}$ <<$[\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{0}}$, por lo tanto la ecuación (1.18) se reduce a la siguiente:

$$\boldsymbol{corriente\ límite} = \boldsymbol{corriente\ de\ difusión} \propto [\boldsymbol{Cl}]_{\boldsymbol{0}} \qquad \text{Ecuación (1.19)}$$

La proporcionalidad entre la corriente de difusión y la concentración del soluto en la disolución es el fundamento de las aplicaciones cuantitativas de la polarografía.

La corriente de difusión, $\boldsymbol{I_d}$ (en μA) medida en el extremo superior de cada oscilación en la figura (1.2.2.a), viene dada por la ecuación de Ilkovic.

$$\boldsymbol{corriente\ de\ difusión}: \quad \boldsymbol{I_d} = \left(\boldsymbol{7.08x10^4}\right)\boldsymbol{nCD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}} \qquad \text{Ecuación (1.20)}$$

Donde $\boldsymbol{n}$ es e número de electrones por cada molécula que interviene en la reacción redox, $\boldsymbol{C}$ es la concentración de la especie electroactiva (mol/L), $\boldsymbol{D}$ es el coeficiente de difusión de la especie electroactiva (m^2/s), $\boldsymbol{m}$ es la velocidad de caída del mercurio (mg/s) y $\boldsymbol{t}$ el tiempo de la vida de la gota (s). En análisis por polarografía es importante controlar la temperatura con una precisión de unas decimas de grado, porque los coeficientes de difusión aumentan alrededor de un 2% por grado.

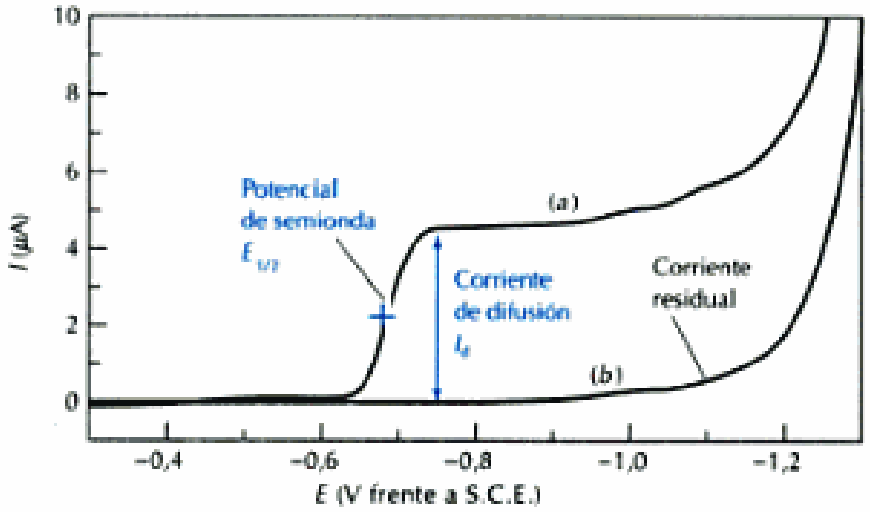


Figura **1.2.2.a.** Corriente de difusión

Normalmente no medimos cada uno de los factores que aparecen en la ecuación (1.20) Si se mantiene constante la temperatura y las características de la gota, todo lo que hay a la derecha de la ecuación, a excepción de la concentración es constante. Posteriormente, se construye una curva de calibración del analito de interés con la corriente en función de la concentración de disoluciones estándar, y se utiliza para calcular la concentración en una disolución desconocida.

Para medir la corriente de difusión $\boldsymbol{I_d}$ en un polarograma, se resta la corriente residual de la corriente límite en la región controlada por la difusión. La corriente residual se mide con un blanco, que contiene el mismo electrolito soporte que en las disoluciones con el analito. La corriente total medida puede distinguirse entre la corriente capacitiva o residual que obedece al fenómeno eléctrico de la formación de la doble capa eléctrica, esta corriente no puede eliminarse pero se ve disminuida si el área electroactiva del electrodo es pequeña, como es el caso de la gota de mercurio. El otro tipo de corriente que aparece es la faradaica que está

relacionada con la especie a analizar. Esta corriente se debe a la especie electroactiva en la interfase del electrodo de trabajo y a la velocidad de transferencia interfacial.

El transporte de la especie electroactiva hacia el electrodo depende de tres factores: la difusión, el transporte mecánico (agitación y convección) y la migración por atracción electrostática. En polarografía se trata de minimizar los dos últimos factores. En el caso del transporte mecánico el régimen convectivo se mantiene constante por el empleo del electrodo goteante de mercurio, además la disolución no se agita y se procura eliminar las vibraciones.

La migración por atracción electrostática de los iones del analito se minimiza con el empleo de una alta concentración de electrolito soporte, el cual es una sal inerte. Este electrolito soporte, evita la migración de las sustancias debida al campo eléctrico, aumenta la conductividad en el medio y sirve como amortiguador de la fuerza iónica. También es necesario que no exista la convección, es decir, movimientos internos de la disolución por causa de la agitación mecánica o un gradiente de temperatura, con el fin que sea únicamente la difusión de las sustancias debida al gradiente de concentración entre el seno de la disolución y la superficie del electrodo.

1.2.3 Procesos reversibles e irreversibles

Un proceso es termodinámicamente reversible cuando, si se está situando en el potencial de equilibrio, una variación infinitesimal en un sentido u otro produce un gran paso de corriente en el sentido correspondiente. En la polarografía, sin embargo, muchas ondas se obtienen por la aplicación de un amplio sobrevoltaje. Esto ocurre porque alguna de las etapas del proceso electródico es lenta, ya sea la difusión de las especies reaccionantes o la reacción de la transferencia electrónica en el electrodo. El primer hecho observado es que una onda polarográfica irreversible no cumple rigurosamente la ecuación de la onda polarográfica:

$$\boldsymbol{E = E_{\frac{1}{2}} - \frac{0.059}{n} * \frac{i}{i_d - i}} \qquad \text{Ecuación (1.21)}$$

Donde:

$\boldsymbol{E_{\frac{1}{2}}}$ es el potencial de media onda, $\boldsymbol{i}$ la corriente, $\boldsymbol{n}$ representa el número de electrones que interviene el proceso y $\boldsymbol{i_d}$ es la corriente límite de difusión.

Una onda irreversible no obedece la ecuación anterior en el sentido de que la pendiente de la gráfica ($\boldsymbol{E}$ frente a $\mathbf{log}(\frac{\boldsymbol{i}}{\boldsymbol{i_d - i}})$) es mayor de $\frac{\mathbf{0.059}}{\boldsymbol{n}}$, el cual es el valor característico propio de los procesos reversibles.

Se observa que el potencial de media onda, $\boldsymbol{E_{\frac{1}{2}}}$, de una onda revesible es independiente de la concentración del analito, por lo que una variación significativa de $\boldsymbol{E_{\frac{1}{2}}}$ en función de la concentración es una prueba de irreversibilidad.

1.2.4 Máximos polarográficos de corriente

Muchas especies electroactivas presentan polarogramas donde la corriente rebasa el valor de $\boldsymbol{i_d}$ y luego vuelve a estabilizarse. Estos excedentes de corriente son llamados máximos polarográficos de corriente.

Se han reconocido tres clases de máximos de corriente llamados máximos de primera, de segunda y de tercera clase. La clasificación de los máximos polarográfico de corriente se basa en la identificación de las fuerzas que inician y mantienen el flujo de corriente.

Los máximos de primera clase son comunes y se atribuyen a corrientes de convección cerca de la superficie del electrodo. La adición de trazas de ciertos agentes tensoactivos como la gelatina, Triton x-100 o rojo de metilo suele eliminar estas anomalías. Estos agentes se denominan supresores de máximos, e influyen en el comportamiento convectivo de la solución.

Los máximos de segunda clase resultan del movimiento de la interfase mercurio-solución, lo cual es causado por el flujo del mercurio dentro de la gota producida.

Los máximos de tercera clase pueden provenir de adsorción no uniforme, que produce diferencias de tensión superficial a lo largo de la superficie y consecuente movimientos de la superficie y solución adyacente.

1.2.5 Oxígeno

El oxígeno produce dos ondas polarográficas intensas, la primera onda se debe a la reducción de oxígeno hasta peróxido de hidrógeno H_2O_2 y la segunda corresponde a la reducción de H_2O_2 hasta H_2O.

Puesto que en toda solución expuesta al aire se disuelve oxígeno, estas ondas pueden ensmascarar los polarogramas del analito en interés si el oxígeno no se eliminara. El burbujeo de un gas inerte como nitrógeno en la solución elimina suficiente oxígeno para que desaparezcan estas ondas en el trabajo polarográfico ordinario.

1.3 Voltamperometría de barrido lineal y cíclica

1.3.1 Voltamperometría de barrido lineal

La voltamperometría es una técnica electroanalítica en la cual el potencial aplicado al electrodo de trabajo es controlado en función del tiempo y la corriente que fluye a través de electrodo indicador, es el parámetro a medir.

Las curvas de intensidad de corriente – potencial, presentan picos en los valores de potencial a los cuales las especies electroactivas presentan oxidaciones o reducciones. Debido al rápido barrido de potencial, ocurre un agotamiento de la especie electroactiva alrededor de la superficie del electrodo y la forma de la curva (I= *f*(E)) es de un pico. Durante las mediciones en la celda electroanalítica el movimiento de las sustancias desde el seno de la solución hacia la superficie del electrodo, se debe sólo al gradiente de concentración, ya que esta técnica se encuentra en régimen de difusión pura (sin agitación).

El potencial de pico es característico de la especie en estudio y su altura es proporcional a la concentración de la misma en el seno de la solución. Por otra parte la altura del pico se incrementa con la velocidad de barrido de potencial.

1.3.2 Voltamperometría de barrido triangular [30]

Las técnicas de barrido rápido en las cuales se revierte la dirección del barrido de potencial se conocen como técnicas cíclicas. En el cual se modifica el potencial en función del tiempo, hasta un valor de potencial final conocido como “potencial de inversión (E_λ)”, donde se invierte el sentido del barrido y regresa hasta su potencial de inicio (Ei). Las velocidades de barrido generalmente es la misma para cada caso.

La voltamperometría de barrido triangular, se realiza en un solo ciclo o en multiciclo, dependiendo del electrodo, la reacción en estudio y la información requerida.

La voltamperometría cíclica presenta picos de intensidad de corriente porque el barrido de potencial se hace tan rápido que la especie en las cercanías del electrodo se oxida o reduce. Se llega al máximo de la señal y después la intensidad de corriente empieza a decaer conforme se incrementa el potencial. Este decremento ocurre porque el analito comienza a agotarse cerca de la superficie del electrodo y la difusión desde el seno de la disolución es lenta.

Los parámetros a medir son los potenciales de pico anódico ($\boldsymbol{Epa}$) y pico catódico ($\boldsymbol{Epc}$) y las intensidades de pico anódico ($\boldsymbol{Ipa}$) y catódico ($\boldsymbol{Ipc}$).

En un sistema reversible, la diferencia entre los potenciales de pico anódico y catódico está expresada por la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{Ep = Epa - Epc = \frac{0.059}{n}} \qquad \text{Ecuación (1.22)}$$

Un par redox reversible se puede identificar a partir de su voltamperograma cíclico, midiendo la diferencia de potencial de cada uno de sus dos picos. El promedio de los potenciales de los picos (también llamado potencial de medio pico $\boldsymbol{E_{1/2}}$) corresponderá al potencial formal de electrodo ($\boldsymbol{E}$°) del par redox.

$$\boldsymbol{E^{\circ} = \frac{Epc+Epa}{2} = E_{1/2}} \qquad \text{Ecuación (1.23)}$$

La altura del pico anódico y catódico es la misma para un sistema reversible. La intensidad de corriente de pico de in proceso rápido está determinado por la ecuación de Randles-Sevcik.

$$\boldsymbol{Ip = 2.72x10^{5} n^{3/2} D^{1/2} A v^{1/2} C^{0}} \qquad \text{Ecuación (1.24)}$$

Donde:

$\boldsymbol{Ip}$ = corriente de pico

$\boldsymbol{C^{0}}$ = concentración del analito en la solución

$\boldsymbol{D}$ = coeficiente de difusión

$\boldsymbol{A}$ = área del electrodo de trabajo

$\boldsymbol{n}$ = número de electrones que participan en el proceso

$\boldsymbol{v}$ = velocidad del barrido de potencial

1.4 Cronoamperometría

La cronoamperometría [31] [32] es una técnica donde el potencial del electrodo de trabajo (ET) es forzado a acoplarse a un programa de perturbación conocido. Esté potencial se puede mantener constante o puede ser variado con el tiempo de una manera determinada, así, la corriente es medida en función del tiempo. En esta técnica, el transporte de masa de las especies electroactivas solo ocurre por difusión (régimen de difusión pura). En la cronoamperometría, el área del electrodo es suficientemente pequeña y el volumen de la solución es grande. Así el paso de la corriente no altera las concentraciones de las especies.

El aporte de la corriente está dado por la corriente capacitiva, hasta el momento en que la corriente de difusión comienza a dominar y alcanzar su valor máximo en lo que se conoce como la corriente límite de difusión, en donde todo lo que llega al electrodo es electrolizado.

Cottrell reportó una explicación matemática de los procesos asociados a la cronoamperometría:

$$\boldsymbol{i_d\,(t) = \frac{nFAD_i^{1/2}C_i}{\pi^{1/2}t^{1/2}}} \qquad \text{Ecuación (1.25)}$$

Donde:

$\boldsymbol{n}$= número de electrones
$\boldsymbol{F}$= Constante de Faraday
$\boldsymbol{A}$= Superficie del electrodo
$\boldsymbol{D}$= Coeficiente de difusión
$\boldsymbol{C_i}$= Concentración del ión i
$\boldsymbol{t}$= Tiempo

1.5 Conductimetría [33]

La conductimetría se basa en el hecho de que las disoluciones electrolíticas se comportan como conductores eléctricos donde los iones en solución son los responsables del transporte de cargas. Como un conductor obedece a la ley de Ohm, dicha conducción se

verifica en el volumen de disolución delimitado por la distancia entre dos electrodos de posición fija.

La resistencia eléctrica de una disolución medida en una celda conductimétrica está dada por:

$$\boldsymbol{R = \rho \frac{l}{A}}$$ Ecuación (1.26)

Donde:

R= Resistencia eléctrica de la disolución

$\boldsymbol{\rho}$= resistivida eléctrica

$\boldsymbol{A}$= Área de traslape en los electrodos

$\boldsymbol{l}$= longitud entre los electrodos

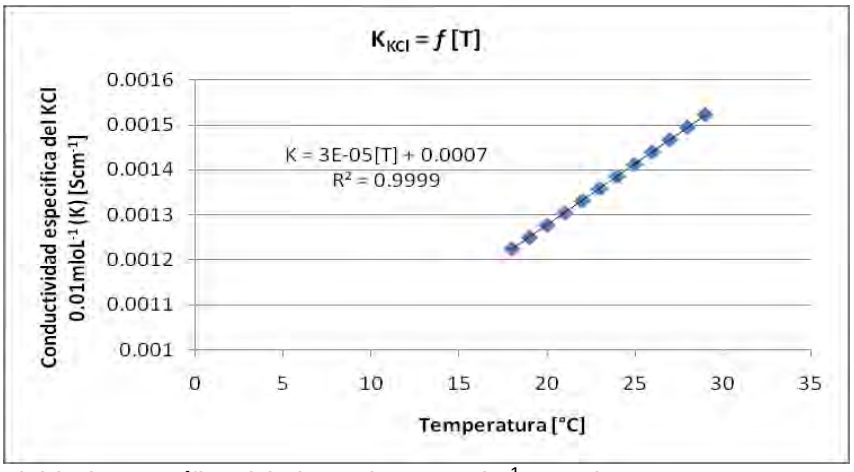
La relación $\frac{\boldsymbol{l}}{\boldsymbol{A}}$ es característica década arreglo de electrodos y se denomina constante de celda conductimétrica $\boldsymbol{k_{celda}}$.

Se define la conductancia como el inverso de la resistencia de la disolución, $\boldsymbol{L = R^{-1}}$, y la conductividad específica como el inverso de la resistividad, $\boldsymbol{\kappa = \rho^{-1}}$. Las unidades de la conductancia están dadas en siemens $\boldsymbol{S = \Omega^{-1}}$, y la conductividad específica es $\boldsymbol{Scm}$.

$$\boldsymbol{L = \frac{1}{R} = \frac{K}{k_{celda}}}$$ Ecuación (1.27)

La constante de celda se determina indirectamente midiendo la resistencia cuando la celda conductimétrica contiene una solución estándar de conductividad conocida. Para este fin suele utilizarse una disolución de KCl a una concentración de 0.01$\boldsymbol{molL^{-1}}$, esta disolución presenta los siguientes valores de conductividad de acuerdo a la temperatura experimental (ver gráfica 1.5.a).

Temperatura [°C]	Conductividad especifica, K[Scm^{-1}]
18	0.001225
19	0.001251
20	0.001278
21	0.001305
22	0.001332
23	0.001359
24	0.001386
25	0.001413
26	0.001441
27	0.001468
28	0.001496
29	0.001524



Gráfica **1.5.a.** Valores de conductividad específica (κ) de KCl 0.01molL^{-1} a varias temperaturas y representación gráfica del comportamiento lineal del KCl al ser un electrolito verdadero (completa disociación en medio acuoso).

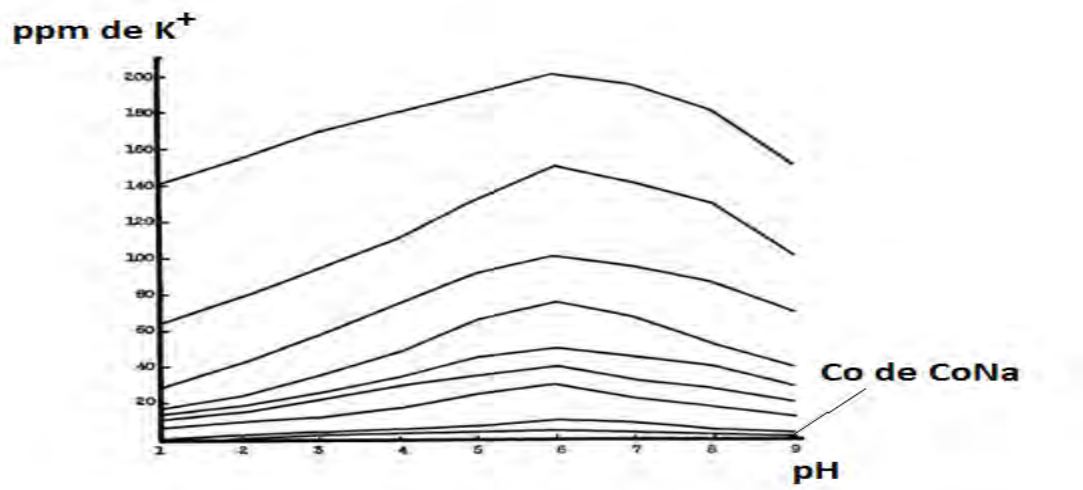
1.6 Hexanitrocobaltato (III) de sodio [34]

El compuesto químico que se utilizó en una parte de este trabajo de tesis es el Hexanitrocobaltato (III) de sodio, conocido también como cobaltinitrito de sodio. Este compuesto origina un precipitado amarillo de hexanitrocobaltato (III) de potasio:

$$3K^+ + [Co(NO_2)_6]^{3-} \rightarrow K_3[Co(NO_2)_6]_{(s)}$$

Si hay presente gran cantidad de Na^+, o se añade un exceso de reactivo, precipita la sal mixta $K_2Na[Co(NO_2)_6]$. En presencia de iones de plata (Ag^+) se favorece cuatro veces más la precipitación con el ión potasio, siempre que no existan iones que precipiten o complejen el catión plata (Ag^+), precipita un equivalente de cobaltinitrito de plata potasio.

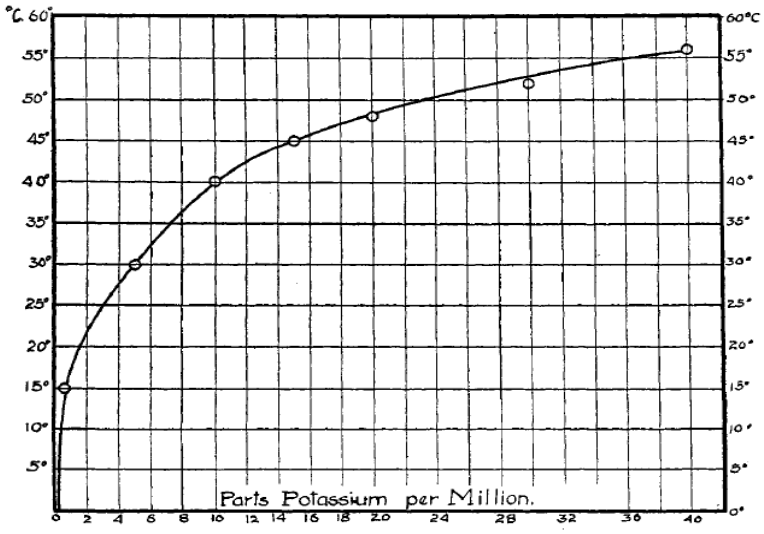
La reacción debe practicarse en medio ácido o ligeramente acético; los ácidos fuertes destruyen al precipitado y al reactivo; los álcalis producen precipitados de hidróxido de cobalto ($Co(OH)_3$) [35].



Gráfica **1.6.a.** Partes por millón de potasio detectables por la formación del precipitado $K_3[Co(NO_2)_6]$ y la influencia del pH a distintas concentraciones de hexanitrocobaltato (III) de sodio (CoNa). [35]

Oxidantes y reductores fuertes también destruyen al reactivo. El anión cianuro (CN^-) y otros iones que formen complejos con cobalto (II) (Co^{2+}), necesitan adición de un exceso de reactivo. El catión amonio (NH_4^+), rubidio (Rb^+), Tl^+ y Cs^+ dan la misma reacción. El amonio debe ser perfectamente eliminado antes, por ebullición del problema con NaOH o por calcinación del residuo de evaporación a sequedad. También producen precipitados diversos UO_2^{2+}, Sb(III), Bi(III) y Sn(IV). Los demás iones no perturban [36].

El efecto de la temperatura [35], es un factor que debe ser controlado, a temperaturas altas la formación del complejo de potasio se ve disminuida porque se empieza a destruir el complejo del hexanitrocobaltato (III) de sodio. (Gráfica 1.6.b)



Gráfica **1.6.b.** Cantidad mínima de potasio detectable, conforme varia la temperatura de la disolución de hexanitrocobaltato (III) de sodio. (35)

1.7 Métodos de análisis en Química Clínica

1.7.1 Análisis de potasio (37)

La determinación cuantitativa de potasio se realiza en forma simultánea por espectroscopia de emisión atómica de llama por sus siglas en inglés (FAES) o por potenciometría con electrodo de iones electivo (ISE). Los métodos FAES emplean una dilución de la muestra 1:100 o 1:200 con un diluente que contiene un estándar interno, los más usados han sido el litio (Li^+) y el cesio (Cs^+). El calor de llama que se obtiene de la mezcla aire-propano (casi 1925ºC) vaporiza la sal que gana electrones y forma el átomo de potasio (K^o) en su estado fundamental. Este átomo calentado en la llama pasa a su estado excitado K*. Los átomos excitados decaen instantáneamente a su estado fundamental con emisión de luz. La emisión de potasio se mide usualmente a 766nm, el estándar interno de litio a 671nm y el del cesio a 852nm. La cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la concentración de potasio, para la determinación cuantitativa es suficiente la excitación de 1% a 5% de los átomos presentes en la llama.

El método FAES mide la concentración de iones en el volumen total de la muestra. En el caso de suero o plasma de una persona normal el volumen de muestra está compuesto por 93.5% de agua, 5.4% de proteínas, 0.6% de lípidos y 0.9% de otras moléculas. Estas macromoléculas son de gran importancia fisiológica para mantener la homeostasis en el

organismo, pero la causa de varias enfermedades es provocado por el trastorno de este mecanismo regulador, un ejemplo claro es el incremento o decremento en estas macromoléculas, los cuales al analizar el potasio pueden interferir en la correcta medición.

Cuando la interferencia es causada por lipemia, es posible utilizar una ultracentrífuga para eliminar el exceso de lípidos del suero luego analizar la muestra por FAES para obtener un resultado con un sentido fisiológico. Si la interferencia está causada por proteínas, el método FAES no es apropiado, debiéndose usar un método alterno como el ISE.

Los métodos con electrodos para iones selectivos (ISE), usan una membrana transportadora neutra de valinomicina u otros compuestos químicos para detectar potasio (ver figura: 1.7.1.a).

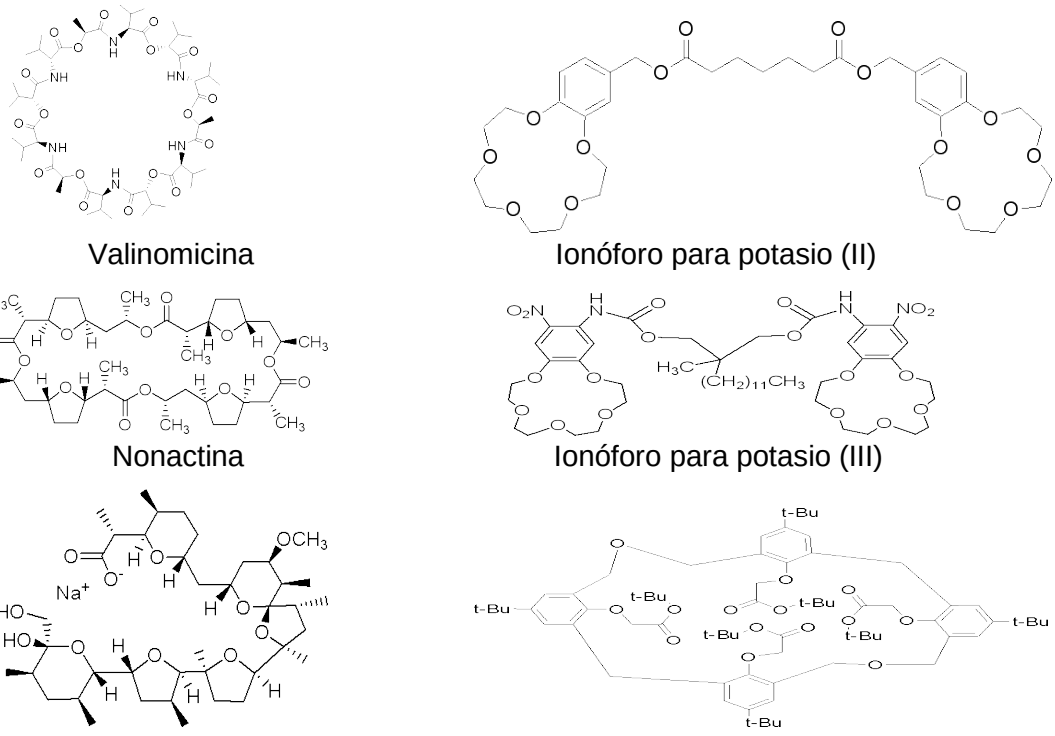


Figura **1.7.1.a.** Compuestos que son usados para fabricar membranas intercambiadoras del ión potasio.

Existen dos tipos generales de mediciones por ISE que se realizan en las muestras clínicas. Los sistemas potenciométricos directos, miden la actividad iónica en una muestra sin diluir y los indirectos, miden la actividad iónica de una muestra diluida. Dado que las mediciones por ISE determinan la actividad de un ión en la fracción de volumen de agua que esta disuelto,

las mediciones directas no son afectadas por condiciones de hiperproteinemia o hiperlipidemia que alteran la fracción de volumen de agua en suero. En cambio los métodos indirectos usualmente son sensibles a este efecto fisiológico dado que la dilución está basada en volúmenes totales, luego de la dilución el volumen ocupado por las moléculas solubles en el suero se hacen insignificante respecto al volumen total del diluente.

Otro método para determinar potasio cuantitativamente es la espectrofotometría de absorción atómica. La muestra diluida se introduce en la llama, los metales son vaporizados y sus átomos reducidos al estado fundamental. Se hace pasar a través de la llama luz monocromática (766.5nm para K) producida por una lámpara de cátodo hueco, donde es absorbida por los átomos en estado fundamental presentes. La cantidad absorbida es directamente proporcional a la concentración del metal en estudio.

Recientemente se ha producido una controversia acerca de la relación de los resultados para potasio obtenido por los métodos del FAES y por los ISE, es de esperar que las muestras de suero, provenientes de personas sanas den resultados de potasio 7% mayor con los métodos directos ISE que por los indirectos o por FAES. Lo que realmente se ha observado en la práctica es un amplio intervalo de desviaciones entre los resultados obtenidos por ISE directos y FAES o los obtenidos por ISE indirectos que varían dependiendo de las características de diseño específicas del instrumento. Estas observaciones no se deben a un defecto del modelo fisiológico y de comportamiento de los electrólitos, sino a que en los instrumentos con métodos ISE directos las diferencias en la composición de las soluciones para calibración y las muestras de suero producen desequilibrios en los coeficientes de actividad de potasio y en los potenciales de unión líquida, entre soluciones calibradoras y muestras de suero.

1.7.2 Desnaturalización de proteínas [38]

Algunos reactivos químicos, pueden ser la causa de la desorganización estructural (estructura: cuaternaria, terciaria o secundaria) de las proteínas, causando efectos de tipo fisicoquímicos y biológicos en su propiedades. Esté efecto es conocido como desnaturalización.

Los factores que conllevan a la desnaturalización de proteínas pueden clasificarse en tres grupos (químicos, físicos y biológicos). Algunos ejemplos de factores químicos son: ácidos fuertes, alcaloides y tensoactivos; algunos ejemplos de factores físicos son: temperatura,

radiación y ultrasonido; por ultimo ejemplos de factores biológicos son: enzimas proteolíticas como la tripsina.

Técnica de desnaturalización con ácidos: Es recomendable utilizar, ácido nítrico concentrado, ácido tricloroacético al 10% o ácido perclórico al 10%. El material que se necesita es: tubos de centrifuga, centrifuga y pipetas Pasteur. Se adicionan las gotas necesarias para cada volumen de suero a usar.

1.7.3 Valores de referencia para sodio y potasio [37]

Condición	Emisión en llama (FAES)	Electrodo selectivo a iones (indirecto/directo)
Temperatura	1925 °C	Ambiente
pH	----------	Variable
Composición final de reactivos	Li: 15mmol/L o Cs: 1.5mmol/L	$MgSO_4$: 40mmol/L
Factor de dilución de la muestra	0.01 o 0.005	0.029 – 1.0
Muestra	Plasma, suero, orina , LCR	Plasma, suero, orina , LCR, sangre entera
Linealidad (Na)	100 – 160mmol/l (suero)	100 – 180mmol/L (suero). Ambos
	0 – 200mmol/L (orina)	25 – 150mmol/L (orina) 30 – 190mmol/L (orina)
Linealidad (K)	2 – 8mmol/L (suero)	1 – 9mmol/l (suero) 2 – 10mmol/L (suero)
		5 – 105mmol/L (orina) 12 – 200mmol/L (orina)
Tiempo de reacción	30 segundos	10 -20 segundos / 30 – 60 segundos
Interferencia mayores	Efecto de dilución por lípidos o proteínas	Hemólisis para potasio
	Hemólisis para potasio	Anticoagulantes con sodio
	Anticoagulantes con sodio	Anticoagulantes con amonio (para potasio)
Precisión intralaboratorio:		
Na	CV 0.7% - 1.4% en intervalo normal	CV 0.7% - 1.4% normal / 0.4% - 1.0% normal
K	CV 1.5% - 2.0% en intervalo normal	CV 1.5% - 2.0% normal / 0.5% - 2.0% normal
Precisión interlaboratorio		
Na	CV 1.5% - 1.8%	CV 1.2% - 1.3% / CV 1.4% - 2.1%
K	CV 2.3% - 3.5%	CV 2.0% - 3.2% / CV 2.3% - 2.4%

Tabla **1.7.3.a** Comparación entre los valores de referencia para sodio y potasio, con diferentes metodologías de análisis FAES y ISE.

CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL: METODOLOGÍA Y DESARROLLO

2.1 Diseño y construcción de electrodos de ión selectivo (ISEs)

En este apartado se enuncian las ideas planteadas para el diseño y construcción de los ISEs a cloruros (Cl^-), sulfuros (S^{2-}), sulfatos (SO_4^{2-}) y potasio (K^+) respectivamente. También se hace énfasis en la elaboración de ISEs con materiales relativamente sencillos y de fácil adquisición, reflejando el bajo costo económico que esto implica.

2.1.1 Materiales y reactivos

- Puntas para pipeta automática de 200μL de capacidad.
- Puntas para pipeta automática de 10μL de capacidad.
- Tubos de plástico de 50mL para centrifuga.
- Placa de vidrio de 30X30cm.
- Tubos de vidrio: 5cm de largo y 2mm de diámetro interno.
- Papel aluminio, marca Reynolds®
- Pistola de silicón sin marca.
- Silicón en barra sin marca.
- Pegamento de contacto, Kola Loka ®.
- Cinta Teflon de 1/2 pulgada, Rotter®
- Pinzas de corte sin marca.
- Vaso de precipitados de 10mL, Kimax.
- Nujol. Aceite mineral sin marca.
- Cloruro de polivinilo (PVC) de alto peso molecular, Fluka Analytical.
- Hexanitrocobaltato (III) de sodio $Na_3[Co(NO_2)_6]$ PM:403.94g/mol, J.T. Baker, CAS: 13600-98-1. Conocido comúnmente por su nombre comercial de Cobaltinitrito de sodio.
- Tetrahidrofurano (THF) C_4H_8O PM: 72.11g/mol, Mallinckrodt. CAS: 109-99-9.
- Carbón activado, Fluka.
- Cloruro de sodio (NaCl) PM: 58.44g/mol, Merck.
- Nitrato de sodio ($Na\ NO_3$) PM: 85.00g/mol, Monterrey.
- Sulfato de sodio ($Na_2SO_4 * 10H_2O$) PM: 322g/mol, J.T. Baker.
- Cloruro de amonio (NH_4Cl) PM: 80.04g/mol, Sigma Aldrich.
- Nitrato de plomo ($Pb(NO_3)_2$) PM: 331.21g/mol, Merck.
- Hidróxido de Sodio (NaOH) PM: 40g/mol, Merck..

- Acetato de sodio (CH_3COONa) PM: 82.04g/mol, Merck.
- Nitrato de plata ($AgNO_3$) PM: 169.86g/mol, Fluka. RA.
- Sulfuro de sodio (Na_2S *:$9H_2O$) PM: 240.06g/mol, J.T. Baker.
- Perclorato de tetrabutilamonio ($C_{16}H_{36}ClNO_4$) PM: 341.92g/mol, Fluka.

2.1.2 Diseños estructurales para ISEs: Electrodos de membrana cristalina heterogénea

Se realizaron tres diseños estructurales para la elaboración de los ISEs. Se preparan incorporando los cristales activos pulverizados, dentro de una matriz inerte como el floruro de polivinilo o elastómeros silíceos, PVC y carbón activado. En breve se describen los pasos a seguir para la elaboración de cada diseño.

2.1.2.1 Diseño A

De manera general se describe el diseño y construcción de un electrodo a base de pasta de carbón activado [39].

Estos electrodos están elaborados de materiales de fácil adquisición y de bajo costo. La construcción para este diseño es relativamente fácil, a continuación se enumeran los pasos para su elaboración:

1. A un tubo de vidrio de 3mm de diámetro exterior, 2mm de diámetro interior y 50cm de longitud, se corta un pequeño tramo de 6.5cm al cual se le quita el filo con calor de una llama de fuego.
2. Se corta 6.5cm de un pequeño tramo de alambre de cobre (transductor) de 1mm de diámetro, se introduce dentro del tubo de vidrio y se deja por una de las extremidades del tubo aproximadamente 0.5cm de alambre afuera.
3. Posteriormente se dobla el tubo de vidrio junto con el alambre a una longitud de 5cm a partir del extremo donde no sale el alambre con calor de una llama de fuego.
4. Finalmente se rellena la parte donde no sale el alambre con pasta de carbón activado teniendo una longitud aproximadamente de 1cm a partir de la boca del tubo.
5. Observar figura: 2.1.2.1.A.

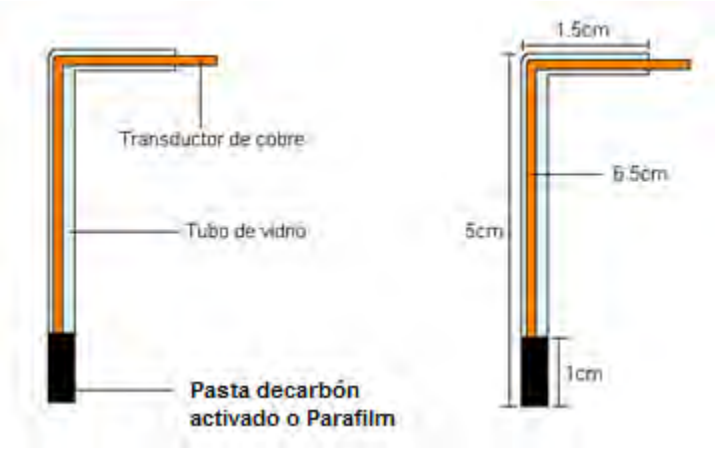


Figura **2.1.2.1.A.** Electrodo a base de pasta de carbón activado.

2.1.2.2 Diseño B

El siguiente diseño son electrodos a base de pasta de carbón activado [39] y otros de Parafilm®. Estos están fabricados a partir de puntas de pipetas automáticas de 200μL y 10μL de capacidad las cuales están rellenas de pasta de carbón por la parte inferior (punta de succión) con ayuda de una espatula, tiene una longitud de 1mm a 2mm. Posteriormente se dejan secar 24 horas Observar figuras 2.1.2.2.B.1, 2.1.2.2.B.2 y 2.1.2.2.B.3.

Después se vierte una disolución electrolítica de NH_4Cl 0.1F o NaCl 0.1F dentro de las cavidades de las puntas automáticas (parte superior), tiene la finalidad de hacer contacto con un alambre de plata (Ag^0) (transdcuctor) que se coloca en la parte superior de la punta, esto con el fin de detectar el potencial producido en la interfase pasta/disolución.

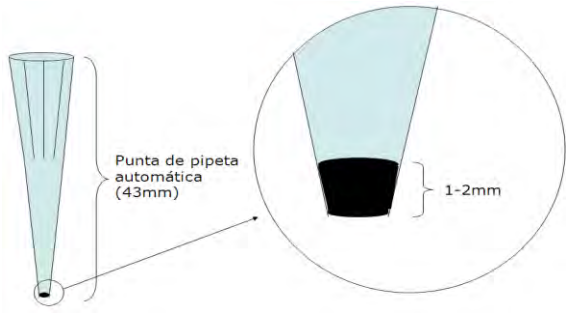


Figura **2.1.2.2.B.1.** Electrodo a base de pasta de carbón activado o Parafilm® en una punta de pipeta automática de 200μL.

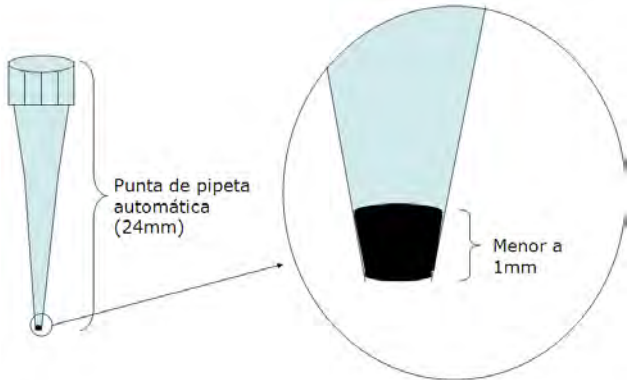


Figura **2.1.2.2.B.2.** Electrodo a base de pasta de carbón activado o Parafilm® en una punta de pipeta automática de 10μL.

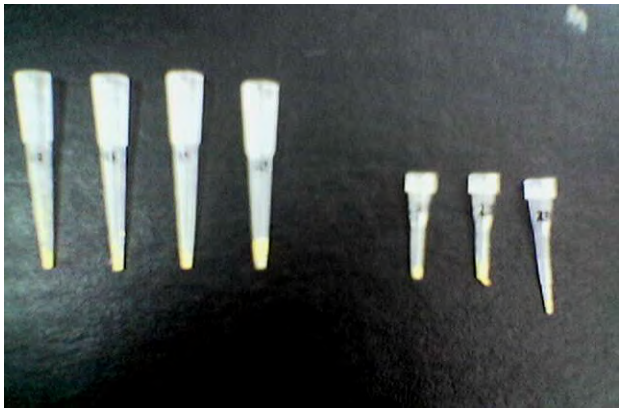


Figura **2.1.2.2.B.3.** Fotografía de los electrodos de 43mm y 24mm.

2.1.2.3 Diseño C

Este diseño está basado en membranas poliméricas de cloruro de polivinilo (PVC), carbón activado más un compuesto selectivo a iones, el procedimiento general para la elaboración de estas membranas poliméricas es el siguiente:

1. Se corta un tubo de plástico para centrifuga, de tal manera de hacer un anillo de aproximadamente de 2.5cm de anchura, quitando las rebabas provocados por el corte.
2. En una superficie de vidrio de 30X30cm, colocar sobre ella el anillo de plástico.
3. En un vaso de precipitados de 10mL, elaborar la mezcla correspondiente a la membrana que se desea ensayar. Estará compuesta de carbón activado, PVC, compuesto selectivo a iones de interés y tetrahidrofurano (THF) como disolvente.

4. Verter el contenido del vaso al anillo sobre la superficie de vidrio de tal manera que se distribuya de manera uniforme el contenido.
5. Colocar sobre el anillo de plástico un papel filtro que cubra toda la parte superior y sobre el papel un vidrio de reloj, esto más que nada para controlar la evaporación del disolvente.
6. Dejar secar el contenido.
7. Posterior al secado, retirar la película inferior del anillo
8. Observar las figuras 2.1.2.3.C.1. y 2.1.2.3.C.2.

Figura **2.1.2.3.C.1.** Elaboración de membranas selectivas.

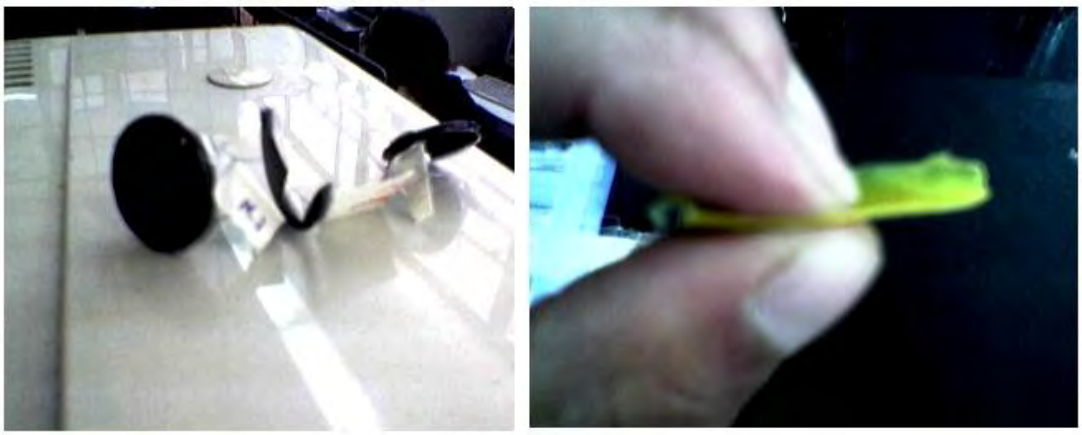


Figura **2.1.2.3.C.2.** Fotografías correspondientes a membranas selectivas.

Para la construcción del electrodo, el procedimiento a seguir es el siguiente:

1. A una punta de pipeta automática de 200μL, cortar una sección de punta, de tal manera que el tamaño de la punta sea de 31mm.
2. A otra punta de pipeta automática pero de 10μL, cortar una sección de punta, de tal manera que el tamaño de la punta sea de 14mm.
3. Unir por el lado inferior ambas puntas con un poco de pegamento de contacto Kola Loka®, dejar secar esta sección y posteriormente sellar con silicón por la parte exterior de las puntas.
4. Cortar una circunferencia con una superficie aproximada a 0.2333cm^2 y colocarla el la boca de la punta de 14mm, posteriormente unir esas dos partes con un poco de pegamento de contacto.
5. Observar figura 2.1.2.3.C.3. y 2.1.2.3.C.4.

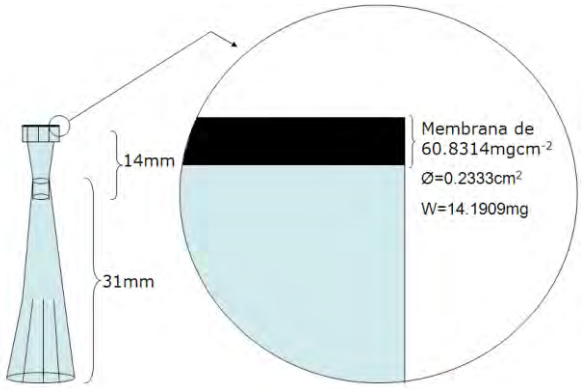


Figura **2.1.2.3.C.3.** Electrodo de membrana polimérica.

Figura **2.1.2.3.C.4.** Fotografía de electrodos a base de membrana polimérica.

2.2 Diseño y construcción de una microcelda electroanalítica a tres electrodos para monitoreo del ión potasio (K^+)

En este apartado se enuncia la idea planteada para el diseño y construcción de una microcelda electroanalítica a tres electrodos para monitoreo del ión potasio (K^+). También se hace énfasis en la elaboración de esta microcelda con materiales relativamente sencillos y de fácil adquisición, reflejando el bajo costo que esto implica.

2.2.1 Materiales y reactivos

- 1.5cm de alambre de platino con un diámetro Ø=0.1mm y pureza del 99.99%, Sigma Aldrich.
- 5.0cm de alambre de cobre recubierto (cable), con una diámetro aproximado Ø=0.1mm, pureza no necesaria, sin marca.
- 3.0cm de alambre de acero inoxidable sin marca
- 4.0cm de alambre de plata con una pureza del 99.0%, Sigma Aldrich.
- Contenedor de vidrio con tapa de rosca y un volumen de 1.0mL.
- Algodón sin marca.
- Puntas para pipeta automática de 10μL de capacidad.
- Pistola de silicón sin marca.
- Silicón en barra sin marca.
- Cinta Teflon de 1/2 pulgada, Rotter®
- Pinzas de corte sin marca.
- Hexanitrocobaltato (III) de sodio $Na_3[Co(NO_2)_6]$ PM:403.94g/mol, J.T. Baker, CAS: 13600-98-1. Conocido comúnmente por su nombre comercial de Cobaltinitrito de sodio.
- Cloruro de amonio (NH_4Cl) PM: 80.04g/mol, Sigma Aldrich.
- Hidróxido de Sodio (NaOH) PM: 40g/mol, sin marca.
- Acetato de sodio (CH_3COONa) PM: 82.04g/mol, Merck.
- Nitrato de plata ($AgNO_3$) PM: 169.86g/mol,. RA. Merck.

2.2.2 Diseño y construcción del electrodo de trabajo (Et), electrodo de referencia (Er) y electrodo auxiliar (Ea)

La construcción del electrodo de trabajo, se diseña bajo características necesarias al tamaño del contenedor que conformará la celda, este contenedor será de vidrio con una capacidad de volumen = 1.0mL, con tapa redonda de rosca y un diámetro aproximado de 1.6cm, la cual soportará al electrodo de trabajo (Et), electrodo auxiliar (Ea) y al electrodo de referencia (Er).

Para la construcción del electrodo de trabajo (Et) se siguen las siguientes instrucciones:

1. Colocar un alambre de platino en el interior de la punta para micro-pipeta automática.
2. Tratar que el alambre salga por la parte inferior.
3. Antes de introducir el alambre de platino, hacer un nudo de la parte superior con el alambre de cobre.
4. Rellenar con silicón fundido.
5. Posteriormente se lija la parte inferior del electrodo para tener una superficie lisa y brillante del alambre de platino.
6. Observar la figura 2.2.2.a.

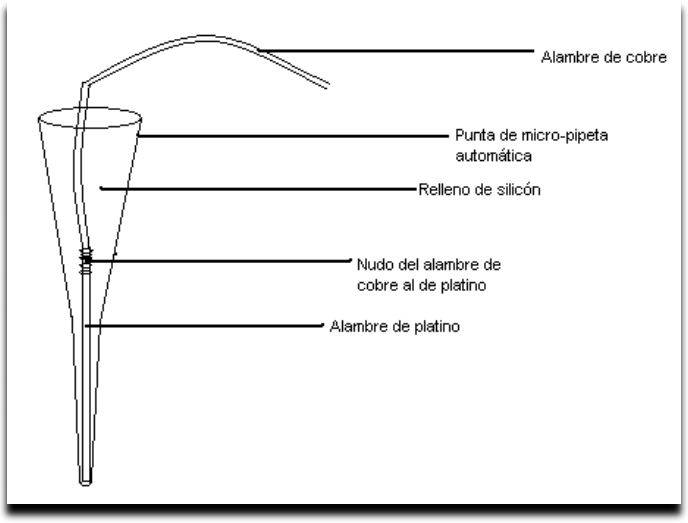


Figura **2.2.2.a.** Interior del electrodo de trabajo (Et).

Para la construcción del electrodo de referencia se siguen las siguientes instrucciones:

1. Colocar dos puntas de micro-pipeta automática una sobre la otra.
2. Rellenar de cloruro de amonio (NH_4Cl) 1.0F, en ambas puntas.
3. Colocar un pedazo de algodón en la parte inferior en cada una de ellas, el cual se usa para separar los compartimentos, pero estos serán permeables por los poros que forma el algodón.
4. Colocar un alambre de plata recubierto de cloruro de plata (AgCl) en la parte inferior del alambre.
5. Colocar el alambre en un tapón de silicón horadado por la parte media.
6. El tapón se coloca en la parte superior de la punta para micro-pipeta y se sella con silicón y un poco de cinta teflón.
7. Observar la figura 2.2.2.b.

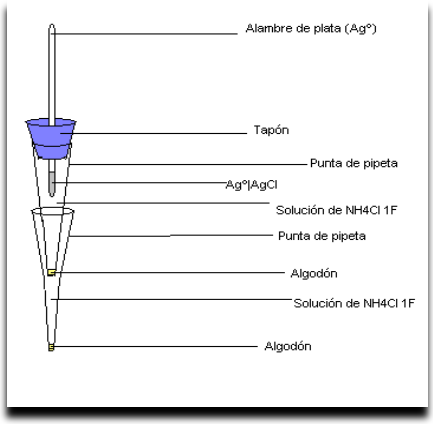


Figura **2.2.2.b.** Interior del electrodo de referencia (Er).

Para la construcción del electrodo auxiliar se siguen las siguientes instrucciones:

1. Este electrodo se caracteriza por tener una gran superficie de contacto.
2. Utilizar 3.0cm de alambre de acero inoxidable.
3. Doblar un tercio del alambre en un ángulo de 90º.
4. Observar la figura 2.2.2.c.

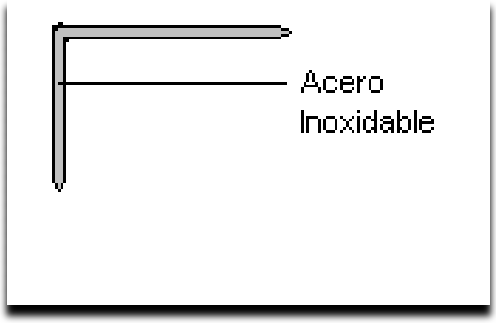


Figura **2.2.2.c** Electrodo auxiliar (Ea).

2.2.3 Construcción de la microcelda electroanalítica a tres electrodos

En esta etapa se ensamblan todas las partes de la microcelda electroanalítica, a continuación se enuncian las instrucciones necesarias para su construcción:

1. Se hacen cinco horadaciones en la tapa redonda con rosca del contenedor de vidrio.
2. El tamaño de tres horadaciones será regido por el tamaño de los tres electrodos, el de trabajo (Et), auxiliar (Ea) y el de referencia (Er).
3. Las otras dos horadaciones servirá para burbujear gas nitrógeno (N_2) y purgar la microcelda electroanalítica.
4. Observar figuras 2.2.3.a y 2.2.3.b.

Figura **2.2.3.a.** Comparación del contenedor de vidrio con una moneda mexicana de valor 1MXP.

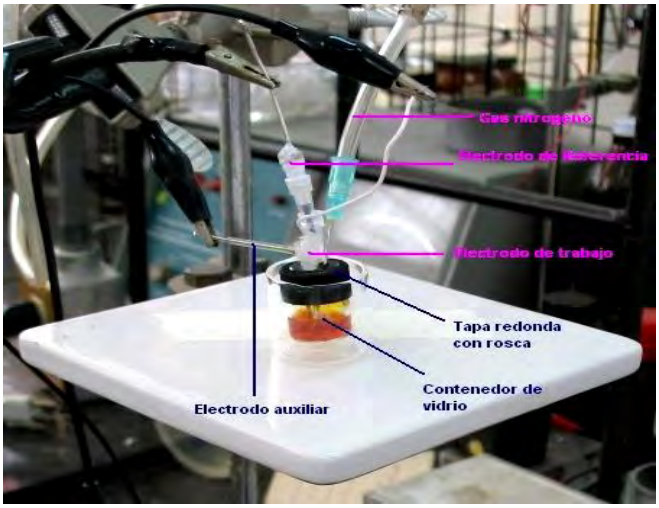


Figura **2.2.3.b.** Ensamble de la microcelda electroanalítica a tres electrodos.

2.3 Diseño y construcción de una microcelda conductimetrica.

En este apartado se enuncia la idea planteada para el diseño y construcción de una microcelda conductimétrica a dos electrodos para monitoreo de la conductividad especifica κ. También se hace énfasis en la elaboración de esta microcelda con materiales relativamente sencillos y de fácil adquisición, reflejando el bajo costo económico que esto implica.

2.3.1 Materiales y reactivos

- Pistola de silicón, sin marca.
- Silicón en barra, sin marca.
- Dosificador de jarabe de 50mL, sin marca.
- Recipiente rectangular de 15x10x5cm, sin tapa.
- Pegamento de contacto, Kola Loka ®.
- Cinta Teflon de 1/2 pulgada, Rotter®
- Puntillas de carbón de 10cm, sin marca
- Agitador magnético, sin marca
- Parrilla de agitación magnética

2.3.2 Construcción y medición en la microcelda conductimétrica.

1. En el recipiente rectangular, se coloca el dosificador de jarabe en una de las esquinas. Se sujeta el dosificador con silicón en la parte inferior.
2. Se realiza dos perforaciones en la misma esquina del recipiente, atravesando el dosificador, de tal manera que puedan colocarse dos electrodos de carbón encontrados por cada extremo del dosificador (ver figura 2.3.2.a).
3. Sellar todas las uniones con pegamento de contacto y silicón.

Para llevar a cabo la medición de la conductividad especifica de las disoluciones, se utilizó una interfase conductimétrica construida en el laboratorio. Se trata de un oscilador que genera una onda triangular en lugar de la onda sinusoidal clásica (1.2 MHz), la cual es aplicada a un multímetro digital que se encarga de medir la salida de potencial. Esto se hace con el fin de evitar la polarización de los electrodos de trabajo. En la figura 2.3.2.b. se muestra el montaje experimental empleado donde se aprecia la conexión en línea.

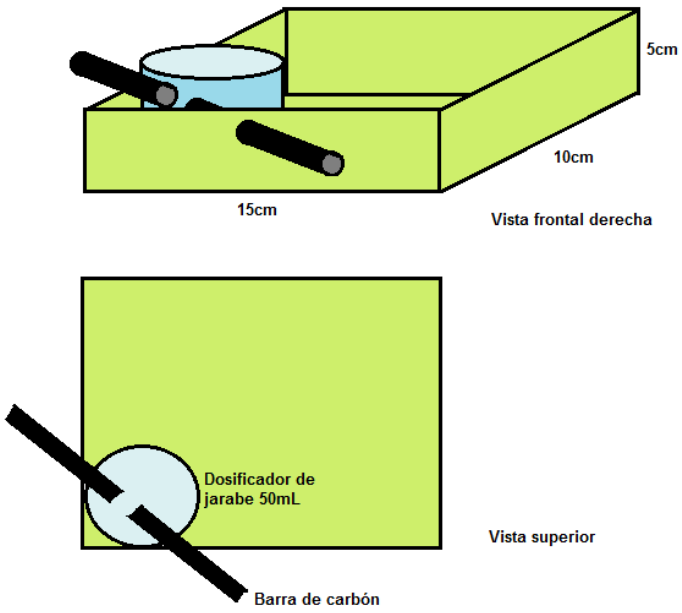


Figura **2.3.2.a.**Construcción de la microcelda conductimétrica en el laboratorio.

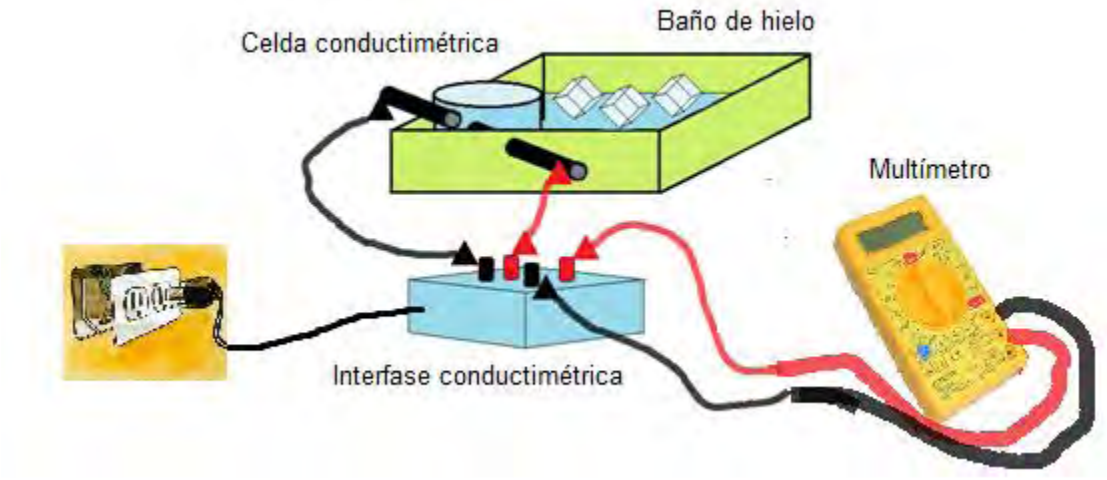


Figura **2.3.2.b**. Montaje en línea, determinación de la conductividad especifica.

CAPÍTULO 3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados y análisis para electrodos de ión selectivo (ISEs). Electrodos de membrana cristalina heterogénea

3.1.1 ISEs: Diseño A

Estos electrodos están elaborados a base de varias mezclas con pasta de carbón, la pasta está unida a través de un transductor metálico de cobre (Cu^o), a continuación se presentan las distintas mezclas que componen a las membranas y sus resultados correspondientes para cada calibración del electrodo con disoluciones patrón.

En este ensayo se observa una mezcla de: Carbón activado + Nujol + $Na_3[Co(NO_2)_6]$, se pretende elaborar un ISE al ión potasio con el hexanitrocobaltato (III) de sodio, esté compuesto en solución acuosa forma un precipitado con potasio a pH ligeramente ácido. La idea de utilizar este compuesto es para probar que la pasta, puede tener la función der ser selectiva al ión potasio.

También se utiliza un electrodo de referencia plata-cloruro de plata ($Ag^o \mid AgCl$), este electrodo tiene un potencial de equilibrio estable y conocido. El potencial de unión líquida en estos electrodos es minimizado por el uso de altas concentraciones de cloruro de potasio como solución interna. Como se pretende detectar potasio, la solución se cambió por cloruro de amonio (NH_4Cl) 0.1F.

Se construye un electrodo sin hexanitrocobalto (III) de sodio, este servirá como “blanco” de las mediciones a ensayar. En ambos electrodos se efectuó la medición del potencial con ayuda de un multímetro comercial, en disoluciones de sodio (Na^+) y potasio (K^+) a diferentes concentraciones.

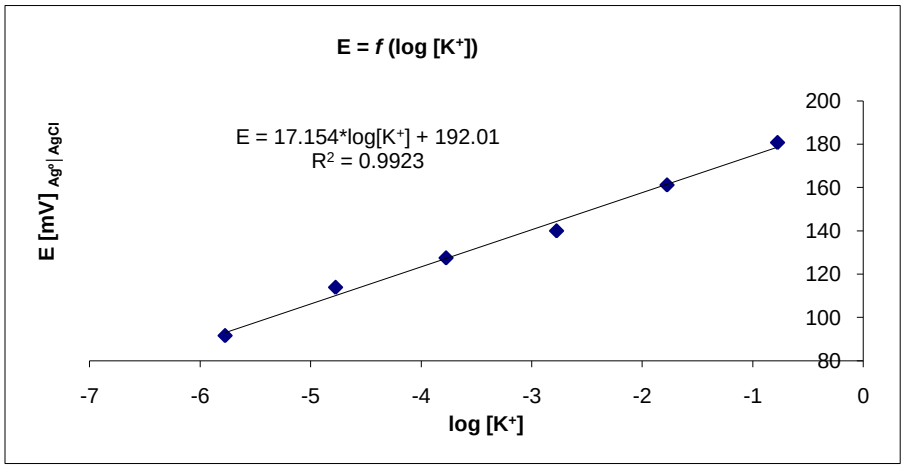
3.1.1.1 Experimento No. 1

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) y de referencia elaborados, además de las gráficas correspondientes a la calibración de los electrodos, observar gráficas 3.1.1.1.A.1, 3.1.1.1.A.2 y 3.1.1.1.A.3:

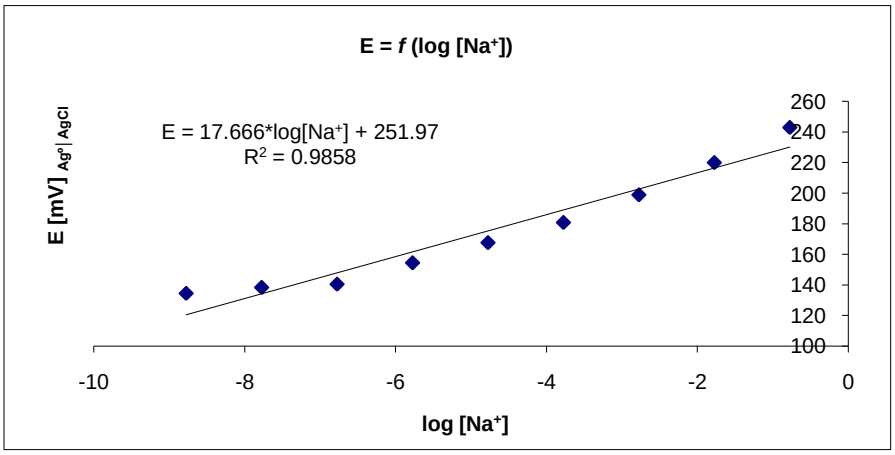
Ei: $Cu^o \mid$ Carbón activado + Nujol + $Na_3[Co(NO_2)_6]$ (1:1:1) (m/m)$\mid$ (se usó el reactivo)

Er: $Ag^o \mid AgCl \mid NH_4Cl$ 0.1F$\mid\mid$

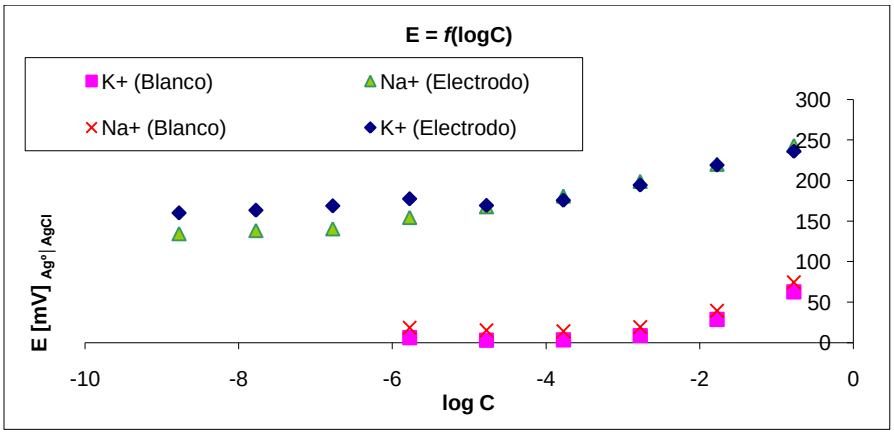
Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 23.0 ºC.



Gráfica **3.1.1.1.A.1.** Curva de calibración para el ión potasio (n=3).



Gráfica **3.1.1.1.A.2.** Curva de calibración para el ión sodio (n=3).



Gráfica **3.1.1.1.A.3.** Curva de calibración y blancos correspondientes para los iones sodio y potasio (n=3).

Con estos resultados se corrobora que el electrodo analizado responde a la presencia de los iones sodio y potasio, lo cual se comprueba con el ensayo realizado con los blancos, cuyo potencial es prácticamente constante a cualquier concentración. Pero no es selectivo para el ión potasio como se creía. En las gráficas podemos observar que el potencial producido por la presencia de potasio y sodio prácticamente es muy similar para cada curva a partir de la concentración $1.0x10^{-1}molL^{-1}$ a la $1.0x10^{-6}molL^{-1}$. Por lo que descartamos este electrodo.

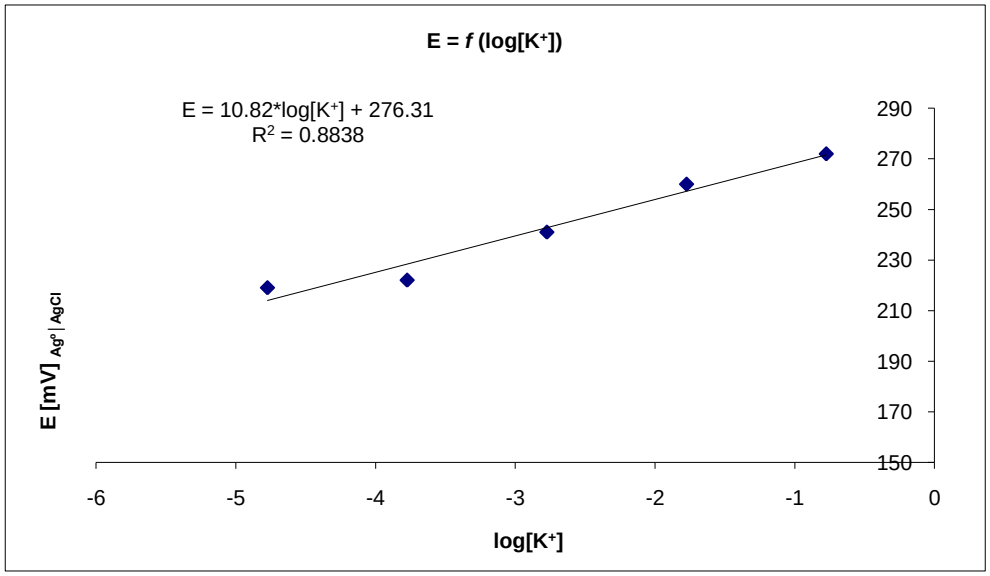
3.1.1.2 Experimento No. 2

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) al ión potasio y el de referencia elaborados, además de las gráficas correspondientes a la calibración de los electrodos, observar gráficas 3.1.1.2.A.1, 3.1.1.2.A.2 y 3.1.1.2.A.3:

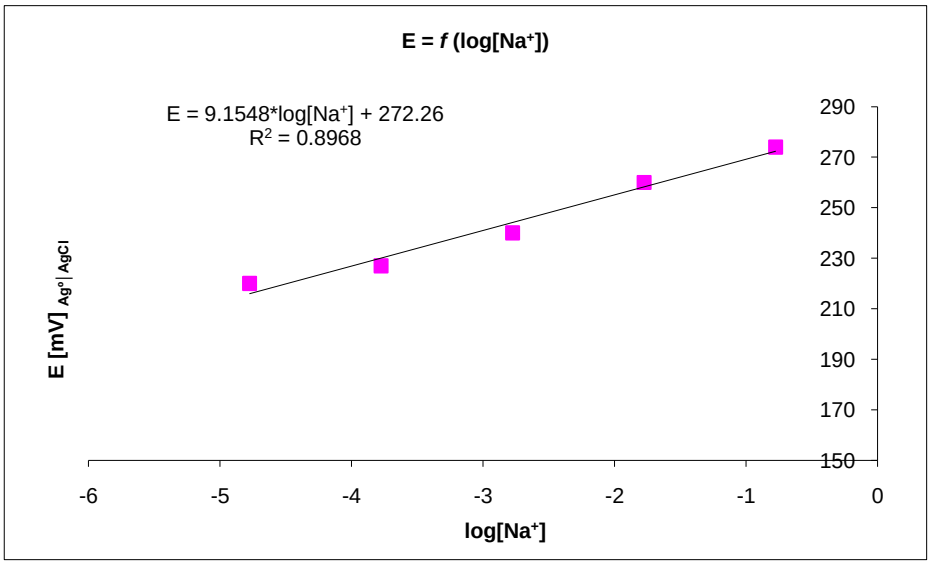
Ei: $Cu^{o}\,|$ Carbón activado + Nujol + $K_2Na[Co(NO_2)_6]$ (1:1:1) (m/m)$\,||$ (Se usó el precipitado sin caracterizar, haciendo reaccionar una disolución de hexanitrocobaltato (III) de sodio $1.0molL^{-1}$ con una disolución de KNO3 $1.0molL^{-1}$ (v/v).

Er: $Ag^{o}\,|\,AgCl\,|\,NH_4Cl$ 0.1F$\,||$

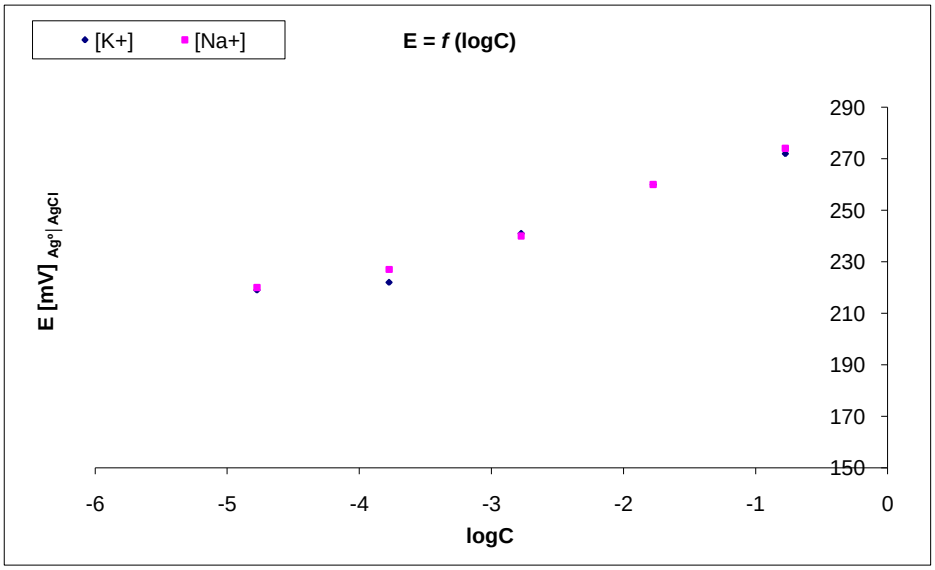
Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 22.0 ºC.



Gráfica **3.1.1.2.A.1.** Curva de calibración para el ión potasio (n=3).



Gráfica **3.1.1.2.A.2.** Curva de calibración para el ión sodio (n=3).



Gráfica **3.1.1.2.A.3.** Curva de calibración para los iones sodio y potasio (n=3).

Este electrodo presenta una respuesta al potencial muy parecida para los iones potasio y sodio. Se decide no utilizar el precipitado de sodio-potasio para la elaboración de un ISE selectivo al potasio.

3.1.2 ISEs: Diseño B

Para la fabricación de estos electrodos, se utiliza Parafilm® como pasta, donde se internaliza el cloruro de plata (AgCl). Se utiliza cloruro de plata como prueba a la detección de cloruros (Cl^-) y también para demostrar que el Parafilm® puede servir como soporte para elaborar ISEs de membrana cristalina heterogénea.

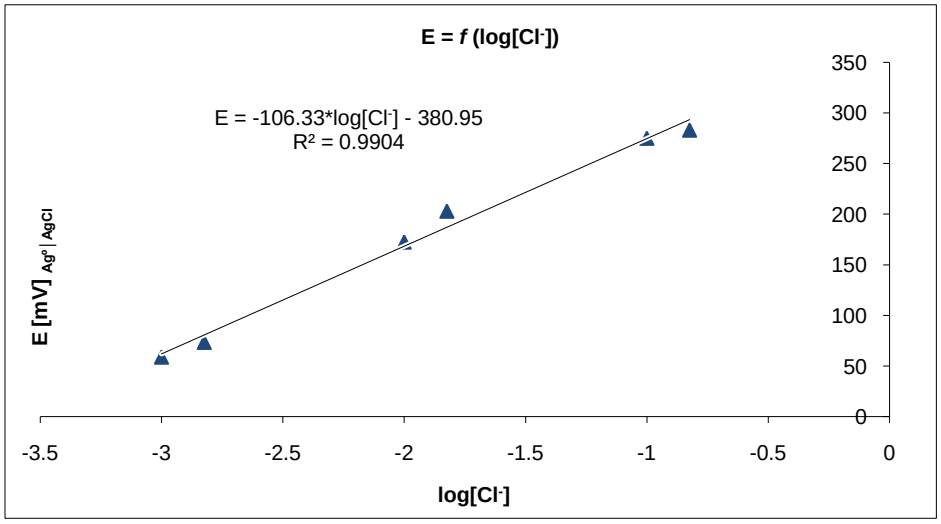
Para la construcción del electrodo, se corta una pequeña tira de Parafilm® aproximadamente 500mg, se coloca en un vidrio el cual es colocado dentro de una estufa de calentamiento a 105°C durante uno o dos minutos para derretir el Parafilm®, posteriormente se mezcla con la sal de interés en una proporción 1 a 1 (m/m). Se rellena la parte inferior del electrodo con ayuda de una espátula para evitar una quemadura, dejar enfriar a temperatura ambiente.

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) al ión cloruro y el de referencia elaborados, además de la gráfica correspondiente a la calibración del electrodo, observar la gráfica 3.1.2.B:

Ei: $Ag^o \mid NaCl\ 0.01F \mid$ Parafilm® + AgCl (1:1) (m/m)$\mid\mid$

Er: $Ag^o \mid AgCl \mid NH_4Cl\ 0.1F \mid\mid$

Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 23.0 ºC.



Gráfica **3.1.2.B.** Curva de calibración para el ión cloruro (n=5)

Con este experimento se demuestra que el electrodo elaborado con Parafilm®, es una propuesta interesante para la fabricación de nuevos ISEs con materiales de bajo costo. Posteriormente se ensayo nuevamente el uso del hexanitrocobalto de sodio(III) y el precipitado correspondiente de sodio-potasio para confirmar que con este electrodo, la respuesta hacia el potasio y sodio sigue siendo igual lo que se puede interpretar es, la selectividad para ambos iones es la misma. También se ensayo el correspondiente blanco de Parafilm® para verificar que la respuesta se debe a la presencia de cloruro de plata (AgCl), en este resultado el potencial de mantuvo constante a 0mV para todas las concentraciones patrón de cloruros utilizadas.

3.1.3 ISEs: Diseño C

Como se dijo anteriormente, para la construcción de este electrodo se utilizan diferentes membranas de composición diferente, las cuales se colocan en la base especial construida para ellas, también hay que recordar que para estas membranas hay un control de calidad mejor implementado, ya que se conoce la cantidad de masa utilizada y la forma de la membrana.

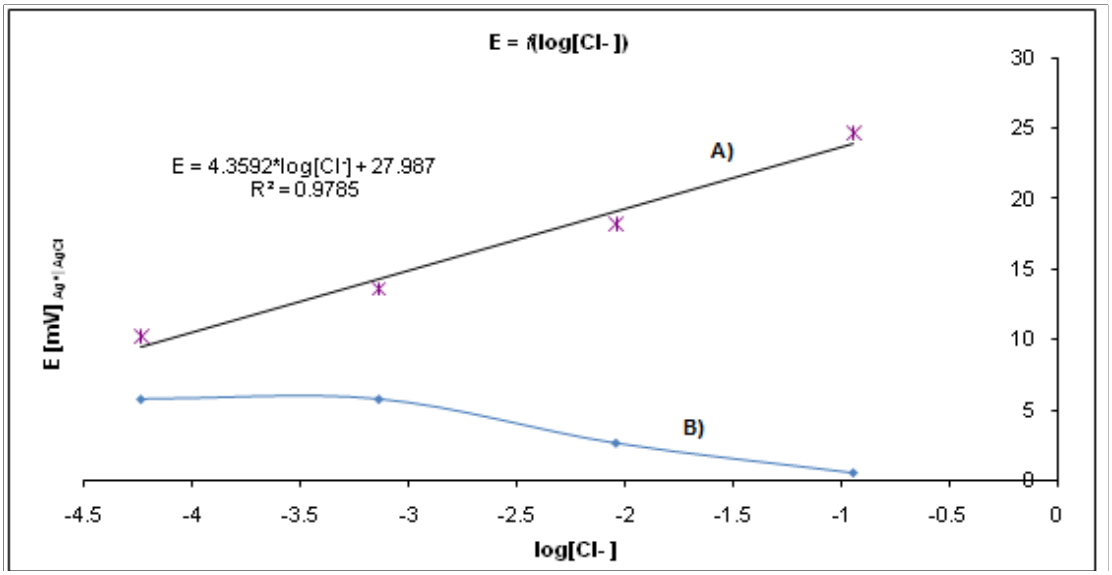
3.1.3.1 Experimento No. 1

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) al ión cloruro y el de referencia elaborados, además de la gráfica correspondiente a la calibración del electrodo, observar la gráfica 3.1.3.1.C.1:

Ei: $Ag^{o}\,|\,NaCl\ 0.01F\,|$ Carbón activado + AgCl + PVC (0.0609g:0.1704g:0.1765g) $||$, se conocen las cantidades.

Er: $Ag^{o}\,|\,AgCl\,|\,NH_4Cl\ 0.1F\,||$

Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 21.5 ºC.



Gráfica **3.1.3.1.C.1.** Evaluación de la membrana para generar una respuesta selectiva al anión cloruro A) Curva de calibración para el ión cloruro (n=5). B) Blanco.

En este experimento se observa que existe una relación de selectividad hacia el ión cloruro (Cl^-) ya que se compara con su blanco correspondiente. El problema de este ISE es la reproducibilidad de las membranas, al ser colocadas en las puntas de pipetas automáticas, existe una tendencia de fracturas y mal sellado, lo que evita dicha reproducibilidad en las pendientes de la ecuación de Nikolsky.

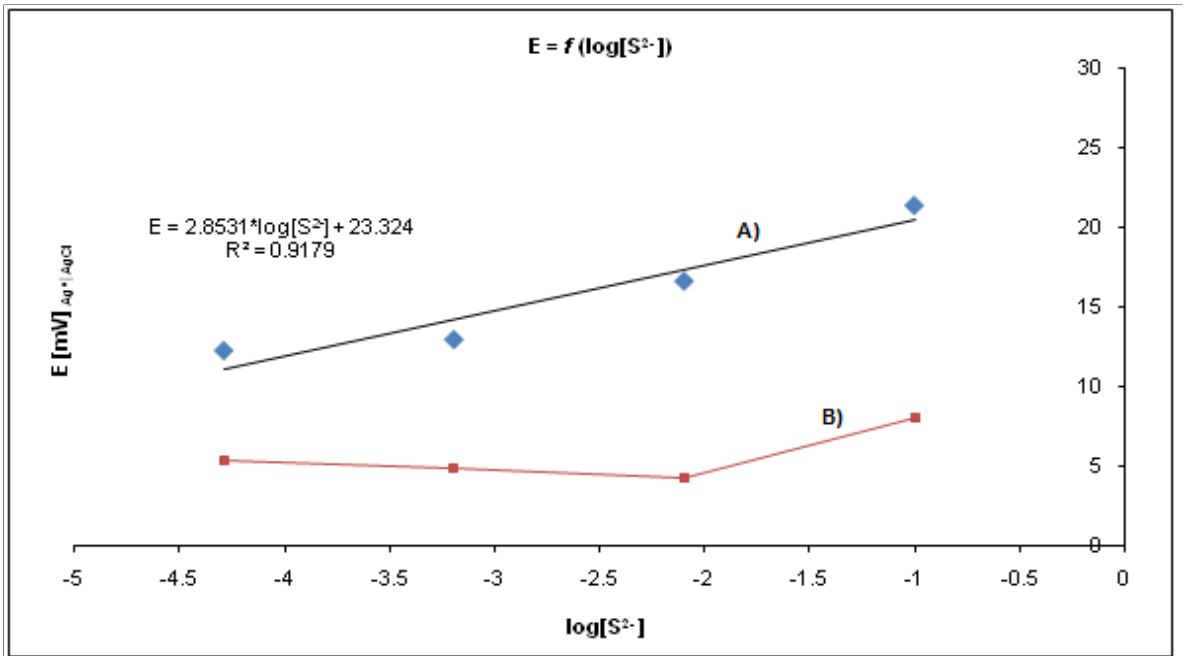
3.1.3.2 Experimento No. 2

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) al ión sulfuro y el de referencia elaborados, además de la gráfica correspondiente a la calibración del electrodo, observar la gráfica 3.1.3.2.C.1:

Ei: $Ag^o \mid NaCl\ 0.01F \mid$ Carbón activado + Ag_2S + PVC (0.0511g:0.0261g:0.1762g) $\mid\mid$

Er: $Ag^o \mid AgCl \mid NH_4Cl\ 0.1F \mid\mid$

Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 21.5 ºC.



Gráfica **3.1.3.2.C.1.** Evaluación de la membrana para generar una respuesta selectiva al anión sulfuro A) Curva de calibración para el ión sulfuro (n=5). B) Blanco.

En este experimento se observa que existe una relación de selectividad hacia el ión sulfuro (S^{2-}) ya que se compara con su blanco correspondiente. El problema de este ISE es la reproducibilidad de las membranas, al ser colocadas en las puntas de pipetas automáticas, existe una tendencia de fracturas y mal sellado, lo que evita dicha reproducibilidad en las pendientes de la ecuación de Nikolsky.

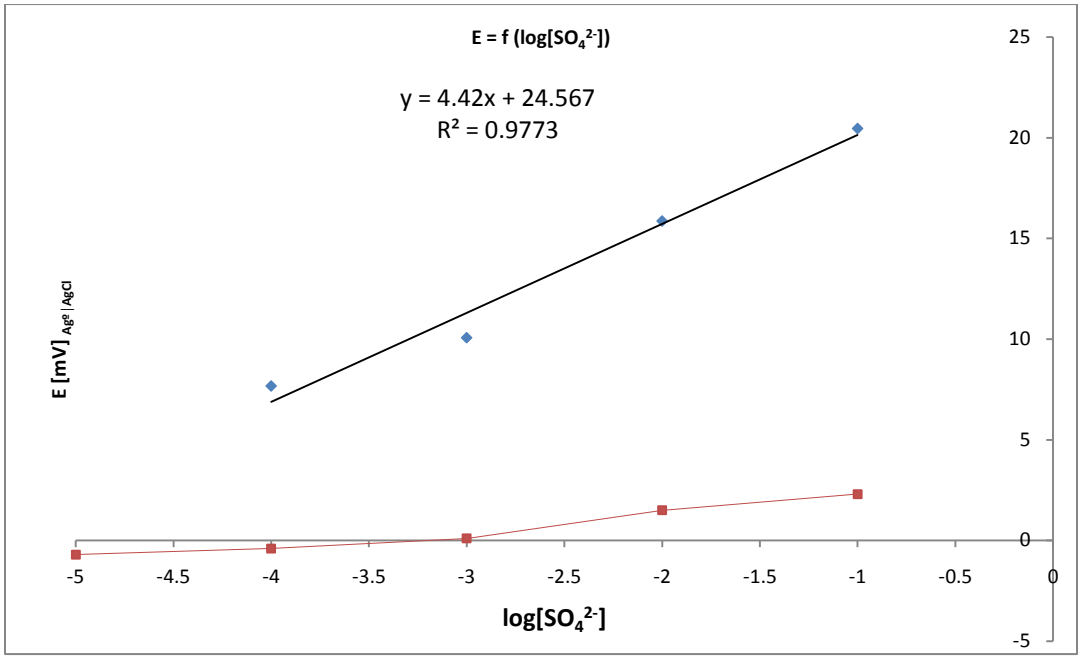
3.1.3.3 Experimento No. 3

A continuación se presenta la nomenclatura correspondiente para el electrodo indicador (ISE) al ión sulfato y el de referencia elaborados, además de la gráfica correspondiente a la calibración del electrodo, observar la gráfica 3.1.3.3.C.1:

Ei: $Ag^{o}\,|\,NaCl\ 0.01F\,|$ Carbón activado + Ag_2S + PVC (0.08g:0.17g:0.11g) $|\,|$

Er: $Ag^{o}\,|\,AgCl\,|\,NH_4Cl\ 0.1F\,|\,|$

Tiempo para la determinación de cada ensayo: 30 segundos. Temperatura registrada: 18.0 ºC.



Gráfica **3.1.3.3.C.1.** Evaluación de la membrana para generar una respuesta selectiva al anión sulfato (n=5).

En este experimento se observa que existe una relación de selectividad hacia el ión sulfato (SO_4^{2-}) ya que se compara con su blanco correspondiente. El problema de este ISE es la reproducibilidad de las membranas, al ser colocadas en las puntas de pipetas automáticas, existe una tendencia de fracturas y mal sellado, lo que evita dicha reproducibilidad en las pendientes de la ecuación de Nikolsky.

Los experimentos elaborados con estos compuestos químicos, reflejan el posible uso y comportamiento que podrían tener los ISEs elaborados en el laboratorio, con estos resultados es posible empezar hacer ensayos más profundos, mejorando la reproducibilidad de las membranas y posteriormente la validación de instrumentación de bajo costo.

3.2 Resultados y análisis para la microcelda electroanalítica.

3.2.1 Ensayo Voltamperométrico de la microcelda electroanalítica a tres electrodos

Estos experimentos se efectuaron, usando una técnica electroanalítica adecuada como la voltamperometría de barrido lineal y la voltamperometría de barrido cíclico. Son técnica instrumentales analíticas mediante la cual se consigue oxidar o reducir compuestos disueltos en el seno de un disolvente en régimen de difusión pura (sin agitar) mediante la aplicación de un

potencial positivo o negativo, respectivamente. El sistema de tres electrodos (Figura 3.2.1.a) se utiliza de la siguiente manera [40]:

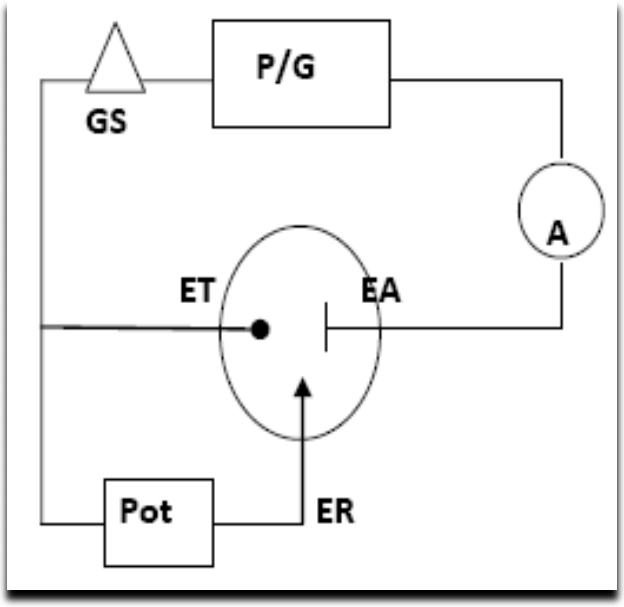


Figura 3.2.1.a. Sistema a tres electrodos en la microcelda electroanalítica.

Donde:

1. **P/G:** Potenciostato/Galvanostato. Impone de manera constante un potencial o una corriente entre el electrodo de trabajo (ET) y el electrodo auxiliar (EA).
2. **GS:** Generador de señales. Determina la forma en la que llegara al electrodo de trabajo (ET) el potencial o la corriente impuesta (en pulsos, barrido, directo, inverso, etc.).
3. **A:** Amperímetro. Mide la corriente en el circuito electrolítico. Se mide con respecto al electrodo de trabajo (ET).
4. **Pot:** Potenciómetro. Mide el potencial del electrodo de trabajo (ET) con respecto a un electrodo de referencia.

3.2.1.1 Programas de perturbación para Voltamperometría de barrido lineal y cíclico.

Se aplica una imposición lineal de potencial (Voltamperometría lineal) de acuerdo al siguiente programa. (Figura 3.2.1.1.a.)

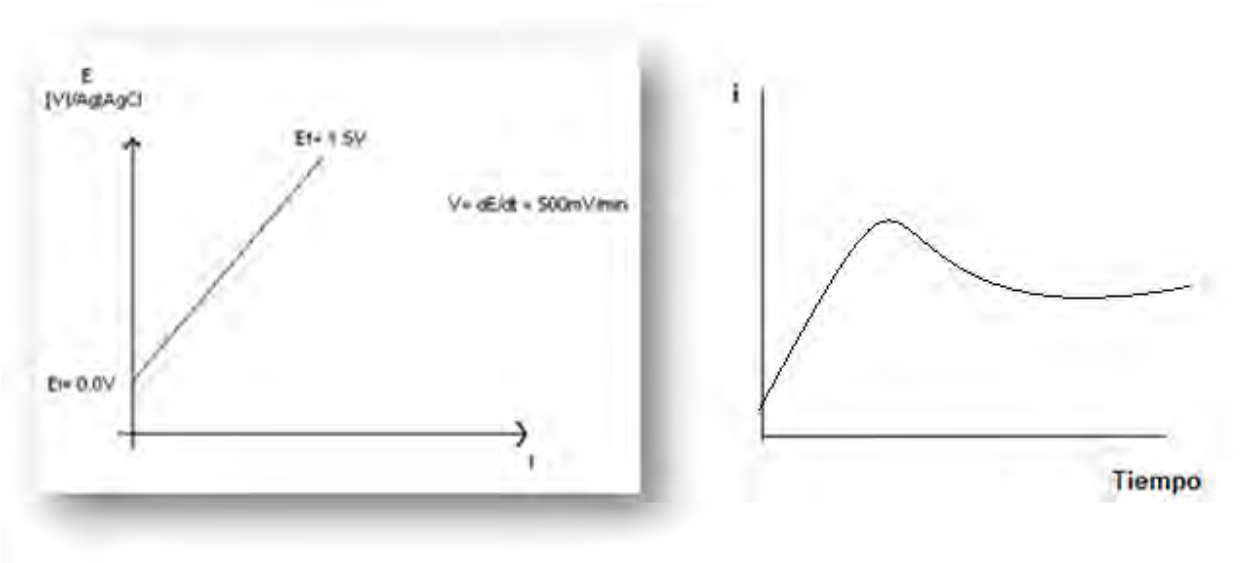


Figura **3.2.1.1.a.** Programa de perturbación y patrón de respuesta para Voltamperometría lineal.

Se aplica una imposición triangular de potencial (Voltamperometría cíclica) de acuerdo al siguiente programa. (Figura 3.2.1.1.b.)

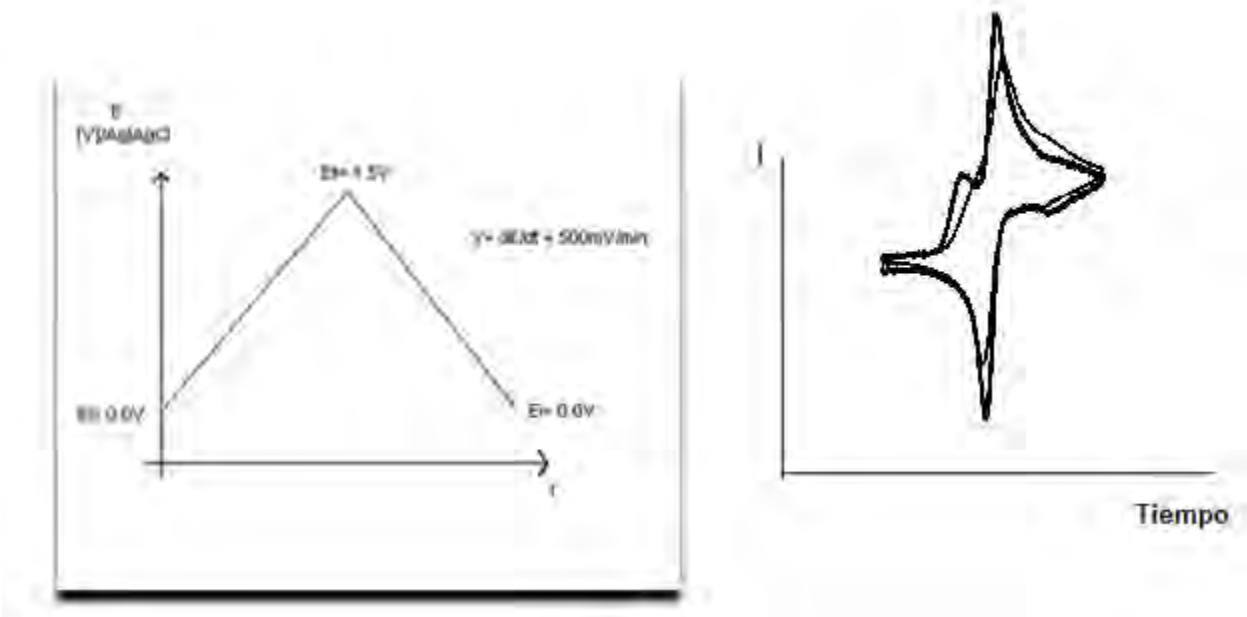
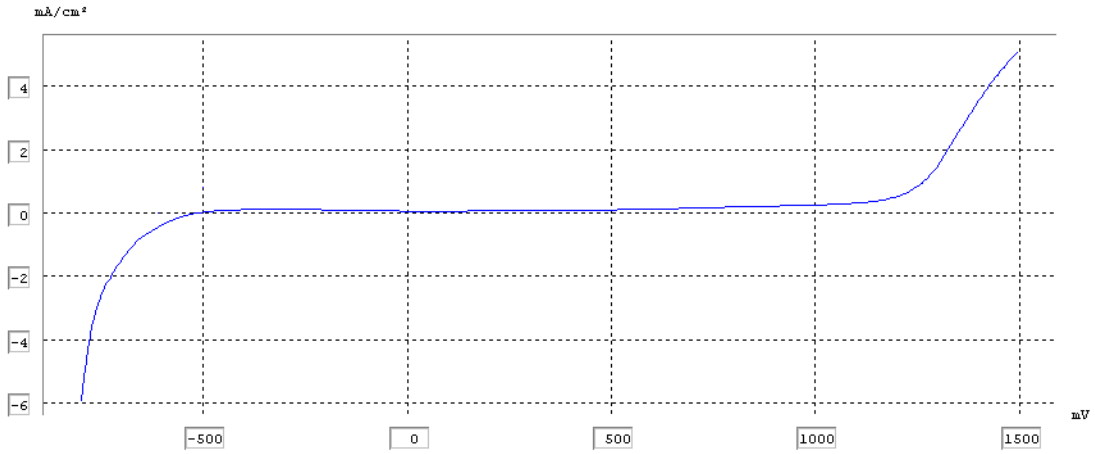


Figura **3.2.1.1.b.** Programa de perturbación y patrón de respuesta para Voltamperometría cíclica.

3.2.1.2 Resultados obtenidos de la Voltamperometría de barrido triangular respecto al sistema químico en estudio

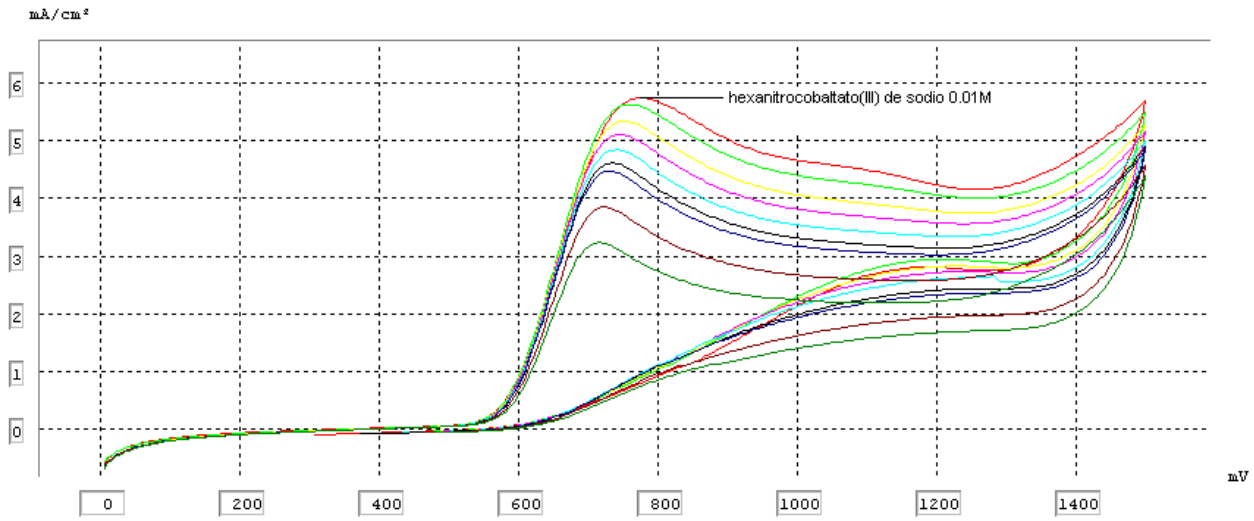
Todos los experimentos, se realizaron en la microcelda electroanalítica a tres electrodos, la celda se colocó dentro de un baño de hielo con una temperatura promedio de 3°C, asegurando el mejor comportamiento del hexanitrocobaltato (III) de sodio en la disolución.

Se realizó primero el dominio de electroactividad, este experimento demuestra que se encuentra libre de alguna respuesta que pudiera interferir con el ensayo, ejemplo: el oxígeno disuelto en el medio. Se utilizó el siguiente intervalo de potencial (E) [-650mV a 1450mV]), lo cual indica, que este intervalo de potencial es posible realizar un monitoreo del comportamiento del hexanitrocobaltato (III) de sodio en presencia del ión potasio (K^+). (Gráfica 3.2.1.2.a)



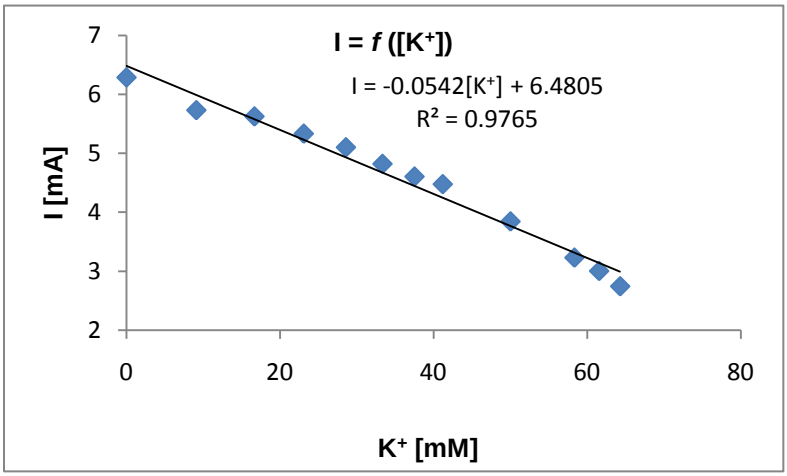
Gráfica **3.2.1.2.a.** Dominio de electroactividad para 500μL buffer de acetatos (Ac^-/HAc) 0.1molL$^-$ pH=5, T=3 ºC (n=3)

Posterior al dominio de electroactividad, se realizó un experimento en el cual consiste en colocar 500μL de hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.01molL^{-1} y monitorear por voltamperometría cíclica el dominio anódico de las adiciones de nitrato de potasio (KNO_3) 0.1molL^{-1} (10μL). (Gráfica 3.2.1.2.b)



Gráfica **3.2.1.2.b.** Voltamperometría cíclica anódica del hexanitrocobaltato (III) de sodio, con adiciones de nitrato de potasio (KNO_3) 0.1molL^{-1}, T=3 ºC (n=3).

Se toma en cuenta la corriente residual del buffer de acetatos para determinar la corriente limite de cada adición de nitrato de potasio (KNO_3) 0.1molL^{-1}. Posteriormente se construyó una curva de calibración correspondiente al experimento anterior, donde se gráfica intensidad de corriente (I) en función de la concentración potasio añadido. (Gráfica 3.2.1.2.c)



Gráfica **3.2.1.2.c.** Curva de calibración para el ión potasio.

Con este resultado se puede confirmar que en el dominio anódico existe una onda relacionada de oxidación, el cual tiene un potencial de oxidación alrededor de 750mV, también se observa que se trata de una reacción irreversible por no presentar la señal de reducción correspondiente. En esta tesis no se determinará a que se relaciona dicho fenomeno “señal de

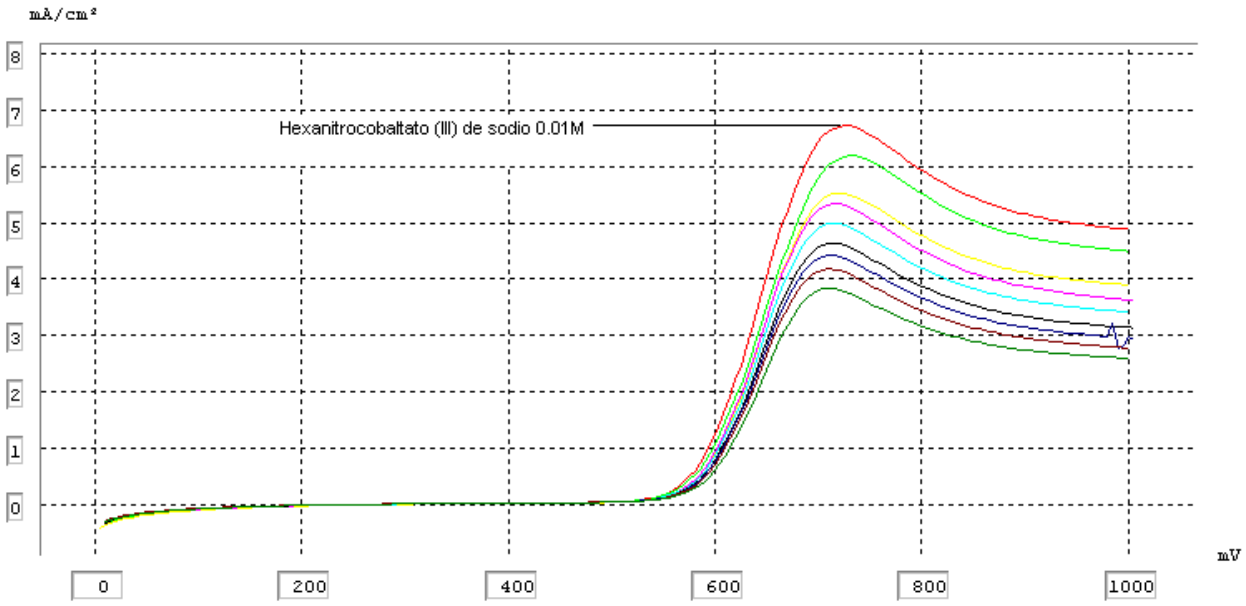
oxidación", una posible interpretación es: El hexanitrocobaltato (III) de sodio se descompone en disolución, formando especies que pueden ser observadas en el dominio anódico:

$$Co(NO_2)_6^{3-} \rightleftharpoons Co^{3+} + 6NO_2^-$$
$$Co^{3+} + NO_2^- \rightleftharpoons Co^{2+} + NO_2\ (gas)$$

El ión nitrito al estar en una reacción acoplada a la descomposición del complejo, este se oxida hasta oxido nitroso (NO_2) el cual puede oxidarse hasta el ión nitrato (NO_3^-) como se muestra la siguiente reacción:

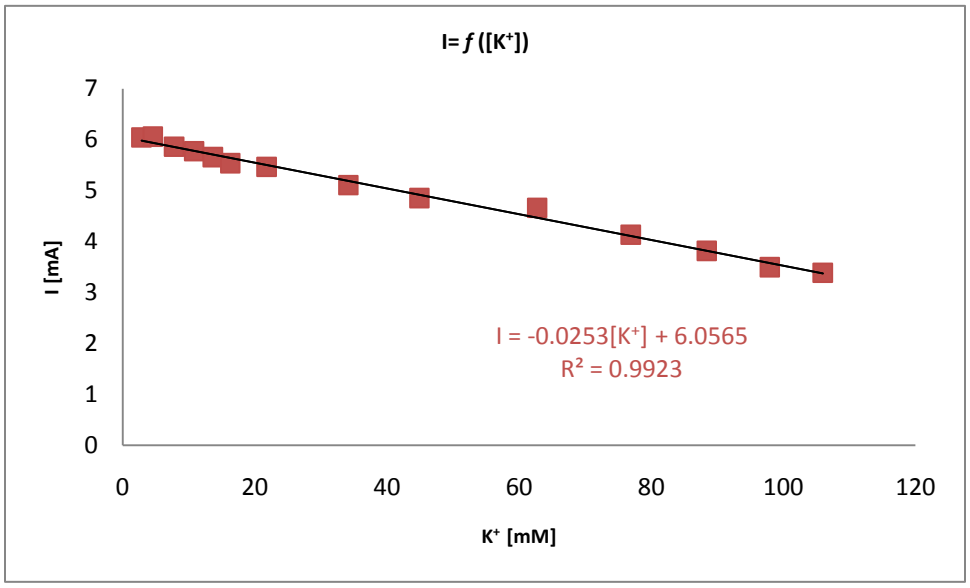
$$N(+IV) - N(+V) \qquad NO_2^- + 3H_2O \rightleftharpoons NO_3^- + 2H_3O^+ \qquad t \qquad +0{,}81$$

3.2.1.3 Resultados obtenidos de la Voltamperometría lineal respecto al sistema químico en estudio



Gráfica **3.2.1.3.a.** Voltamperometría lineal anódica del hexanitrocobaltato (III) de sodio, con adiciones de nitrato de potasio (KNO_3) 0.1molL^{-1}, T=3 ºC (n=3).

En este voltamperograma (gráfica 3.2.1.3.a) podemos ver, que se tiene la misma respuesta comparada con los resultados de voltamperometría de barrido triangular, solo que en este caso, el barrido es lineal. En el voltamperograma podemos ver que la primera curva que se tiene de color rojo, representa a la adición del hexanitrocobaltato (III) de sodio., posteriormente al ir adicionando potasio, la señal decrece porque se empieza a formar el complejo de la sal doble de sodio potasio. Prácticamente la curva de calibración que se realiza con este voltamperograma es muy similar a la curva de calibración que se obtuvo en voltamperometría de barrido triangular. (Gráfica 3.2.1.3.b**)**



Gráfica **3.2.1.3.b.** Curva de calibración para el ión potasio.

3.2.2 Resultado Cronoamperométrico de la microcelda electroanalítica a tres electrodos

3.2.2.1 Programa de perturbación para Cronoamperometría

Imposición de un pulso constante de potencial (cronoamperometría): Se impone una diferencia de potencial mediante un potencióstato y se registra la corriente obtenida en función del tiempo, manteniendo condiciones en estado estacionario (sin agitar). El transporte de masa en estas condiciones está regido por difusión y la curva i – t, la cual refleja la disminución de la concentración del analito en las cercanías del electrodo. (Ver figura 3.2.2.1.a)

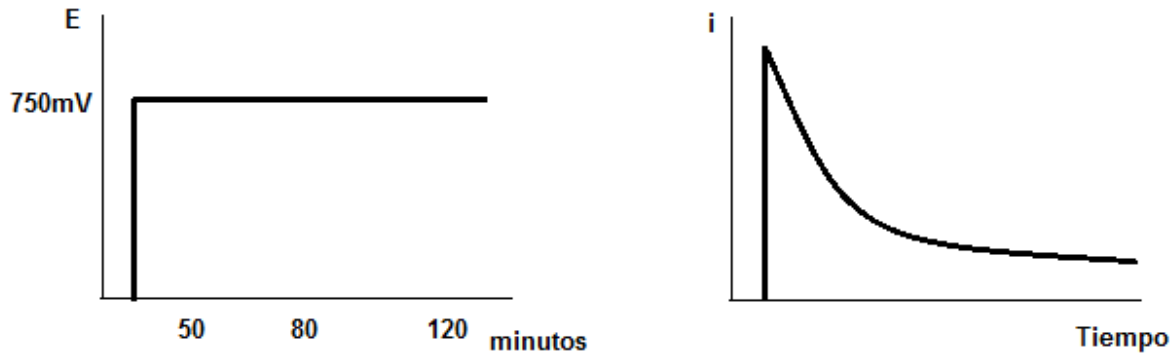


Figura **3.2.2.1.a.** Programa de perturbación y patrón de respuesta para cronoamperometría

3.2.2.2 Resultado obtenido para cronoamperometría respecto al sistema químico en estudio

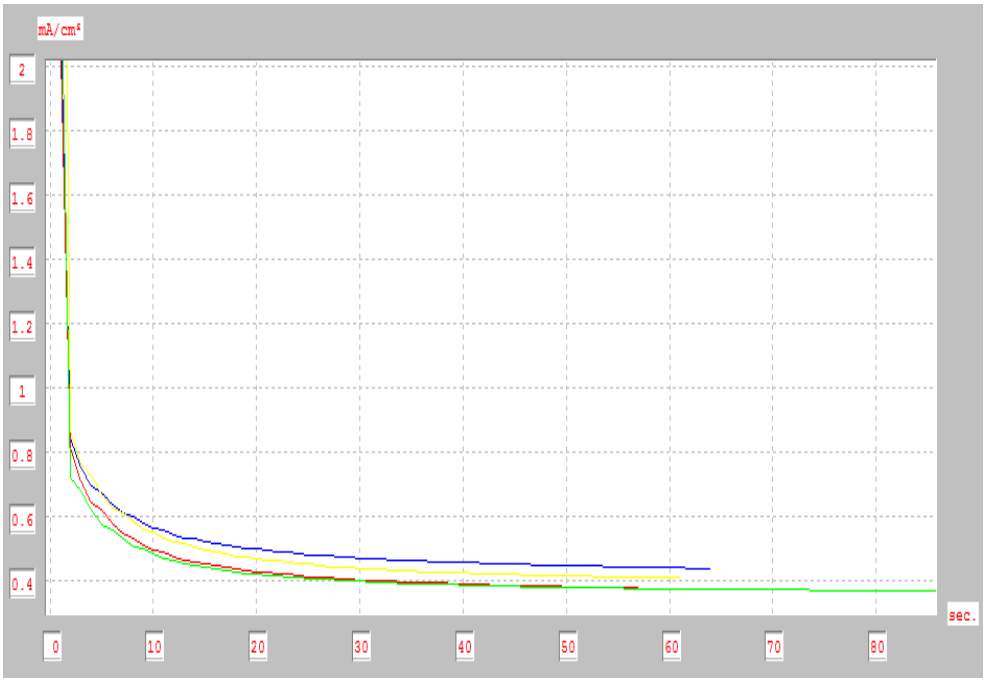


Figura **3.2.2.2.a.** Cronoamperograma del hexanitrocobaltato (III) de sodio, con adiciones de nitrato de potasio (KNO_3) 0.1molL^{-1}, T=3 ºC (n=3).

En la figura 3.2.2.2.a. se aplicó un potencial de oxidación de 750mV durante dos minutos y se realizó un barrido de (0 a 50min), (0 a 80min) y (0 a 120min) para observar la disminución del analito en las cercanías del electrodo. Desafortunadamente al principio del experimento se observo una intensidad de corriente aproximadamente de 0.4mA para la adición del

hexanitrocobaltato (III) de sodio, pero al realizar las adiciones de potasio, las curvas se traslapan por lo que no se puede hacer una curva de calibración con esta técnica. Se realizó también este ensayo a varias concentraciones de hexanitrocobaltato (III) de sodio, pero siempre se tenía el mismo problema del traslape. Por lo tanto no se prosiguió la continuación de más experimentos con esta técnica.

3.2.3 Resultados previos de Conductimetría para determinar los intervalos de concentración de potasio a utilizar en la microcelda electroanalítica.

3.2.3.1 Calibración de la celda conductimétrica

Para calibrar la celda elaborada en el laboratorio, se colocó 4mL de una disolución de KCl 0.01molL^{-1} y se midió el potencial con el multímetro – interfase durante 30 segundos. De las lecturas realizadas (n=10), se asoció el valor de aproximado κ a la temperatura de trabajo (T=2.5°C). El potencial de la solución, medido con la interfase conductimética es proporcional a κ. Se sabe que la disolución de KCl 0.01molL^{-1} tiene una conductividad específica igual a 0.000775 Scm^{-1} a la temperatura de trabajo, de acuerdo a la gráfica 1.5.a del capítulo de antecedentes conductimétricos. El valor de potencial promedio medido en esta celda es de 120.89mV ± 1.0mV, por lo que se puede construir la siguiente correspondencia:

$$\kappa\ [\boldsymbol{Scm^{-1}}] = \frac{\boldsymbol{X}[\boldsymbol{mV}] * \mathbf{0.000775}\ [\boldsymbol{Scm^{-1}}]}{\mathbf{120.89}\ [\boldsymbol{mV}]}$$

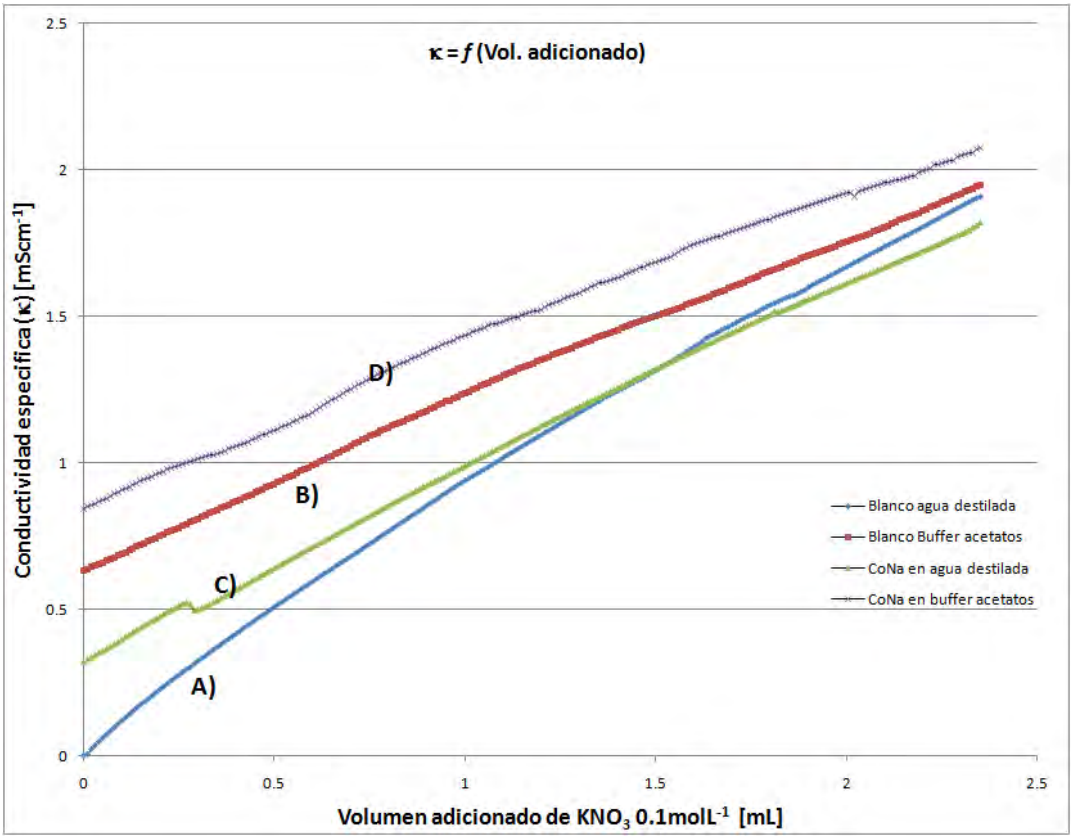
3.2.3.2 Comportamiento del Hexanitrocobaltato (III) de sodio en la celda conductimétrica y definición de los intervalos de concentración de potasio para elaborar curvas de calibración

Se realizó un experimento conductimétrico para visualizar el comportamiento que tiene el hexanitrocobaltato (III) de sodio en presencia de potasio, con este resultado, se pretende conocer las diferentes zonas donde el complejo formado (Cobaltinitrito – Potasio) tiene un comportamiento proporcional al volumen agregado de KNO_3 0.1molL^{-1}. Con este resultado se construirán las curvas de calibración donde se asegure un comportamiento lineal. En la gráfica

3.2.3.2.a, se observa que al hacer adiciones de KNO_3 0.1molL^{-1}, la curva de conductividad específica (κ) frente al volumen agregado, tiene diferentes cambios de pendiente, lo cual hace pensar que se trata de los cambios estequimétricos que ocurren al formar el complejo (Cobaltinitrito – Potasio), hay que recordar que la literatura comenta, que el potasio puede formar la sal doble de sodio-potasio con el hexanitrocobaltato (III) de sodio en diferentes concentraciones (Gráfica 3.2.3.2.a.).

La posible razón estequiométrica que sucede al adicionar potasio es la siguiente:

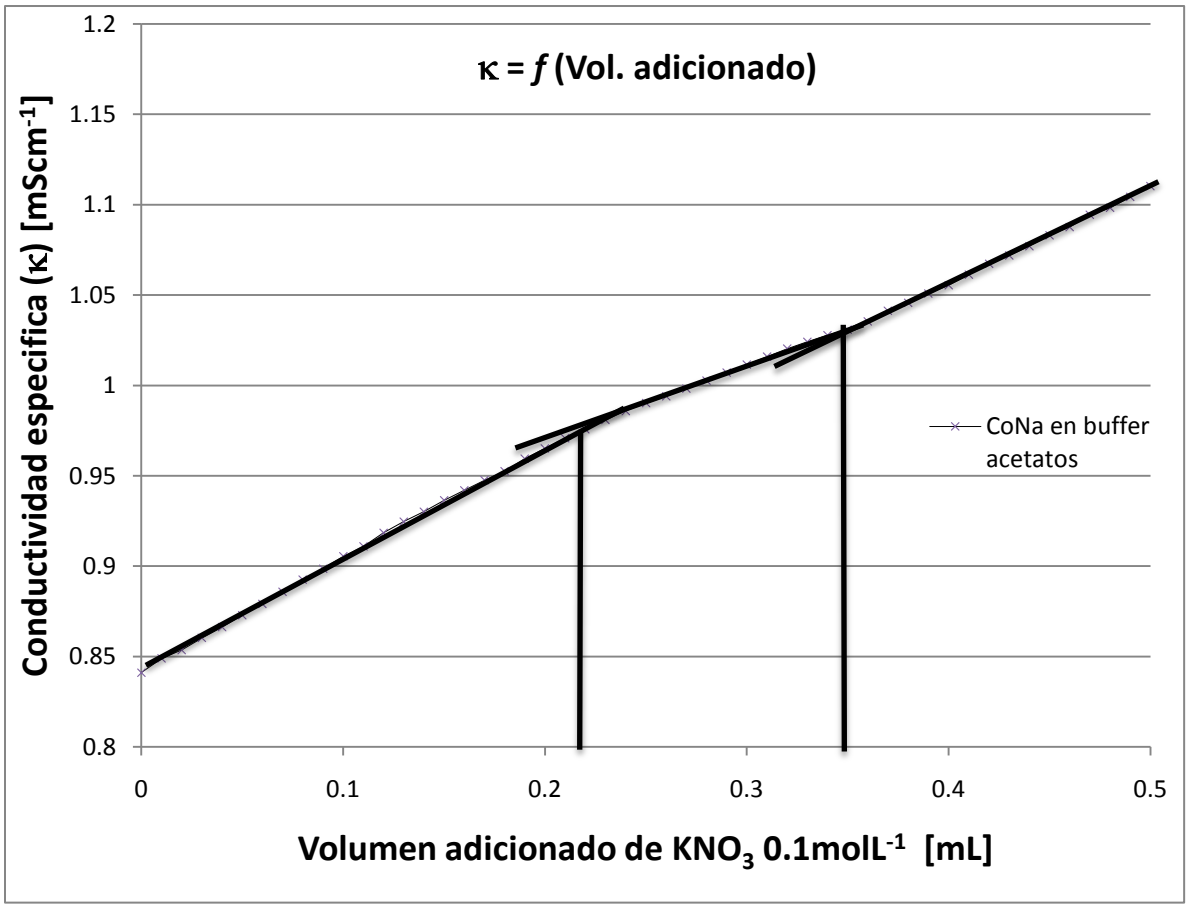
$$Na_3[Co(No_2)_6] \rightarrow Na_2K[Co(No_2)_6] \rightarrow NaK_2[Co(No_2)_6] \rightarrow K_3[Co(No_2)_6]$$



Gráfica **3.2.3.2.a.** Conductividad específica en función del volumen adicionado de nitrato de potasio (KNO3) 0.1molL^{-1}, comparado en cuatro medios diferentes: A) Agua destilada, B) Buffer de acetatos 0.05molL^{-1} pH=5, C) CoNa 2.5mmolL^{-1} en agua destilada y D) CoNa 2.5mmolL^{-1} en buffer de acetatos 0.05molL^{-1} pH=5. Todos los medios tienen una temperatura de 2.5ºC, (n=3).

Se observó el comportamiento del Hexanitrocobaltato (III) de sodio en agua destilada y se confirmó que no es conveniente utilizar el agua como medio de reacción porque el reactivo tiende a descomponerse más fácilmente, evidencia que se confirma con el cambio de pendiente repentino señalado con la letra “C” en la gráfica 3.2.3.2.a.

Se realizó un acercamiento a la gráfica 3.2.3.2.a, señalando solamente el comportamiento de la curva “CoNa en Buffer de acetatos” señalado con la letra (D). El acercamiento que se elaboró, se encuentra en función del intervalo de 0mL a 0.5mL de KNO_3 0.01molL^{-1}de volumen adicionado. Se llegó a esta decisión, porque en ese intervalo se encuentran las concentraciones de potasio necesarias, que servirán para construir las curvas de calibración y analizar las muestras de interés farmacéutico y clínico (Gráfica 3.2.3.2.b).



Gráfica **3.2.3.2.b.** Acercamiento de la curva de hexanitrocobaltato (III) de sodio en buffer de acetatos, dentro de un intervalo de [0mL a 0.5mL] de KNO_3 0.1molL^{-1} adicionado (T=2.5ºC).

La gráfica se divide en tres intervalos de concentraciones que van de [0mM a 4.6mM], [4.6mM a 7.8mM] y [7.8mM a 10.8mM] de KNO_3; estos intervalos de concentraciones se

definieron de este acercamiento por tener una zona predominantemente lineal la cual es de interés para construir las curvas de calibración para potasio. Además las muestras clínicas y farmacéuticas a analizar, la concentración de potasio final se encuentra en esas concentraciones de los intervalos definidos.

Estos resultados se tomaron en cuenta para realizar las curvas de calibración para potasio en los experimentos de polarografía clásica.

3.2.4 Resultados de Polarografía clásica para la celda electroanalítica a tres electrodos

3.2.4.1 Programa de perturbación para polarografía clásica

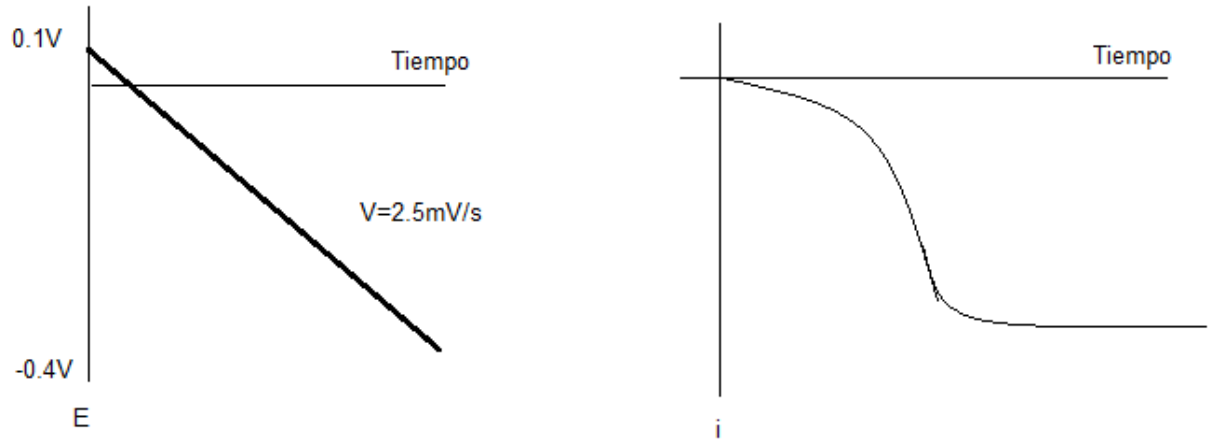


Figura **3.2.4.1.a**. Programa de perturbación y patrón de respuesta para Polarografía clásica.

3.2.4.2 Ensayos de polarografía clásica

Se realizó los ensayos polarográficos para el hexanitrocobaltato (III) de sodio en una celda electroanalítica a tres electrodos con las siguientes condiciones:

1. En la celda electroanalítica se colocó 1mL de buffer de acetatos 0.005molL^{-1}pH=5.
2. Se adiciono una alícuota de 25μL de una disolución de hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1molL^{-1}.
3. Se burbujeó nitrógeno para desplazar el aire de la celda.
4. Se realizó la medición de la corriente de difusión para este experimento.

5. Posteriormente se hicieron adiciones de 10μL de KNO_3 0.002molL^{-1} y también se midió la corriente de difusión.
6. De forma experimental se observó que el potencial de media onda ($\boldsymbol{E_{\frac{1}{2}}}$) se encuentra alrededor de -0.12V.
7. También se observó que existen un máximo polarográfico para este compuesto con un potencial alrededor de -0.24V, el cual no se modifica al adicionar un tensoactivo como Triton X-100.

A continuación se muestra el ensayos de polarografía clásica para monitorear el potasio de una manera indirecta, en este estudio lo que se observa es la disminución de la señal correspondiente al cobalto (Co^{3+}) que se encuentra en la molécula del hexanitrocobaltato de sodio (III) por ser electroactivo. (Ver figura 3.2.3.2.a.)

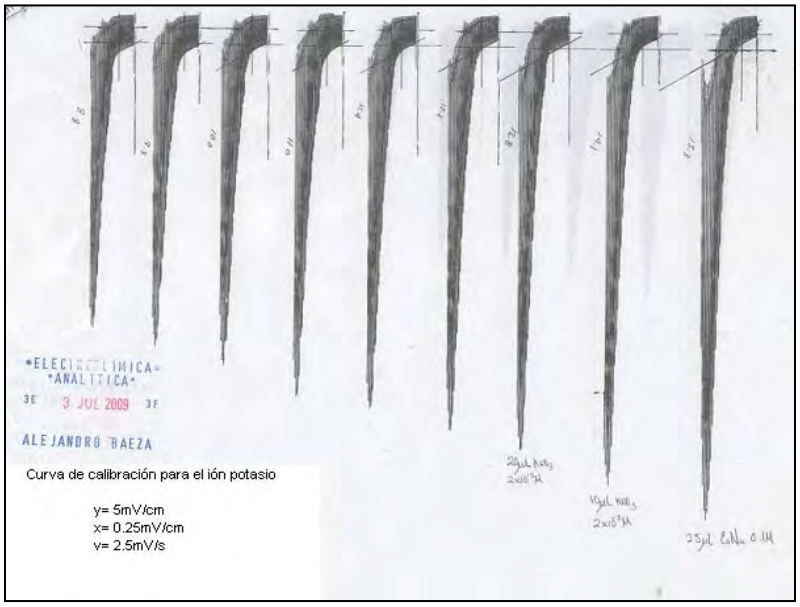
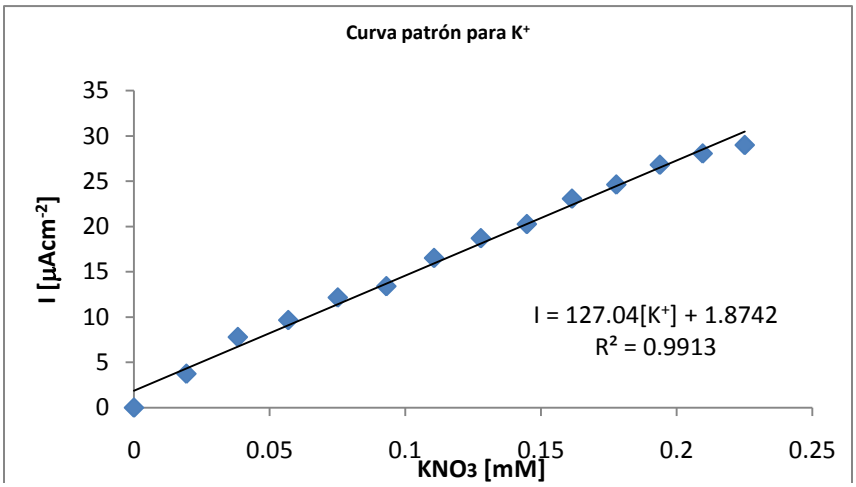


Figura **3.2.4.2.a.** Polarograma del hexanitrocobaltato (III) de sodio con adiciones de KNO_3.



Gráfica **3.2.4.2.b.** Curva de calibración para el ión sodio, con respecto al polarograma del hexanitrocobaltato (III) de sodio, en presencia del ión potasio.

Cuando se analizó el polarograma, el tamaño del pico correspondiente a la intensidad de corriente eléctrica, es producido por la presencia de cobalto (Co^{3+}), al adicionar nitrato de potasio, el ión potasio produce que se forme un complejo insoluble con el hexanitrocobaltato de sodio (III), lo cual favorece que la intensidad de la señal disminuya, figura 3.2.4.2.a.

La medición que se realizó al polarograma para relacionar la intensidad de corriente eléctrica en función de la concentración de potasio es la siguiente:

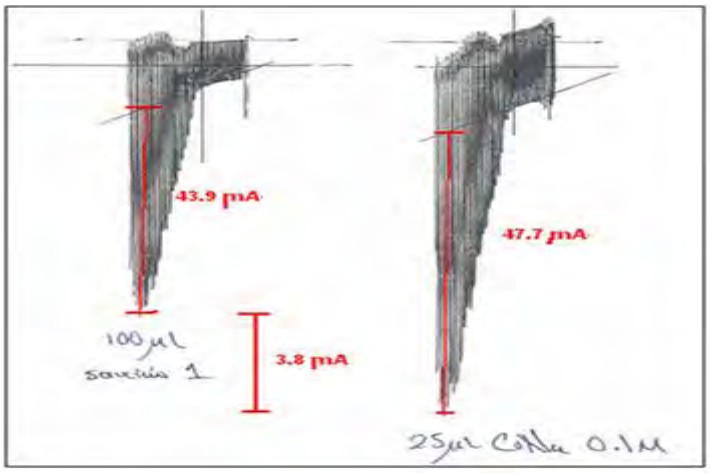


Figura **3.2.4.2.c.** Forma de medir la intensidad de corriente eléctrica, correspondiente a la señal del potasio.

La intensidad de corriente eléctrica que corresponde a la presencia del ión potasio es la diferencia de las intensidades de ambos picos provenientes de la reducción del cobalto (III) a cobalto (II), la intensidad de corriente que representa la figura **3.2.3.2.e.** es 3.8μAcm^{-2}.

3.2.4.3 Tratamiento de muestras comerciales: Farmacéuticas

3.2.4.3.1 Forma farmacéutica: Solución, electrolitos orales.

- Muestra: Pedialyte® 500mL (Abbott Laboratories)
- Marbete:

  - Cada 100mL contiene:
  - Cloruro de sodio……..175mg
  - Cloruro de potasio……..……149mg
  - Glucosa……...2.275g
  - Agua cbp…….100mL
  - Miliequivalentes por litro (mEq/L)
  - Sodio……30mEq
  - Potasio……..20mEq
  - Cloruro……..50mEq

Esta muestra se analizó con la técnica polarografía clásica con las siguientes condiciones:

1. Cantidad de Buffer de Acetatos 0.5M, pH=5 adicionado: 1mL.
2. Cantidad de Hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1M adicionado: 25μL.
3. Adición de Pedialyte® 50 y 100μL.
4. Resultados:

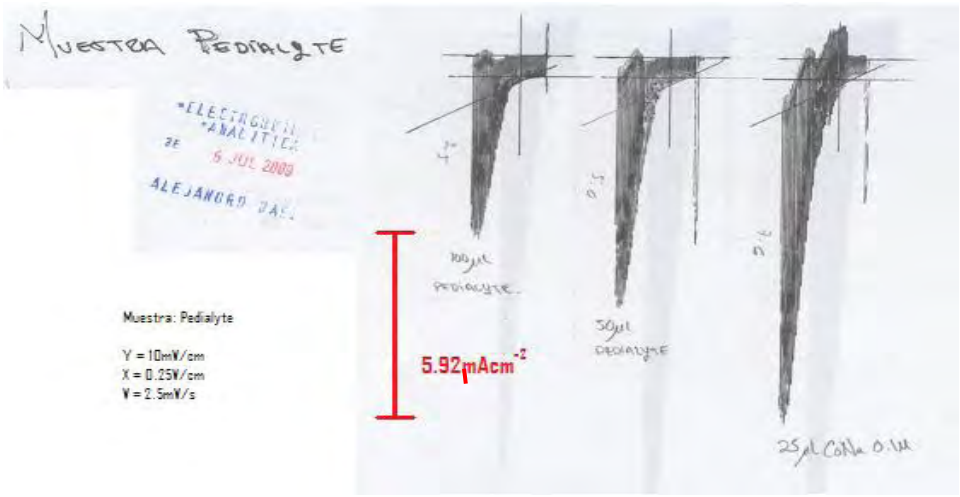
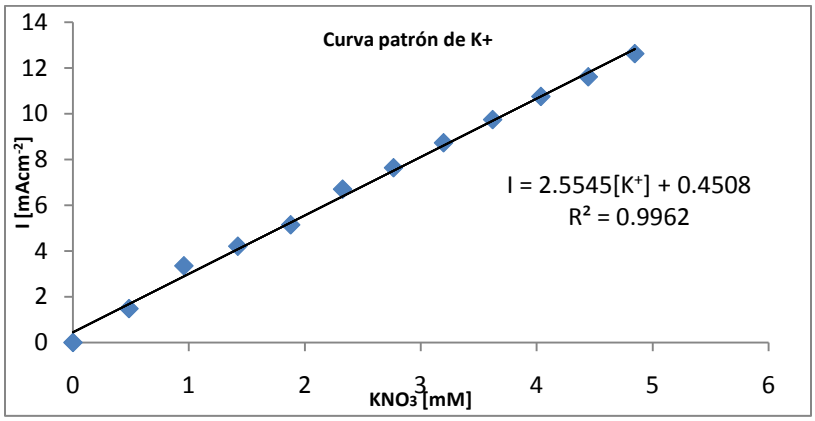


Figura **3.2.4.3.1.a.** Polarograma correspondiente al análisis del Pedialyte®. (n=3)



Gráfica **3.2.4.3.1.b.** Curva de calibración para el ión potasio, correspondiente para el análisis del Pedialyte®.

Utilizando la ecuación correspondiente a la curva de calibración presentada en la gráfica, se obtiene la siguiente concentración de potasio presente en la muestra adicionada:

$$\frac{(5.92 mAcm^{-2} - 0.4508 mAcm^{-2})}{2.5545 mAcm^{-2} mM^{-1}} = 2.14 mM\ de\ K^{+}$$

Concentración de potasio real en el Pedialyte®:

$$\frac{2.14x10^{-3} mmol\ de\ K^{+}}{mL} * \frac{1.125 mL}{0.1 mL} * \frac{1000 mL}{1 L} * \frac{mEq\ K^{+}}{mmol\ de\ K^{+}} = \frac{24.075\ mEq\ de\ K^{+}}{L}$$

Muestra 01	24.075mEq/L
Muestra 02	23.954mE/L
Muestra 03	23.786mEq/L
Promedio	23.938mE/L
Desviación estándar	0.1451mE/L
Coeficiente de variación	0.6%

Se observa que la concentración de potasio, con respecto a la indicada en el marbete, no difiere mucho, pero no se sabe si es significativa. Por lo tanto se sugiere hacer un estudio más exhaustivo para determinar la precisión y exactitud del método que se propone.

3.2.4.3.2 Forma farmacéutica: Grageas con recubrimiento entérico

- Muestra: Kaliolite® 500mg (Merck S.A de C.V.)
- Marbete:
  - Cada gragea con recubrimiento entérico contiene:
  - KCl……..500mg
  - Excipiente c.b.p……1 gragea

- Tratamiento de la muestra, referencia de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP)
  1. Quitar el recubrimiento entérico, humedeciendo un paño con etanol al 96°, evitar humedecer el comprimido.
  2. Colocar el comprimido sin el recubrimiento entérico, en un matraz volumétrico de 25mL, disolver con un poco de agua destilada.
  3. Llevar al aforo con agua destilada.
  4. Tomar una alícuota de 1mL, verterla en un matraz volumétrico de 10mL.
  5. Llevar al aforo con agua destilada.
- Procedimiento:
  1. En una celda pequeña de vidrio:
  2. Colocar 1mL de Buffer de acetatos 0.05M pH= 5.
  3. Adicionar 25μL de hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1M.
  4. Adicionar 100μL de muestra del matraz de 10mL.
  5. La concentración teórica en la celda de $[K^+]$= 2.39mM.

6. Especificación: No menos del 90% y no más del 110%.
7. Resultado:

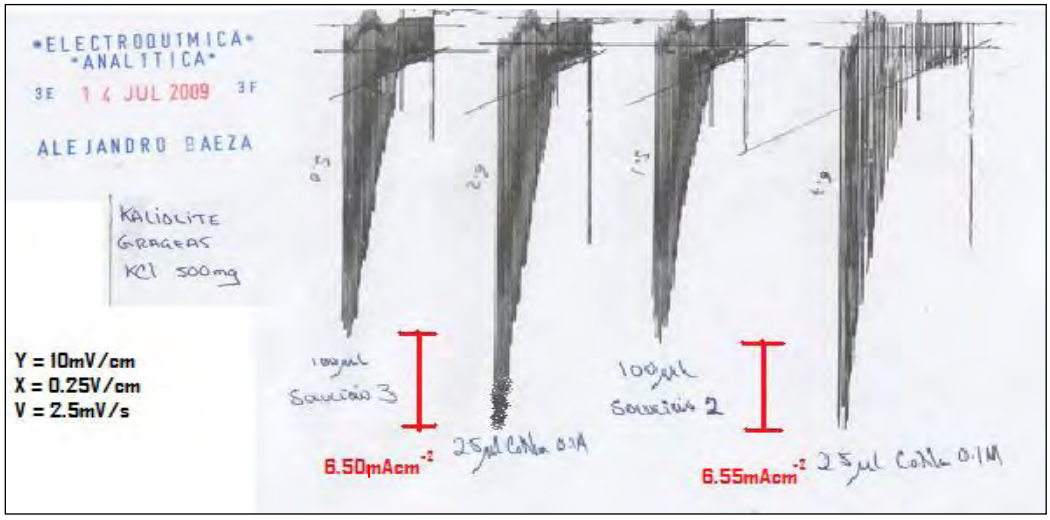
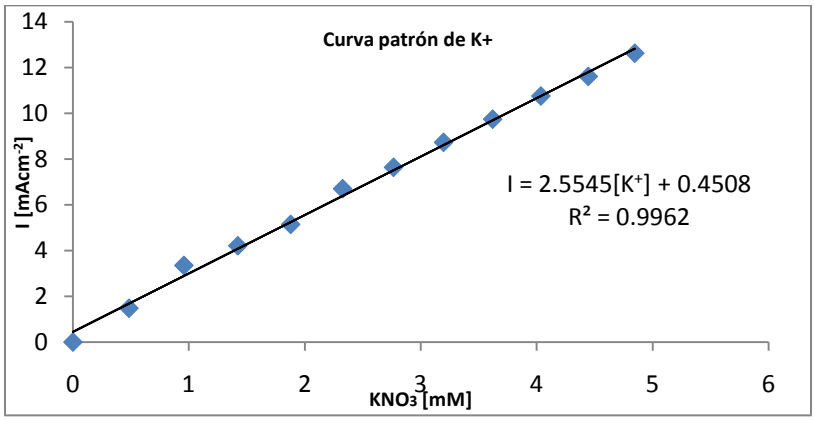


Figura **3.2.4.3.2.a.** Polarograma correspondiente al análisis del Kaliolite®. (n=3)



Gráfica **3.2.4.3.2.b.** Curva de calibración para el ión potasio, correspondiente para el análisis del Kaliolite® 500mg.

Utilizando la ecuación correspondiente a la curva de calibración presentada en la gráfica, se obtiene la siguiente concentración de potasio presente en la muestra adicionada:

$$\frac{(6.50 mAcm^{-2} - 0.4508 mAcm^{-2})}{2.5545 mAcm^{-2} mM^{-1}} = 2.37 mM\ de\ K^{+}$$

Cantidad de cloruro de potasio real en el Kaliolite® 500mg:

$$\frac{2.37x10^{-3} mmol\ de\ K^{+}}{mL} * \frac{1.125 mL}{0.1 mL} * \frac{10 mL}{1 mL} * \frac{1 mmol\ de\ KCl}{1 mmol\ de\ K^{+}} * \frac{74.5 mg\ de\ KCl}{mmol\ de\ KCl} * 25 mL$$

$$= \mathbf{496.59}\boldsymbol{mg\ de\ KCl}$$

Muestra 01	496.59mg	99.3% de contenido
Muestra 02	500.28mg	100.0% de contenido
Muestra 03	504.38mg	100.9% de contenido
Promedio	500.416mg	----------
Desviación estándar	3.897mg	----------
Coeficiente de variación	0.78%	----------

Se observa que la cantidad de cloruro de potasio, con respecto a la indicada en el marbete, corresponde y cumple la especificación que maneja la USP pero no se sabe si es significativa. Por lo tanto se sugiere hacer un estudio más exhaustivo para determinar la precisión, exactitud, linealidad, sensibilidad y límite de detección del método que se propone.

3.2.4.4 Tratamiento de muestras comerciales: Alimenticias

3.2.4.4.1 Presentación alimenticia: Bebida energizante

- Muestra: Gatorade®
- Formulación
  - Tamaño de porción…….240mL
  - Carbohidratos……..14%
  - Potasio……..30mg
  - Sodio…….110mg

Esta muestra se analizó con la técnica polarografía clásica con las siguientes condiciones:

1. Celda pequeña de vidrio.
2. Cantidad de Buffer de Acetatos 0.5M, pH=5 adicionado: 1mL.
3. Cantidad de Hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1M adicionado: 25μL.
4. Adición de Gatorade® 100μL.
5. Concentración teórica de potasio [K+]= 0.28mM
6. Resultados:

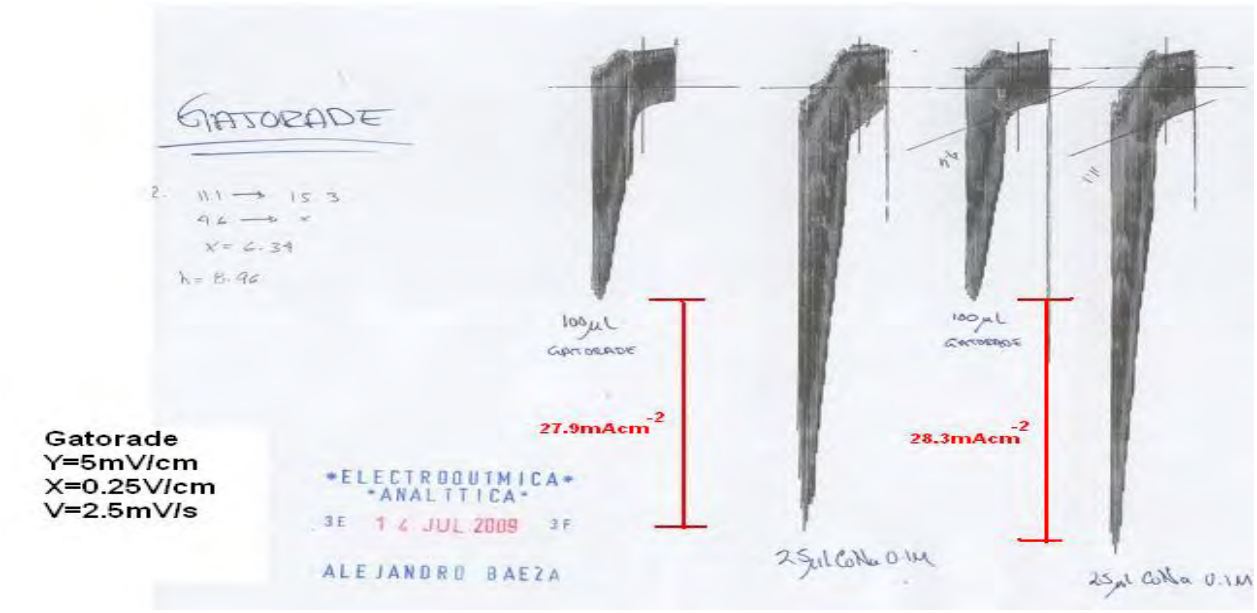
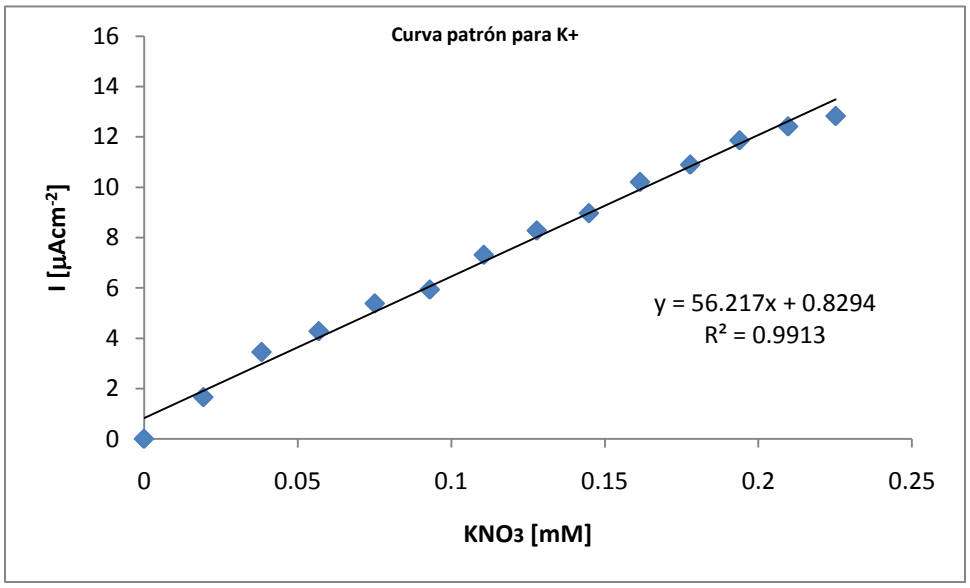


Figura **3.2.4.4.1.a.** Polarograma correspondiente al análisis del Gatorade®. (n=3)



Gráfica **3.2.4.4.1.b.** Curva de calibración para el ión potasio, correspondiente para el análisis del Gatorade®

Utilizando la ecuación correspondiente a la curva de calibración presentada en la gráfica, se obtiene la siguiente concentración de potasio presente en la muestra adicionada:

$$\frac{(27.9 mAcm^{-2} - 1.874 mAcm^{-2})}{127.0 mAcm^{-2} mM^{-1}} = 0.205 mM\ de\ K^{+}$$

Cantidad de potasio real en el Gatorade®:

$$\frac{0.205x10^{-3}mmol\ de\ K^{+}}{mL} * \frac{1.125mL}{0.1mL} * 240mL * \frac{39mg\ de\ K^{+}}{1mmol\ de\ K^{+}} = 21.6mg\ de\ K^{+}$$

Muestra 01	21.6mg
Muestra 02	21.9mg
Muestra 03	21.5mg
Promedio	21.6mg
Desviación estándar	0.21mg
Coeficiente de variación	0.96%

Se observa que la cantidad de potasio, con respecto a la indicada en la formulación del Gatorade®, no corresponde, dado este hecho, se justifica que la concentración de potasio en la muestra tratada no corresponde por el efecto matriz que por si solo tiene el Gatorade®. Se encuentra reportado en literatura que el Gatorede® tiene en su formulación una pequeña cantidad de aceites vegetales, tienen la función de producir una micro-emulsión para estabilizar los colorantes liposolubles, por lo tanto, se piensa que la cantidad de potasio en la muestra se ve disminuida por este efecto. Se sugiere hacer un estudio más exhaustivo para determinar el tratamiento de la muestra y analizar con precisión, exactitud, linealidad, sensibilidad y límite de detección del método que se propone.

3.2.4.5 Tratamiento de muestras biológicas

3.2.4.5.1 Muestra: Suero humano desproteinizado de tres voluntarios.

Se analizaron 3 muestras de voluntarios adultos sanos, se tomó una muestra de sangre total (aproximadamente 10mL) sin anticuagulante por medio de punción venosa. Una vez ocurrido la retracción del coágulo, la muestra se centrifugó a 4000r.p.m. durante 10 minutos. Concluida la centrifugación, se separó el suero del coágulo y se prosiguió a desnaturalizar las proteínas del suero con ácido nítrico, esto se realizó en un tubo de centrifuga al cual se le adicionó con una pipeta Pasteur gotas de ácido, se homogenizo el suero por medio de agitación mecánica durante 10 segundos y se procedió a centrifugar nuevamente a

4000r.p.m.; se separó el sobrenadante y se adicionó nuevamente ácido hasta la no formación de precipitado. Este sobrenadante se utilizó para la determinación de potasio.

1. Celda pequeña de vidrio.
2. Cantidad de Buffer de Acetatos 0.5M, pH=5 adicionado: 1mL.
3. Cantidad de Hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1M adicionado: 25μL.
4. Adición de suero desproteinizado 10μL.
5. Voluntario: Sano, hombre, 22 años, en ayuno.
6. Resultados:

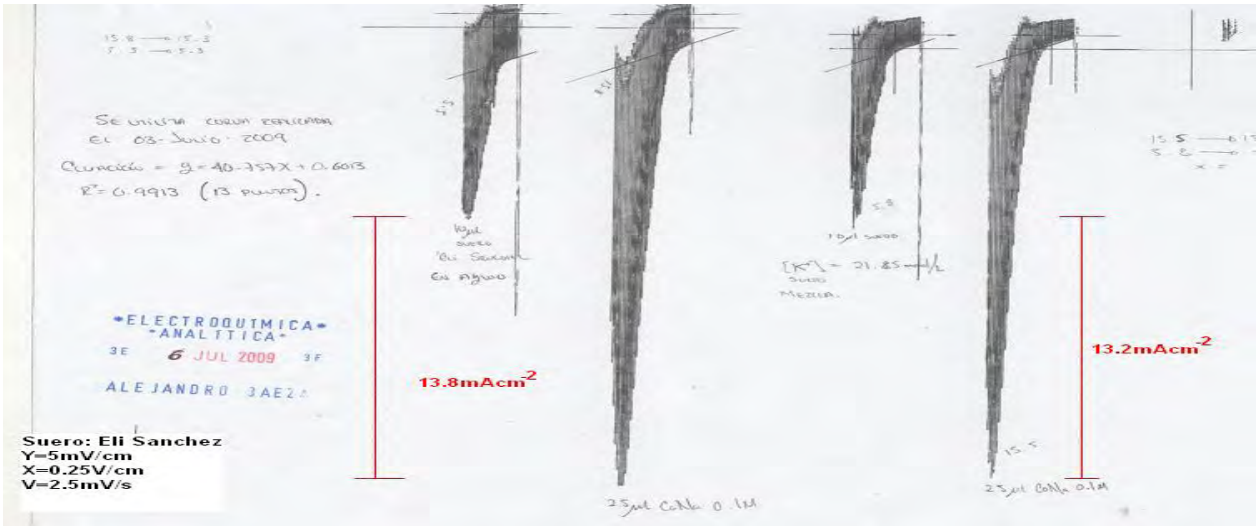


Figura **3.2.4.5.1.a.** Polarograma correspondiente al análisis del suero desproteinizado. Hombre: 22 años, en ayuno, sano. (n=3)

3.2.4.5.2 Muestra: Mezcla de sueros humanos desproteinizado de varios voluntarios.

1. Celda pequeña de vidrio.
2. Cantidad de Buffer de Acetatos 0.5M, pH=5 adicionado: 1mL.
3. Cantidad de Hexanitrocobaltato (III) de sodio 0.1M adicionado: 25μL.
4. Adición de mezcla de sueros desproteinizados 10μL.
5. Voluntarios: Sanos, hombres de 20 a 25 años, en ayuno.
6. Resultados:

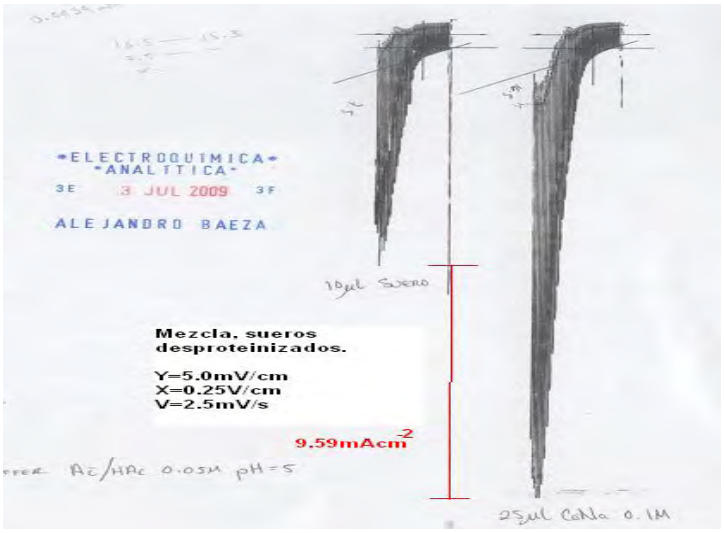
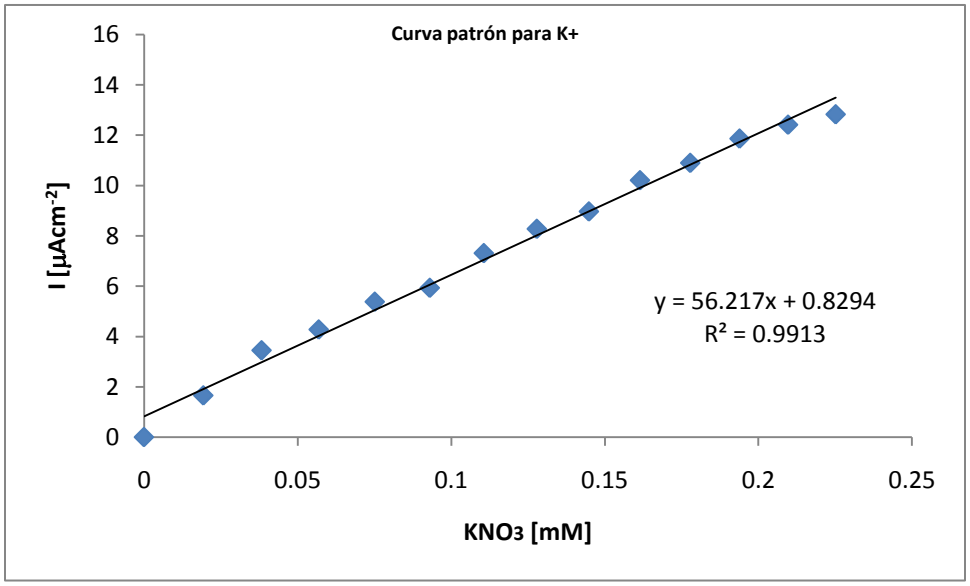


Figura **3.2.4.5.2.a.** Polarograma correspondiente al análisis de mezcla de sueros desproteinizado (n=3).



Gráfica **3.2.4.5.2.b.** Curva de calibración para el ión potasio, correspondiente para el análisis de Sueros.

3.2.4.5.3 Resultados generales para sueros de tres voluntarios y mezcla de sueros de voluntarios sanos

Utilizando la ecuación correspondiente a la curva de calibración presentada en la gráfica, se obtiene la siguiente concentración de potasio presente en la muestra de suero adicionada de un voluntario sano:

$$\frac{(\mathbf{13.2}\boldsymbol{mAcm^{-2}} - \mathbf{0.829}\boldsymbol{mAcm^{-2}})}{\mathbf{56.21}\boldsymbol{mAcm^{-2}mM^{-1}}} = \mathbf{0.22}\boldsymbol{mM\ de\ K^{+}}$$

Cantidad de potasio real en la muestra de suero desproteinizado de un voluntario sano.

$$\frac{\mathbf{0.22x10^{-3}}\boldsymbol{mmol\ de\ K^{+}}}{\boldsymbol{mL}} * \frac{\mathbf{1.035}\boldsymbol{mL}}{\mathbf{0.01}\boldsymbol{mL}} * \frac{\mathbf{1000}\boldsymbol{mL}}{\mathbf{1}\boldsymbol{L}} = \frac{\mathbf{22.77}\boldsymbol{mmol\ de\ K^{+}}}{\boldsymbol{L}}$$

Utilizando la ecuación correspondiente a la curva de calibración presentada en la gráfica, se obtiene la siguiente concentración de potasio presente en la muestra mezcla de sueros de voluntarios sanos:

$$\frac{(\mathbf{9.59}\boldsymbol{mAcm^{-2}} - \mathbf{0.829}\boldsymbol{mAcm^{-2}})}{\mathbf{56.21}\boldsymbol{mAcm^{-2}mM^{-1}}} = \mathbf{0.16}\boldsymbol{mM\ de\ K^{+}}$$

Cantidad de potasio real en la muestra de suero desproteinizado de un voluntario sano.

$$\frac{\mathbf{0.16x10^{-3}}\boldsymbol{mmol\ de\ K^{+}}}{\boldsymbol{mL}} * \frac{\mathbf{1.035}\boldsymbol{mL}}{\mathbf{0.01}\boldsymbol{mL}} * \frac{\mathbf{1000}\boldsymbol{mL}}{\mathbf{1}\boldsymbol{L}} = \frac{\mathbf{16.56}\boldsymbol{mmol\ de\ K^{+}}}{\boldsymbol{L}}$$

Suero de voluntario sano (Ayuno)	mmol/L	Mezcla de sueros, voluntarios sanos (Ayuno)	mmol/L
Muestra 01	22.77	Muestra 01	16.56
Muestra 02	23.88	Muestra 02	17.35
Muestra 03	23.03	Muestra 03	15.96
Promedio	23.22	Promedio	16.62
Desviación estándar	0.58	Desviación estándar	0.69
Coeficiente de variación	2.5%	Coeficiente de variación	4.2%

En literatura se encuentra que los valores de referencia para potasio son 3.5-5.5mmol/L de potasio para ISEs, en este análisis se encuentra que la cantidad de potasio en promedio es de 23.22mmol/L, esta diferencia es atribuida a la compleja matriz (suero), causa interferencia con el electrodo gotéate de mercurio, por efectos de adsorción molecular.

CAPÍTULO 4
CONCLUSIÓN Y BIBLIOGRAFÍA

4.1 Conclusiones

- Se realizó con éxito la construcción de la instrumentación necesaria para la determinación de potasio en pequeñas cantidades de muestra, esto se comprueba con la gran utilidad de estos instrumentos durante la realización de los experimentos. Además de cumplir con los requerimientos de fabricación de bajo costo.
- Se logró la utilización del hexanitrocobaltato (III) de sodio como una nueva metodología posible para detectar y cuantificar potasio, mediante una reacción química, que al ser monitoreada indirectamente mediante métodos microanalíticos se puede determinar la cantidad de potasio de diferentes muestras de interés farmacéutico y clínico. Muestras: Soluciones, tabletas, bebidas energizantes y suero humano.
- Se determinó el posible comportamiento del hexanitrocobaltato (III) de sodio, conforme a la adición de potasio, esto con el fin de detectar zonas de concentración que tienen un comportamiento lineal para la elaboración de curvas de calibración en polarografía clásica.
- Se tratará de seguir expandiendo las ideas para concientizar sobre el daño ecológico por utilizar grandes cantidades de reactivos.

4.2 Bibliografía

1. *Bioquímica postmortem: Comparación de tres métodos de análisis.* **A. Arroyo, MT. Carbone, J. Ordóñez.** 36, 2004, Cuadernos de Medicina Forense., págs. 35-40.

2. *Equine Vitreous Humor Chemical Concentrations: Correlation with Serum Concentrations, and Postmortem Changes with Time and Temperature.* **S., Bruce G. Pamela.** 1988, Can J Vet Res., Vol. 52, págs. 476-480.

3. **Martinez, Maria.** Validación de la metodología analítica para la cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama, en soluciones parenterales de gran volumen. *Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas Farmacéuticas.* 2004.

4. **Baeza, Alejandro.** Antología: Sensores y Biosensores Electroquímicos. *Administración de Manuales y Documentos (AMYD).* [En línea] http://depa.pquim.unam.mx/amyd/docs.php?curso=178.

5. **M. Loeb, W. Nernst, Z.** 12, 1888, Phys. Chem., Vol. 2, págs. 948-963.

6. **W. Nernst, U. Ber, Deutsch.** 1897, Chem. Ges., Vol. 30, pág. 1547.

7. **M. Cremer, Z.** 1906, Biol., Vol. 47, pág. 562.

8. *Phys. Chem.* **F. Haber, Z. Klemensiewicz, Z.** 1909, Phys. Chem, Vol. 67, pág. 385.

9. *The seventies - Golden age for ion selective electrode.* **Ruzicka, J.** 2, 1997, Journal of Chemical Education, Vol. 74, págs. 167-170.

10. **A.O. Beckman, Hexagon.** 1987, Vol. 78, pág. 41.

11. **Report, Radiometer Annual.** *Copenhahen.* 1994/1995.

12. **L.W. Eleder, W.H. Wright.** 1928, Natl. Acad. Sci. U.S.A, Vol. 14, pág. 938.

13. *Glass electrode for measuring sodium ion.* **G. Eisenman, DO. Rudin,.** 1957, Science, Vol. 126, págs. 831-834.

14. **B.P. Nikolski, M.M. Schultz,Zh. Fiz.** 1962, Khim, Vol. 36, pág. 704.

15. **I.M. Kolthoff, H. L. Sander.** 1937, J. A. Chem. Soc., Vol. 59, pág. 416.

16. *Calcium-selective electrode with liquid ion exchanger.* **Ross, JW.** 1967, Science, Vol. 156, pág. 1378.

17. *Electrode for sensing fluoride ion activity in solution.* **MS. Frant, JW. Ross.** 1966, Science, Vol. 154, pág. 1553.

18. *Ion specific electrochemical behavior of macrotetrolides in membranes.* **Z. Stefanac, W. Simon.** 1967, Microchemical Journal, Vol. 12, pág. 125.

19. *Calcium-sensitive electrode based on a liqui ion exchanger in a poly(vinyl-chloride) matrix.* **GJ. Moody, RB. Oke, JDR. Thomas.** 1970, Analyst, Vol. 95, pág. 910.

20. *Electrode system for continuos monitoring in cardiovascular surgery.* **LC. Clark, C. Lyons.** 1962, Science, Vol. 102, pág. 29.

21. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements.* **Bergveld, P.** 1, 1970, IEEE Transactions On Biomedical Engineering, Vol. BM17, pág. 70.

22. **F.G. Donnan, Z.** 1911, Elektrochem, Vol. 17, pág. 572.

23. **K. Horovitz, Z.** 1923, Physik, Vol. 15, pág. 369.

24. **Nikolski, B.P.** 1937, Acta Physicochim USSR, Vol. 7, pág. 797.

25. **Teorell, T.** 1935, Proc. Soc. Exp. Bio. Med, Vol. 33, pág. 282.

26. **K.H. Meyer, J.F. Sievers.** 1936, Helv. Chim. Acta, Vol. 19, págs. 649,665,987.

27. *Ion-selective memrane electrodes - a review.* **Pungor, E. y Tóth, K.** 1970, Analyst, Vol. 95, pág. 625.

28. *pH glass electrode and its mechanism.* **Cheng, K.L.** 1989, In Electrochemistry, Past and Present, American Chemical Society Symposium Series, Vol. 390, págs. 286-302.

29. **Huertas, V. Almago.** *Polarografía.* Primera edición. Madrid, España : Alhambra, S.A., 1971.

30. **González, Xochiquetzal.** Estudio de la glutatión reductasa por voltamperometría de barrido triangular de potencial con formación de enlaces Rs-Hg en sistemas microelectroanalíticos. *Tesis de licenciatura. Facultad de Química U.N.A.M.* 2007.

31. **A.J. Bard, L.R. Faulker.** *Electrochemical Methods. Fundamental and Applications.* 2° edition. USA. : John Wiley & Sons, 2001.

32. **Gutíerrez, A.L. Méndez.** Determinación Electroanalítica de Peróxido de Hidrógeno a Nivel de Trazas. . *Tesis de licenciatura.Facultad de Química. U.N.A.M.* 2002.

33. **García, Arturo de Jesús.** Influencia del nivel de acidez en la electrooxidación monoelectrónica del ferroceno y en la electrorreducción bielectrónica de la benzoquinina en un líquido iónico representativo: Tetrafluoroborato de 1-butil-4-metil-piridinio. *Tesis de licenciatura. Facultad de Química U.N.A.M.* 2009.

34. *A study of cobaltinitrites and their application to analytical chemistry.* **L. Lorne Burgess, O.r Kamm.** 34, 1912, J. Am. Chem. Soc., Vol. 5, págs. 652-659.

35. *Potassium determination by the cobaltinitrite method as affected by temperature and pH.* **Burguess, L. L., Kamm, 0.** 34, 1912, Jour. Amer. Chem. Soc., págs. 652-659.

36. **F. Burriel, F. Lucena, S. Arribas, J. Hernández.** *Química Analítica Cualitativa.* 13° Edición. Madrid : PARANINFO, 1989. págs. 725-726.

37. **L.A. Kaplan, J.A. Pesce.** *Métodos en Química Clínica.* [ed.] Médica Panamericana. segunda edición. Argentina. : s.n., 1987. págs. 103-110.

38. **Makarova, E.A. Stroev. U.G.** *Laboratory Manual in Biochemistry.* 1° Edition. Moscow : Min Publishers Moscow. págs. 47-49.

39. *A PVC-graphite composite electrode for electroanalytical use. Preparation and some applications.* **F. Albertús, A. Llerena, J. Alpízar, V. Cerda.** 1997, Analytica Chimica Acta, Vol. 355, págs. 23-32.

40. **A. Baeza, A. García.** QUÍMICA ANALÍTICA INSTRUMENTAL I. Experiencia de cátedra: Voltamperometría lineal. [En línea] 2008. http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/EXPERIENCIA_DE_CATEDRA_Voltamperometria_Lineal_KI_5886.pdf.

41. **Magdaleno, Fernanda.** Capitulo 56: Electrocardiograma. *Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.* [En línea] http://www.eccpn.aibarra.org/temario/seccion4/capitulo56/capitulo56.htm.

42. **Institute, Texas Heart.** Isquemia Silenciosa. *Centro de Información Cardiovascular .* [En línea] http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Topics_Esp/Cond/silen_sp.cfm.