



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**FUNCIONALIZACIÓN DE SUPERFICIES DE CONDUCTORES ELECTRÓNICOS (Au, C)
CON FINES ELECTROANALÍTICOS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. CARLOS ALBERTO CEVALLOS MORILLO

DR. JULIO CÉSAR AGUILAR CORDERO

FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUIMICAS

**FUNCIONALIZACIÓN DE SUPERFICIES DE CONDUCTORES
ELECTRÓNICOS (Au, C) CON FINES ELECTROANALÍTICOS**

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. CARLOS ALBERTO CEVALLOS MORILLO

DR. JULIO CÉSAR AGUILAR CORDERO

FACULTAD DE QUÍMICA



Ciudad de México, mayo 2018.

DEDICATORIA

À ma mère

À ma femme qui a toujours été à mes côtés

À mes sœurs

À tous mes amis et collègues

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ...

AGRADECIMIENTOS

Quiero extender mis sinceros agradecimientos:

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A las personas que dirigen, coordinan y trabajan en el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por otorgarme la beca de estudios número 271166.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA, de la UNAM, por su apoyo a través del proyecto IN223615.

A la Facultad de Química de la UNAM, por su apoyo mediante el proyecto PAIP 5000-9031.

Al Dr. Julio César Aguilar Cordero, por su apoyo durante este periodo de mi formación académica.

A los miembros del comité tutor: Dra. María Teresa Ramírez, Dra. Martha Aguilar Martínez, por seguir mis avances durante estos 4 años.

A los miembros del jurado que revisaron el presente trabajo: Dra. María Teresa Ramírez, Dr. José de Jesús García Valdés, Dr. Francisco Javier Rodríguez Gómez, Dr. Gustavo Zelada, Dra. Ana Sofía Varela Gasque, por su valioso aporte.

A mis amigos y colegas de laboratorio 3C, Salvador, Ulrich, Miguel, Berenice, Emanuel.

CONTEXTO

Este trabajo fue realizado en el anexo del laboratorio 3C, ubicado en el Edificio A de la Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, bajo la dirección del Dr. Julio César Aguilar Cordero.

PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

Partes de este trabajo se han presentado en los siguientes eventos:

- Primer Coloquio Nacional de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica, realizado en agosto de 2016, en la Ciudad de Santiago de Querétaro, México. Trabajo titulado “Electrodos de carbón vítreo modificados capa por capa”, en modalidad cartel.
- 68th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, realizado, del 27 de Agosto al 1 Septiembre de 2017, en la ciudad de Providence, Rhode Island, USA. Trabajo titulado “Copper(II) Determination with Modified Carbon Nanotubes Electrodes using Dyes as Ligands”, en modalidad cartel.

Se publicó el artículo titulado “Electrochemical Formation of Nanostructured Gold Surface on Glassy Carbon for the Determination of Dopamine”, en la revista *Electroanalysis*, Wiley Library DOI:10.1002/elan.201700665.

RESUMEN

En este trabajo de investigación se modificaron superficies de carbono y de oro empleando varias estrategias. Cada metodología de modificación se describe a lo largo de los 7 capítulos que componen esta tesis, con excepción del capítulo I, donde se presenta una miscelánea de temas a manera de marco teórico general.

La modificación electroquímicamente asistida de superficies de carbono se muestra en los capítulos II y III. En estos capítulos se presenta la formación de injertos moleculares sobre superficies de carbono vítreo y de nanotubos de carbono. Los injertos se fabricaron utilizando reacciones electroquímicamente asistidas tales como la oxidación de aminas y la reducción de cationes arildiazonio. En el capítulo IV se modificaron superficies de nanotubos de carbono, adsorbiendo colorantes que tienen grupos catecol en su estructura. El uso de los colorantes rojo de alizarina y rojo de pirogalol permite, como prueba de concepto, la determinación de iones cobre en disoluciones. En el capítulo V se utilizaron superficies de nanotubos de carbono modificadas, utilizando las estrategias descritas en capítulos anteriores, sobre las que se depositaron películas delgadas de bismuto. Con estos electrodos se realizó la determinación de iones plomo y cadmio en disoluciones acuosas.

La formación de monocapas autoensambladas de tioles, sobre electrodos de oro policristalino, se presenta en el capítulo VI. En él se estudia el comportamiento de la constante heterogénea de transferencia de electrones para el par hexacianoferrato(II) y hexacianoferrato(III) de potasio sobre electrodos funcionalizados con grupos amino y carboxilo, así como su posterior modificación. Finalmente, en el séptimo y último capítulo se investigó el depósito electroquímico de oro sobre superficies de carbono vítreo, utilizando métodos potenciostáticos, potenciodiámicos y galvanostáticos. Estos electrodos se utilizaron para la determinación de dopamina en presencia de interferentes comunes, como los ácidos ascórbico y úrico.

ABSTRACT

In the present work, the modification of carbon and gold surfaces was investigated using different strategies described individually in six of the seven chapters of this manuscript. Chapter I is an exception to the general scheme, since different electrochemical basic topics are dealt with in it.

Electrochemically assisted covalent modification of carbon surfaces is described in Chapters II and III. The modification method involves the oxidation of amines and the reduction of aryldiazonium cations on glassy carbon electrodes or on electrodes modified with carbon nanotubes. In Chapter IV, Alizarin Red and Pyrogallol Red were adsorbed onto the surface of the carbon nanotubes. As a proof of concept, the determination of copper was achieved using these modified electrodes. Chapter V deals with the electrodeposition of bismuth(III) films on previously modified surfaces, for the simultaneous determination of cadmium and lead in aqueous solutions.

The formation of self-assembled monolayers of thiols on polycrystalline gold is presented in Chapter VI. In this chapter, the heterogeneous electron transfer rate constants for the electrolysis of potassium hexacyanoferrate(II)-hexacyanoferrate(III) on amine and carboxyl functionalized surfaces were calculated. The surfaces with self-assembled monolayers were also modified with diethylenetriamine. The seventh and last chapter deals with the electrodeposition of gold(III) on glassy carbon electrodes. Au nanostructures were obtained by applying potentiostatic, potentiodynamic and galvanostatic methods. The new nanostructured gold surfaces were used for the determination of dopamine in a ternary mixture with ascorbic and uric acids.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
CONTEXTO.....	v
PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	vii
INDICE DE CONTENIDOS.....	viii
SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	xiii
INTRODUCCIÓN.....	16
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS.....	18
1. CAPÍTULO I. GENERALIDADES.....	19
1.1 Electrodo de carbono vítreo	19
1.2 Nanotubos de carbono.....	20
1.3 Electrodo de oro	21
1.4 Técnicas electroquímicas.....	22
1.4.1 Voltamperometría cíclica	22
1.4.2 Voltamperometría de onda cuadrada.....	24
1.4.3 Cronopotenciometría derivativa	26
1.4.4 Espectroscopía de impedancia electroquímica	27
1.5 Aplicaciones de las técnicas electroquímicas	30
1.5.1 Determinación de k^0 usando voltamperometría cíclica	30
1.5.2 Determinación electroquímica de pKa superficial	31
1.6 Referencias.....	32

2	CAPÍTULO II. OXIDACIÓN DE AMINAS	34
2.1	Introducción	34
2.2	Parte Experimental	35
2.2.1	Reactivos y equipos	35
2.2.2	Modificación de la superficie	35
2.2.3	Determinación de capacitancia de doble capa	35
2.3	Resultados y Discusión	36
2.3.1	Ácido 4-aminobenzoico.....	36
2.3.2	Dietilentriamina	41
2.3.3	Histamina.....	42
2.3.4	Dopamina.....	44
2.4	Conclusiones	47
2.5	Referencias.....	47
3	CAPÍTULO III. REDUCCION DE CATIONES DIAZONIO	48
3.1	Antecedentes	48
3.2	Parte Experimental	48
3.2.1	Reactivos y equipos	48
3.2.2	Modificación de la superficie	49
3.3	Resultados y Discusión	49
3.3.1	Ácido 4-aminobenzoico.....	49
3.4	Conclusiones	57
3.5	Referencias.....	58
4	CAPÍTULO IV. ADSORCIÓN DE COLORANTES	59
4.1	Antecedentes	59
4.2	Sección experimental	60
4.2.1	Reactivos y equipos	60

4.2.2	Modificación de la superficie	60
4.2.3	Oxidación de nanotubos de carbono.....	61
4.3	Resultados y discusión.....	61
4.3.1	Nanotubos de carbono depositados sobre GC	61
4.3.2	Funcionamiento del electrodo modificado	62
4.3.3	Parámetros experimentales.....	64
4.3.4	Uso de nanotubos de carbono oxidados químicamente.....	68
4.3.5	Análisis de Cu(II) por adiciones estándar.....	73
4.4	Conclusiones.....	75
4.5	Referencias.....	75
5	CAPÍTULO V. PELÍCULAS DE BISMUTO.....	77
5.1	Antecedentes.....	77
5.2	Sección experimental.....	78
5.2.1	Reactivos y equipos	78
5.2.2	Modificación de la superficie	78
5.3	Resultados y discusión.....	78
5.3.1	Formación de película de bismuto sobre electrodos de carbono vítreo.....	78
5.3.2	Redisolución anódica de Cd ²⁺ y Pb ²⁺ sobre diferentes superficies modificadas	79
5.3.3	Optimización de parámetros experimentales.....	82
5.3.4	Desempeño analítico de la superficie modificada	84
5.4	Conclusiones.....	86
5.5	Referencias.....	87
6	CAPÍTULO VI. MONOCAPAS AUTOENSAMBLADAS	88
6.1	Antecedentes.....	88
6.2	Sección experimental.....	89
6.2.1	Reactivos y equipos	89

6.2.2	Depósito de oro sobre carbono vítreo.....	89
6.2.3	Construcción de monocapas autoensambladas.....	90
6.2.4	Modificación de las monocapas de ácido 3-mercaptopropiónico	90
6.3	Resultados y discusión.....	91
6.3.1	Limpieza de los electrodos de oro policristalino	91
6.3.2	Monocapas autoensambladas del ácido 3-mercaptopropiónico	93
6.3.3	Monocapas autoensambladas de cisteamina.....	96
6.3.4	Modificación capa por capa.....	98
6.3.5	Desorción de monocapas.....	101
6.4	Conclusiones.....	102
6.5	Referencias.....	102
7	CAPÍTULO VII. DEPÓSITO DE ORO NANOESTRUCTURADO	104
7.1	Antecedentes.....	104
7.2	Sección experimental.....	105
7.2.1	Reactivos y equipos	105
7.2.2	Modificación de la superficie	105
7.2.3	Determinación del área.....	106
7.3	Resultados y discusión.....	106
7.3.1	Electrodeposición de oro.....	106
7.3.2	Determinación del área electroactiva	107
7.3.3	Comportamiento electroquímico de DA sobre electrodos de Au.....	109
7.3.4	Caracterización microscópica.....	110
7.3.5	Determinación de dopamina sobre electrodos nsAu/GC.....	112
7.3.6	Interferentes principales	114
7.4	Conclusiones.....	117
7.5	Referencias.....	117

CONCLUSIONES GENERALES	119
ANEXOS	120
Publicación	122

SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

φ	ángulo de fase
ω	frecuencia angular en radianes
a	anódico
b, y_B	ordenada al origen
c	catódico
C_{dl}	capacitancia de la doble capa
C_x^*	concentración de la especie electroactiva x en el seno de la disolución
D_x	coeficiente de difusión de la especie x.
ΔE_p	diferencia de potenciales de pico
Δi_p	diferencia de corrientes de pico
E	potencial
E_{px}	potencial de pico del proceso x
$E^{0'}$	potencial formal
$E_{1/2}$	potencial de media onda
E_{puls}	potencial de pulso
E_d	potencial de depósito
E_{ocp}	potencial de circuito abierto
f	frecuencia
F	constante de Faraday
i	corriente
i_{px}	corriente de pico del proceso x
i_{far}	corriente faradaica

i_{cap}	corriente capacitiva
i_{directa}	corriente directa
i_{reversa}	corriente reversa
k^0	constante de rapidez de transferencia heterogénea de electrones
K_a	constante de acidez
LOD	límite de detección
m	pendiente
n	número de electrones intercambiados en una reacción redox
pX	cologaritmo decimal de X , operador p ($\text{pX} = \text{colog X}$)
Q	valor de carga
Q^{std}	valor de carga estándar
R	constante universal de gases
R_{ct}	resistencia a la transferencia de carga
R_s	resistencia de la disolución
S_B	desviación estándar del blanco
t	tiempo
t_d	tiempo de depósito
T	temperatura absoluta
v	velocidad de barrido
W	impedancia de Warbug
Z	impedancia
Z'	componente real de la impedancia
Z''	componente imaginaria de la impedancia

AA	Ácido ascórbico
ARS	Rojo de alizarina S.
CA	Cisteamina, 2-aminoetanotiol
CNT	Carbon nanotubes, nanotubos de carbono
CPE	Constant phase element, elemento de fase constante
CV	Cyclic voltammetry, voltamperometría ciclica
DA	Dopamina
DTA	Dietilentriamina
DCP	Derivative Chronopotentiometry, cronopotenciometría derivativa
EIS	Electrochemical impedance spectroscopy, espectroscopía de impedancia electroquímica
GC	Glassy carbon, carbono vítreo
HAt	6-aminohexanotiol
Hist	Histamina
LSV	Linear sweep voltammetry, voltamperometría de barrido lineal
MPA	Ácido 3-mercaptopropiónico
PABA	Ácido 4-aminobenzoico
RPG	Rojo de pirogalol
SAMs	Self-assembled monolayers, monocapas autoensambladas
SWV	Square wave voltammetry, voltamperometría de onda cuadrada
UA	Ácido úrico

INTRODUCCIÓN

La electroquímica es la rama de la química que estudia las relaciones recíprocas entre la carga eléctrica y sus manifestaciones (corriente, potencial y campo eléctricos) y los cambios químicos producidos por ellas (o viceversa) en un sistema dado. Gran parte de este campo se ocupa del estudio de cambios químicos causados por el paso de una corriente eléctrica y la obtención de energía eléctrica a través de reacciones químicas.¹ La transferencia de electrones ocurre en la interfase entre un conductor iónico y un conductor electrónico, como se esquematiza en la figura 1. A esta interfase se la denomina *electrodo*.

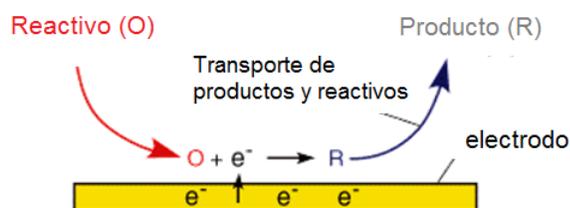


Figura 1. Esquema general de una reacción heterogénea de intercambio de electrones

En las reacciones electroquímicas (es decir, aquellas que ocurren sobre los electrodos), la superficie de un electrodo es una herramienta poderosa, puesto que al imponer un potencial o hacer pasar corriente eléctrica a través de la interfase, la superficie actúa como una fuente (en la reducción) o pozo (en la oxidación) de electrones de enorme capacidad. En algunas reacciones electroquímicas, los electrodos pueden ser afectados por distintos fenómenos que limitan su uso. Por ejemplo, se pueden mencionar procesos de adsorción no deseada o de precipitación, así como la falta de especificidad de una superficie a determinada reacción. Estos fenómenos y procesos no deseados, en principio, pueden controlarse manipulando la naturaleza química de la superficie del electrodo. De esta premisa nace el concepto de *electrodo químicamente modificado* (chemically modified electrode, CME por sus siglas en inglés).² Idealmente, un CME se puede construir fácilmente al inmovilizar moléculas o estructuras moleculares sobre superficies limpias, dando así nuevas propiedades físicas y químicas a la interfase. Un CME se define como un material conductor o

¹ Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*; Wiley: New York, 1980.

² Murray, R. W.; Ewing, A. G.; Durst, R. A. Chemically Modified Electrodes Molecular Design for Electroanalysis. *Anal. Chem.* **1987**, 59 (5), 379A–390A.

semiconductor recubierto con una película mono-molecular, multi-molecular, iónica o polimérica que altera, entre otras, las propiedades electroquímicas y ópticas de la interfase.³

Entre los años 1946 y 1947, Zisman y sus colaboradores,⁴ presentaron los primeros trabajos sobre la modificación de superficies mediante el fenómeno de autoensamblaje. Tiempo después, en la primavera de 1974, el grupo de Murray,⁵ inicio la investigación de electrodos modificados mediante la inmovilización covalente de aminas y moléculas redox sobre superficies de platino y de óxido de estaño. Posteriormente, esta línea de investigación adquirió gran importancia, produciendo miles de reportes sobre la obtención, caracterización y aplicación de CMEs.⁶ Actualmente, en el área electroquímica, el número de publicaciones relacionadas con electrodos químicamente modificados sigue en aumento, como puede observarse en la figura 1. Si comparamos los datos de 2010 con los datos de 2017, se aprecia un aumento en el número de publicaciones de 51.9, 30.9, 60.3, y 61.0% para las editoriales Royal Society of Chemistry (RSC), Wiley, Elsevier (SD), y American Chemical Society (ACS) respectivamente.

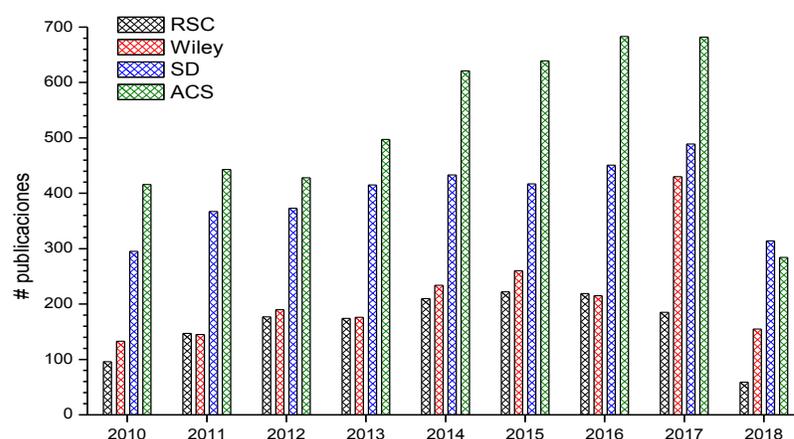


Figura 1. Gráfico de barras que muestra el número de artículos publicados sobre electrodos químicamente modificados por año en diferentes páginas web. Ver texto para más información.

Los datos presentados en la figura 1, se consultaron en línea, en los diferentes sitios web, el día 07 de mayo de 2018, usando como palabras de búsqueda “electrode and modified and chemically and electrochemistry”. Los datos del año 2018 corresponden a publicaciones realizadas entre enero y abril de ese año.

³ *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed.; Zoski, C. G., Ed.; Elsevier: Amsterdam ; Boston, 2007.

⁴ Bigelow, W. C.; Pickett, D. L.; Zisman, W. A. Oleophobic Monolayers. *J. Colloid Sci.* **1946**, *1* (6), 513–538.

⁵ Murray, R. W. Chemically Modified Electrodes. *Acc. Chem. Res.* **1980**, *13* (5), 135–141.

⁶ Opallo, M.; Lesniewski, A. A Review on Electrodes Modified with Ionic Liquids. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, *656* (1–2), 2–16.

HIPÓTESIS

La adecuada modificación de superficies de carbono y oro, mediante diferentes estrategias de inmovilización, permite el desarrollo y construcción de nuevas superficies con propiedades y características definidas, para ser usadas como electrodos de trabajo en la determinación electroquímica de analitos de interés.

OBJETIVOS

- Establecer una metodología para la funcionalización de superficies de carbono mediante la formación de injertos moleculares, utilizando reacciones electroquímicamente acopladas por oxidación de aminas y reducción de cationes arildiazonio.
- Obtener monocapas autoensambladas de ω -tioles sobre superficies de oro para realizar posteriores modificaciones.
- Caracterizar las distintas superficies funcionalizadas utilizando voltamperometría cíclica y espectroscopía de impedancia electroquímica con sondas redox, para estudiar sus propiedades ácido-base y estimar los valores de las constantes de acidez de las películas orgánicas inmovilizadas.
- Modificar la superficie de nanotubos de carbono adsorbiendo ligantes para determinar iones cobre en disoluciones acuosas empleando técnicas electroquímicas.
- Utilizar superficies modificadas de carbono para la determinación de iones cadmio y plomo utilizando la técnica de redisolución anódica sobre películas de bismuto formadas *in-situ*.
- Investigar el efecto de las distintas variables de trabajo en el desempeño de los electrodos modificados, para mejorar la cuantificación de Pb, Cd y Cu.
- Depositar nanoestructuras de oro sobre la superficie de electrodos de carbono vítreo para determinar de dopamina en medio acuoso usando técnicas electroquímicas.
- Evaluar el desempeño del electrodo modificado obtenido en presencia de ácido ascórbico y ácido úrico como interferentes.
- Depositar oro utilizando diferentes métodos electroquímicos para encontrar relaciones entre la estructura obtenida y el método de depósito empleado.

1. CAPÍTULO I. GENERALIDADES

1.1 Electroodos de carbono vítreo

El carbono vítreo (glassy carbon, GC por sus siglas en inglés) es un material no grafitico y no granular, que posee alta estabilidad térmica y química así como buena biocompatibilidad. Debido a sus propiedades, este material se ha empleado en la construcción de crisoles y de ciertos dispositivos prostéticos, por ejemplo.¹ El GC también se usa comúnmente como material de electrodo para electroanálisis, siendo el electrodo de carbono más comúnmente empleado.²

La producción de GC se realiza mediante pirólisis en atmósfera inerte de materiales poliméricos tales como el poliacrilonitrilo³ o las resinas fenólicas. En la figura 1.1, se esquematiza la preparación de carbono vítreo. Usando fenol y formaldehído se sintetiza una resina, la que posteriormente se somete a un tratamiento térmico en dos etapas, una de calentamiento y otra de carbonización. En la primera etapa, la resina se lleva a una temperatura de 300°C, donde se eliminan moléculas de oxígeno y nitrógeno. Seguidamente, en la segunda etapa la resina se carboniza a temperaturas entre 1200 y 3000 °C, condiciones en las que las moléculas de hidrógeno se eliminan, obteniéndose el producto final.⁴

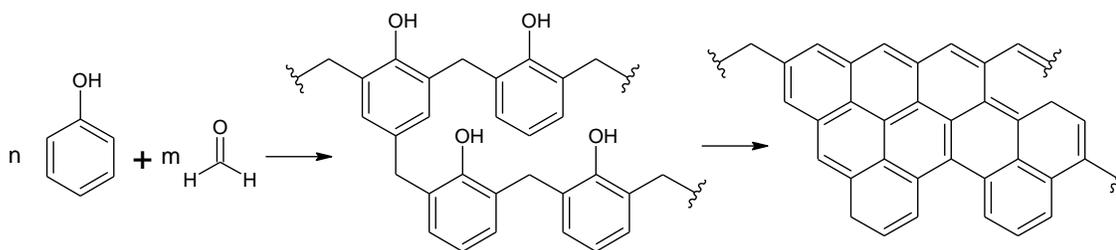


Figura 1.1. Esquema de la ruta de obtención de carbono vítreo a partir de fenol y formaldehído. Adaptada de la referencia [4].

Se han reportado varios modelos para describir la estructura del GC.⁵ Uno de los modelos más difundidos es el presentado por Jenkins y Kawamura en 1971.⁶ Este modelo asume que la orientación molecular del precursor polimérico se mantiene, hasta cierto punto, después de la carbonización. De este modo la estructura del GC tiene cierta similitud con la del polímero de partida, generando dominios grafiticos en forma de cintas estrechas y curvas, como se muestra en el panel A de la figura 1.2. Sin embargo el modelo de Jenkins es deficiente en varios aspectos. Por ejemplo, la estructura de Jenkins y Kawamura del GC contiene varios microporos unidos que

permitirían fácilmente el paso de gases, mientras que es bien sabido que el GC es bastante impermeable a los gases. También presenta una proporción grande de átomos de borde, que a nivel macroscópico correspondería con una elevada reactividad química del material, de forma inconsistente con la baja reactividad que tienen los GC.

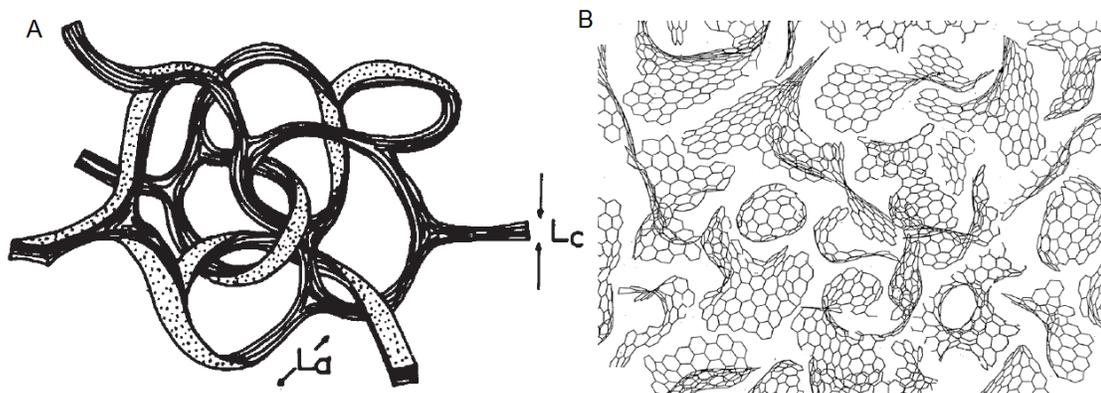


Figura 1.2. Distintos modelos de la estructura de carbono vítreo propuestos por A) Jenkins y Kawamura. B) Harris

Basándose en la estructura de diferentes alótropos de carbono, como los fullerenos o los nanotubos de carbono, Harris y colaboradores¹ presentaron un modelo para la estructura de GC que se muestra en el panel B de la figura 1.2, y que describe al GC como un material con características similares a las que tienen los fullerenos, incluyendo estructuras facetadas, partículas cerradas y planos curvos. Con el modelo de Harris, se puede explicar de manera más acertada las propiedades que poseen los GC, como por ejemplo, la baja reactividad química, la dureza o la impermeabilidad hacia los gases y líquidos.

Con excepción de ciertas secciones del capítulo 6, donde se usan electrodos de oro policristalino, en todo el presente trabajo se usaron electrodos de GC, como primer sustrato para realizar las diferentes modificaciones. En el capítulo 2 y 3 se modificaron superficies de GC mediante la oxidación de aminas y la reducción de iones arildiazonio.

1.2 Nanotubos de carbono

Conceptualmente considerados como hojas de grafeno enrolladas,⁷ los nanotubos de carbono (carbon nanotubes, CNT por sus siglas en inglés) son estructuras cilíndricas constituidas de átomos de carbono con hibridación sp^2 , con alta estabilidad térmica y química, alta elasticidad, alta fuerza tensil y conductividad metálica.⁸ Se los puede categorizar como CNT de pared simple (single-walled, SWCNT por sus siglas en inglés) o multipared (multi-walled, MWCNT).

Desde su descubrimiento, realizado por Iijima en 1993,⁹ estos materiales carbonáceos se han investigado mucho, utilizándose ampliamente como estructuras para mejorar un proceso analítico.¹⁰ Dadas su gran área superficial y su capacidad de establecer interacciones electrostáticas del tipo π - π , se los ha empleado como materiales sorbentes, por ejemplo, en mini columnas empacadas para cromatografía,¹¹ en fases pseudoestacionarias para electroforesis capilar,¹² en la remoción de contaminantes ambientales, como “esponjas”,¹³ y también se los ha empleado como disipadores de calor para chips,¹⁴ debido a la gran capacidad térmica que poseen.

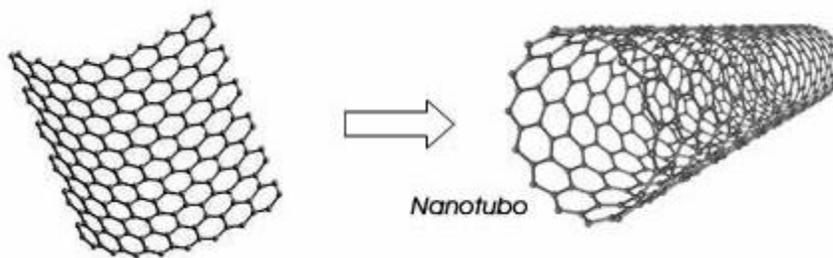


Figura 1.3. Esquema conceptual de un nanotubo de carbono de pared simple.

La primera aplicación de nanotubos en electroquímica, la realizaron Britto y colaboradores,¹⁵ en 1996. En este reporte se prepararon electrodos de pasta de CNTs, con bromoformo como aglomerante, para la determinación de dopamina, observándose la oxidación idealmente reversible de dopamina a dopaminoquinona y el aumento de la corriente de pico en un factor alrededor de 60. En este primer reporte se evidenciaron las propiedades electrocatalíticas de los CNTs y su potencial uso en el desarrollo de electrodos modificados. A partir de este reporte se continuó con la investigación y el uso de CNTs en la construcción de superficies usadas con fines electroanalíticos.⁸

En los capítulos IV y V se modificaron superficies de GC recubiertos con nanotubos de carbono. Los electrodos construidos en esos capítulos se usaron para la determinación de iones cobre, cadmio y plomo respectivamente.

1.3 Electrodo de oro

Las superficies de este elemento son comúnmente usadas en electroanálisis, pudiéndose clasificarlas como electrodos de metal sólido.¹⁶ Los electrodos de oro presentan cinética rápida de transferencia de electrones para muchos sistemas redox, y poseen una ventana de potencial anódico relativamente amplia. Los electrodos de oro se han investigado intensamente, debido a varias de

sus características, como por ejemplo: su biocompatibilidad, la facilidad para funcionalizar su superficie, o su alta actividad electrocatalítica en forma nanoestructurada.¹⁷

Una de las formas más simples de modificar una superficie de oro, es mediante la formación de monocapas autoensambladas con tioles, ditiolos u otro grupo funcional terminal con átomos de azufre.¹⁸ En el capítulo VI modificaron superficies de oro mediante el proceso de autoensamblado.

En el capítulo VII de este trabajo se presenta la modificación de superficies de GC mediante el depósito electroquímico de oro, formando una película nanoestructurada. Los electrodos obtenidos se usaron para la determinación de dopamina en disolución acuosa.

1.4 Técnicas electroquímicas

1.4.1 Voltamperometría cíclica

Es una técnica electroquímica transitoria, (cyclic voltammetry, CV por sus siglas en inglés), considerada como la técnica electroanalítica más versátil para el estudio de una especie electroactiva en disolución.¹⁹ La efectividad de la CV proviene de la capacidad, rapidez y relativa facilidad con la que se puede evaluar el comportamiento redox de una especie química dada, en un amplio rango de valores de potencial, obteniendo información cinética y termodinámica.



En electroanálisis es común usar celdas compuestas por un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo. La técnica de CV emplea un programa de perturbación, donde se varía linealmente el valor del potencial impuesto como una función del tiempo, mientras se registra la corriente que circula por la celda, como se observa en el panel A de la figura 1.4. Al realizar el barrido de potencial se cambia el valor energético del electrodo de trabajo, de forma que al llegar a determinado valor se empiezan a intercambiar electrones desde la especie electroactiva (oxidación) o desde el electrodo (reducción) como se presenta en la reacción 1.1. La corriente debida al intercambio electrónico se denomina faradaica (i_{far}). En el panel B de la figura 1.4, se muestra un voltamperograma típico del par hexacianoferrato(II/III) de potasio en buffer de fosfatos a pH = 7, sobre un electrodo de oro.

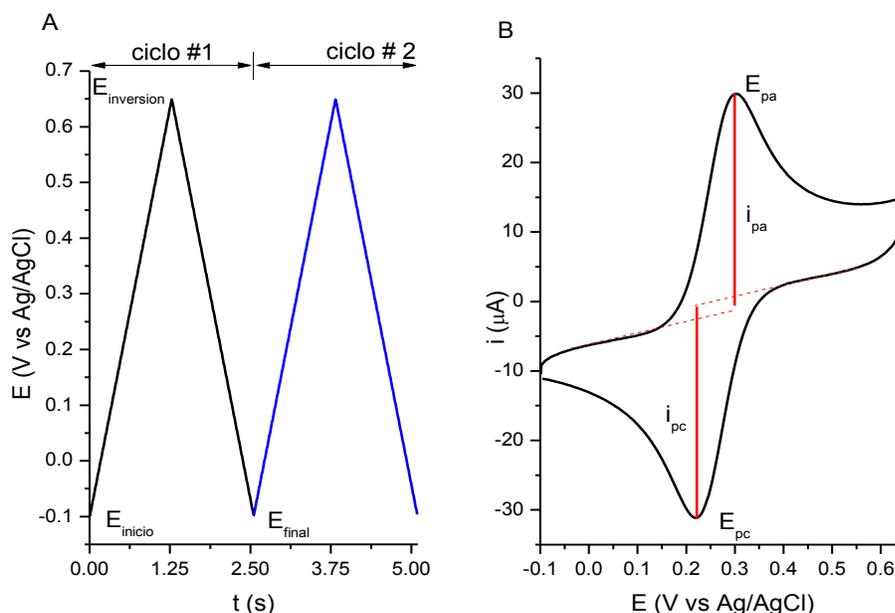


Figura 1.4. A) Señal de perturbación típica para voltamperometría cíclica a 500 mV s^{-1} ; B) Voltamperograma de hexacianoferrato(II/III) de potasio 1 mM , en buffer de fosfatos 50 mM , $\text{pH} = 7$; sobre un electrodo de oro $\text{Area} = 0.0314 \text{ cm}^2$, a una velocidad de barrido $v = 500 \text{ mV s}^{-1}$.

Los registros voltamperométricos están caracterizados por varios parámetros, tales como los potenciales de pico anódico (E_{pa}) y catódico (E_{pc}), las corrientes de pico anódico (i_{pa}) y catódico (i_{pc}) y el potencial de media onda ($E_{1/2}$), que está relacionado con el potencial formal ($E^{0'}$) según la ecuación 1.2:²⁰

$$E_{1/2} = E^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{D_{Red}}{D_{Ox}} \right)^{1/2} \quad 1.2$$

donde R es la constante universal de gases, T es la temperatura absoluta, n el número de electrones intercambiados, F la constante de Faraday, D_{Red} y D_{Ox} son los coeficientes de difusión de las diferentes especies.

Utilizando las magnitudes de pico de un voltamperograma se pueden evaluar distintos criterios de una reacción electroquímica. Por ejemplo, para un proceso reversible, no electrónico, el valor de la diferencia de potenciales de pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) debe ser 59 mV , y el valor del cociente de corrientes de pico (i_{pa}/i_{pc}) debe tender a 1. Para una reacción electroquímica en la que el transporte de materia está controlado por difusión, el cociente de la corriente de pico entre la raíz cuadrada del valor de la velocidad de barrido, ($i_p/v^{1/2}$) debe ser constante, independientemente de la magnitud de v .²¹

1.4.2 Voltamperometría de onda cuadrada

Es una técnica electroquímica basada en pulsos de potencial, ampliamente usada en determinaciones analíticas a nivel traza así como en la obtención de algunos parámetros cinéticos.²² Toma su nombre debido a la forma que tiene la señal de perturbación (square wave voltammetry, SWV por sus siglas en inglés). Al igual que otras técnicas de pulsos, la SWV se ha desarrollado para disminuir el efecto de la corriente capacitiva (i_{cap}), que se debe al cargado de la doble capa eléctrica. Por ejemplo, cuando se emplean velocidades de barrido altas en CV, la i_{cap} puede alcanzar valores superiores a los valores de corriente correspondientes a procesos faradaicos.²³ Para filtrar la contribución capacitiva de la corriente total, en SWV se aplican pulsos de potencial “cuadrados”, (como los que se muestran en el panel A de la figura 1.5), obteniéndose curvas de corriente en función del tiempo (como las que se presentan en el panel B de la figura 1.5)

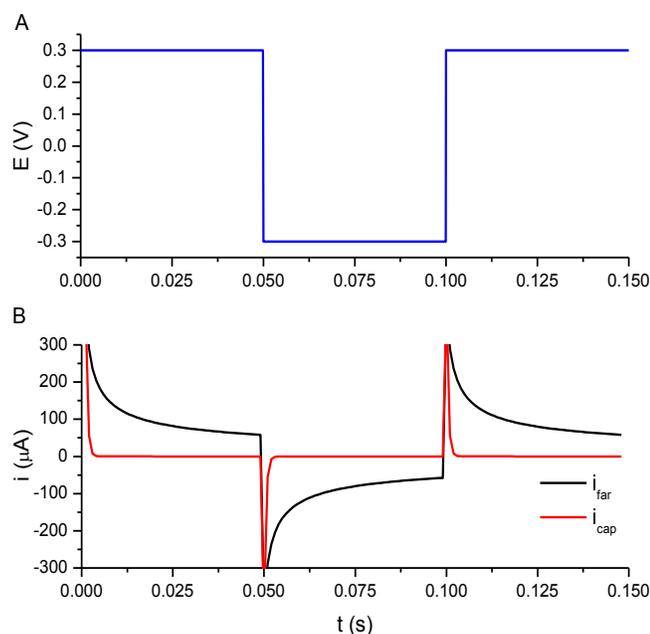


Figura 1.5. A) Señal de perturbación cuadrada, con potenciales de inversión -0.3 y 0.3 V. B) Respuestas i vs t simuladas. Los valores de los parámetros se describen en el texto.

Los valores de las respectivas corrientes presentadas en el panel B de la figura 1.5 se calcularon usando las ecuaciones 1.3 y 1.4, usando los siguientes valores: coeficiente de difusión $D_{Ox} = D_{Red} = 1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, concentración de especie electroactiva $C^* = 1 \text{ mM}$, área del electrodo 0.075 cm^2 , resistencia de la disolución $R_s = 100 \Omega$, capacitancia de la doble capa $C_{dl} = 5 \mu\text{F}$.

$$i_{cap} = \frac{E}{R_s} e^{-t/R_s C_{dl}} \quad 1.3$$

$$i_{far} = \frac{n F A D^{1/2} C^*}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad 1.4$$

Al aplicar pulsos de potencial “cuadrados” se observa que el valor de la corriente capacitiva decae rápidamente hacia el final del pulso, puesto que hay una relación exponencial entre la corriente y el tiempo (ecuación 1.3), mientras que la corriente faradaica se mantiene en valores considerables debido a que existe una relación parabólica con el tiempo ($i \propto t^{-1/2}$, ecuación 1.4). En SWV se mide la corriente al final de cada pulso cuadrado, filtrando de la corriente total gran parte de contribución capacitiva.²⁴

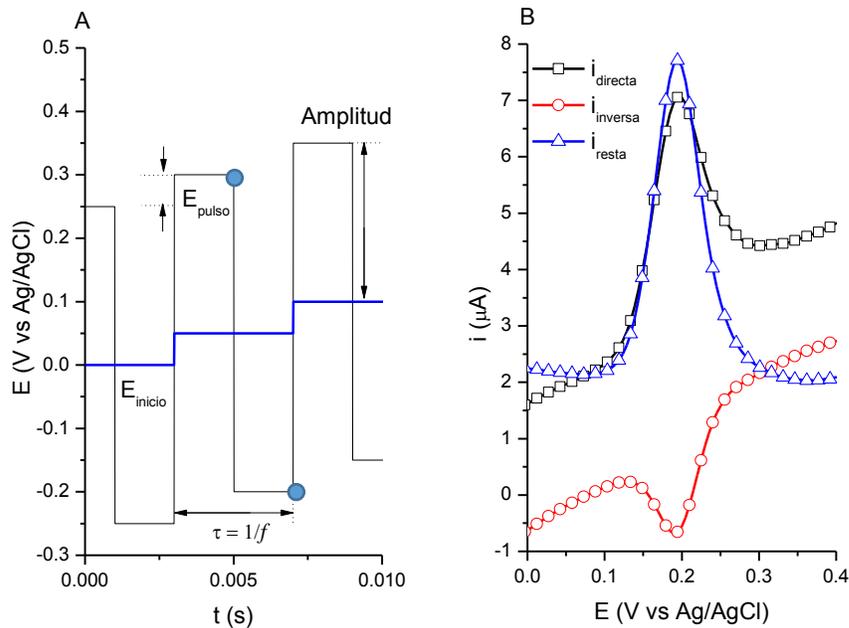


Figura 1.6.A) Esquema de perturbación empleado en voltamperometría de onda cuadrada; B) SWV de Dopamina [DA] = 50 μ M, sobre electrodo de carbono vítreo $A = 0.0707 \text{ cm}^2$, $f = 20 \text{ Hz}$, $E_{inicio} = 0.0 \text{ V vs Ag/AgCl}$, $E_{pulso} = 5 \text{ mV}$, amplitud = 25 mV, en buffer de fosfatos 10 mM, pH = 7.0.

En el panel A de la figura 1.6 se presenta un esquema general del programa de perturbación de potencial que se usa en SWV. Los puntos azules marcan el final de cada semi-ciclo, tiempo en el que se mide la corriente. En esta técnica se miden dos corrientes correspondientes a los límites superior e inferior de la amplitud, denominadas corriente directa e inversa. La velocidad de barrido en SWV se puede calcular con el producto $E_{pulso} \times f$, donde f es la frecuencia en Hz de cada ciclo, es decir, el inverso del periodo τ .

Un voltamperograma de onda cuadrada se compone de valores de corriente discretos que generalmente se unen con líneas para facilitar el manejo de los datos,²⁵ como se muestra en el panel B la figura 1.6. Para mejorar la sensibilidad de la técnica es común sumar o restar los registros de corriente directa e inversa según sea conveniente. Al igual que en otras técnicas electroquímicas los registros de SWV están caracterizados por parámetros como la corriente de pico (Δi_p) y potenciales de pico (E_p).

1.4.3 Cronopotenciometría derivativa

La cronopotenciometría (CP), es un técnica electroanalítica galvanostática, donde se fija una corriente entre los electrodos de trabajo y auxiliar, mientras se registran los cambios en el valor de potencial del electrodo de trabajo como una función del tiempo. En celdas de tres electrodos la medición del potencial se realiza con la ayuda de un electrodo no-polarizable.²⁶ En el panel A de la figura 1.7 se muestra un ejemplo del programa de perturbación empleado en CP; en el panel B de la misma figura se presenta un cronopotenciograma típico (curvas E vs t), correspondiente a la redisolución de iones cobre 2 μM , adsorbidos sobre un electrodo modificado con ligantes con grupos funcionales tipo catecol.

Uno de los parámetros obtenidos en CP es el tiempo de transición τ , que es el tiempo donde la concentración de especie electroactiva, en la superficie del electrodo es igual a cero, en esas condiciones las variables i y τ se relacionan según la ecuación 1.5, conocida como ecuación de Sand.²⁶

$$\frac{i \tau^{1/2}}{C^*} = \frac{n F D^{1/2} \pi^{1/2}}{2} \quad 1.5$$

Donde n , F , D y C^* tienen el significado descrito en la sección 1.4.1. El valor de $i\tau^{1/2}$ a diferentes valores de corriente, puede usarse para determinar C^* o D de un sistema redox.

La cronopotenciometría derivativa (Derivative Chronopotentiometry, DCP por sus siglas en inglés) es una técnica electroanalítica que consiste en determinar los valores de la derivada de potencial respecto del tiempo (dE/dt) en un ensayo de CP y representarlos como una función del potencial medido mientras se aplica una corriente entre los electrodos de trabajo y auxiliar.²⁷ En panel C de la figura 1.7 se presenta la señal obtenida para iones cobre en las mismas condiciones que las detalladas para el panel B de dicha figura.

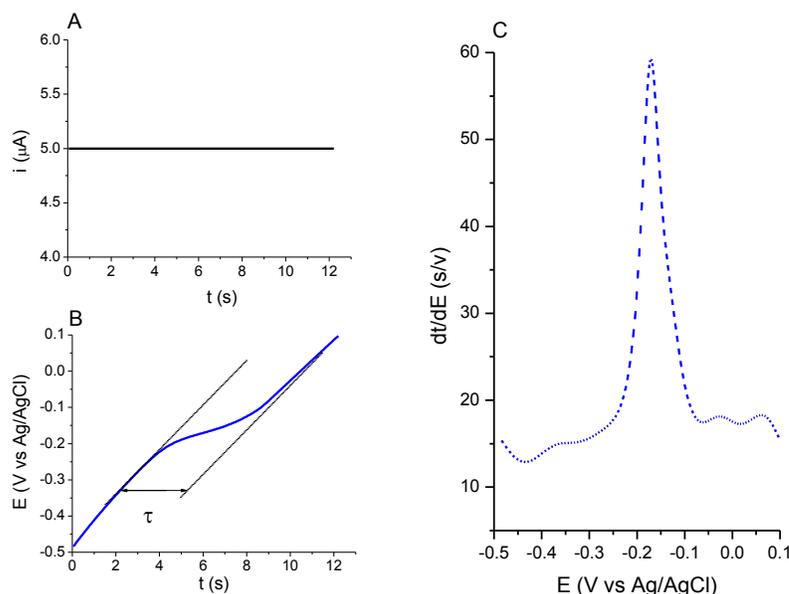


Figura 1.7. A) Esquema de perturbación empleado en cronopotenciometría B) Respuesta E vs t para la determinación de iones cobre 2 μM en buffer MES 10 mM, pH 6.5, aplicando una corriente constante de $i = 5 \mu\text{A}$. C) cronopotenciometría derivativa obtenida con los mismos parámetros que los detallados en el panel B.

Una ventaja de representar la derivada dt/dE vs E es que se obtiene una señal en forma de pico, del que se puede determinar su altura. La posibilidad de medir la altura de pico mejora la respuesta, una característica muy buscada, por ejemplo, en el desarrollo de métodos analíticos donde es importante tener señales grandes cuya magnitud sea fácil de medir.

1.4.4 Espectroscopía de impedancia electroquímica

La impedancia es una medida de la dificultad que se presenta en un circuito eléctrico para permitir el flujo de una corriente eléctrica.²⁸ La impedancia electroquímica se mide usualmente al aplicar una perturbación sinusoidal de potencial a una celda electroquímica, mientras se mide la corriente que fluye a través de dicha celda. Para sistemas lineales⁷, la impedancia puede expresarse como la relación entre potencial y corriente, como se describe en la ecuación 1.6.^{29,30}

$$Z = \frac{e}{i} = \frac{E \sin(\omega t)}{I \sin(\omega t + \varphi)} \quad 1.6$$

⁷ Un Sistema eléctrico es lineal si la respuesta es una función lineal de la señal de perturbación. En otras palabras, si a un sistema eléctrico lineal se le perturba con dos o más señales, la respuesta debe ser la suma de las respuestas que se obtendrían al aplicar cada una de las señales de perturbación por separado.

donde ω es la frecuencia angular en rad s^{-1} , que es 2π veces la frecuencia en Hz; I y E representan el valor de la amplitud de las señales de respuesta y perturbación, respectivamente, y φ es el cambio en el ángulo de fase.

Conviene pensar en \mathbf{i} y \mathbf{e} como vectores rotacionales o fasores, girando a una frecuencia de rotación ω y separados por un ángulo de fase φ , como se muestra en la figura 1.8. La amplitud I y E de cada señal se representa como el módulo de cada fador.

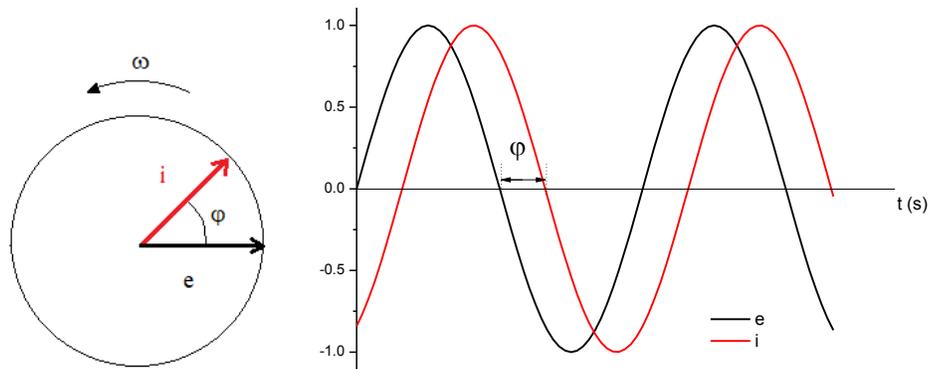


Figura 1.8. Diagrama de fasores mostrando la relación entre señales alternas de corriente y voltaje a frecuencia ω . Fig. Adaptada de 22.

Un adecuado tratamiento de los fasores para los distintos elementos eléctricos permite encontrar las componentes real e imaginaria para la impedancia de dichos elementos. En la tabla 1.1 se presenta un resumen de las funciones matemáticas correspondientes a algunos de estos elementos.³¹

Tabla 1.1. Valores de impedancia de algunos elementos de circuitos eléctricos

Elemento	Z'	Z''
Resistencia	R	0
Capacitancia	0	$1/\omega C$
Inductancia	0	$-\omega L$

La espectroscopía de impedancia electroquímica (*electrochemical impedance spectroscopy*, EIS por sus siglas en inglés) es una técnica en la que aplica una señal de perturbación periódica y de frecuencia variable a lo largo de varios órdenes de magnitud en el tiempo, como se esquematiza en el panel A de la figura 1.9. En el panel B de esa figura, se presentan datos de EIS para la reducción de 1,4-benzoquinona en un medio no acuoso sobre un electrodo de carbono vítreo. Los

datos se presentan en un gráfico de 3 dimensiones, puesto que la impedancia es una variable compleja. Los espectros de impedancia suelen representarse comúnmente como diagramas de Nyquist o diagramas de Bode (en los planos cartesianos $\log|Z|$ vs $\log f$ o φ vs $\log f$).³¹

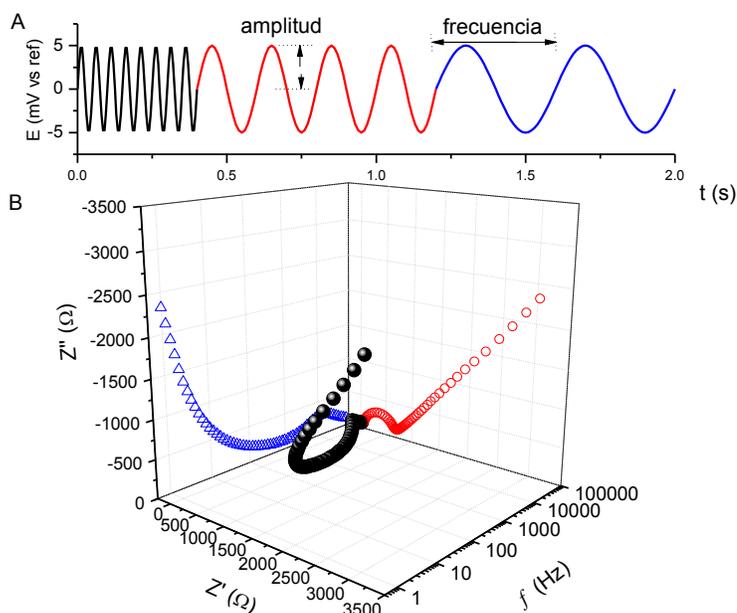


Figura 1.9 A) Esquema de perturbación empleado en espectroscopía de impedancia electroquímica. B) Impedancia de un electrodo de carbono vítreo inmerso en una disolución 1 mM de 1,4-benzoquinona en DMSO, con NBU_4ClO_4 0.1M como electrolito soporte. Frecuencias de 1 a 10^5 Hz; potencial aplicado igual a -0.638 V vs Ag/Ag^+ .

Existen al menos dos enfoques principales para procesar los datos experimentales obtenidos con EIS: el primero, que solo será mencionado en este trabajo, se basa en plantear un esquema con los distintos mecanismos de reacción, y desarrollar expresiones matemáticas que describen la función de transferencia de la impedancia faradaica, finalmente se ajustan los datos experimentales al modelo matemático desarrollado. El segundo enfoque para procesar datos de EIS consiste en utilizar circuitos equivalentes para modelar la celda electroquímica, como se muestra en la figura 1.10. Usando un circuito adecuado, los datos experimentales se ajustan para determinar el valor numérico de los parámetros buscados. Los circuitos se construyen combinando adecuadamente, en serie o paralelo, diferentes elementos discretos. Por ejemplo, la doble capa eléctrica que se forma en la superficie de un electrodo, se puede modelar empleando un capacitor de placas paralelas. Además de resistencias, inductores y capacitores, generalmente se emplean otros componentes para describir los distintos fenómenos electroquímicos como, elementos de fase constante, (constant phase element, CPE por sus siglas en inglés), o impedancia de Warburg. El uso de estos nuevos componentes se debe a la naturaleza compleja de un sistema electroquímico.

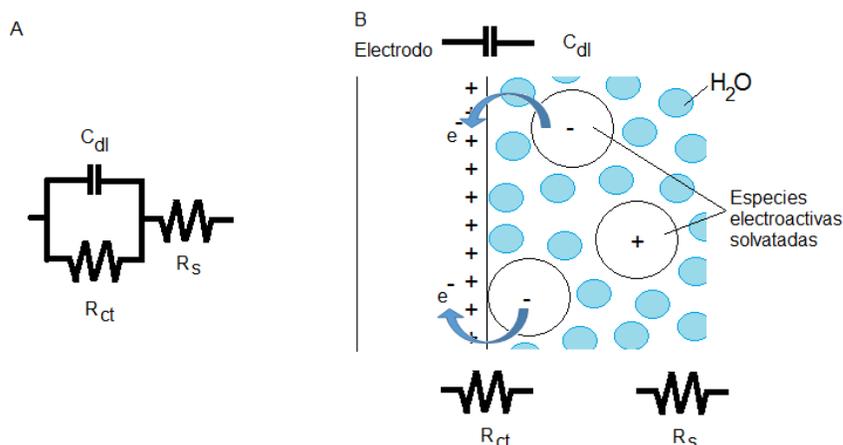


Figura 1.10 A) Diagrama del circuito de Randles simple, C_{dl} = capacitancia de la doble capa, R_{ct} = resistencia a la transferencia de carga, R_s = resistencia de la disolución. B) Esquema de una celda electroquímica y como se la modela empleando elementos discretos.

1.5 Aplicaciones de las técnicas electroquímicas

1.5.1 Determinación de k^0 usando voltamperometría cíclica

Lavagnini y colaboradores informaron un método para determinar la constante de rapidez de transferencia heterogénea de electrones (k^0),³² basándose en la teoría desarrollada por Nicholson y Shain.²¹ En el método presentado por Lavagnini se usa una familia voltamperogramas obtenidos a diferentes velocidades de barrido (ν). De cada CV se mide el valor ΔE_p y se calcula el respectivo valor de la función Ψ , con la ecuación 1.7; el valor de $\Delta E_p \times n$ debe expresarse en mV. A continuación, se construye una gráfica Ψ vs $C \cdot \nu^{-1/2}$, donde C es un conjunto de constantes (ver ecuación 1.8), que describe una línea recta cuya pendiente corresponde al valor de k^0 :

$$\Psi = \frac{-0.6288 + (0.0021 \Delta E_p \times n)}{1 - (0.017 \Delta E_p \times n)} \quad 1.7$$

$$\Psi = \left[\pi D n \frac{F}{RT} \right]^{-1/2} k^0 \nu^{-1/2} \quad 1.8$$

1.5.2 Determinación electroquímica de pKa superficial

En la ecuación 1.9 se describe la disociación de un ácido genérico HA, que se encuentra en disolución, este ácido tiene una constante de acidez, K_a que puede ser evaluada mediante el uso de la ecuación 1.10.

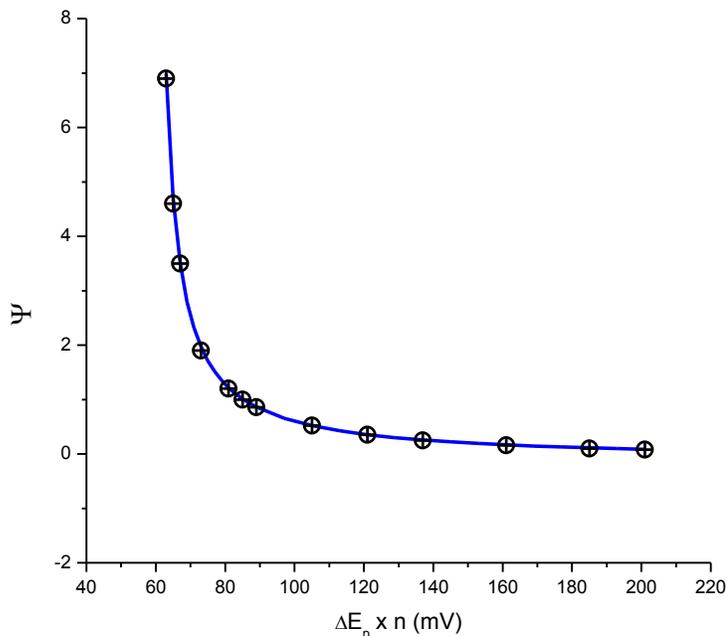


Figura 1. Representación gráfica de la ecuación 1.7, fig. tomada y adaptada de 32.



$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]} \quad 1.10$$

A partir de la definición de K_a en el seno de una disolución, es posible definir el valor de K_a superficial de una capa orgánica con grupos ácido-base. Para el caso de las películas orgánicas inmovilizadas sobre una superficie, $[A^-]$ y $[HA]$ representan las concentraciones superficiales de moléculas disociadas y no disociadas de la película, expresadas como una fracción molar,³³ como se detalla en la ecuación 1.11, considerando la capa completa como una unidad.

$$[A^-] + [HA] = 1; [A^-] = \frac{[A^-]}{[A^-] + [HA]} \quad 1.11$$

En un ensayo de CV se puede asumir que la i_{far} total está compuesta por dos partes independientes, la primera debida a la fracción de la película disociada $[A^-]$ y la segunda correspondiente a la fracción no disociada $[HA]$, de modo que i_{far} puede representarse como se detalla en ecuación 1.12:

$$i_{\text{far}} = i_{A^-} [A^-] + i_{HA} [HA] \quad 1.12$$

donde i_{A^-} e i_{AH} corresponden a los valores de corriente de la sonda redox obtenidas sobre las estructuras moleculares A^- y AH , respectivamente. Empleando las ecuaciones 1.12, 1.10 y propiedades de logaritmos se obtiene la ecuación 1.13 para la determinación del valor de pK_a superficial de la película. La deducción de esta ecuación se realizó utilizando i , sin embargo usando el mismo razonamiento, se puede deducir ecuaciones similares utilizando otros parámetros electroquímicos que dependen del pH del medio en que estén sumergidas las películas como R_{ct} o C_{dl} .

$$pK_a = pH + \log \left(\frac{i - i_{HA}}{i_{A^-} - i} \right) \quad 1.13$$

1.6 Referencias

- (1) Harris, P. J. F. Fullerene-Related Structure of Commercial Glassy Carbons. *Philos. Mag.* **2004**, *84* (29), 3159–3167.
- (2) *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed.; Zoski, C. G., Ed.; Elsevier: Amsterdam ; Boston, **2007**.
- (3) McCreery, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (7), 2646–2687.
- (4) Oiyé, É. N.; de Andrade, J. F.; Balbo, V. R.; dos Santos, A. L.; de Oliveira, M. F. Development of an Alternative Route for Production of Glassy Polymeric Carbon Electrodes in Laboratorial Scale. *Macromol. Symp.* **2011**, *299–300* (1), 147–155.
- (5) Harris, P. J. F. New Perspectives on the Structure of Graphitic Carbons. *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* **2005**, *30* (4), 235–253.
- (6) Jenkins, G. M.; Kawamura, K. Structure of Glassy Carbon. *Nature* **1971**, *231* (5299), 175–176.
- (7) Karousis, N.; Tagmatarchis, N.; Tasis, D. Current Progress on the Chemical Modification of Carbon Nanotubes. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (9), 5366–5397.
- (8) Gooding, J. J. Nanostructuring Electrodes with Carbon Nanotubes: A Review on Electrochemistry and Applications for Sensing. *Electrochimica Acta* **2005**, *50* (15), 3049–3060.
- (9) Iijima, S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* **1991**, *354* (6348), 56–58.
- (10) Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Simonet, B. M. Role of Carbon Nanotubes in Analytical Science. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (13), 4788–4797.
- (11) Cai, Y.; Jiang, G.; Liu, J.; Zhou, Q. Multiwalled Carbon Nanotubes as a Solid-Phase Extraction Adsorbent for the Determination of Bisphenol A, 4-n-Nonylphenol, and 4-Tert-Octylphenol. *Anal. Chem.* **2003**, *75* (10), 2517–2521.
- (12) Suárez, B.; Simonet, B. M.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M. Surfactant-Coated Single-Walled Carbon Nanotubes as a Novel Pseudostationary Phase in Capillary EKC. *Electrophoresis* **2007**, *28* (11), 1714–1722.
- (13) Sadegh, H.; Shahryari Ghoshekandi, R.; Masjedi, A.; Mahmoodi, Z.; Kazemi, M. A Review on Carbon Nanotubes Adsorbents for the Removal of Pollutants from Aqueous Solutions. *Int. J. Nano Dimens.* **2016**, *7* (2), 109–120.

- (14) Hawwa, M. A.; Al-Dini, S. A.; Ben-Mansour, R. *Moving Carbon Nanotube Heat Sink*; US Patent 7,900,690, **2011**.
- (15) Britto, P. J.; Santhanam, K. S. V.; Ajayan, P. M. Carbon Nanotube Electrode for Oxidation of Dopamine. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1996**, *41* (1), 121–125.
- (16) *Handbook of Electrochemistry*, 1st ed.; Zoski, C. G., Ed.; Elsevier: Amsterdam ; Boston, **2007**.
- (17) Plowman, B. J.; Mahajan, M.; O'Mullane, A. P.; Bhargava, S. K. Electrochemical Detection of Dopamine and Cytochrome c at a Nanostructured Gold Electrode. *Electrochimica Acta* **2010**, *55* (28), 8953–8959.
- (18) Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C. Self-Assembled Monolayers of Thiols and Dithiols on Gold: New Challenges for a Well-Known System. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (5), 1805.
- (19) Kissinger, P. T.; Heineman, W. R. Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983**, *60* (9), 702.
- (20) Evans, D. H.; O'Connell, K. M.; Petersen, R. A.; Kelly, M. J. Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983**, *60* (4), 290.
- (21) Nicholson, R. S.; Shain, I. Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems. *Anal. Chem.* **1964**, *36* (4), 706–723.
- (22) *Square-Wave Voltammetry*; Monographs in Electrochemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2007**.
- (23) Eccles, G. N. Recent Advances in Pulse Cyclic and Square-Wave Cyclic Voltammetric Analysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1991**, *22* (5), 345–380.
- (24) Ramaley, L.; Krause, M. S. Theory of Square Wave Voltammetry. *Anal. Chem.* **1969**, *41* (11), 1362–1365.
- (25) Bard, A. J. *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances. Volume 14*; Marcel Dekker Inc., New York, NY: United States, **1986**.
- (26) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; Wiley: New York, 2001.
- (27) Garai, T.; Nagy, Z.; Mészáros, L.; Bartalits, L.; Locatelli, C.; Fagioli, F. Theory of Derivative and Differential Potentiometric Stripping Analysis and Stripping Chronopotentiometry. *Electroanalysis* **1992**, *4* (9), 899–904.
- (28) Callegaro, L. *Electrical Impedance: Principles, Measurement, and Applications*; Series in sensors; CRC Press: Boca Raton, **2013**.
- (29) Lehmann, H. P.; Fuentes-Arderiu, X.; Bertello, L. F. Glossary of Terms in Quantities and Units in Clinical Chemistry (IUPAC-IFCC Recommendations 1996). *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68* (4).
- (30) Sluyters-Rehbach, M. Impedances of Electrochemical Systems: Terminology, Nomenclature and Representation - Part I: Cells with Metal Electrodes and Liquid Solutions (IUPAC Recommendations 1994). *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66* (9).
- (31) Orazem, M. E.; Tribollet, B. *Electrochemical Impedance Spectroscopy*; The Electrochemical Society series; Wiley: Hoboken, N.J., **2008**.
- (32) Lavagnini, I.; Antiochia, R.; Magno, F. An Extended Method for the Practical Evaluation of the Standard Rate Constant from Cyclic Voltammetric Data. *Electroanalysis* **2004**, *16* (6), 505–506.
- (33) Zhao, J.; Luo, L.; Yang, X.; Wang, E.; Dong, S. Determination of Surface PKa of SAM Using an Electrochemical Titration Method. *Electroanalysis* **1999**, *11* (15), 1108–1113.

2 CAPÍTULO II. OXIDACIÓN DE AMINAS

2.1 Introducción

Se conoce como *modificación electroquímicamente asistida* al conjunto de estrategias que forman injertos moleculares sobre superficies prístinas.¹ En este tipo de modificación se producen especies radicalarias a partir de reacciones de intercambio electrónico entre moléculas en disolución y la superficie de un electrodo.¹ Los radicales generados en las cercanías del electrodo, se acoplan sobre la superficie formando enlaces de naturaleza covalente. Este tipo de modificación de superficies de carbono se ha realizado antes ya mediante la oxidación de aminas, arilacetatos y alcoholes, así como mediante la reducción de cationes diazonio,² o diariliodonio.³

En 1990 Barbier, Pinson y colaboradores,⁴ publicaron el primer reporte de la modificación electroquímicamente asistida de superficies de carbono, mediante la oxidación de aminas. En el trabajo de Barbier se acoplaron aminas primarias y secundarias desde disolventes no acuosos, con superficies de carbono vítreo (GC) y fibras de carbono. Aunque todos los derivados de aminas presentan procesos de oxidación bien definidos, no existe evidencia para la inmovilización de aminas terciarias, mientras que con aminas secundarias se han conseguido coberturas pobres. Esto sugiere que la cantidad de sustituyentes del grupo amino es importante, puesto que limitan la cercanía con los sitios activos del carbono.

La formación de injertos moleculares a partir de aminas primarias surge como una herramienta de síntesis interesante. Esta estrategia se presenta como una alternativa fácil y rápida de obtener superficies con características electrocatalíticas o con grupos funcionales que posteriormente permiten acoplar ligantes y construir sensores. Por ejemplo, la oxidación de β -NADH se facilita al usar electrodos de carbono vítreo con dopamina inmovilizada. De igual manera, se ha logrado acoplar biotina sobre superficies modificadas con aminas, para obtener un sensor de avidina.⁴

En este capítulo se describe la modificación de superficies de carbono, (GC y CNT) mediante la oxidación de aminas. Las superficies modificadas se caracterizan usando técnicas electroquímicas, como CV y EIS, también se estima el valor de la constante de acidez de la superficie de carbono vítreo injertada con ácido 4-aminobenzoico (GC/PABA).

2.2 Parte Experimental

2.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich: Ácido 4-aminobenzoico (PABA), histamina (hist), dopamina (DA), dietilentriamina (DTA), nanotubos de carbono multipared (CNT, en adelante se usará este acrónimo), cloruro de potasio. A continuación se enlistan los reactivos obtenidos de J.T. Baker: hexacianoferrato(II) y hexacianoferrato(III) de potasio, dihidrógeno fosfato de potasio, monohidrógenofosfato de potasio, ácido clorhídrico, etanol (EtOH), acetonitrilo (ACN).

Los experimentos voltamperométricos (CV), y de espectroscopía de impedancia (EIS) se realizaron con un potenciostato CH Instruments, modelo CHI 920C. Se usó una celda de tres electrodos compuesta por: electrodos de GC tipo disco de 3 mm de diámetro, (CH Instruments), como electrodos de trabajo, un alambre de platino de 0.5 mm diámetro y 12 cm de longitud (enrollado en forma de espiral) como electrodo auxiliar y un electrodo de Ag/AgCl (3 M KCl) como referencia. Antes de realizar los distintos experimentos electroquímicos, se eliminó el oxígeno disuelto mediante burbujeo de nitrógeno en la disolución durante al menos 10 minutos.

2.2.2 Modificación de la superficie

Los electrodos de GC se pulieron mecánicamente utilizando suspensiones de alúmina con diferentes tamaños de partícula (1.00, 0.30 y 0.05 μm). A continuación, los electrodos se lavaron con abundante agua para eliminar las partículas restantes de alúmina; finalmente, se secaron con acetona. Los electrodos GC/CNT se construyeron al depositar 20 μL de suspensión de nanotubos de carbono en tolueno, 2 mg mL^{-1} , sobre superficies limpias de GC.

Los electrodos GC y GC/CNT se sumergieron en una disolución de la respectiva amina, donde se realizaron varios barridos, entre cada barrido la disolución se agitó.

2.2.3 Determinación de capacitancia de doble capa

Los datos obtenidos al realizar ensayos de EIS, se pueden representar como el logaritmo del módulo de impedancia en función del logaritmo de la frecuencia, $\log Z$ vs $\log \omega$. Esta representación gráfica se conoce como diagrama de Bode módulo y ofrece varias ventajas respecto del diagrama de Nyquist, puesto que en esta clase de representaciones fácilmente se observa la dependencia de impedancia con la frecuencia. A frecuencias altas se puede determinar el valor de la resistencia de

la disolución, R_s a frecuencias bajas es posible determinar el valor de la resistencia a la transferencia de carga R_{ct} mientras que el valor de la capacitancia de la doble capa, C_{dl} se puede calcular a valores intermedios de frecuencia. A valores de frecuencia intermedias el diagrama de Bode módulo representa una línea recta con pendiente -1, si se extrapola esa línea hasta el eje de $\log Z$ es posible encontrar el valor de C_{dl} usando la ecuación 2.5. A continuación se presenta el desarrollo matemático de esta ecuación.

$$Z_c = \frac{-j}{\omega C} \quad 2.1$$

$$\log Z = -\log(\omega C) \quad 2.2$$

$$\log Z = -\log(2\pi f) - \log(C) \quad 2.3$$

Si $f = 0.16 \text{ Hz}$, $\omega = 2\pi f = 1$ y $\log(2\pi f) = 0$

Entonces $\log Z = -\log C$ cuando $f = 0.16 \text{ Hz}$ 2.4

O también $Z_{(f=0.16 \text{ Hz})} = 1/C$ 2.5

2.3 Resultados y Discusión

2.3.1 Ácido 4-aminobenzoico

La modificación de electrodos de GC, se efectuó mediante la oxidación del grupo amino del ácido 4-aminobenzoico (PABA), utilizando el procedimiento reportado por Liu y colaboradores.⁵ Se realizaron ciclos consecutivos de barrido de potencial desde 0.8 hasta 1.35 V vs Ag/AgCl, con una rapidez de 20 mV s^{-1} , a electrodos de GC sumergidos en una disolución etanólica 1.5 mM de PABA en LiClO_4 0.1 M. En el panel A de la figura 2.1, se esquematiza el proceso de formación de injertos moleculares sobre superficies. El proceso inicia con la sustracción de un electrón del nitrógeno, para formar un radical catión que al estar en las cercanías de la superficie se une covalentemente a la superficie del GC mientras se elimina un protón de la amina.⁴ Como evidencia experimental del esquema propuesto se presenta los voltamperogramas del panel B de la figura 2.1, donde se observa que, al aumentar el número de barridos, la corriente de pico disminuye. Por ejemplo, al realizar el quinto barrido la corriente ha disminuido alrededor de 45%. Este comportamiento puede atribuirse a la reducción sucesiva de sitios activos en la superficie del

electrodo, por la formación de la capa orgánica de PABA. En este trabajo llamaremos a este proceso *pasivación* del electrodo.

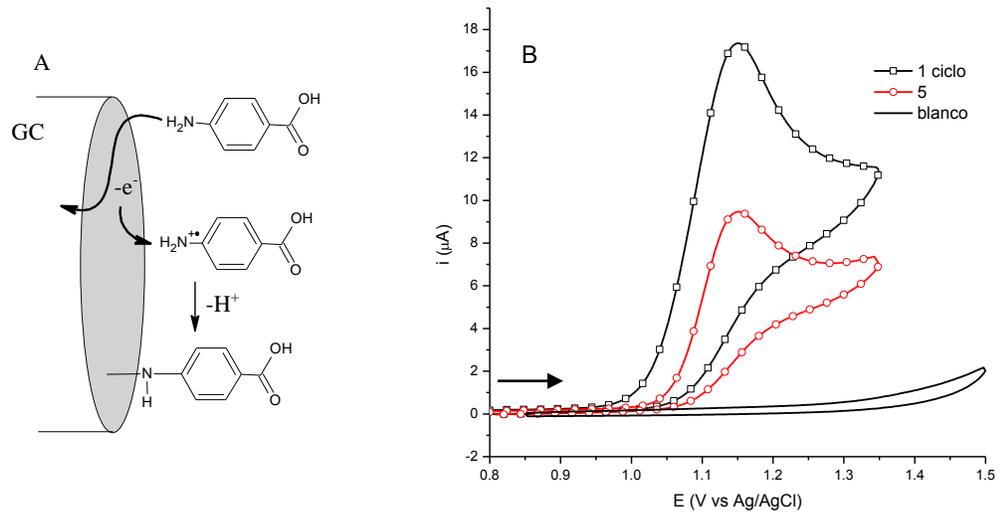


Figura 2.1. A) Esquema de modificación de superficies mediante oxidación de aminas. Adaptado de la referencia 4. B) Diferentes ciclos voltamperométricos de PABA en disolución etanólica 1.5 mM en LiClO₄ 0.1 M, a 20 mV s⁻¹.

Para comprobar la modificación de la superficie de GC, se empleó el par hexacianoferrato de potasio como sonda redox. Se utilizó este complejo puesto que en disolución acuosa la sonda es un anión, y la superficie modificada debe tener grupos carboxilo expuestos a la disolución.

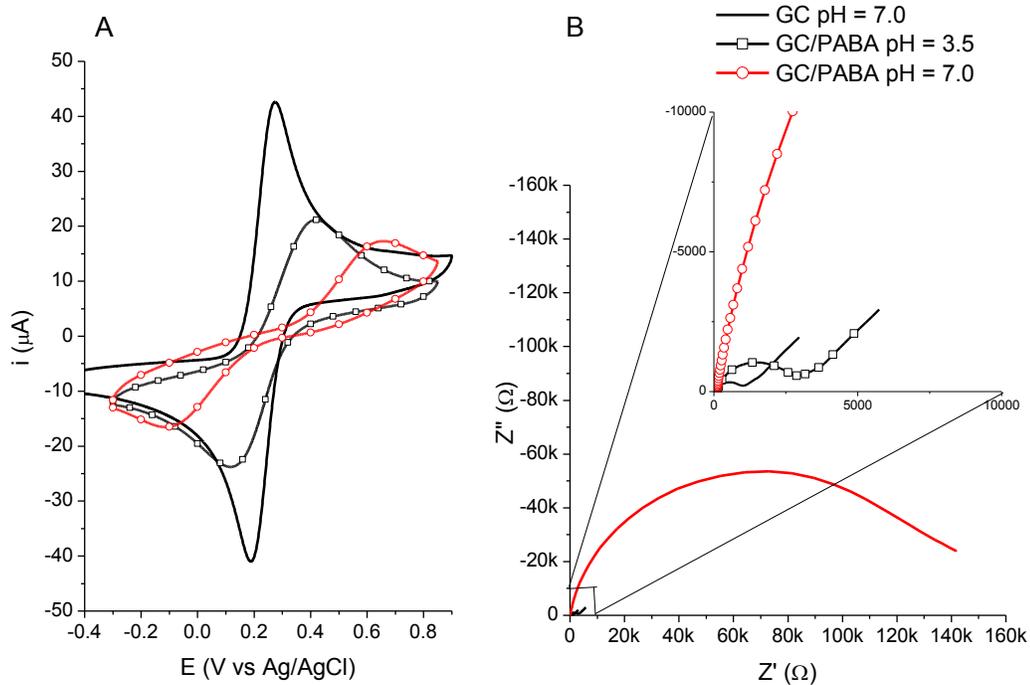


Figura 2.2 Registros del par hexacianoferrato de potasio 1.5 mM sobre superficies GC/PABA a diferentes valores de pH. A) CV, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ b) Diagrama de Nyquist, amplitud 10 mV; rango de frecuencias: $1 < f < 1 \times 10^4 \text{ Hz}$; potencial DC $E_{dc} = E_{ocp}$. En ambos casos se usaron disoluciones de KCl 0.1 M en buffer de fosfatos 40 mM.

A valores de pH superiores al pK_a superficial, los grupos ácidos de las moléculas injertadas se encuentran desprotonados, en forma de carboxilatos, haciendo que la superficie del electrodo esté cargada negativamente, pudiendo repeler a la sonda redox por efectos electrostáticos. Esta hipótesis puede apoyarse en los resultados experimentales presentados en la figura 2.2. En el panel A se observa voltamperogramas obtenidos con GC prístino y superficie GC/PABA, a $pH = 7.0$, la diferencia de potenciales de pico, ΔE_p , cambia de 98 a 784 mV. De manera similar, en los diagramas de Nyquist presentados en el panel B se determinaron valores de resistencia a la transferencia de carga R_{ct} , a $pH = 7.0$, de 9.2×10^2 y $1.3 \times 10^5 \Omega$, para electrodos GC y GC/PABA respectivamente. Este comportamiento indica la presencia de la película orgánica. En la figura 2.2 también se muestran los respectivos registros obtenidos con la superficie GC/PABA a $pH = 3.5$ midiéndose valores de $\Delta E_p = 294$ mV y $R_{ct} = 2.8 \times 10^3 \Omega$, confirmando la presencia de la película de PABA, que le confiere propiedades ácido-base a la nueva superficie. Con este conjunto de experimentos se valida la hipótesis propuesta de repulsión electrostática entre la sonda redox y la superficie

Para encontrar las mejores condiciones experimentales para la modificación de las superficies de GC, se cambió el medio de reacción donde se realizó la oxidación de la amina del PABA, en la tabla 2.1 se detalla la composición de los diferentes medios de reacción empleados en dichos ensayos.

Tabla 2.1. Composición de los diferentes medios de reacción empleados para la modificación de GC con PABA.

Código	Solvente	Electrolito Soporte (0.1 M)
W1	Agua	KCl, pH libre ~5.3
W2	Agua	KCl + NaOH 10 mM
EtOH	Etanol	LiClO ₄
ACN	Acetonitrilo	LiClO ₄

En la figura 2.3 se muestran barridos consecutivos realizados en distintos medios de reacción para la oxidación de PABA sobre superficies de GC. En los paneles A y B se observa claramente que a medida que aumenta el número de barridos, el valor de la corriente de pico disminuye mientras el valor de potencial de pico se desplaza a valores más altos. Este comportamiento es más evidente

en el panel A, donde la desaparición de la señal de oxidación es casi completa cuando se realiza el barrido por tercera vez.

En los paneles C y D de la figura 2.3, se observa que el proceso de oxidación del PABA sucede prácticamente al mismo valor de potencial, 1.22 V vs Ag/AgCl, independientemente del número de barridos o del medio de reacción empleado.

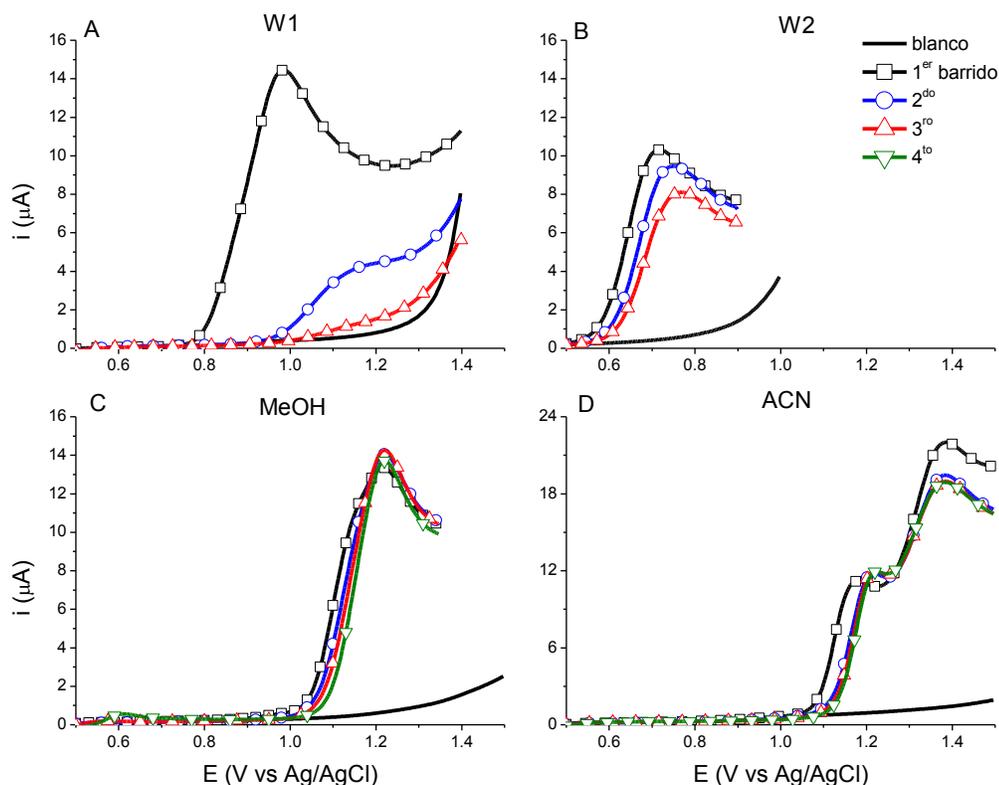


Figura 2.3. Registros sucesivos, de la oxidación de la amina del PABA 1mM sobre GC en diferentes medios de reacción, a una velocidad de barrido de 25 mV s^{-1} . En la tabla 2.1 se detalla la composición de cada medio de reacción.

Con los datos obtenidos de esta serie de experimentos, se concluye que los mejores resultados para modificación de GC se obtienen empleando disoluciones acuosas de PABA en KCl como electrolito soporte a pH libre, (medio de reacción W1).

Una vez que se encontró el mejor medio de reacción para la modificación de los electrodos de GC, se construyeron electrodos GC/PABA para determinar el valor del pK_a superficial. Para ello se usaron voltamperometría de barrido lineal (linear sweep voltammetry, LSV por sus siglas en inglés) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS). Los voltamperogramas se obtuvieron usando una serie de disoluciones de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ a diferentes valores de pH, como los que se muestra en el panel A de la figura 2.4, donde se observa que la corriente de pico cambia en función del pH de la

disolución donde se realizó cada ensayo. Usando los datos de corriente de pico, a continuación se construyó el gráfico i_{pc} vs pH como se observa en la figura 2.5.

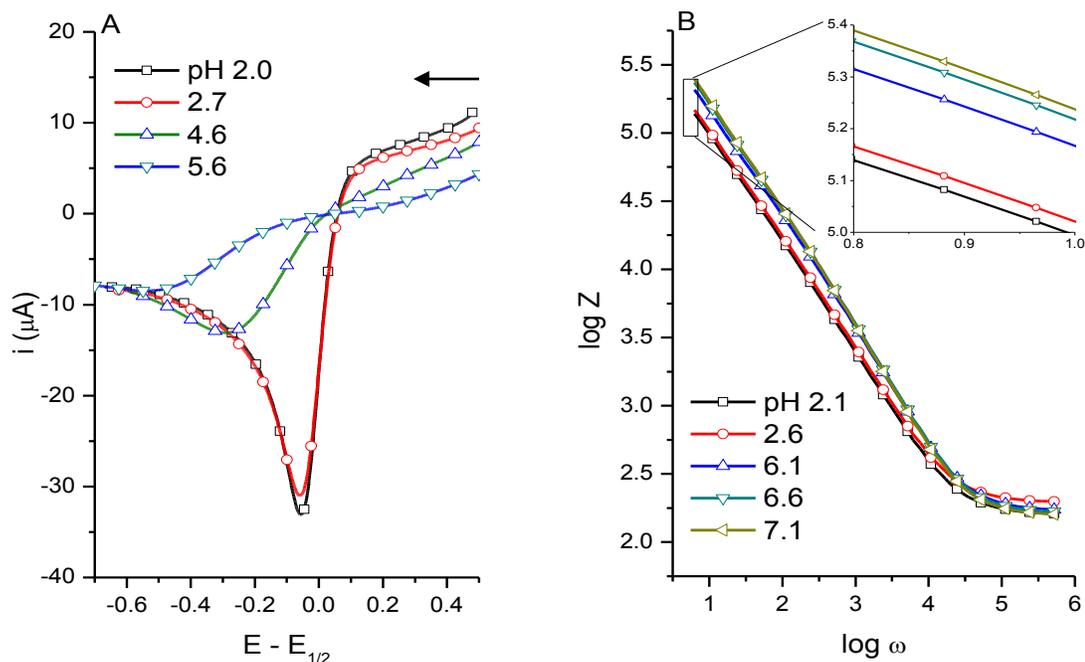


Figura 2.4. A) Voltamperogramas de barrido lineal a diferentes valores de pH, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ usando hexacianoferrato (II/III) de potasio 3 mM en KCl 0.1 M en buffer de fosfatos - acetatos 50 mM; B) Diagrama de Bode, amplitud 10 mV; frecuencia de 1 a 10^4 Hz; $E_{DC} = E_{ocp}$. Se emplearon disoluciones acuosas de KCl 50 mM en buffer de fosfatos-acetatos 25 mM.

Usando EIS se realizaron ensayos con electrodos GC/PABA sumergidos en disoluciones con diferentes valores de pH. Con los datos obtenidos, se construyeron los respectivos diagramas de Bode módulo, como se muestra en el panel B de la figura 2.4, para la determinación del valor de C_{dl} correspondiente a cada valor de pH.

En la figura 2.5 se presenta un gráfico, que presenta una magnitud electroquímica ($i_{p,c}$, C_{dl}), en función del pH; en este manuscrito, a este tipo de representaciones las llamaremos titulaciones.⁶ Los valores de pK_a superficial del electrodo GC/PABA se determinaron ajustando los datos experimentales a la ecuación 1.13. Mediante un ajuste no lineal de mínimos cuadrados, se calcularon valores de pK_a de 3.2 y 3.4 para las técnicas de LSV y EIS, respectivamente. El valor promedio de pK_a obtenido en este trabajo es 3.3 ± 1 , este valor concuerda con el valor reportado por Cheng y colaboradores,⁷ quienes obtuvieron un valor de pK_a superficial de 3.1 para electrodos de carbono vítreo modificados con ácido 4-aminobenzóico.

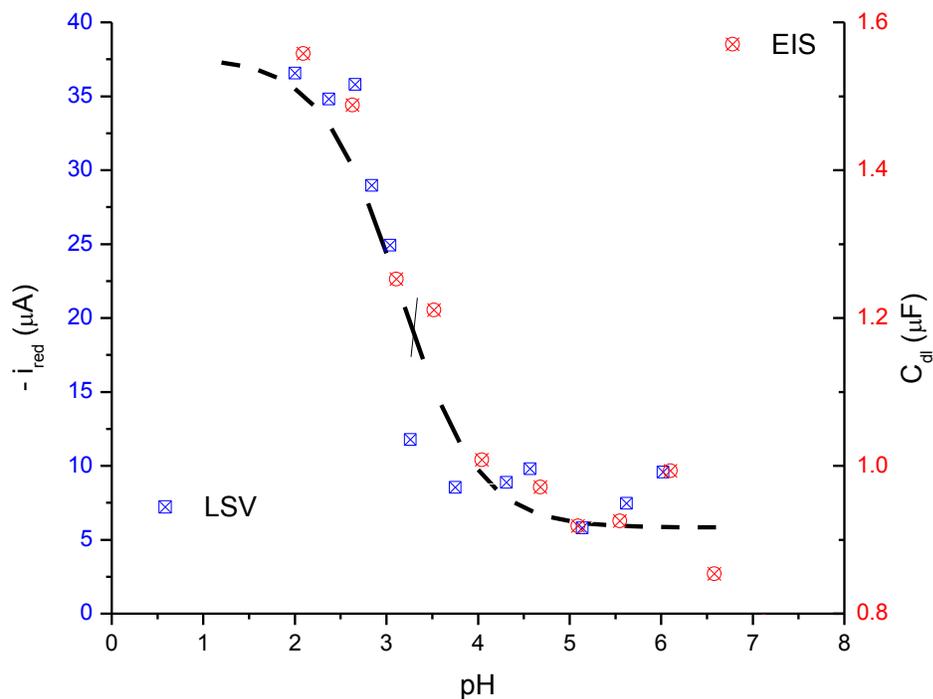


Figura 2.5. Resultados de titulaciones amperométrica (cuadrados azules) e impedimétrica (círculos rojos) usando electrodos GCE/PABA. Los valores presentados son el promedio de 2 electrodos en cada caso.

2.3.2 Dietilentriamina

Se modificaron superficies de GC utilizando dietilentriamina (DTA), mediante la formación de injertos moleculares, según el reporte de Adenier y colaboradores.⁸ La modificación se realizó mediante barridos de potencial en una disolución de DTA 5 mM en acetonitrilo seco con malla molecular 3A, empleando un electrodo de referencia de Ag/Ag^+ , con nitrato de plata en disolución $[Ag^+] = 10$ mM. Los voltamperogramas obtenidos se presentan en la figura 2.6, en el primer barrido se aprecia una señal de oxidación bien definida con $i_{pa} = 142 \mu A$ y $E_{pa} = 0.795$ V vs Ag/Ag^+ . Al realizar el segundo y tercer barrido la señal de oxidación no tiene forma de pico, y el valor de la corriente disminuye cerca de 70 % en el segundo barrido mientras para el tercer barrido es similar al valor de la corriente del blanco. Este comportamiento se puede atribuir a la pasivación de la superficie de GC por la formación de injertos de DTA.

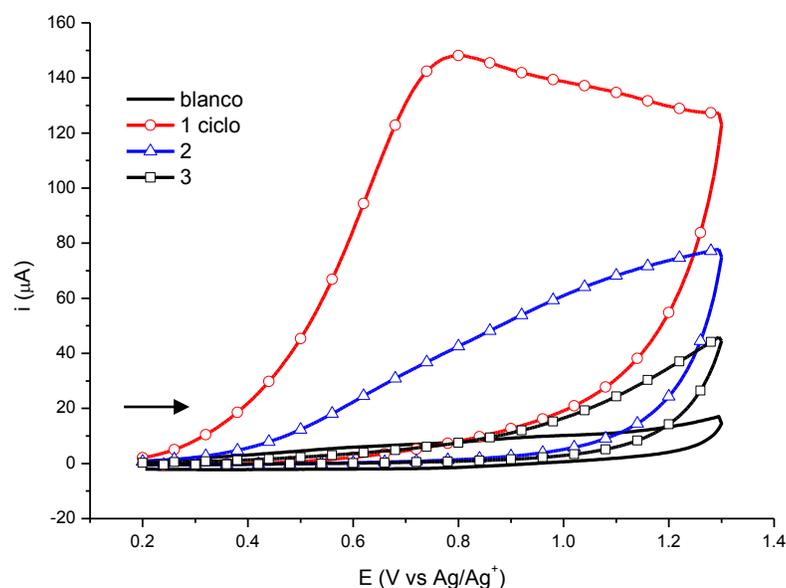


Figura 2.6. Ciclos sucesivos de oxidación de dietiltriethylamina DTA 5 mM en acetonitrilo, sobre electrodos de carbono vítreo, se emplearon disoluciones de NBu_4PF_6 0.1 M y una velocidad de barrido de $\nu = 0.2 \text{ V s}^{-1}$.

En el panel A de la figura 2.7 se comparan los registros de oxidación de DTA, obtenidos sobre diferentes electrodos de carbono limpios. Con estos ensayos se presenta evidencia experimental de la reproducibilidad de la formación de los injertos de DTA sobre electrodos de GC con las condiciones experimentales usadas. En panel B se muestran registros voltamperométricos obtenidos sobre superficies de GC, utilizando concentraciones diferentes de DTA. Con este último ensayo se demuestra que la señal obtenida corresponde al proceso de oxidación de la DTA, puesto que las corriente de pico es directamente proporcional a la concentración de la especie redox, midiéndose valores de 142 y 287 μA para concentraciones de DTA de 5 y 10 mM respectivamente.

2.3.3 Histamina

Utilizando un procedimiento similar al descrito en la sección anterior, se modificaron superficies de carbono con histamina. La modificación se realizó mediante barridos consecutivos, en disoluciones de la amina en acetonitrilo seco con malla molecular 3A y usando como referencia un electrodo de Ag/Ag^+ , $[\text{Ag}^+] = 10 \text{ mM}$.

La formación de injertos de histamina se efectuó sobre dos superficies diferentes, electrodos prístinos de carbono vítreo, GC (ver figura 2.8) y nanotubos de carbono soportados sobre electrodos de carbono vítreo GC/CNT (ver figura 2.9). En ambos casos se utilizaron la misma concentración de histamina.

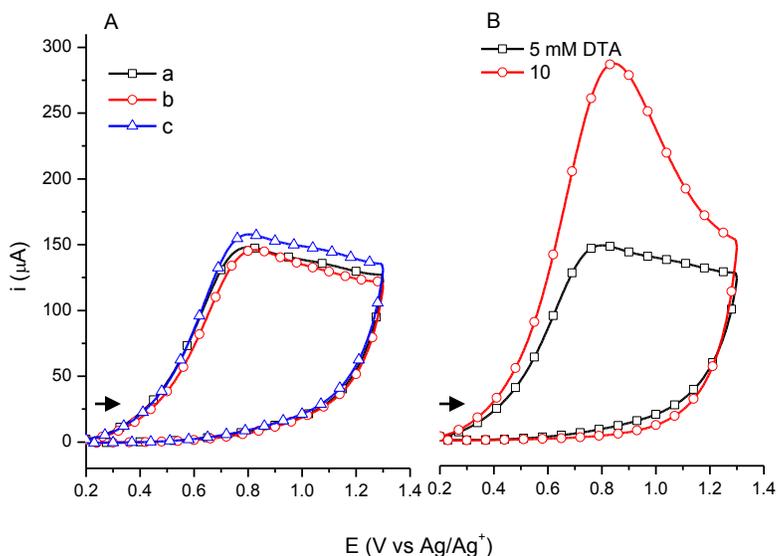


Figura 2.7. A) Señales de oxidación de dietilentriamina sobre diferentes electrodos B) señal de oxidación de DTA a diferentes concentraciones. Datos experimentales iguales a la figura 2.6.

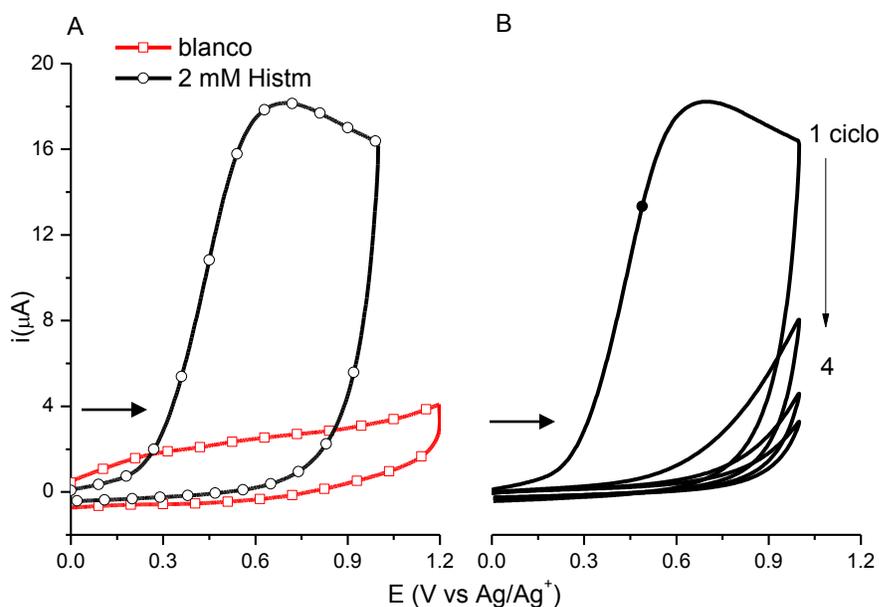


Figura 2.8. A) Señal de oxidación de histamina en acetonitrilo con NBu_4PF_6 0.1 M. B) Modificación de la superficie mediante ciclos sucesivos. En ambos casos se emplearon sobre superficies prístinas de carbono vítreo.

En el panel A de la figura 2.8 se observa una señal correspondiente a la oxidación de histamina sobre GC con $i_p = 16.3 \mu\text{A}$ y $E_p = 0.69 \text{ V vs Ag}/\text{Ag}^+$, mientras que en el panel A de la figura 2.9 se observan dos señales de oxidación sobre GC/CNT, la primera en 0.40 V y la segunda en 0.93 V vs Ag/Ag^+ , con corrientes de pico de 81.9 y 142.1 μA respectivamente. En los paneles B de las figuras

2.8 y 2.9 se presentan voltamperogramas correspondientes a barridos sucesivos de potencial sobre diferentes superficies.

El comportamiento general, mostrado en los voltamperogramas, indica la modificación mediante formación de injertos de histamina sobre las superficies GC y CG/CNT. Se puede resaltar que cuando la histamina se oxida sobre la superficie de nanotubos de carbono (410 mV vs Ag/Ag^+) el potencial de pico de oxidación disminuye alrededor de 280 mV respecto del GC prístino (690 mV vs Ag/Ag^+). Es importante mencionar que sobre las superficies GC/CNT aparece una señal anódica extra a potenciales más altos. Este fenómeno se puede atribuir a oxidación de otra especie redox que se produce debido a la elevada cantidad de sitios activos que tienen los nanotubos de carbono.

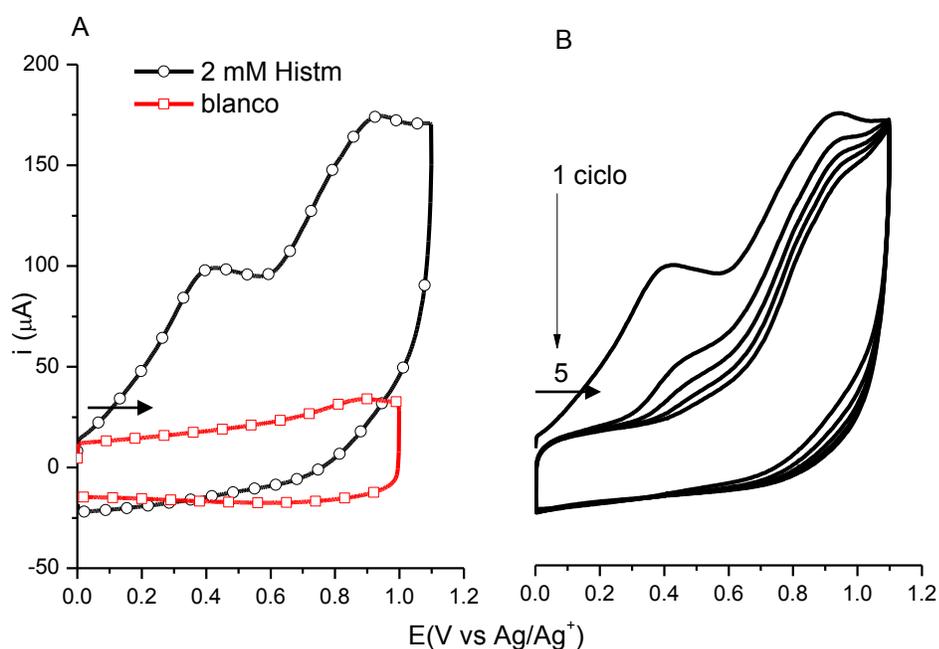


Figura 2.9. A) Señal de oxidación de histamina en acetonitrilo con NBu_4PF_6 0.1 M sobre electrodo GC/CNT. B) Modificación de la superficie mediante ciclos sucesivos.

2.3.4 Dopamina

En otro conjunto de experimentos se modificó la superficie de nanotubos de carbono, soportados sobre electrodos de carbono vítreo (GC/CNT), mediante la oxidación del grupo amino de la dopamina (DA), utilizando barridos de potencial.⁴

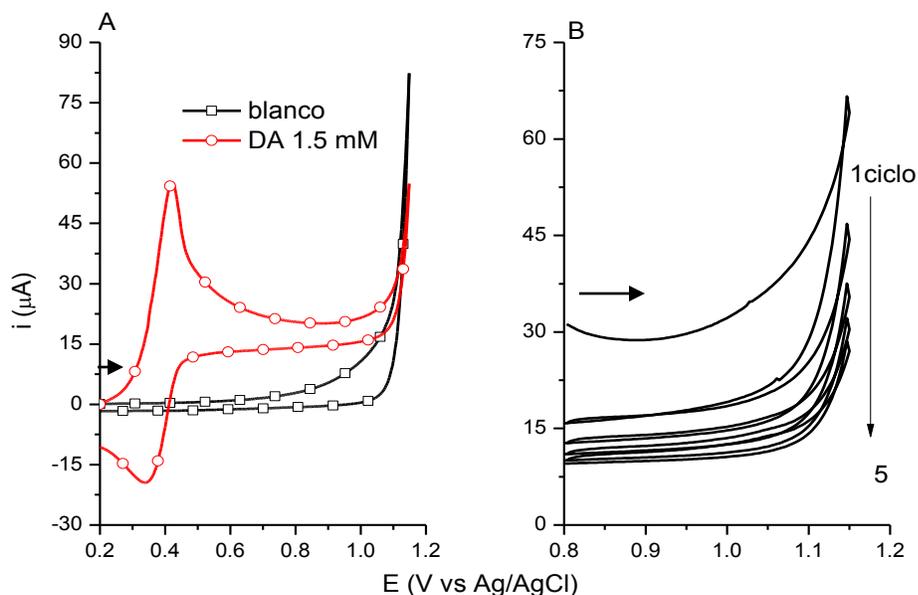


Figura 2.10. A) Señal de oxidación de dopamina (DA) en disolución acuosa en KCl 0.1M, sobre electrodos GC/CNT. Con una velocidad $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$. B) Modificación de la superficie GC/CNT mediante ciclos sucesivos.

En el panel A de la figura 2.10 se muestra un voltamperograma correspondiente a la oxidación de DA en medio acuoso a pH libre con KCl 0.1 M como electrolito soporte. En este registro se observa un pico de oxidación de la DA a dopaminoquinona (DQ) $i_{pa} = 46.4 \mu\text{A}$ a 0.45 V vs Ag/AgCl, el correspondiente pico de reducción de DQ a DA se observa a 0.38 V vs Ag/AgCl con una magnitud de 31.8 μA . En esta figura también se observa el límite superior de potencial de la ventana de electroactividad en 1.2 V vs Ag/AgCl. En el panel B de la figura 2.10 se presenta voltamperogramas correspondientes a barridos sucesivos y como ya se ha presentado con anteriores moléculas, mientras el número de barridos aumenta, el valor de la corriente disminuye, indicando que la superficie se pasiva a medida que el número de ciclos aumenta.

La caracterización electroquímica de los electrodos GC/CNT/DA es sencilla, debido a la electroactividad del grupo catecol. Después de formarse el injerto molecular, los electrodos se enjuagaron y se sumergieron en una disolución acuosa de HCl 0.1 M. En esas disoluciones se realizaron barridos potenciodinámicos, y los respectivos voltamperogramas se presentan en los paneles B y C de figura 2.11.

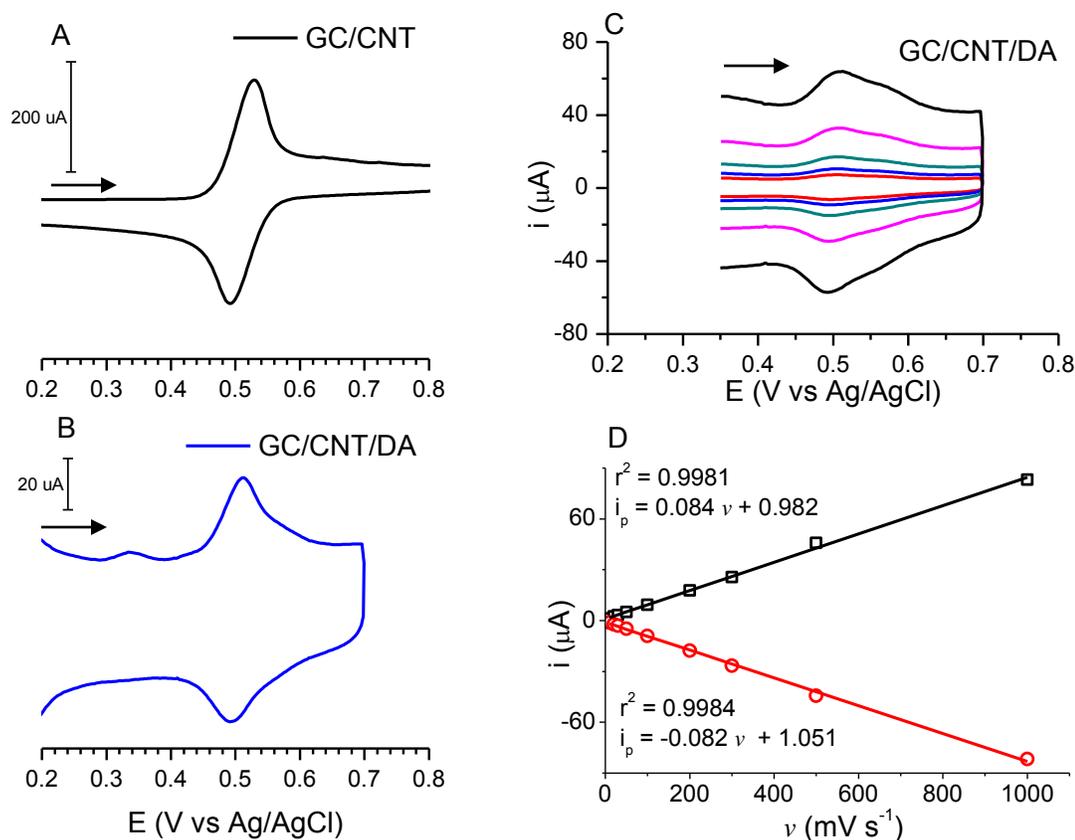


Figura 2.11. A) CV de dopamina 1.5 mM en disolución sobre electrodos GC/CNT. B) Electrodo modificado GC/CNT/DA C) Familia de CV a diferentes velocidades de barrido con electrodo GC/CNT/DA. D) Gráfica de la corriente de pico vs la velocidad de barrido. En todos los casos se usaron disoluciones de HCl 0.1 M.

En el panel A de la figura 2.11 se presenta un CV obtenido con DA en disolución acuosa sobre electrodos GC/CNT, la diferencia de potenciales de pico es de 36 mV (528-492 mV). Los picos del voltamperograma obtenido con el electrodo GC/CNT/DA, (ver panel B), son bastante simétricos y los valores de potencial de pico son prácticamente los obtenidos con dopamina en disolución acuosa, $E_{pc} = 0.49$ y $E_{pa} = 0.51$ V vs Ag/AgCl. Estos resultados sugieren que la molécula de dopamina se encuentra inmovilizada sobre la superficie del electrodo. Para comprobar esta hipótesis, se obtuvo una familia de voltamperogramas a diferentes velocidades de barrido, que se presenta en el panel C de la figura 2.11. En el panel D de esta figura, se presenta el valor de la corriente de pico en función del valor de la velocidad de barrido, se observa una relación directamente proporcional entre i_p y ν . La dependencia lineal entre la velocidad de barrido y la corriente de pico se observa en sistemas donde la especie electroactiva no depende del transporte de materia,⁹ confirmando que existen moléculas de DA inmovilizadas sobre la superficie del electrodo GC/CNT.

2.4 Conclusiones

En el presente capítulo se presentan voltamperogramas donde se observa la construcción y caracterización de varias plataformas usando la oxidación de aminas como estrategia de preparación, sobre superficies de carbono vítreo de injertaron ácido 4-aminobenzoico, dietilentriamina e histamina. Se estudiaron las propiedades ácido-base de la superficie GC/PABA, usando voltamperometría cíclica con el par hexacianoferrato potasio como sonda redox y espectroscopía de impedancia electroquímica, calculándose un valor de pK_a superficial de 3.3 ± 1 .

Utilizando la oxidación de aminas se modificaron nanotubos de carbono, con histamina y dopamina. La inmovilización de las moléculas de dopamina sobre los electrodos GC/CNT se caracterizó electroquímicamente usando las propiedades redox del grupo catecol en medio ácido.

2.5 Referencias

- (1) Downard, A. J. Electrochemically Assisted Covalent Modification of Carbon Electrodes. *Electroanalysis* **2000**, *12* (14), 1085–1096.
- (2) McCreery, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (7), 2646–2687.
- (3) Barbier, B. Electrochemical Bonding of Amines to Carbon Fiber Surfaces Toward Improved Carbon-Epoxy Composites. *J. Electrochem. Soc.* **1990**, *137* (6), 1757.
- (4) Deinhammer, R. S.; Ho, M.; Andregg, J. W.; Porter, M. D. Electrochemical Oxidation of Amine-Containing Compounds: A Route to the Surface Modification of Glassy Carbon Electrodes. *Langmuir* **1994**, *10* (4), 1306–1313.
- (5) Liu, J.; Cheng, L.; Liu, B.; Dong, S. Covalent Modification of a Glassy Carbon Surface by 4-Aminobenzoic Acid and Its Application in Fabrication of a Polyoxometalates-Consisting Monolayer and Multilayer Films. *Langmuir* **2000**, *16* (19), 7471–7476.
- (6) Zhao, J.; Luo, L.; Yang, X.; Wang, E.; Dong, S. Determination of Surface pK_a of SAM Using an Electrochemical Titration Method. *Electroanalysis* **1999**, *11* (15), 1108–1113.
- (7) Cheng, L.; Liu, J.; Dong, S. Layer-by-Layer Assembly of Multilayer Films Consisting of Silicotungstate and a Cationic Redox Polymer on 4-Aminobenzoic Acid Modified Glassy Carbon Electrode and Their Electrocatalytic Effects. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *417* (2), 133–142.
- (8) Adenier, A.; Chehimi, M. M.; Gallardo, I.; Pinson, J.; Vilà, N. Electrochemical Oxidation of Aliphatic Amines and Their Attachment to Carbon and Metal Surfaces. *Langmuir* **2004**, *20* (19), 8243–8253.
- (9) Savéant, J.-M. *Elements of Molecular and Biomolecular Electrochemistry: An Electrochemical Approach to Electron Transfer Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2006**.

3 CAPÍTULO III. REDUCCION DE CATIONES DIAZONIO

3.1 Antecedentes

En 1992 Delamar, Savéant y colaboradores,¹ presentaron un trabajo donde demostraron que la reducción de cationes diazonio sobre electrodos de carbono vítreo, da lugar a la formación de una capa orgánica fuertemente adherida a la superficie del electrodo. En la reacción se intercambia un electrón desde el electrodo al catión diazonio, formándose un catión radical, que después libera una molécula de nitrógeno para generar el respectivo radical arilo, el que finalmente se enlaza con la superficie del electrodo, como se esquematiza en el panel A de la figura 3.1. Usando la reducción de cationes diazonio, se ha reportado la modificación varios materiales carbonáceos tales como: carbono vítreo (GC), fibras de carbono,² electrodos serigrafiados de grafito,³ diamante dopado con boro,⁴ nanotubos de carbono,⁵ grafeno,⁶ oro,⁷ cobre,⁸ y semiconductores como el óxido de indio y estaño.⁹ Mucho del trabajo reportado respecto de este método de modificación de superficies, se ha realizado en medios no acuosos, aunque también hay reportes donde se usan disoluciones acuosas acidas de ácido sulfúrico o clorhídrico ($\text{pH} < 2$).¹⁰

En este capítulo se investiga la modificación de electrodos modificados mediante la reducción de cationes arildiazonio sintetizados *in-situ*, para establecer una metodología experimental de modificación. La caracterización de las superficies obtenidas se realiza utilizando 1-4, benzoquinona como sonda redox, en medio no acuoso.

3.2 Parte Experimental

3.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se adquirieron en Sigma Aldrich: Ácido 4-aminobenzoico (PABA), 4-nitroanilina (NAn), 1,4-benzoquinona (Q), clorato de tetrabutilamónio (NBu_4ClO_4) y cloruro de potasio. Los reactivos detallados a continuación de obtuvieron de J.T. Baker: fenol, nitrito de sodio, hexacianoferrato(II) y hexacianoferrato(III) de potasio, dihidrógeno fosfato de potasio, monohidrógenofosfato de potasio, ácido clorhídrico, ácido perclórico, dimetilsulfoxido (DMSO).

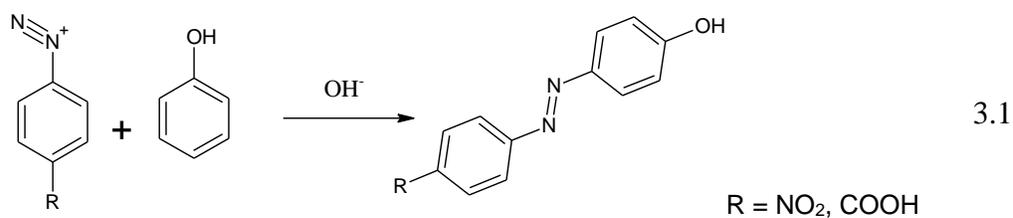
Los experimentos voltamperométricos (CV), y de espectroscopía de impedancia (EIS) se hicieron usando un potenciostato CH Instruments, modelo CHI 920C, con una celda de tres electrodos. Se usaron electrodos de carbono vítreo (3 mm de diámetro, CH Instruments) como electrodo de

trabajo, un alambre de platino 0.5 mm diámetro y 12 cm de longitud como electrodo auxiliar y un electrodo de Ag/AgCl (3 M KCl) como referencia.

3.2.2 Modificación de la superficie

Se inició con la síntesis de los iones diazonio, usando disoluciones acuosas del precursor, PABA o NAn, en ácido perclórico o clorhídrico en una concentración 0.1 M. Estas disoluciones se enfriaron a 0 °C por 15 minutos, para después agregar a la disolución de precursor, suficiente nitrito de sodio para obtener una concentración de nitrito igual a 10 mM. La reacción de diazotación ocurre rápidamente y solo se dejó reposar 5 minutos antes de emplear la disolución final como medio de reacción en la celda electroquímica. Se aplicaron barridos de potencial para formar el injerto molecular sobre los diferentes electrodos.

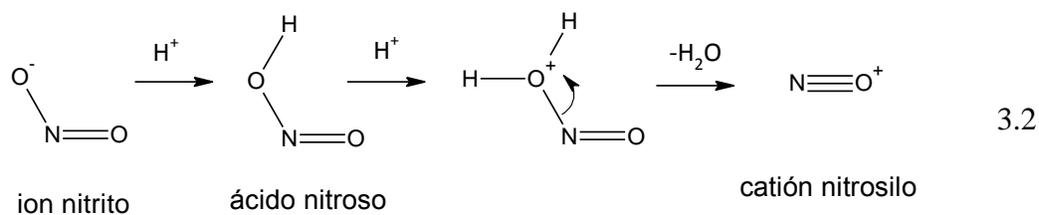
La formación del correspondiente catión arildiazonio se verificó rápidamente, utilizando una reacción de acoplamiento con fenol o catecol. El producto del acoplamiento se aprecia fácilmente por la coloración que tiene la disolución, debido a la formación del correspondiente colorante azoico, como se detalla en la ecuación 3.1. La reacción de acoplamiento se hizo en disoluciones acuosas básicas con valores de pH mayor a 10.



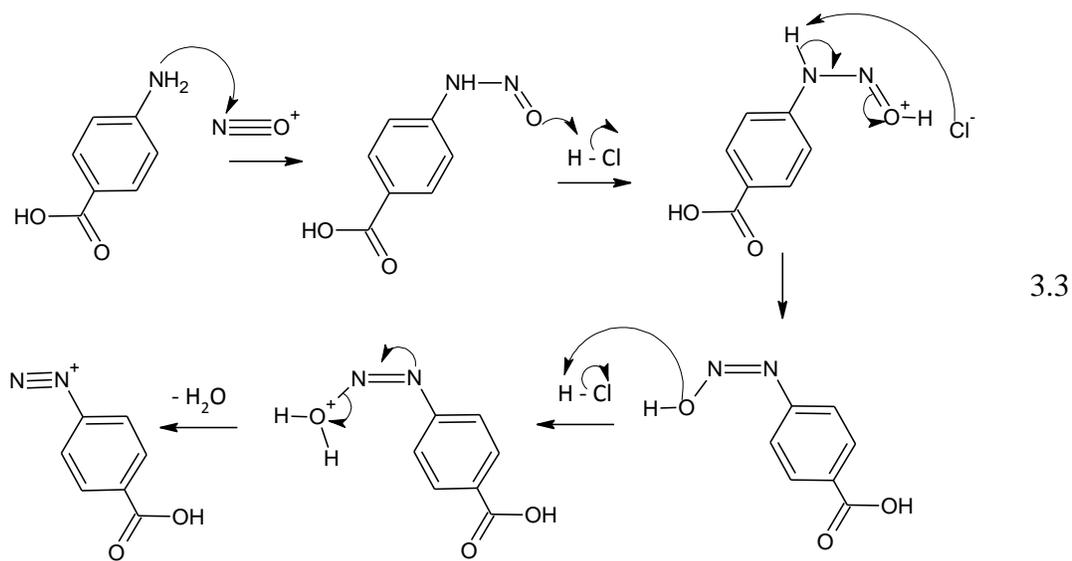
3.3 Resultados y Discusión

3.3.1 Ácido 4-aminobenzoico

La síntesis del catión diazonio se realizó *in-situ* debido a la solubilidad de reactivos empleados y la facilidad experimental, puesto que al usar esta estrategia no se requiere purificación o almacenamiento de la sal de diazonio, que es muy inestable. Para la reacción de diazotización se requiere del catión nitrosilo NO⁺, que puede obtenerse en disolución a partir de nitrito de sodio NaNO₂ en medio ácido como se detalla en la ecuación 3.2.



La reacción entre el ácido 4-aminobenzoico, que es una arilamina primaria, y el catión nitrosilo produce el respectivo ion diazonio, como se detalla en la ecuación 3.3 que describe el mecanismo de la reacción de diazotización.¹¹



El proceso formación de injertos moleculares se llevó a cabo usando disoluciones acuosas de ácido perclórico 0.1 M. El panel B de la figura 3.1 se presenta registros consecutivos de voltamperometría de barrido lineal (LSV). En la señal correspondiente al primer barrido, se aprecia un pico bien definido que corresponde a la reducción del catión diazonio a 0.22 V vs Ag/AgCl con $i_{pc} = 13.3 \mu\text{A}$. En los siguientes barridos de reducción la señal en forma de pico desaparece, indicando la adsorción de los radicales formados sobre la superficie de GC y la consecuente pasivación del electrodo.

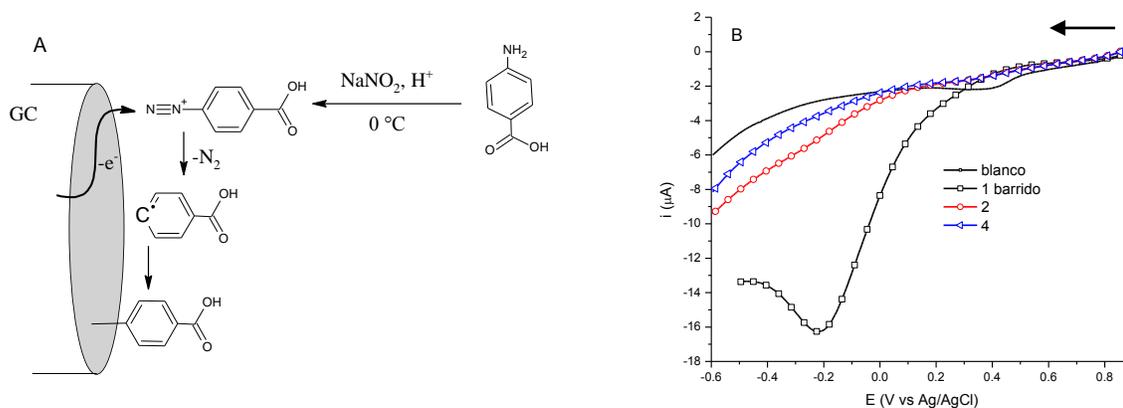


Figura 3.1. A) Esquema de la modificación de superficies mediante reducción del catión diazonio sintetizado *in-situ* a partir de ácido 4-aminobenzoico en disolución. B) Señales de reducción del ion 4-carboxibenzenodiazonio, 5 mM en HClO_4 0.1 M, a una velocidad de barrido de $\nu = 0.2 \text{ V s}^{-1}$.

Los electrodos modificados GC/PABA_r se caracterizaron usando disoluciones de 1,4-benzoquinona (Q) en dimetilsulfóxido (DMSO). Se decidió usar esta sonda redox para atenuar o eliminar los efectos de repulsión electrostática entre la superficie modificada y la sonda. En el panel A de la figura 3.2 se presenta un voltamperograma típico de Q en NBu_4ClO_4 0.1 M, donde se observan dos señales redox consecutivas, de intercambio monoelectrónico cada una. El primer proceso redox, donde se forma el anión semiquinona (Q^\cdot , $E_{1/2} = -0.68 \text{ V vs Ag/Ag}^+$) es reversible, mientras que el segundo intercambio electrónico, donde se forma el dianión quinona (Q^{2-} , $E_{1/2} = -1.06 \text{ V vs Ag/Ag}^+$) es quasireversible.¹² El gráfico de las corrientes de pico correspondientes del primer proceso redox ($\text{Q}-\text{Q}^\cdot$), en función de la velocidad de barrido tiene una dependencia lineal con la raíz cuadrada de esta magnitud, indicando que es un proceso controlado por difusión, como se muestra en el panel B de la figura 3.2. Este gráfico se construyó haciendo barridos de potencial que inician y terminan en -0.3 V con un potencial de inversión de 0.9 V vs Ag/Ag^+ , similares a los presentados en el panel A de la figura 3.3.

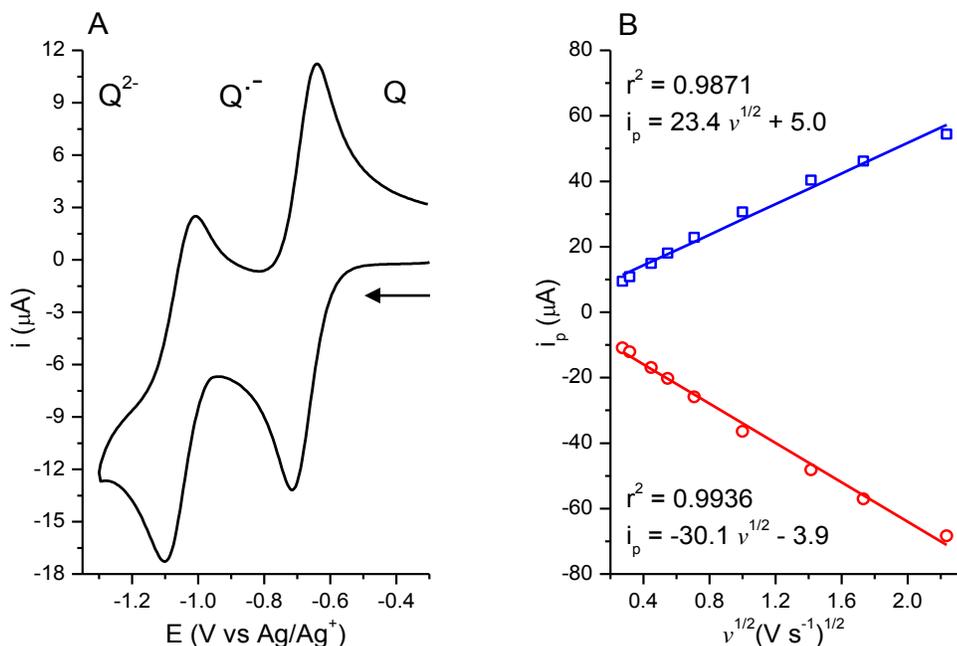


Figura 3.2 A) CV de 1,4 benzoquinona 1 mM en DMSO con NBu_4ClO_4 0.1 M sobre electrodos de carbono vítreo $v = 0.1 \text{ V s}^{-1}$. B) Corrientes de pico del primer proceso redox correspondiente a quinona- anion semiquinona a diferentes velocidades de barrido.

En el panel A de la figura 3.3 se muestran voltamperogramas de Q obtenidos sobre electrodos de GC antes, línea de color negro, y después de la modificación, línea de color rojo. En estos registros se observa un desplazamiento de la señal obtenida sobre GC/PABA, $E_{1/2,\text{GC}} - E_{1/2,\text{GC/PABA}} = 30 \text{ mV}$, que se atribuye a la presencia de la película orgánica inmovilizada. La película limita la transferencia electrónica entre la Q y el electrodo aumentando el valor de sobre potencial se debe suministrar para que el intercambio electrónico se realice. En el panel B de la figura 3.3, se presentan diagramas de Nyquist correspondientes a la caracterización de los electrodos GC/PABA usando EIS. En el diagrama correspondiente a la superficie con la película de PABA inmovilizada se observan dos semicírculos, a diferencia de lo que se observa en el caso del electrodo de GC.

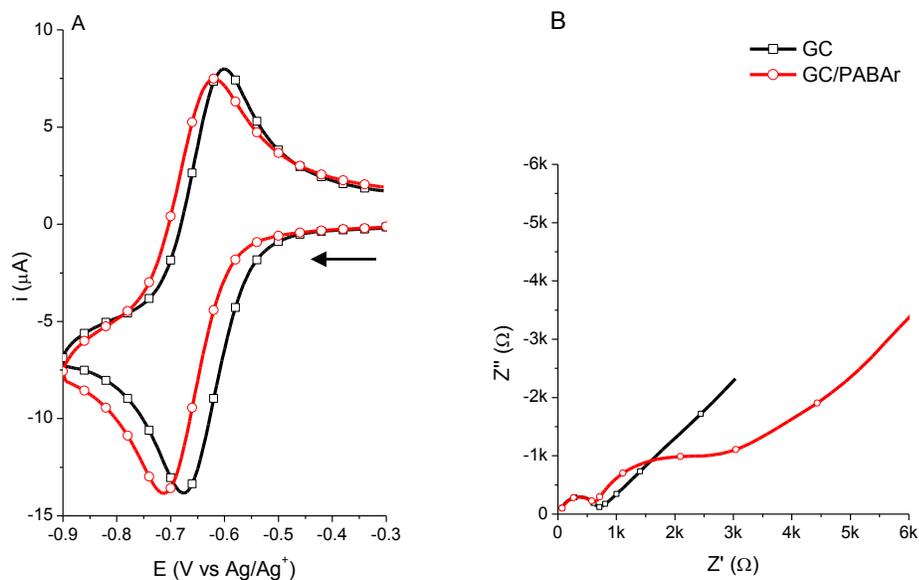


Figura 3.3. A) Registros electroquímicos de 1,4-benzoquinina, 1 mM en DMSO con NBu_4ClO_4 0.1M sobre diferentes superficies. A) CV $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. B) Diagrama de Nyquist, $f = 1-1 \times 10^6$, $E = -0.65 \text{ V vs Ag}/\text{Ag}^+$, amplitud = 5 mV.

Los datos experimentales de EIS obtenidos sobre GC prístino, (panel B, figura 3.3) se ajustaron usando el circuito mostrado en el panel A de la figura 3.4 donde: R_s es la resistencia de la disolución, R_{ct} la resistencia a la transferencia de carga, C_{dl} la capacitancia de la doble capa, W la impedancia de Warburg. Mientras que los datos de EIS sobre la superficie modificada GC/PABA se ajustaron al circuito mostrado en el panel B de la figura 3.4.

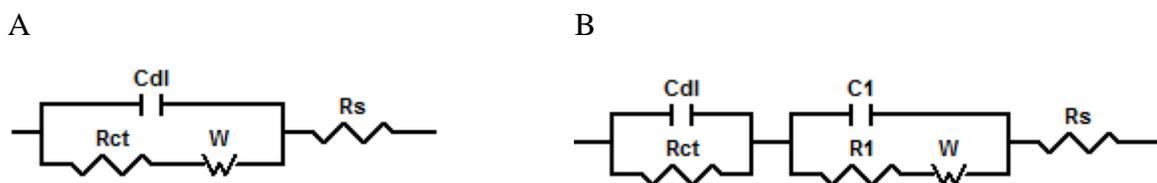


Figura 3.4. Circuitos equivalentes usados para ajustar los espectros de impedancia de la figura 3.3 A) carbono vítreo prístino. B) GC/PABA

En el circuito equivalente B de la figura 3.4, se modelan dos arreglos resistor-capacitor en paralelo, que se encuentran en serie uno del otro, el primer arreglo, $R_{ct}C_{dl}$, representa la superficie del GC prístino, en tanto que el segundo arreglo, R_1C_1 , modela la película constituida de moléculas PABA, covalentemente adsorbidas sobre la superficie del electrodo. Los valores de estas magnitudes se detallan en la tabla 3.1. χ^2 es el cuadrado de la desviación estándar entre los datos experimentales y los datos calculados con el modelo de circuito equivalente. Este valor se emplea como una medida de la calidad de ajuste realizado.

Tabla 3.1 Valores de resistencia y capacitancia, obtenidos mediante ajuste no lineal de los datos presentados en el panel B la figura 3.3

Superficie	χ^2	Rs (Ω)	Cdl (nF)	Rct (Ω)	C1 (μ F)	R1 (Ω)
GC	0.00073	57	18.7	583	-	-
GC/PABAr	0.00048	61	21.0	534	3.07	2088

Usando un procedimiento similar al descrito en el apartado 3.3.1, se formaron películas orgánicas de 4-nitroanilina (NAn) sobre electrodos de GC.

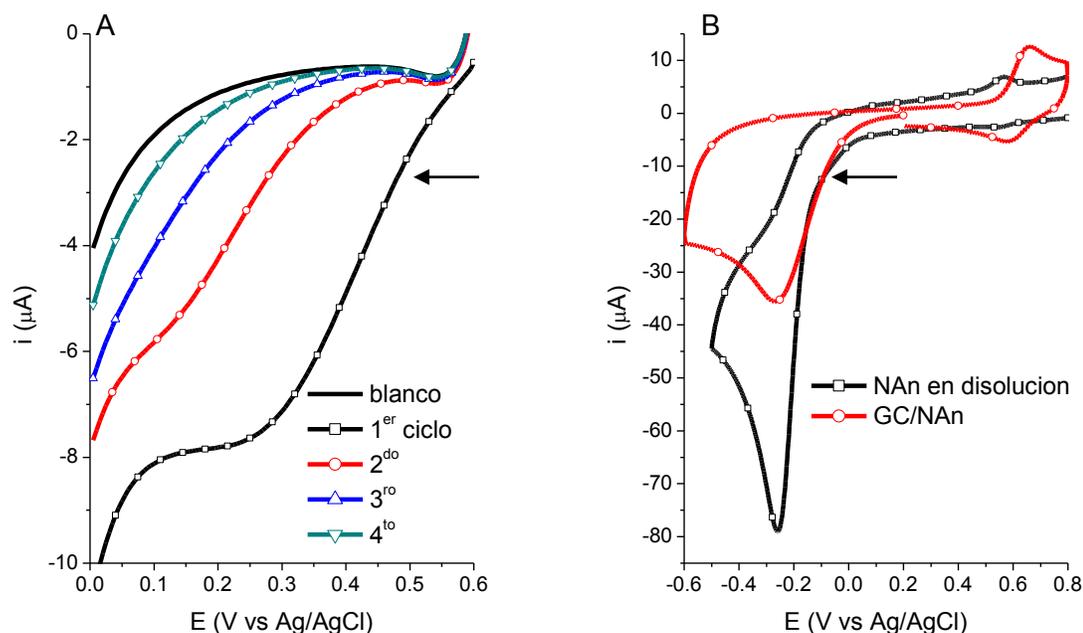


Figura 3.5. A) Señales de reducción del ion 4-carboxibencenodiazonio, 0.4 mM en HCl 0.1 M. B) Registros de CV comparando el comportamiento de la 4-nitroanilina en disolución acuosa e inmovilizada sobre superficies de carbono vítreo. En ambos casos se usó una velocidad de barrido de $\nu = 0.1 \text{ V s}^{-1}$.

Se sintetizó el catión 4-nitrobencenodiazonio en HCl 0.1 M con nitrito de sodio. La disolución se transfirió a una celda electroquímica donde se realizaron varios barridos desde 0.6 hasta 0.0 V vs Ag/AgCl, a 100 mV s^{-1} , que se presentan en el panel A de la figura 3.5. En el primer barrido se aprecia una señal de reducción con $E_p = 0.26 \text{ V vs Ag/AgCl}$; en los siguientes barridos se aprecia la disminución de la corriente de pico a medida que el número de barridos aumenta, indicando la pasivación de la superficie.

Una característica interesante del electrodo GC/NAn, es que puede caracterizarse fácilmente usando voltamperometría cíclica puesto que los grupos nitrofenilo inmovilizados sobre GC, tienen

actividad redox. Después de modificar las superficies mediante la reducción del catión diazonio, los electrodos se enjuagaron con abundante agua y se sumergieron en una celda que contenía disolución acuosa de HCl 0.1 M, para caracterizar con CV el electrodo modificada. En el panel B de la figura 3.5, se presentan dos registros de CV, comparando el comportamiento de la 4-nitroanilina en disolución acuosa 0.5 mM (línea negra) con la respuesta obtenida con el electrodo modificado GC/NAn, (línea roja).

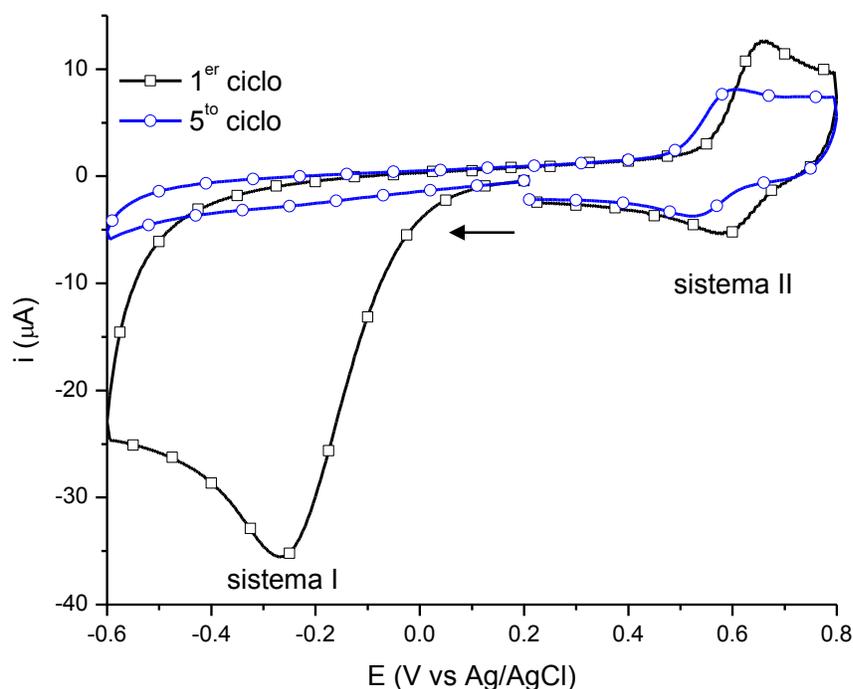
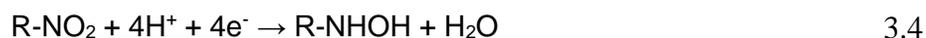


Figura 3.6 Voltamperogramas correspondientes a diferente número de barrido de la superficie GC/NAn en disoluciones acuosas de HCl 0.1 M, a una velocidad de barrido de $\nu = 0.1 \text{ V s}^{-1}$.

En ambos registros se observan señales catódicas con el mismo $E_{pc} = -0.25 \text{ V vs Ag/AgCl}$. Estas señales corresponden a la reducción irreversible de los grupos nitro según el esquema 3.7, que indican la obtención de injerto de la 4-nitroanilina sobre GC. La diferencia en las corrientes de pico, $78 \mu\text{A}$ para NAn y $34 \mu\text{A}$ para GC/NAn se debe a la diferente cantidad de grupos nitro reducidos en cada ensayo. En los voltamperogramas obtenidos con electrodos GC/NAn en medio ácido, se observa además otro sistema redox, como se puede observar en la figura 3.6. El sistema etiquetado como I, corresponde a la reducción irreversible del grupo nitro a hidroxilamina,¹³ intercambiando 4 electrones y 4 protones, como se describe en la ecuación 3.4.



La señal etiquetada como sistema II en la figura 3.6 corresponde al par redox nitroso/hidroxilamina, según lo reportado por Heald y colaboradores.¹⁴ En este sistema se intercambian dos electrones y dos protones como se describe en la ecuación 3.5, observándose una señal reversible a un potencial $E_{1/2} = 0.6 \text{ V vs Ag/AgCl}$.



Después de varios ciclos de óxido-reducción se establece un estado estacionario en el proceso de intercambio electrónico, en el sistema II (nitroso/hidroxilamina), donde las corrientes y los potenciales de pico ya no cambian. El mecanismo de la reacción de reducción de los grupos nitro sobre la superficie del electrodo modificado, se presenta esquemáticamente en la figura 3.7.

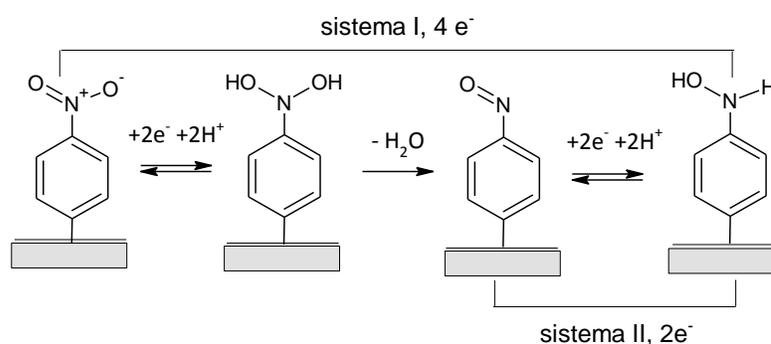


Figura 3.7 Esquema de reacción para la reducción de los grupos nitro del GC/NAn en medio ácido.

Empleando la reducción de cationes aril diazonio, modificaron las superficies de nanotubos de carbono soportados en electrodos de carbono vítreo (GC/CNT). En la figura 3.8, se observan los registros de CV correspondientes a reacciones redox de la NAn injertada en distintos sustratos. Como se observa en la figura 3.8, el valor de potencial de pico del proceso de reducción de los grupos nitro en cada sustrato es similar, determinándose un valor de alrededor de $-0.3 \text{ V vs Ag/AgCl}$, con i_{pc} de $35.2 \mu\text{A}$ para GC/NAn, $832.2 \mu\text{A}$ para GC/CNT/NAn. La marcada diferencia en las corrientes de pico se atribuye a la diferencia en áreas electroactivas, con nanotubos de carbono el área es mucho más grande. En general, las señales de óxido-reducción obtenidas sobre las dos diferentes superficies son similares en forma, por lo que se concluye que se consiguió modificar la superficie de nanotubos de carbono, (GC/CNT).

En ambos registros se observan señales catódicas con el mismo $E_{pc} = -0.25$ V vs Ag/AgCl. Estas señales corresponden a la reducción irreversible de los grupos nitro según el esquema 3.7, que indican la obtención de injerto de la 4-nitroanilina sobre GC. La diferencia en las corrientes de pico, $78 \mu\text{A}$ para NAn y $34 \mu\text{A}$ para GC/NAn se debe a la diferente cantidad de grupos nitro reducidos en cada ensayo.

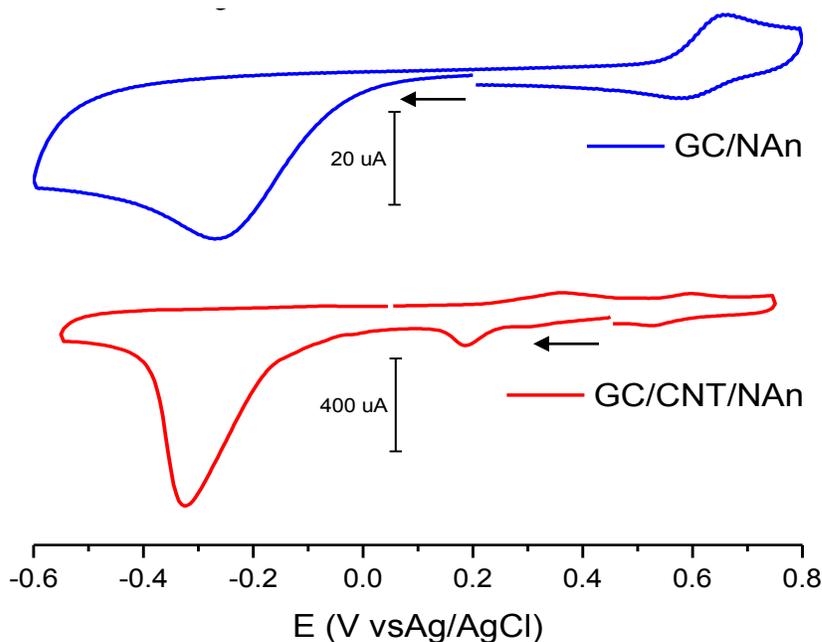


Figura 3.8. Señales de CV de 4-nitroanilina inmovilizada sobre diferentes superficies. GC = carbono vítreo, CNT = nanotubos de carbono.

3.4 Conclusiones

Se inmovilizaron covalentemente moléculas de ácido 4-aminobenzoico y 4-nitroanilina sobre superficies de carbono vítreo y nanotubos de carbono. Se establecieron las ventanas de electroactividad adecuadas para la reducción de cationes arildiazonio en disoluciones acuosa. Las superficies GC/PABAr se caracterizaron utilizando disoluciones de 1,4-benzoquinona en dimetilsulfóxido. Los datos de voltamperometría y de impedancia conforman la presencia de injertos moleculares que bloquean la superficie aumentando el sobrepotencial de la reducción de 1,4-benzoquinona. Los electrodos GC/NAn se caracterizaron fácilmente utilizando las propiedades redox del grupo nitrofenilo inmovilizado sobre superficies de carbono vítreo y nanotubos .

3.5 Referencias

- (1) Delamar, M.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Saveant, J. M. Covalent Modification of Carbon Surfaces by Grafting of Functionalized Aryl Radicals Produced from Electrochemical Reduction of Diazonium Salts. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114* (14), 5883–5884.
- (2) Delamar, M.; Désarmot, G.; Fagebaume, O.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Savéant, J.-M. Modification of Carbon Fiber Surfaces by Electrochemical Reduction of Aryl Diazonium Salts: Application to Carbon Epoxy Composites. *Carbon* **1997**, *35* (6), 801–807.
- (3) Dequaire, M.; Degrand, C.; Limoges, B. Biotinylation of Screen-Printed Carbon Electrodes through the Electrochemical Reduction of the Diazonium Salt of P-Aminobenzoyl Biocytin. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (29), 6946–6947.
- (4) Kuo, T.-C. Electrochemical Modification of Boron-Doped Chemical Vapor Deposited Diamond Surfaces with Covalently Bonded Monolayers. *Electrochem. Solid-State Lett.* **1999**, *2* (6), 288.
- (5) Bahr, J. L.; Yang, J.; Kosynkin, D. V.; Bronikowski, M. J.; Smalley, R. E.; Tour, J. M. Functionalization of Carbon Nanotubes by Electrochemical Reduction of Aryl Diazonium Salts: A Bucky Paper Electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (27), 6536–6542.
- (6) Qiu, Z.; Yu, J.; Yan, P.; Wang, Z.; Wan, Q.; Yang, N. Electrochemical Grafting of Graphene Nano Platelets with Aryl Diazonium Salts. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8* (42), 28291–28298.
- (7) Laforgue, A.; Addou, T.; Bélanger, D. Characterization of the Deposition of Organic Molecules at the Surface of Gold by the Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Cations. *Langmuir* **2005**, *21* (15), 6855–6865.
- (8) Chamoulaud, G.; Bélanger, D. Spontaneous Derivatization of a Copper Electrode with in Situ Generated Diazonium Cations in Aprotic and Aqueous Media. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111* (20), 7501–7507.
- (9) Maldonado, S.; Smith, T. J.; Williams, R. D.; Morin, S.; Barton, E.; Stevenson, K. J. Surface Modification of Indium Tin Oxide via Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Cations. *Langmuir* **2006**, *22* (6), 2884–2891.
- (10) Downard, A. J. Electrochemically Assisted Covalent Modification of Carbon Electrodes. *Electroanalysis* **2000**, *12* (14), 1085–1096.
- (11) Carey, F. A.; Giuliano, R. M.; Álvarez Manzo, R.; Doria Serrano, M. del C.; Sarmiento Ortega, S.; Velázquez Arellano, J. A. *Química orgánica*; McGraw-Hill education: México., **2014**.
- (12) Guin, P. S.; Das, S.; Mandal, P. C. Electrochemical Reduction of Quinones in Different Media: A Review. *Int. J. Electrochem.* **2011**, *2011*, 1–22.
- (13) Yu, S. S. C.; Tan, E. S. Q.; Jane, R. T.; Downard, A. J. An Electrochemical and XPS Study of Reduction of Nitrophenyl Films Covalently Grafted to Planar Carbon Surfaces. *Langmuir* **2007**, *23* (22), 11074–11082.
- (14) Heald, C. G. R.; Wildgoose, G. G.; Jiang, L.; Jones, T. G. J.; Compton, R. G. Chemical Derivatization of Multiwalled Carbon Nanotubes Using Diazonium Salts. *ChemPhysChem* **2004**, *5* (11), 1794–1799.

4 CAPÍTULO IV. ADSORCIÓN DE COLORANTES

4.1 Antecedentes

La 3,4,5-trihidroxi-9-(2'-sulfofenil)-6-isoxantona, cuya estructura molecular se muestra panel A de la figura 4.1, es un colorante de la familia del trifenilmetano, conocido como rojo de pirogalol, (RPG).¹ Este colorante es ampliamente conocido y usado como reactivo para la determinación de proteínas en orina, donde se usa en forma de complejo con molibdato.² En el área electroanalítica, el RPG se ha empleado como ligante en técnicas de redisolución adsorptiva, para la determinación de varios cationes metálicos tales como molibdeno, germanio, aluminio y cobalto.³ En 1999, Safavi y colaboradores,⁴ reportaron un método analítico para la determinación de iones cobre, mediante la acumulación y posterior reducción del complejo RPG-Cu sobre un electrodo de gota de mercurio colgante.

Otro colorante conocido como rojo de alizarina (ARS), es la sal monosódica del ácido 3,4-dihidroxi-9,10-dioxo-2-antracenosulfónico, cuya estructura molecular se presenta en el panel B de la figura 4.1. Este colorante derivado de la antraquinona, se ha usado extensamente en la industria textil debido a su fácil aplicación y amplia gama de tonos de color, que van desde el amarillo hasta el púrpura.⁵ El ARS también se ha usado en la tinción diferencial de huesos en crecimiento de especímenes biológicos.⁶ En el área electroanalítica, esta molécula se ha empleado como ligante incorporado en electrodos modificados con polipirrol,⁷ así como en la forma de monómero para la síntesis de películas poliméricas.^{8,9} Filho y colaboradores,¹⁰ reportaron la modificación de superficies de grafito pirolítico con ARS, para la determinación de iones cobre.

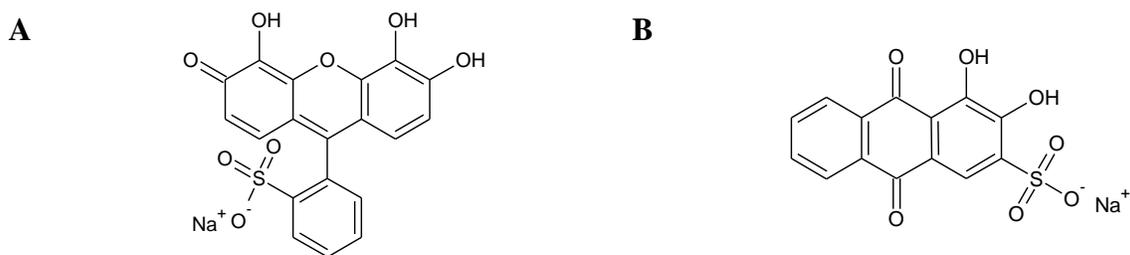


Figura 4.1. Estructura molecular de los colorantes empleados A) rojo de pirogalol B) rojo de alizarina.

El cobre es un metal traza esencial, que tiene un papel central en la bioquímica de los seres humanos. Debido a la estructura electrónica, el cobre participa como cofactor en reacciones redox de enzimas tales como: citocromo *c* oxidasa, lisil oxidasa y superóxido dismutasa.¹¹ El cobre promueve la angiogénesis, que es el crecimiento de vasos sanguíneos que nutren con oxígeno y

nutrientes un tumor en crecimiento.¹² Suprimiendo el proceso de angiogénesis, los cúmulos celulares tumorales no crecen más 1-2 mm de diámetro.¹³ Varios reportes de la literatura muestran que los niveles de cobre en pacientes con cáncer son significativamente elevados comparados con sujetos sanos. Varios estudios revelan que mientras la concentración de zinc, hierro y selenio disminuye, la concentración de cobre aumenta, de 2 a 3 veces.¹⁴ Estos estudios revelan que el cobre puede ser utilizado como biomarcador de cáncer.¹⁵

En este capítulo se presenta la modificación de superficies de nanotubos de carbono (CNT) soportados sobre electrodos de carbono vítreo, mediante la adsorción de colorantes, RPG y ARS que actúan como ligantes para la determinación electroquímica de iones cobre en disoluciones acuosas. Una posible aplicación de estos electrodos modificados es la cuantificación de cobre en orina como marcador de cáncer.

4.2 Sección experimental

4.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se adquirieron en Sigma Aldrich: rojo de alizarina (ARS), rojo de pirogalol (RPG), nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT, 95%, lot # MKBS5763V), ácido clorhídrico (99.999%) ácido 2-(*N*-morfolino) etansulfónico (MES), 1,3-bis(tris(hidroximetil)metilamino) propano (BIS-TRIS), sulfato de cobre, cloruro de potasio. Los reactivos mencionados a continuación de obtuvieron de J.T. Baker: tolueno, dihidrógeno fosfato de potasio, monohidrógenofosfato de potasio. En todos los ensayos se usó agua desionizada con resistividad igual a 18.2 MΩ cm.

Los experimentos voltamperométricos, se hicieron con un potenciostato CH Instruments, modelo CHI 920C, con una arreglo de celda de tres electrodos. Se usaron: electrodos de carbono vítreo (3 mm de diámetro, CH Instruments) como electrodos de trabajo, una espiral de alambre de platino 0.5 mm diámetro como electrodo auxiliar y un electrodo de Ag/AgCl (3 M KCl) como referencia.

4.2.2 Modificación de la superficie

Utilizando un baño ultrasónico se dispersaron CNTs en tolueno, con una relación de 0.2 mg mL⁻¹. Los electrodos de carbono vítreo (GC) se pulieron mecánicamente con dispersiones de alúmina en agua, con tamaño decreciente de tamaño de partícula 1, 0.3 y 0.05 μM. Sobre estas superficies limpias se depositaron 20 μL de la dispersión de CNT y se esperó durante 10 minutos a temperatura

ambiente para que el tolueno se evapore. Las superficie así tratadas se pusieron en contacto con disoluciones 0.5 mM de rojo de pirogalol (RPG) o 1 mM de rojo de alizarina S (ARS) durante 5 min. Finalmente los electrodos se enjuagaron con abundante agua desionizada.

4.2.3 Oxidación de nanotubos de carbono

La oxidación de los CNT se realizó utilizando la metodología propuesta por Rosca.¹⁶ Se pesaron 100 mg de nanotubos de carbono prístinos, que se transfirieron a equipo de reflujo donde se añadieron 10 mL de ácido nítrico 60%. Se acopló el refrigerante y el sistema se calentó a temperatura de reflujo (85-90°C), durante 6 horas. Pasado ese tiempo, el sólido remanente se filtró y luego se lavó con abundante agua, hasta obtener reacción neutra en el agua de lavado. Finalmente, los nanotubos de carbono oxidados (CNTox) se secaron a 90°C en una estufa por 12 horas. La obtención de la dispersión de CNTox en tolueno se realizó utilizando en procedimiento detallado en la sección 4.2.1.

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Nanotubos de carbono depositados sobre GC

Esta serie de ensayos se realizó con el objetivo de encontrar un disolvente adecuado para obtener una dispersión estable y depositar nanotubos de manera reproducible. Utilizando agitación ultrasónica se dispersaron, 1.0 mg de nanotubos de carbono en 5 mL de los siguientes disolventes orgánicos: acetona, metanol, acetato de etilo, tetrahidrofurano, hexanos y tolueno.

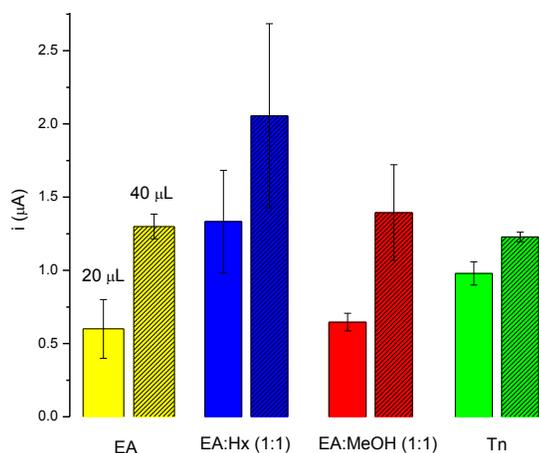


Figura 4.2. Valores de corrientes capacitivas obtenidas con electrodos GC/CNT construidos utilizando dispersiones de nanotubos de carbono en diferentes disolventes orgánicos. EA = acetato de etilo, Hx = hexanos, MeOH = metanol, Tn = tolueno. Cada barra representa el promedio de 9 ensayos independientes, la barra de error corresponde al valor de desviación estandar.

A partir de estas dispersiones se depositaron diferentes volúmenes de suspensión y se obtuvieron varias superficies de nanotubos de carbono soportados sobre carbono vítreo (GC/CNT). Cada electrodo se sumergió en una celda electroquímica, que contenía una disolución amortiguadora 10 mM de MES, a pH = 5.3 en KCl 0.1 M. Con cada electrodo se realizó un barrido potenciodinámico a 100 mV s^{-1} , desde 0.0 hasta 0.5 V vs Ag/AgCl. En los voltamperogramas obtenidos se observa una relación relativamente constante entre la corriente medida y el valor del potencial, motivo por el que se procedió a medir la corriente capacitiva. Los resultados de esta serie de ensayos se muestran en la figura 4.2, donde se representa el valor promedio de la corriente capacitiva obtenida con los electrodos construidos con dispersiones de nanotubos en diferentes disolventes.

En la figura 4.2 se observa que los CMEs construidos a partir de la suspensión de CNTs en tolueno tienen mayor reproducibilidad, puesto que la barra de error es la más pequeña. Se debe mencionar que en esta gráfica no se presentan datos referentes a dispersiones en tetrahidrofurano, etanol o acetona, puesto que con estos disolventes no se obtuvieron dispersiones estables.

4.3.2 Funcionamiento del electrodo modificado

Después de encontrar que el tolueno es el mejor disolvente para la construcción de superficies GC/CNT, se estudió el comportamiento redox de los colorantes adsorbidos sobre nanotubos.

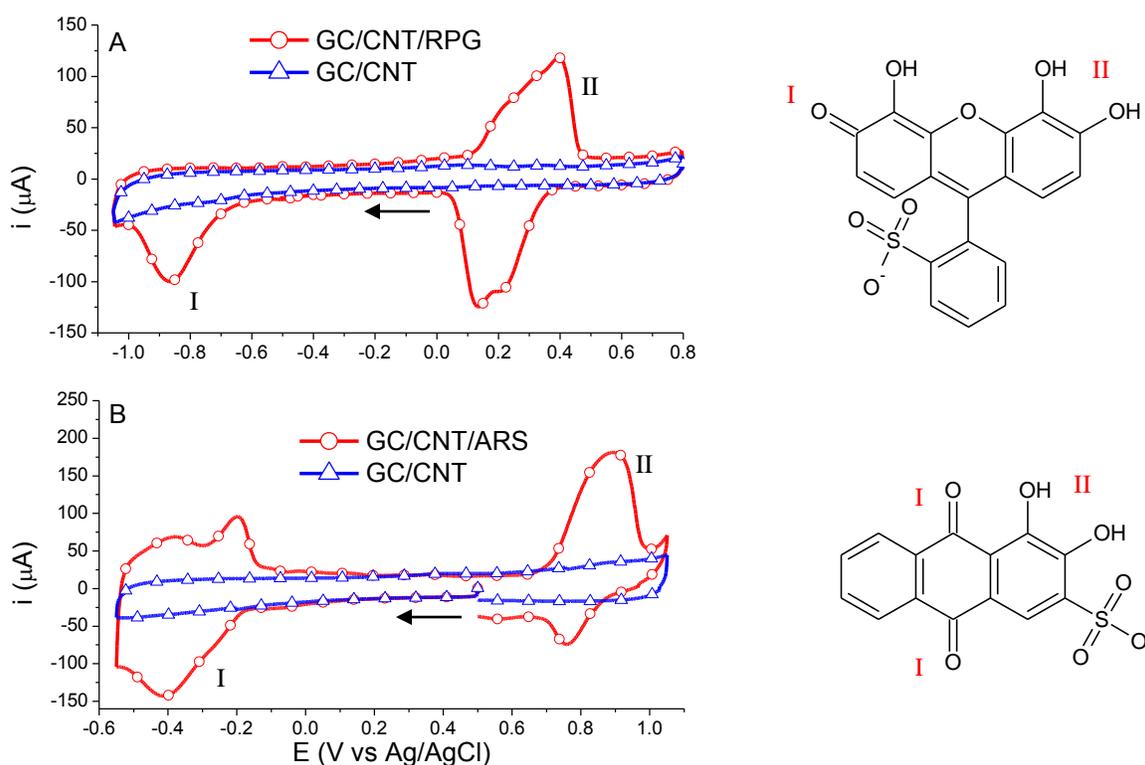


Figura 4.3. Registros de voltamperometría cíclica de colorantes adsorbidos sobre superficies de nanotubos de carbono. A) rojo de pirogalol RPG, B) rojo de alizarina ARS. Se emplearon disoluciones de buffer MES 10 mM, a pH = 5.3 en KCl 0.1 M.

En la figura 4.3 se presentan registros de CV correspondientes a cada colorante. En el panel A se observa una onda de reducción irreversible, $E_p = 0.85 \text{ V vs Ag/AgCl}$, correspondiente al grupo quinona del colorante, etiquetada con el número I. A valores de potencial mayores a $0.15 \text{ V vs Ag/AgCl}$ se observa el inicio de la onda de oxidación del grupo catecol con su respectiva señal de reducción, este sistema redox se etiquetó con el numero II. En los registros correspondientes a rojo de alizarina S, panel B de la figura 4.3, también se observan las ondas de óxido-reducción correspondientes al grupo quinona, sistema I $E_{p,c} = -0.4 \text{ V vs Ag/AgCl}$ y catecol, sistema II, $E_{p,a} = 0.9 \text{ V vs Ag/AgCl}$. Con estos ensayos se comprobó la adsorción de los colorantes sobre los nanotubos de carbono.

Después de adsorber los colorantes sobre la superficie de los electrodos GC/CNT, estos electrodos se pusieron en contacto con disoluciones de cobre durante 5 min. Transcurrido ese tiempo, los electrodos se enjuagaron con abundante agua y se pasaron a una disolución libre de iones cobre, los registros voltamperométricos obtenidos con los colorantes se presentan en la figura 4.4.

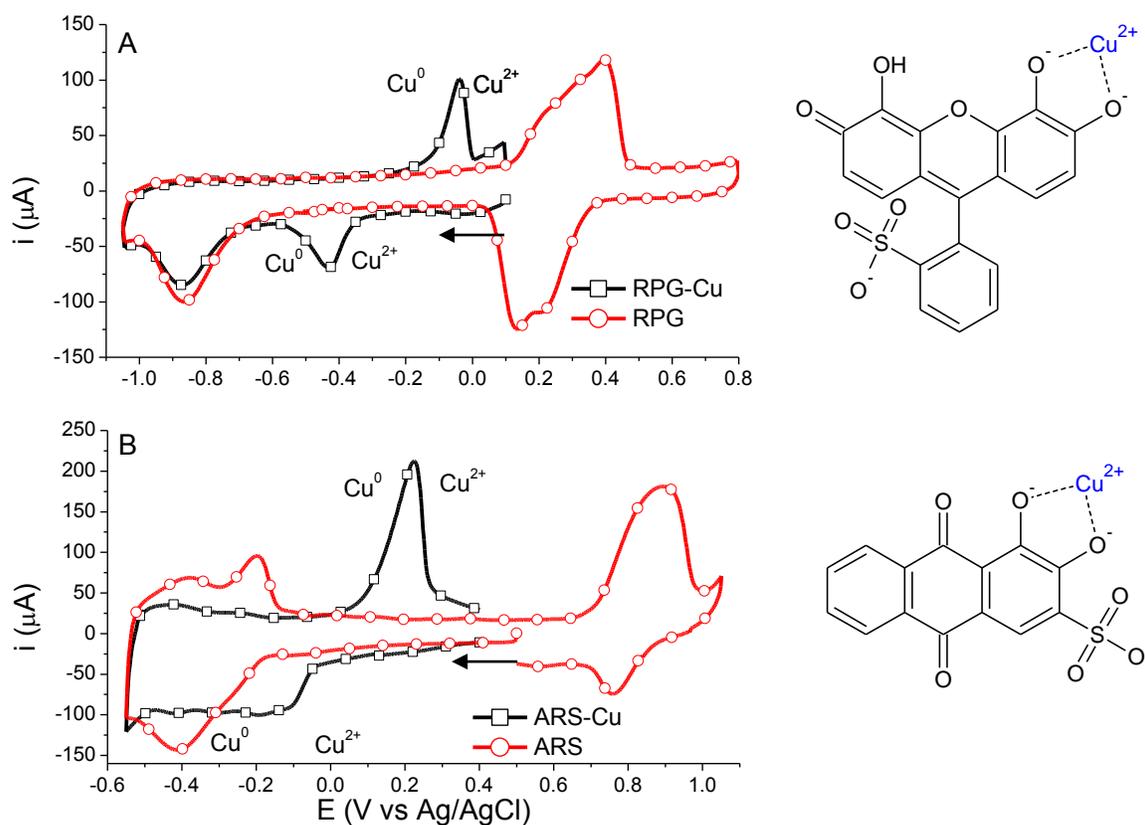


Figura 4.4. Registros de CV de electrodos GC/CNT/colorante, en presencia y ausencia de iones cobre coordinados. A) rojo de pirogalol RPG, [Cu(II)] = 5 mM B) rojo de alizarina ARS, [Cu(II)] = 10 mM. Se emplearon disoluciones de buffer MES 10 mM, a pH = 5.3 en KCl 0.1 M.

En la figura 4.4 se observan ondas de óxido-reducción correspondientes a iones cobre (línea negra) que están coordinados a los colorantes por medio de los grupos catecol, como se esquematiza en la estructura molecular presentada a la derecha de cada panel. En el panel A y B se aprecian ondas de reducción de cobre con $E_{p,c} = -0.42$ y -0.09 V vs Ag/AgCl. La respectivas ondas de oxidación de los iones Cu coordinados se observan a $E_{p,a} = -0.05$ y 0.28 V vs Ag/AgCl respectivamente. En los siguientes ensayos se usaron las señales anódicas, puesto que tienen valores absolutos de corriente de pico mayores que las correspondientes señales de reducción, es decir, se decidió emplear una estrategia de redisolución anódica para la determinación de iones cobre, imponiendo primeramente un pulso de potencial para reducir iones cobre, y aplicando posteriormente un programa de perturbación para que los átomos de cobre depositados se oxiden.

4.3.3 Parámetros experimentales

Para los electrodos GC/CNT/RPG se seleccionó el valor de potencial de -0.5 V vs Ag/AgCl para aplicar el pulso de reducción, y se estudió cómo afecta el tiempo de duración del pulso en la corriente anódica. En esta serie de experimentos se utilizó una concentración de cobre de $0.5 \mu\text{M}$.

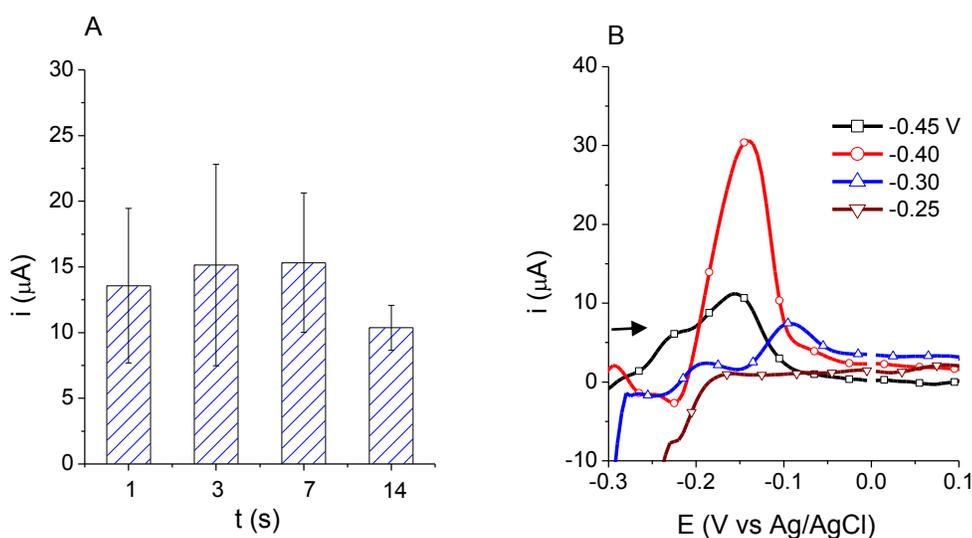


Figura 4.5.A) Corrientes de redisolución anódica de cobre, sobre GC/CNT/RPG, $E_{\text{red}} = -0.5$ V vs Ag/AgCl, a diferentes tiempos de depósito. B) registros de voltamperometría de onda cuadrada, suma de registros, redisolución anódica de cobre sobre GC/CNT/ARS a diferentes valores de potencial de depósito. En ambos casos se emplearon $[\text{Cu}] = 0.5 \mu\text{M}$.

En el panel A de la figura 4.5 se presentan los datos de esta serie de ensayos, donde se encontró que no existe diferencia significativa entre las corrientes medidas para los tiempos seleccionados. En los siguientes ensayos se empleó un tiempo de reducción de 7 segundos. Considerando los resultados obtenidos con rojo de pirogalol y la cercanía de valores de potencial entre las señales de reducción de cobre y rojo de alizarina, a continuación se estudió cómo afecta el valor del potencial de reducción a la corriente anódica. Para este estudio se realizaron ensayos de redisolución anódica variando el valor de potencial aplicado durante 7 segundos. Los resultados de este conjunto de ensayos se muestran en el panel B de la figura 4.5. Se puede observar que la señal con mayor corriente de pico se obtiene cuando se impone un valor de potencial de -0.40 V vs Ag/AgCl.

Después de conocer el valor de potencial y el tiempo de depósito con los cuales se obtiene una señal de oxidación más grande, se buscó el mejor programa de perturbación para la oxidación de cobre, decidiéndose probar las siguientes técnicas electroquímicas: voltamperometría de barrido lineal (LSV), voltamperometría de onda cuadrada (SWV) y cronopotenciometría diferencial (DCP). Para este conjunto de ensayos se construyeron electrodos GC/CNT/RPG y GC/CNT/ARS con sus respectivas capas, y se midió señal correspondiente a las tres técnicas (i_p , Δi_p o dt/dE) usando disoluciones acuosas de cobre 2 μM . Para ello se emplearon los siguientes parámetros experimentales: con LSV, una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1} ; con SWV, incremento de potencial de 5 mV, amplitud 50 mV y frecuencia de 20 Hz; con DCP, una corriente de 5 μA . Los resultados de este conjunto de ensayos se muestran en la figura 4.6. En el panel A de esta figura se comparan los resultados de la determinación de Cu(II) sobre electrodos modificados con rojo de pirogalol. Se midieron señales de pico de 89.2 μA , 36.3 μA y 42.2 s V^{-1} para LSV, SWV y DPC respectivamente. En el panel B de esta figura se presentan los resultados obtenidos sobre electrodos modificados con rojo de alizarina, obteniéndose las siguientes intensidades máximas de las señales: 14.4 μA para LSV, 48.8 μA para SWV y 51.5 s V^{-1} para DCP. Con los resultados de estos ensayos se decidió usar LSV para los electrodos GC/CNT/RPG puesto que esta técnica proporciona la señal más intensa. Con las superficies modificadas con ARS se decidió utilizar SWV, puesto que es una técnica más rápida y operacionalmente más sencilla, puesto que en la técnica de DCP se debe escoger adecuadamente el valor de la corriente impuesta, pues este valor está relacionado con la cantidad de cobre la superficie, dificultando el análisis electroquímico.

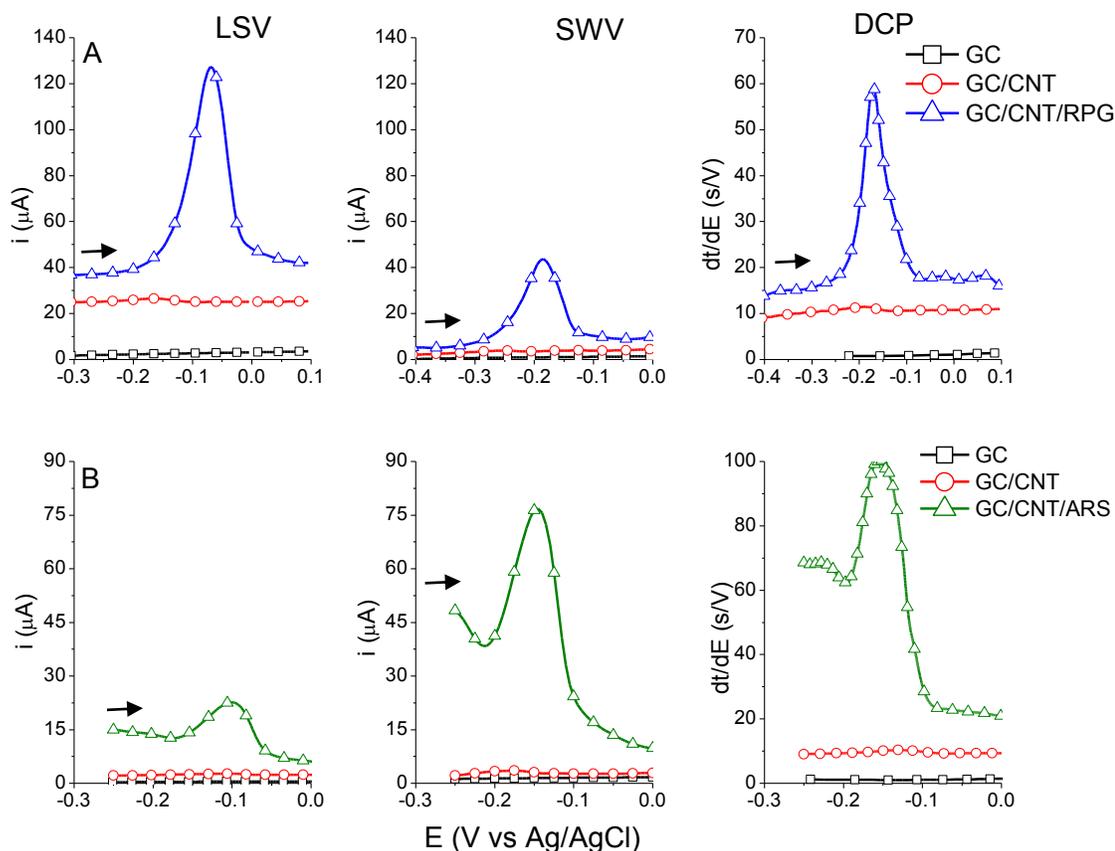


Figura 4.6. Comparación entre distintos programas de perturbación, para la determinación de cobre, $[Cu(II)] = 2 \mu M$ sobre distintas capas, A) rojo de pirogalol. B) rojo de alizarina S. LSV = voltamperometría de barrido lineal, SWV = voltamperometría de onda cuadrada, DCP = cronopotenciometría diferencial.

Se continuó con ensayos para optimizar el tiempo de adsorción de cobre sobre los electrodos modificados. Usando los parámetros experimentales optimizados, se midieron concentraciones conocidas de cobre a diferentes tiempos sobre los dos tipos de electrodos modificados. Se emplearon concentraciones de cobre diferentes (ver figura 4.7), puesto que con los electrodos modificados con RPG se puede medir concentraciones de cobre entre 10 y 100 veces menor que con los CME modificados con ARS. Con los registros obtenidos se midieron las corrientes de pico y se construyeron las respectivas gráficos i_p vs tiempo, que se muestran en la figura 4.7. Estos gráficos tienen características similares a las que poseen las curvas de adsorción isotérmicas, en las que se observa un perfil con la respectiva zona de saturación. Para las curvas presentadas en la figura 4.7 se observa que a partir de 30 min se llega a la saturación del sustrato, para los dos tipos de electrodos. También se observa que a los 10 min se obtienen valores de corrientes significativas, 1.75 y 15.2 μA para electrodos modificados con RPG y ARS respectivamente. De modo que se optó por utilizar ese tiempo, que es un buen compromiso entre tiempo de análisis y sensibilidad.

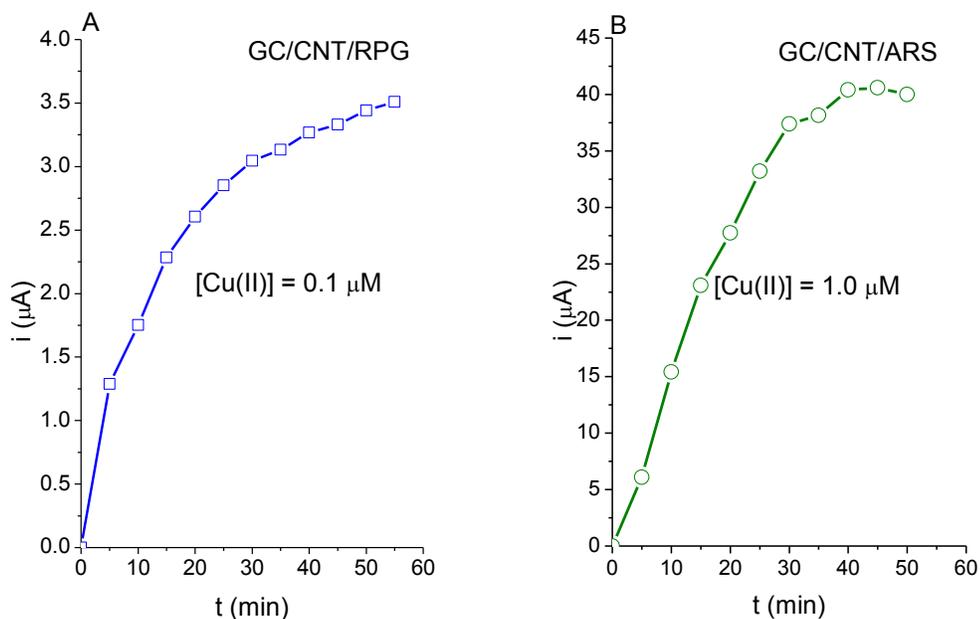


Figura 4.7. Curvas de adsorción de Cu sobre superficies A) GC/CNT/RPG, usando una disolución de iones cobre 0.1 μM. B) GC/CNT/ARS usando una disolución de iones cobre 1.0 μM. En ambos casos se utilizaron disoluciones MES 10 mM a pH = 5.3.

Seguidamente, se construyeron curvas de calibración para evaluar el desempeño de los electrodos GC/CNT/Colorante en la determinación de iones Cu(II).

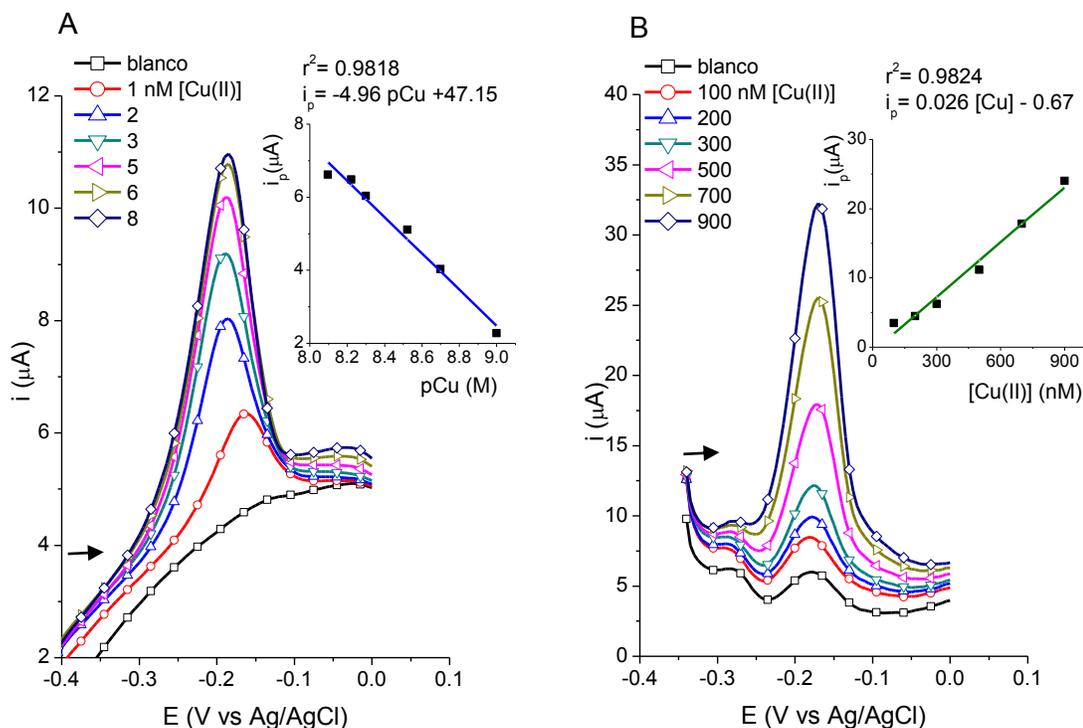


Figura 4.8. Determinación de iones cobre sobre electrodos GC/CNT/Colorante. A) rojo de pirogalol, con LSV. B) rojo de alizarina S, SWV. En ambos casos se usaron disoluciones de buffer MES 10 mM a pH = 5.3 en KCl 0.1 M.

En la figura 4.8 se muestra las señales voltamperométricas obtenidas con los respectivos electrodos, donde se utilizaron disoluciones acuosas de buffer MES 10 mM en KCl 0.1 M a pH = 5.3. En los insertos de cada panel se presentan los modelos matemáticos que relacionan la corriente de pico medida con la concentración de cobre. En el panel A se aprecia que usando la superficie GC/CNT/RPG, es posible determinar concentraciones de cobre alrededor de 500 pM (5×10^{-10} M). Mientras que con el electrodo GC/CNT/ARS se pueden medir concentraciones alrededor de 50 nM (5×10^{-8} M), como se observa en el panel B. Estos valores de concentración nos dan un indicio de los valores de los límites de determinación y cuantificación, que se pueden obtener empleando este tipo de electrodos. En general los datos mostrados en esta sección son la prueba de concepto para determinación de cobre en concentraciones traza.

4.3.4 Uso de nanotubos de carbono oxidados químicamente

Con la idea de mejorar el desempeño de las superficies modificadas, se construyeron electrodos usando nanotubos de carbono oxidados (CNTox). Los CNTox se obtuvieron por oxidación química con ácido nítrico concentrado como se muestra esquemáticamente en la figura 4.9. Después de la purificación se obtuvieron dispersiones de CNTox en tolueno, que se usaron para la construcción de los electrodos GC/CNTx/Colorante. Con estos CMEs y usando los parámetros electroquímicos encontrados en la sección 4.3.3 se determinó cobre en una concentración de 1.6 μ M.

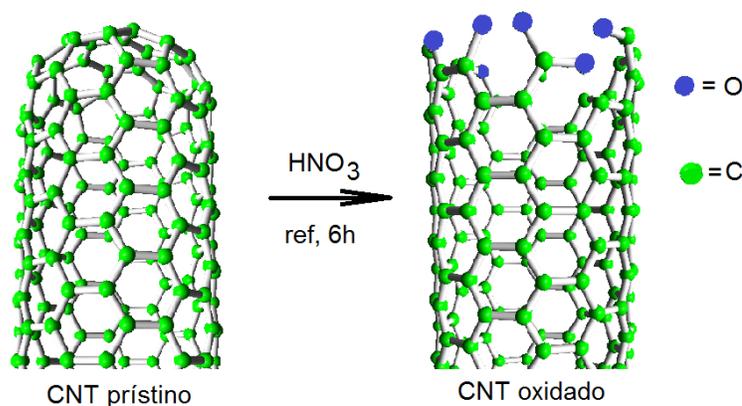


Figura 4.9. Esquema gráfico de la oxidación química de nanotubos de carbono.

En la figura 4.10 se presenta voltamperogramas correspondientes a la determinación de Cu sobre superficies modificadas con RPG, panel A y ARS, panel B. En ambos paneles se observa el mismo comportamiento, independientemente del colorante empleado. Los electrodos construidos con CNTox tienen una corriente de fondo grande, que se atribuye a fenómenos capacitivos en la

interfase, mientras que la intensidad de la señal faradaica es menor que la obtenida con nanotubos prístinos, encontrándose una disminución de la corriente de pico de 30.4%, RPG y 17.05 % ARS en electrodos construidos con CNTox.

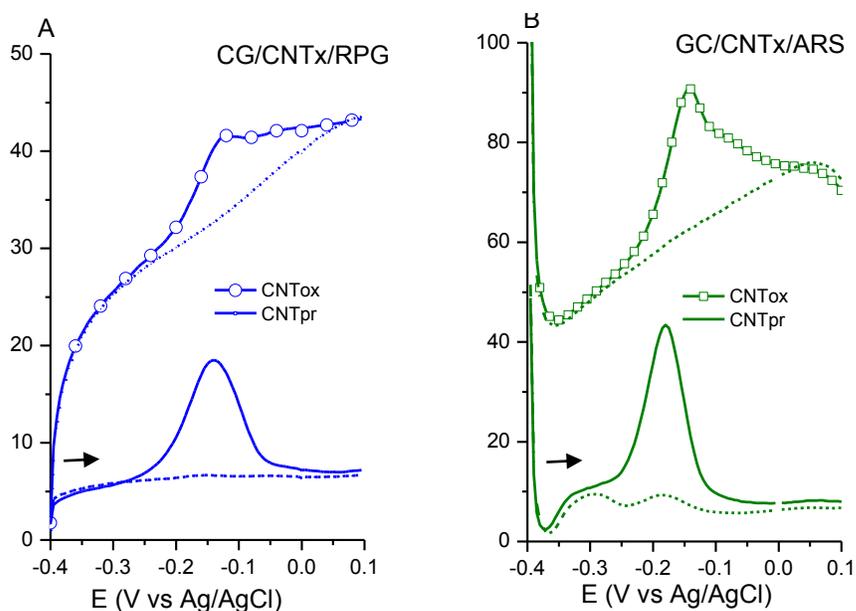


Figura 4.10. Señales voltamperométricas correspondientes a la determinación de cobre(II) $1.6 \mu\text{M}$, usando electrodos construidos con CNTox = nanotubos de carbono oxidados, CNTpr = nanotubos de carbono prístinos, empleando. A) rojo de pirogalol, CV, $\nu = 0.1 \text{ V s}^{-1}$. B) rojo de alizarina S, SWV, $E_{\text{pulso}} = 5 \text{ mV}$, amplitud = 25 mV , $f = 20 \text{ Hz}$.

Seguidamente, se investigó cómo afecta la cantidad de nanotubos soportados en carbono vítreo a la determinación de iones cobre. Para ello se construyó un conjunto de electrodos GC/CNT/Colorante usando diferentes volúmenes de dispersión de CNT en tolueno ($0.2 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$). Cada electrodo se puso en contacto con el colorante respectivo, y con el conjunto de electrodos se obtuvieron voltamperogramas para disoluciones con concentraciones de cobre(II) iguales a 90 nM para GC/CNT-RPG y a 900 nM para GC/CNT-ARS, como se presenta en la figura 4.11, donde cada punto representa el promedio de 5 electrodos construido independientemente.

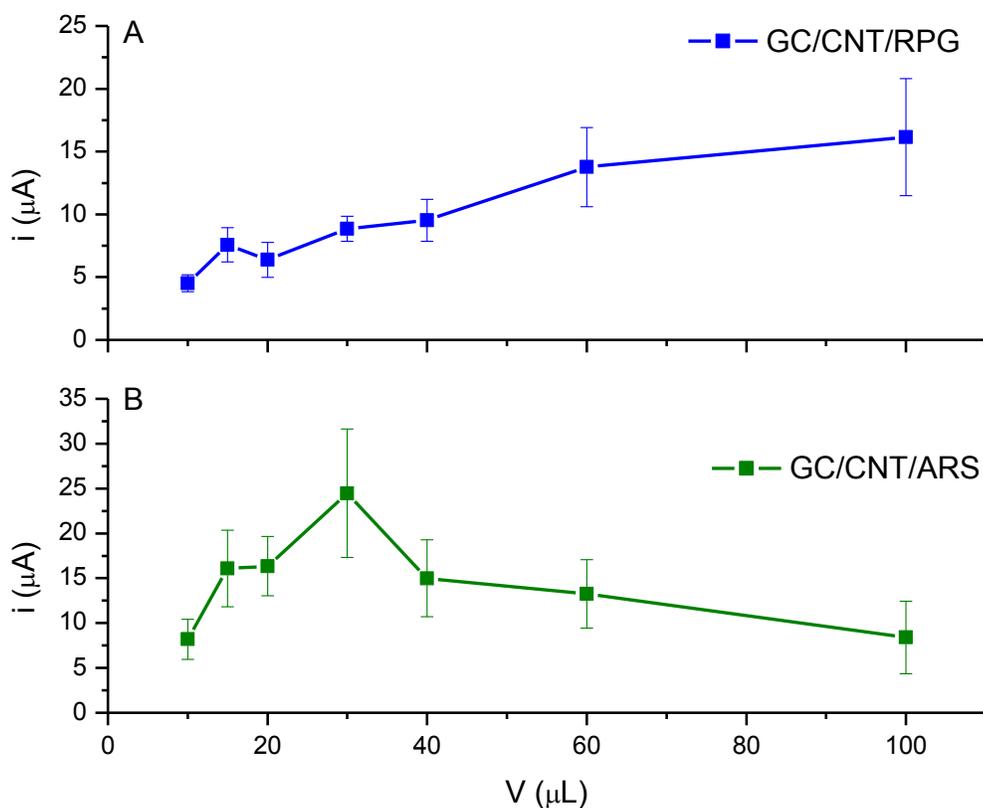


Figura 4.11. Corrientes de pico correspondientes a la determinación de Cu(II) , sobre electrodos GC/CNT/colorante, construidos con diferentes volúmenes de dispersión de CNTs prístinos en tolueno, $0.2 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ A) rojo de pirogalol, $[\text{Cu(II)}] = 90 \text{ nM}$ B) rojo de alizarina S, $[\text{Cu(II)}] = 900 \text{ nM}$.

Los datos correspondientes a las superficies GC/CNT/RPG, que se presentan en el panel A de la figura 4.11, muestran una relación directamente proporcional entre la cantidad de nanotubos en la superficie del GC y el valor de la corriente de pico correspondiente a la determinación de iones cobre. Este comportamiento indica que se puede aumentar la sensibilidad del método de determinación, incrementando la cantidad de CNTs, no obstante existe una relación inversamente proporcional entre la cantidad de nanotubos y la desviación estándar de las i_p . En esta serie de ensayos la desviación estándar es una medida indirecta de la homogeneidad y la reproducibilidad de la superficie. Para los siguientes experimentos se usaron $20 \mu\text{L}$ de dispersión, puesto que con este volumen se obtuvo menos dispersión de los datos.

En el panel B de la figura 4.11, se muestran los datos correspondientes a la determinación de iones cobre utilizando electrodos modificados con ARS, donde se aprecia dos tendencias. Una primera zona, desde 10 hasta $30 \mu\text{L}$, donde se observa una relación proporcional entre corriente de pico y cantidad de nanotubos. La segunda zona, desde 30 hasta $100 \mu\text{L}$, donde existe una relación

inversamente proporcional entre la i_p y el volumen de dispersión empleado, este fenómeno se puede atribuir a la dispersión de los datos, que estadísticamente hablando no son diferentes o a la posibilidad de que el valor de i_p correspondiente a 30 μL puede contener un dato erróneo. Para los siguientes experimentos se decidió utilizar 20 μL de dispersión (4 μg de nanotubos), puesto que con este volumen de dispersión de nanotubos se obtiene una buena relación entre i_p y reproducibilidad.

A continuación se estudió el comportamiento de los electrodos modificados cuando se cambia el valor de pH del medio donde se realiza la determinación de iones cobre. Se emplearon disoluciones amortiguadoras de ácido 2-(*N*-morfolino) etansulfónico (MES) y 1,3-bis(tris(hidroximetil)metilamino) propano (BIS-TRIS) 10 mM en KCl 0.1M con concentraciones de cobre fijas. Los resultados de estos experimentos se presentan en la figura 4.12, donde se representa el valor de la corriente de pico de oxidación de los iones cobre sobre electrodos modificados con los dos colorantes en función del valor de pH. En esta figura se aprecia que independientemente del colorante usado, el valor de corriente más alto se alcanza cuando la disolución es amortiguada a un valor de pH de 6.5.

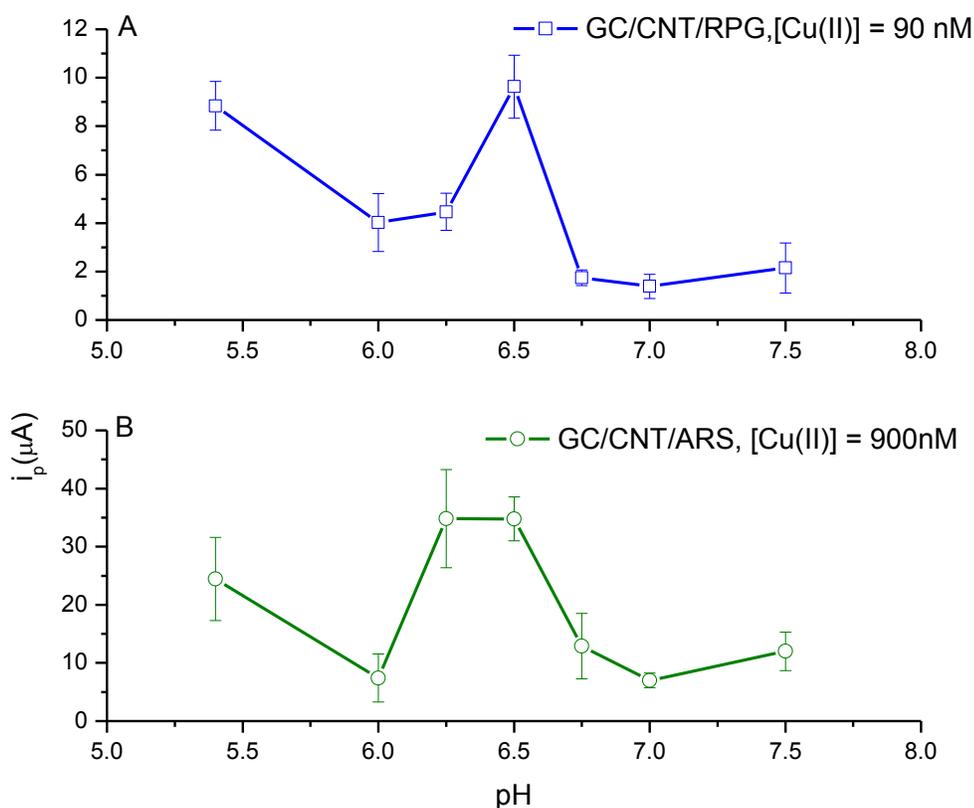


Figura 4.12. Valores de corriente de GC/CNT/Colorante a diferentes valores de pH. A) ARS, 90. B) RPG cada punto representa el promedio de 3 electrodos construidos independientemente. Otras datos experimentales ver figura 4.11.

Seguidamente se realizó un primer estudio de interferentes con distintos iones metálicos. En esta serie de experimentos se usaron concentraciones de los diferentes iones interferentes iguales a las concentraciones reportadas por Burton y colaboradores,¹⁵ multiplicada por un factor de 2 y 20 para los electrodos modificados con RPG y ARS respectivamente. Por otro lado, la concentración de cobre se fijó en 90 nM, que es un valor de concentración 44% inferior a la concentración de cobre en orina reportada por Burton.¹⁵ Para los CME con ARS se utilizó una concentración de cobre 10 veces mayor que para los CME con RPG. Los datos correspondientes al este estudio de interferentes se presentan en la figura 4.13, donde la concentración de cada metal se detalla sobre la respectiva barra. El eje de las ordenadas muestra valores de corriente normalizada. Esta normalización se realizó dividiendo el valor de corriente de pico obtenida con el metal interferente en mezcla binaria con cobre ($i_{p,M}$) entre la corriente correspondiente a cobre(II) por separado presente en disolución ($i_{p,Cu}$). Cada barra indica el promedio de 3 electrodos construidos independientemente.

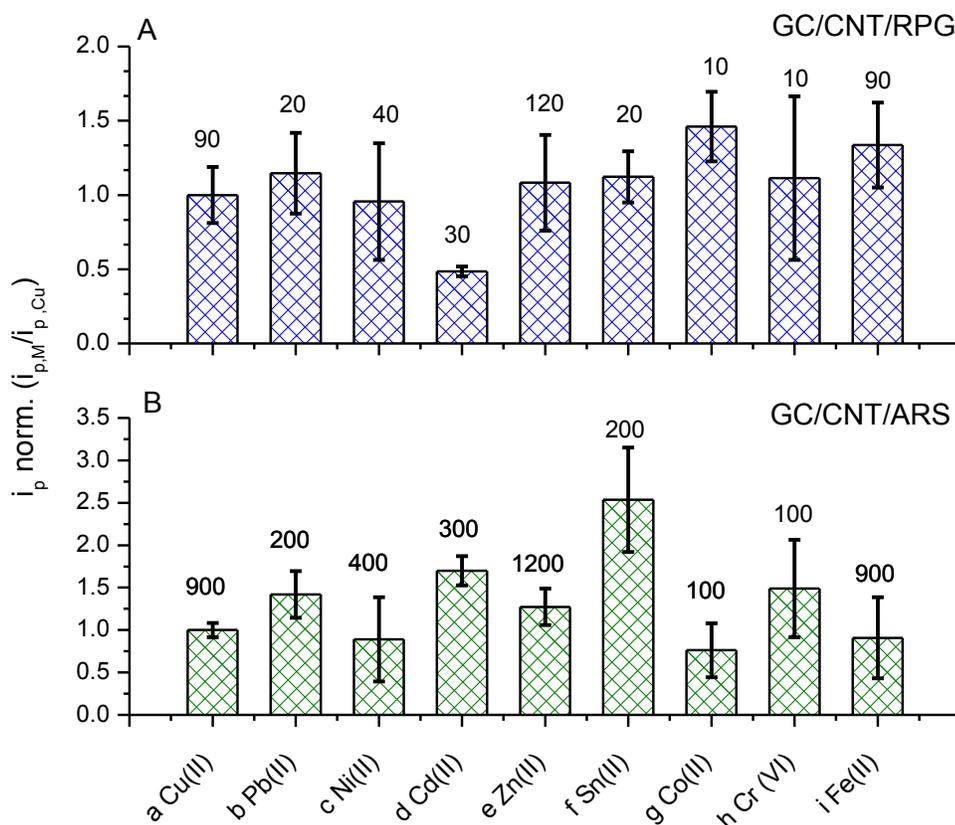


Figura 4.13. Valores de corriente de pico normalizada obtenidas para la redisolución anódica de cobre en presencia de diferentes concentraciones de iones metálicos interferentes sobre electrodos GC/CNT/Colorante. A) rojo de pirogalol, B) rojo de alizarina. Los valores de concentración de cada metal interferente se detallan encima de cada barra en unidades de nM.

En el panel A de la figura 4.13 se observa que la corriente disminuye un 50% cuando se tienen iones de cadmio(II) en disolución, y aumenta un 40 % cuando hay iones Co(II), se encontró que no hay diferencia significativa en los valores de corriente medidos con los otros metales usados como interferentes. Indicando cierta robustez y selectividad de las superficies GC/CNT/RPG hacia iones cobre. En el panel B de la figura 4.13 se observa un aumento de 48 % para Pb(II), 70 % para Cd(II) y 150 % para Sn(II) en la corriente de pico. Estos valores de corriente muestran que estos metales afectan sustancialmente la determinación de iones cobre con la superficie GC/CNT/ARS.

4.3.5 Análisis de Cu(II) por adiciones estándar

Durante las diferentes series de experimentos descritos en las secciones anteriores, se encontró que no es fácil obtener datos reproducibles con los electrodos GC/CNT/Colorante, por esta razón se decidió usar el método de adición estándar para el análisis de cobre en disoluciones acuosas. Usando los respectivos electrodos modificados con colorantes se obtuvieron familias de voltamperogramas para diferentes cantidades de cobre, usando concentraciones iniciales de cobre de 90 nM para RPG y 900 nM para ARS. Utilizando las corrientes de pico de esos registros se construyeron las respectivas gráficas i_p vs [Cu], que se muestran en la figura 4.14.

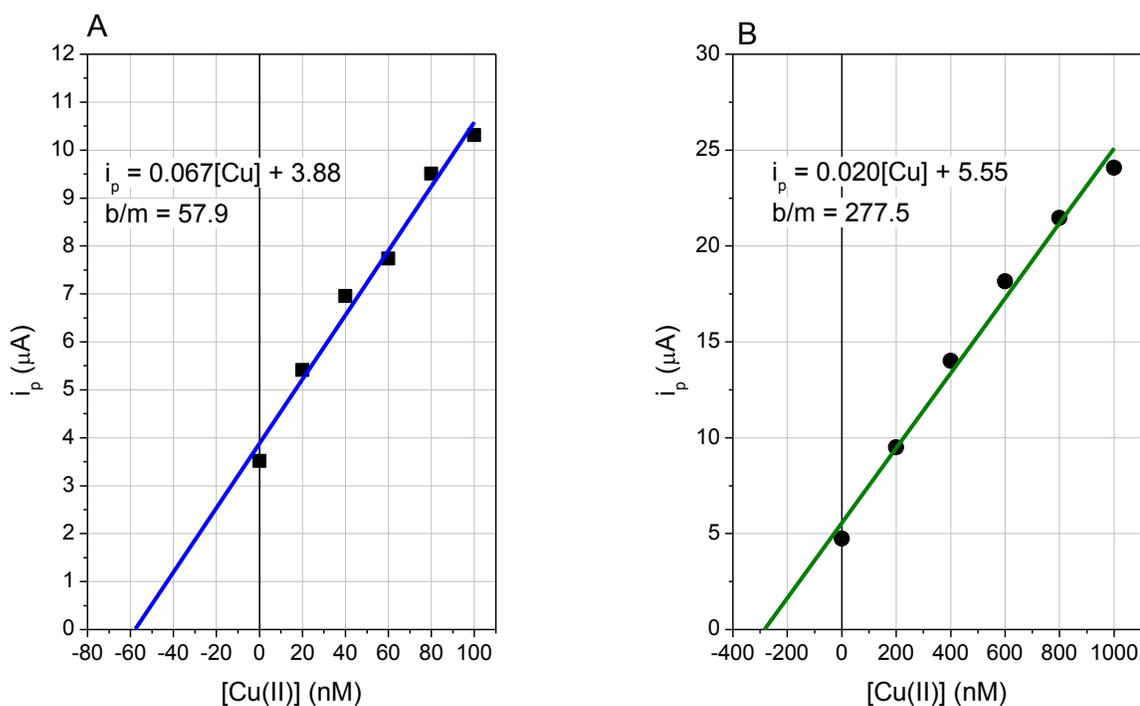


Figura 4.14. Curvas i_p vs concentración, correspondientes a la determinación de cobre por adición estándar, sobre electrodos GC/CNT/Colorante. A) rojo de pirogalol. B) rojo de alizarina S.

En el método de adición estándar se construye una curva de calibración añadiendo alícuotas de una disolución de analito de concentración conocida, de forma que tras cada adición se haya añadido una cantidad similar a la presente originalmente en la muestra y construyendo una recta que relaciona la señal medida con la concentración de analito. Para conocer la concentración inicial del analito se divide el valor de la ordenada al origen (b) entre el valor de la pendiente (m). Como se muestra en la figura 4.14, con los electrodos modificados con colorantes se calcularon concentraciones de cobre de 57.9 y 277.5 nM para RPG y ARS respectivamente. Estos valores corresponden a recobros de 64.3 y 30.8 %. Los ensayos se repitieron varias veces con ambos colorantes, y en todos los casos se obtuvieron recobros variables entre 30-65%.

Tratando de encontrar el motivo de los bajos recobros conseguidos con estos CMEs, se realizó una serie de experimentos para la determinación de cobre, donde cuidadosamente se eliminó el oxígeno disuelto de la disolución de trabajo mediante burbujeó intenso de nitrógeno (20 min). En estos ensayos se encontró que la molécula de oxígeno, aun en concentraciones bajas, tiene un papel fundamental en la reacciones redox de los aductos cobre-colorante, pues en ausencia de oxígeno no se observa la reacción de oxidación del cobre.

Después de varios ensayos utilizando disoluciones saturadas con oxígeno, no fue posible encontrar una estequiometría definida o un factor de corrección que nos permita obtener recobros aceptables en la determinación de cobre. Con estos experimentos también se encontró que alguna forma reducida de oxígeno se coordina al aducto de cobre-ligante, por eso la forma inusual del voltamperograma presentado en el panel B de la figura 4.4. Por estos motivos estas superficies modificadas no pueden ser usadas como electrodos para la determinación de iones cobre.

Está bien documentado que el Cu(II) exhibe gran plasticidad para formar una variedad de ambientes de coordinación en sus complejos. El termino plasticidad significa que el ion cobre, a diferencia de otros iones metálicos, es capaz de adaptarse por sí mismo a las restricciones del ligante, asumiendo así diferentes geometrías.¹⁷ Se conocen además enzimas con sitios activos de uno, dos, tres o cuatro iones cobre, como tirosinasas, catecolasas o monooxigenasas. En estas enzimas los sitios activos están constituidos por aductos con dióxígeno que conducen a la reducción mediada por cobre de oxígeno (O_2) a superoxo ($O_2^{\cdot-}$), peroxo (O_2^{2-}), o cobre-oxo productos (O_2^2-), siendo estas especies reactivas las responsables de las transformaciones sustrato-oxidativas.¹⁸

4.4 Conclusiones

Se encontró que utilizando tolueno se obtienen dispersiones estables de nanotubos de carbono. Usando estas dispersiones, se construyeron superficies GC/CNT/ligante, que se utilizaron para la determinación de cobre usando redisolución anódica. Para los electrodos GC/CNT/RPG se encontró que usando voltamperometría de barrido lineal se pueden determinar concentraciones iguales o inferiores a 1 nM de Cu con, mientras que con los electrodos de este tipo modificados con ARS se puede medir concentraciones de Cu menores o iguales a 100 nM, usando voltamperometría de onda cuadrada. En ambos casos se utilizaron 10 min para la formación de complejo colorante-Cu, tiempos de depósito de 7 s y potenciales de depósito de -0.5 V y -0.40 V vs Ag/AgCl para los electrodos modificados con RPG y ARS respectivamente.

A pesar de obtener varios resultados prometedores, no se consiguió establecer un protocolo reproducible para la determinación de iones cobre en disolución, debido a que en la reacción de reducción de cobre, complejo con los colorantes, intervienen especies de oxígeno en una proporción estequiométrica que fue imposible de deducir. Por estos motivos, con los electrodos construidos en este capítulo se alcanzaron recobros variables de entre el 30 y el 60%, insuficientes para lograr establecer un método de análisis viable.

4.5 Referencias

- (1) Ivanov, V. M.; Mamedov, A. M. 3,4,5-Trihydroxyfluorones as Analytical Reagents. *J. Anal. Chem.* **2006**, *61* (11), 1040–1062.
- (2) Tokuda, K.; Makino, K.; Ohsawa, S.; Yamanaka, M.; Kamei, S.; Watanabe, N. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. *Clin. Chem.* **1986**, *32* (8), 1551–1544.
- (3) Nagales, E.; Gómez, M.; Arancibia, V.; Rojas, C. Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Cobalt in Presence of Nickel and Zinc Using Pyrogallol Red as Chelating Agent. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2012**, *7* (2), 979–990.
- (4) Safavi, A.; Shams, E. Determination of Trace Amounts of copper(II) by Adsorptive Stripping Voltammetry of Its Complex with Pyrogallol Red. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *385* (1–3), 265–272.
- (5) Etemadifar, A.; Dehghanizadeh, H.; Nasirizadeh, N.; Rohani-Moghadam, M. Statistical Optimization of Wool Dyeing with Alizarin Red S as a Natural Dye via Central Composite Design. *Fibers Polym.* **2014**, *15* (2), 254–260.

- (6) Dawson, A. B. A Note on the Staining of the Skeleton of Cleared Specimens with Alizarin Red S. *Stain Technol.* **1926**, *1* (4), 123–124.
- (7) Shiu, K.-K.; Chan, O.-Y. Electroanalysis of Copper Species at Polypyrrole-Modified Electrodes Bearing Alizarin Red S Ligands. *J. Electroanal. Chem.* **1995**, *388* (1–2), 45–51.
- (8) Liu, H.; Chen, Y.; Liu, Y.; Yang, Z. A Sensitive Sensor for Determination of L-Tryptophan Based on Gold Nanoparticles/Poly(alizarin Red S)-Modified Glassy Carbon Electrode. *J. Solid State Electrochem.* **2013**, *17* (10), 2623–2631.
- (9) Hatefi-Mehrjardi, A.; Ghaemi, N.; Karimi, M. A.; Ghasemi, M.; Islami-Ramchahi, S. Poly-(Alizarin Red S)-Modified Glassy Carbon Electrode for Simultaneous Electrochemical Determination of Levodopa, Homovanillic Acid and Ascorbic Acid. *Electroanalysis* **2014**, *26* (11), 2491–2500.
- (10) Filho, V. E. M.; Marques, A. L. B.; Zhang, J. J.; Chierice, G. O. Surface Complexation of Copper(II) with Alizarin Red S Adsorbed on a Graphite Electrode and Its Possible Application in Electroanalysis. *Electroanalysis* **1999**, *11* (15), 1130–1136.
- (11) Gupte, A.; Mumper, R. J. Elevated Copper and Oxidative Stress in Cancer Cells as a Target for Cancer Treatment. *Cancer Treat. Rev.* **2009**, *35* (1), 32–46.
- (12) Garber, K. Cancer's Copper Connections. *Science* **2015**, *349* (6244), 129–129.
- (13) Folkman, J.; Klagsbrun, M. Angiogenic Factors. *Science* **1987**, *235* (4787), 442–447.
- (14) Kuo, H. W.; Chen, S. F.; Wu, C. C.; Chen, D. R.; Lee, J. H. Serum and Tissue Trace Elements in Patients with Breast Cancer in Taiwan. *Biol. Trace Elem. Res.* **2002**, *89* (1), 1–12.
- (15) Burton, C.; Dan, Y.; Donovan, A.; Liu, K.; Shi, H.; Ma, Y.; Bosnak, C. P. Urinary Metallomics as a Novel Biomarker Discovery Platform: Breast Cancer as a Case Study. *Clin. Chim. Acta* **2016**, *452*, 142–148.
- (16) Rosca, I. D.; Watari, F.; Uo, M.; Akasaka, T. Oxidation of Multiwalled Carbon Nanotubes by Nitric Acid. *Carbon* **2005**, *43* (15), 3124–3131.
- (17) Tabbì, G.; Giuffrida, A.; Bonomo, R. P. Determination of Formal Redox Potentials in Aqueous Solution of copper(II) Complexes with Ligands Having Nitrogen and Oxygen Donor Atoms and Comparison with Their EPR and UV–Vis Spectral Features. *J. Inorg. Biochem.* **2013**, *128*, 137–145.
- (18) Hatcher, L.; Karlin, K. Oxidant Types in Copper-Dioxygen Chemistry: The Ligand Coordination Defines the Cun-O₂ Structure and Subsequent Reactivity. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9* (6).

5 CAPÍTULO V. PELÍCULAS DE BISMUTO

5.1 Antecedentes

En noviembre de 1880 el profesor Wolcott Gibbs dio a conocer los primeros resultados de su investigación con el cátodo de mercurio en la Academia Nacional de Ciencias en Nueva York.¹ 23 años más tarde Edgar F. Smith,² publicó el primer trabajo sobre el uso del electrodo de mercurio en el área electroanalítica, titulado “On the Uses of a Mercury Cathode in Electrochemical Analysis”, donde se describe la separación y determinación de varios aniones y cationes metálicos. Con la invención de la polarografía en 1922 por Jaroslav Heyrovský, el uso de electrodos de mercurio se popularizó y difundió en el área electroquímica. Los métodos electroanalíticos con mejores límites de detección son aquellos que usan electrodos de mercurio, en combinación con pasos de pre-concentración y con programas impulsionales.³ Sin embargo, el mayor inconveniente de los electrodos de mercurio, es la extrema toxicidad del mercurio y las sales precursoras de este metal, que se emplean en la preparación de superficies recubiertas.⁴ Como consecuencia, continuamente se buscan materiales que puedan reemplazar al mercurio.

En el año 2000, Joseph Wang y colaboradores⁵ reportaron el uso de electrodos recubiertos con una película de bismuto (BiE), como alternativa a los electrodos de mercurio. Los BiE, tienen un desempeño electroanalítico similar a los electrodos de mercurio, que se atribuye a la propiedad que posee el bismuto para formar aleaciones multicomponentes.⁶ El bismuto como nuevo material de electrodo dio pie a una nueva área de investigación, que incluye la construcción de electrodos, la determinación de analitos orgánicos e inorgánicos, así como el desarrollo de aplicaciones analíticas. En julio de 2010 la revista *Electroanalysis* presentó un fascículo especial (número 13) dedicado a los electrodos de bismuto titulado, “A Decade of Bismuth Electrodes in Modern Electroanalysis” donde el autor, J. Wang⁷ presenta una revisión completa de este tipo de electrodos. Adicionalmente, en ese fascículo se encuentra una serie de artículos donde se abordan los diferentes avances realizados con los electrodos de bismuto hasta esa fecha.

En el presente capítulo se investigaron las variables operacionales para la determinación por redisolución anódica, de iones cadmio y plomo en disolución acuosa, usando superficies modificadas con injertos moleculares, colorantes y películas de bismuto formadas *in-situ*.

5.2 Sección experimental

5.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se adquirieron en Sigma Aldrich: rojo de pirogalol (RPG), 4-nitroanilina (NAn), dopamina (DA), histamina (histm), nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT, 95%, lot # MKBS5763V), ácido clorhídrico, disolución de Bi(III) (1000 mg L^{-1}), sulfato de cadmio, nitrato de plomo, cloruro de potasio. Los reactivos detallados a continuación de obtuvieron de J.T. Baker: tolueno, ácido acético, acetato de sodio. En todos los ensayos se empleó agua desionizada, $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ (PURELAB, ELGA).

Los experimentos voltamperométricos, se realizaron con un potencióstato CH Instruments, modelo 920C, usando un arreglo de tres electrodos. Como electrodos de trabajo se usaron superficies de carbono vítreo (3 mm de diámetro, CH Instruments) prístinas y modificadas, como electrodo auxiliar se usó un alambre de platino de 0.5 mm de diámetro y 12 cm de longitud (enrollado en forma de espiral) y un electrodo de Ag/AgCl (KCl 3 M) como referencia.

5.2.2 Modificación de la superficie

Se pulieron mecánicamente electrodos de carbono vítreo (GC) usando dispersiones de alúmina en agua, con tamaño decreciente de tamaño de partícula (1.00, 0.30 y $0.05 \mu\text{M}$). Para la construcción de superficies GC/CNT, se utilizó un baño ultrasónico para dispersar nanotubos de carbono en tolueno, se empleó una relación de 0.2 mg mL^{-1} . Sobre superficies limpias de GC, se depositaron $20 \mu\text{L}$ de dispersión de CNT/tolueno, y las superficies así tratadas se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 10 min.

Las superficies GC/CNT se modificaron con dopamina (GC/CNT/DA) e histamina (GC/CNT/histm) mediante oxidación de aminas tal como se describe en el capítulo II; con 4-nitroanilina (GC/CNT/NAn), mediante la síntesis y posterior reducción de cationes diazonio, que se describe en el capítulo III; y mediante la adsorción de rojo de pirogalol (GC/CNT/RPG), como se detalla en el capítulo IV.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Formación de película de bismuto sobre electrodos de carbono vítreo

La formación de la película de bismuto así como la determinación de los iones metálicos se realizó utilizando el método de redisolución anódica, que tiene dos pasos principales, como se esquematiza

en el panel A de la figura 5.1. En el primer paso se aplica un pulso de potencial a un valor suficientemente bajo para que los cationes metálicos se depositen sobre la superficie del electrodo. A continuación en el segundo paso se aplica un programa de perturbación que cambia el valor de potencial, hacia valores más altos, de modo que los metales depositados sobre la superficie se oxidan, generando una corriente que se registra y se grafica en función del valor de potencial impuesto. Debido a que la película de bismuto (Bi^0) depositada sobre la superficie del electrodo de trabajo se constituye durante la aplicación del pulso de reducción, el proceso de formación se denomina *in-situ*. Los registros de voltamperometría de onda cuadrada (SWV) presentados en el panel B de la figura 5.1, se obtuvieron con disoluciones acuosas de bismuto $4.5 \mu\text{M}$ en $\text{HCl } 0.1\text{M}$, sobre una superficie de carbono vítreo. En esos registros se observa tanto en la corriente directa como en la corriente inversa una onda, correspondiente a la óxido-reducción de bismuto a -0.10 V Ag/AgCl . Debido a la forma de las ondas en los siguientes ensayos se empleó la diferencia de corrientes $\Delta i = i_{\text{directa}} - i_{\text{inversa}}$.

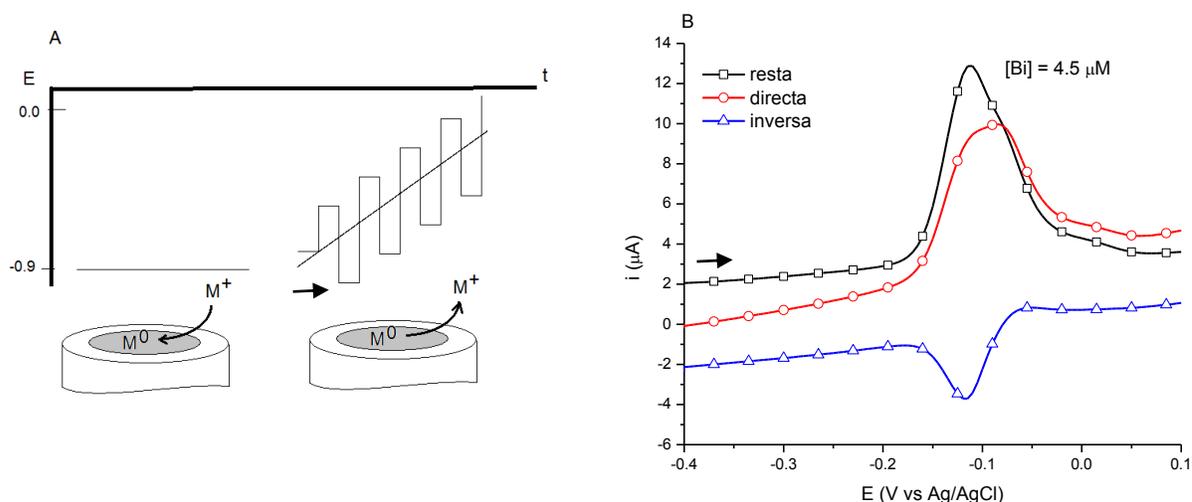


Figura 5.1. A) Esquema de la técnica de redisolución anódica B) voltamperogramas de onda cuadrada de bismuto obtenidos sobre electrodos prístinos de carbono vítreo. Se usaron los siguientes parámetros experimentales: $E_d = -0.9 \text{ V}$, $t_d = 30 \text{ s}$, $E_{\text{pulso}} = 5 \text{ mV}$, Amplitud = 25 mV , $f = 20 \text{ Hz}$.

5.3.2 Redisolución anódica de Cd^{2+} y Pb^{2+} sobre diferentes superficies modificadas

A continuación, se determinó el comportamiento redox de los iones cadmio y plomo sobre GC, para ello se usaron disoluciones de Cd(II) y Pb(II) $3.0 \mu\text{M}$ con Bi(III) $4.5 \mu\text{M}$, en $\text{HCl } 0.1\text{M}$. La determinación se realizó aplicando un pulso de potencial (E_d), a -0.90 V vs Ag/AgCl durante 30 segundos (t_d), con la aplicación del pulso se forma una película de bismuto en la que se depositan los otros metales formando aleaciones. Los resultados de este experimento se presentan en el panel

A de la figura 5.2, donde se observan tres picos. El primer pico se debe a la redisolución de cadmio a un $E_p = -0.81$ V, el segundo pico, $E_p = -0.54$ V, se debe a la redisolución de plomo y el tercer pico que se debe a la oxidación de bismuto aparece a $E_p = -0.11$ V todos los potenciales vs Ag/AgCl. En el panel B de la figura 5.2 se presenta la redisolución de Cd(II), Pb(II) y Bi(III) sobre electrodos CG/CNT. En este ensayo se usaron las mismas condiciones experimentales del ensayo descrito en el panel A de la misma figura 5.2.

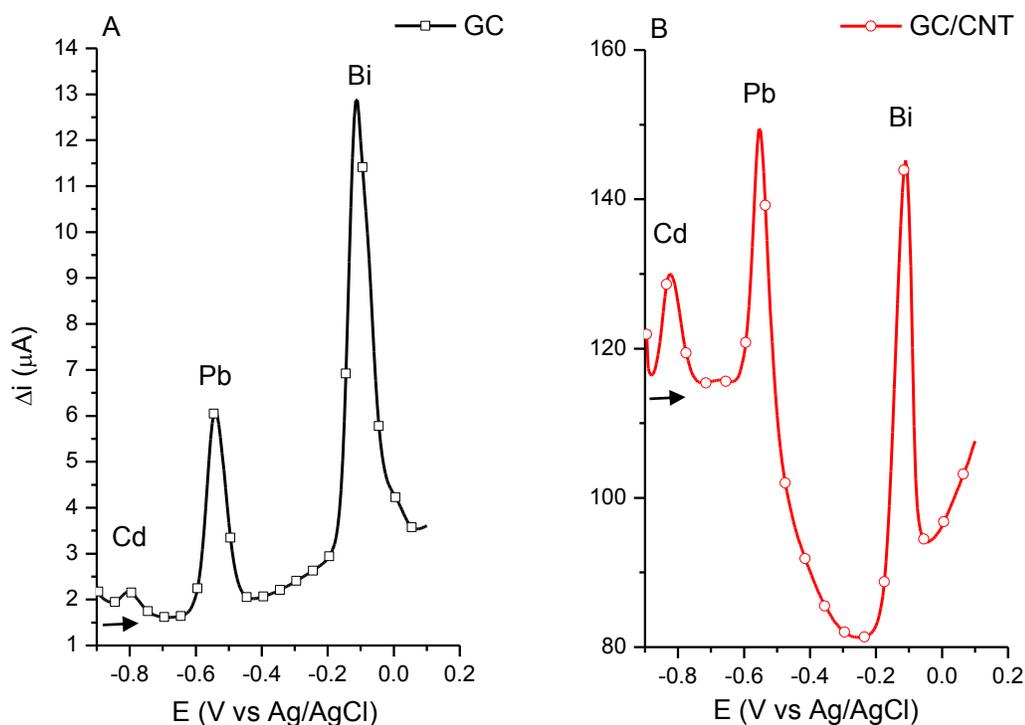


Figura 5.2. Determinación de cadmio y plomo 3 μM por redisolución anódica, sobre diferentes superficies, usando películas de bismuto formadas *in-situ*. [Bi(III)] = 4.5 μM A) carbono vítreo. B) nanotubos de carbono soportados en carbono vítreo. Los parámetros experimentales usados se detallan en la figura 5.1.

En los resultados presentados en la figura 5.2 se observa cómo cambia el valor de corriente de pico de los diferentes iones al realizar la determinación electroquímica sobre una superficie modificada. El valor de la corriente de pico aumenta aproximadamente un orden de magnitud cuando se usa la superficie con nanotubos de carbono. Por ejemplo, para cadmio sobre GC se obtiene una corriente de pico de 0.6 μA mientras que al realizar la determinación usando la misma concentración de iones pero sobre un electrodo modificado con nanotubos de carbono (GC/CNT) se obtiene una corriente de pico de 12.0 μA . Un comportamiento similar se observa en la señal correspondiente a plomo y bismuto donde se observa que la corriente de redisolución aumenta 10 y 5.7 veces

respectivamente, cuando se emplea la superficie modificada, esto se puede explicar porque el electrodo GC/CNT posee mayor área electroactiva.

Con los resultados encontrados hasta ese momento, a continuación se realizó una serie de experimentos donde se investigó el comportamiento de varias superficies modificadas, en la determinación simultánea de cadmio y plomo mediante redisolución anódica. Como sustratos se usaron superficies de nanotubos de carbono soportados sobre carbono vítreo (GC/CNT), donde se inmovilizaron moléculas de dopamina (DA), histamina (histm), 4-nitroanilina (NAn) y rojo de pirogalol (RPG), como se describe en la sección experimental. La determinación electroquímica se hizo empleando disoluciones acuosas equimolares de Pb y Cd ($[M] = 3 \mu\text{M}$) en medio ácido, conteniendo bismuto $4.5 \mu\text{M}$. Los resultados de esta serie de experimentos se presentan en la figura 5.3, cada barra de la figura muestra el valor promedio de la corriente de pico calculado a partir de mediciones realizadas sobre 5 superficies construidas independientemente.

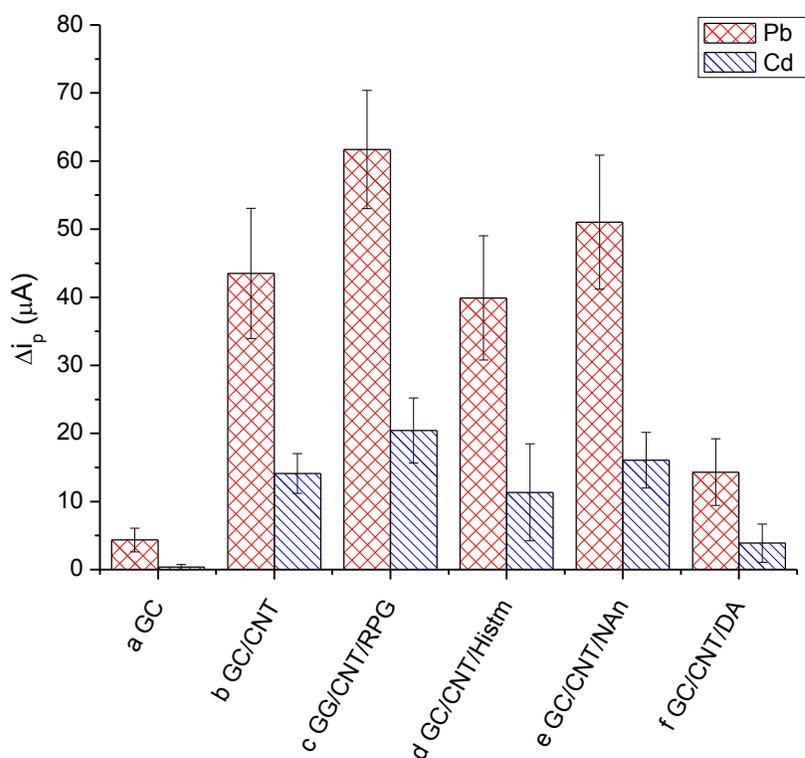


Figura 5.3. Corrientes de pico correspondientes a la determinación electroquímica de Cd(II) y Pb(II) = $3 \mu\text{M}$ usando películas de bismuto depositadas *in-situ*, sobre diferentes superficies. Se usaron los parámetros experimentales descritos en la figura 5.1.

Los datos de la figura 5.3 muestran que la superficie modificada con rojo de pirogalol (GC/CNT/RPG), tiene mejor desempeño en la determinación de cadmio y plomo con respecto a

las otras superficies estudiadas. Con estas superficies se midieron corrientes de pico de 61.7 y 20.4 μA para Pb y Cd respectivamente. Estos valores de corriente corresponden a un aumento de la señal de 14 y 55 veces para Pb y Cd, respecto de los valores obtenidos usando superficies de carbono vítreo prístino. También representan un aumento en la corriente de redisolución de 41.8% y 44.6% para Pb y Cd, al compararse con las corrientes obtenidas con la superficie GC/CNT. En este gráfico también se observa que las barras de error son relativamente grandes, estos resultados se los puede atribuir a la cantidad variable de nanotubos soportados sobre la GC y a la cantidad de sitios activos que estas estructuras de carbono poseen.

5.3.3 Optimización de parámetros experimentales

Se realizaron varios ensayos para conocer el comportamiento de la superficie GC/CNT/RPG en la determinación de metales, a diferentes valores de pH. Para estos ensayos se utilizaron disoluciones acuosas de Pb(II) y Cd(II) 3 μM , conteniendo Bi(III) 4.5 μM , en buffer de fosfatos para pH igual a 2.4 y en buffer de acetatos para valores de pH de 4.5. En la figura 5.4 se muestran los registros de SWV obtenidos, donde se observa señales redisolución, a los valores de potencial descritos en la sección anterior, solamente cuando el valor de pH de la disolución es 1.0.

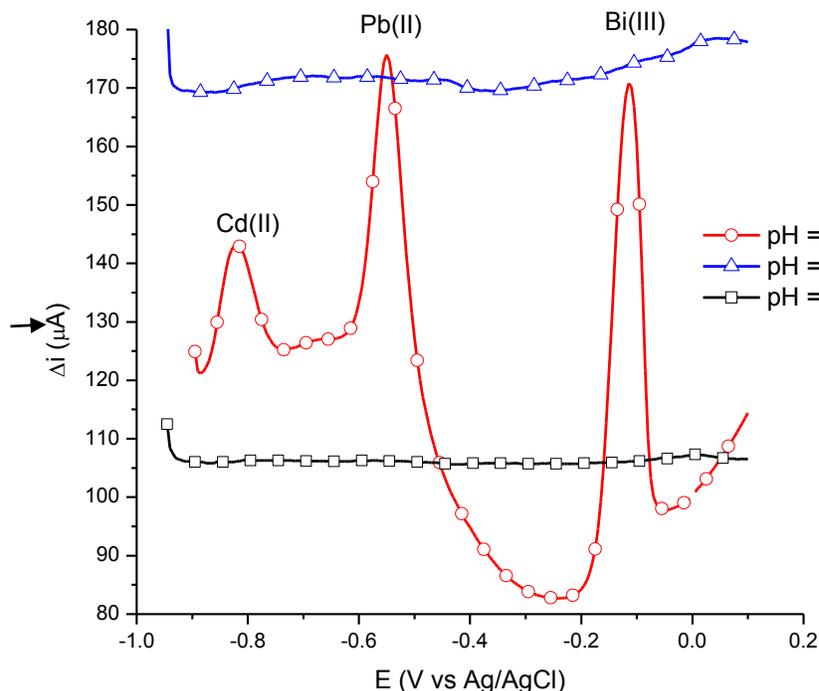


Figura 5.4. Registros de voltamperometría de onda cuadrada de la determinación de Cd(II) y Pb(II) 3 μM , sobre electrodos GC/CNT/RPG usando películas de bismuto formadas *in-situ*. $E_d = -0.9$ V, $t_d = 30$ s, $E_{\text{pulso}} = 5$ mV, Amplitud = 25 mV, Frecuencia = 20 Hz.

La ausencia de picos en los otros dos voltamperogramas (figura 5.4) a valor de pH de 2.5 y 4.5 sugieren, que la película de Bi^0 no se forma, demostrando que cambiar el valor de pH de las disoluciones no mejora el desempeño de la superficie modificada GC/CNT/RPG en la determinación de Cd y Pb.

Seguidamente, se realizó un conjunto de ensayos donde se investigó el efecto de la variable, t_d , en la señal de redisolución de plomo y cadmio. Se usaron disoluciones acuosas de Cd 1.0 μM y Pb 0.2 μM con Bi 4.5 μM en medio ácido, aplicando un pulso a un valor de potencial de -0.9 V vs Ag/AgCl. Los resultados se presentan como una familia de voltamperogramas, donde se aprecia una relación directa entre el tiempo de depósito y el valor de la corriente de pico (Δi_p), como se observa en la figura 5.5. Aplicando el pulso de reducción durante 1 min se encontraron valores de corriente de pico de 4.9 y 3.72 μA para Cd y Pb respectivamente, cuando se aplicó el pulso durante 10 min se obtuvieron valores Δi_p de 153.1 y 43.6 μA para Cd y Pb. Al incrementar el tiempo de depósito un orden de magnitud, la intensidad de la señal se incrementa en un factor de alrededor de 30 y 12 para Cd y Pb respectivamente. Los datos obtenidos sugieren que al ampliar más el tiempo de depósito se obtendrán señales voltamperométricas de redisolución más grandes, debido a que se deposita más cantidad de analito sobre el electrodo de trabajo. Extender el tiempo de depósito permitiría aumentar la sensibilidad del método de determinación, sin embargo, se debe considerar que al ampliar el tiempo de depósito se aumentará también el tiempo de análisis total. En los siguientes ensayos se decidió usar un t_d de 10 min puesto que es un tiempo razonable para un análisis.

No se realizaron ensayos para optimizar el potencial de depósito (E_d), en todos los casos se utilizó un valor de -0.9 V vs Ag/AgCl. Se seleccionó ese valor de potencial puesto que está muy cerca del límite inferior de la ventana de potencial impuesta por el sistema empleado. La agitación de la disolución de la celda se realizó con un agitador magnético girando a 200 rpm en un volumen de disolución de 5 mL. De manera similar al potencial de depósito las variables agitación de la disolución, diseño y arreglo espacial de la celda no se optimizaron.

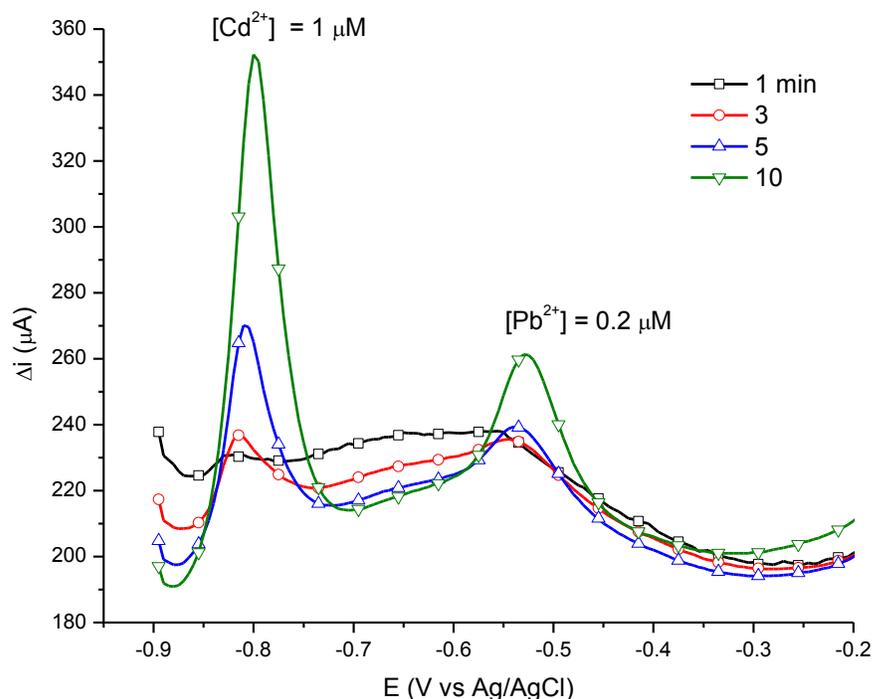


Figura 5.5. Registros de voltamperometría de onda cuadrada de la determinación de Cd y Pb sobre superficies GC/CNT/RPG, usando redisolución anódica sobre películas de Bi formadas *in-situ*, a diferentes tiempos de depósito, $E_{\text{depósito}} = -0.9$ V; $E_{\text{pulso}} = 5$ mV, Amplitud = 25 mV, Frecuencia = 20 Hz.

5.3.4 Desempeño analítico de la superficie modificada

Después de optimizar varios parámetros experimentales para la determinación de iones Cd y Pb usando redisolución anódica con películas de bismuto formadas *in-situ*, sobre superficies modificadas, se estimaron los parámetros de calidad analítica del método en desarrollo. En el panel A de la figura 5.6 se presenta una familia voltamperogramas obtenidos al determinar diferentes concentraciones de Cd y Pb, a partir de esos registros se construyeron las respectivas curvas Δi_p vs [M]. Para los dos metales se encontró una relación directamente proporcional entre la diferencia de corrientes de pico y la concentración del respectivo ion en disolución, como se muestra en el panel B. Utilizando los valores de Δi_p , se determinó el modelo matemático de la recta de regresión y el límite de detección del método (LOD) para cada ion metálico.

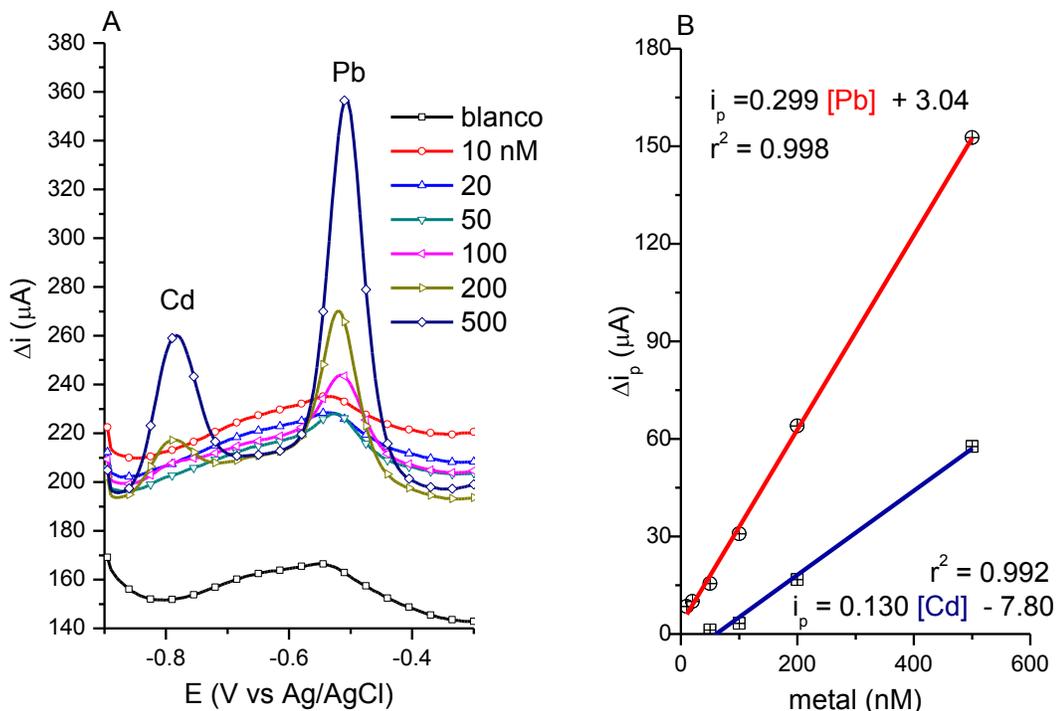


Figura 5.6. A) Voltamperogramas de onda cuadrada de la determinación de Cd y Pb sobre electrodos GC/CNT/RPG usando redisolución anódica con películas de Bi formadas *in-situ* a diferentes concentraciones de iones Cd y Pb. [Bi] = 4.5 μM en HCl 0.1 M, $E_d = -0.9$ V, $t_d = 10$ min, $E_{\text{pulso}} = 5$ mV, amplitud = 25 mV $f = 20$ Hz. B) Curvas i_p vs [M] para la determinación electroquímica de Cd y Pb.

El cálculo del LOD para cada ion se realizó utilizando la ecuación 5.1, donde y_B es el valor de Δi_p del blanco, que se puede aproximar al valor de la ordenada al origen (y_0), s_B es la desviación estándar del blanco, cuyo valor se puede aproximar al valor del estadístico $s_{y/s}$, que estima los errores aleatorios en la dirección y, de la recta de regresión.⁸

$$LOD = y_B + 3s_B \quad 5.1$$

Usando las mejores condiciones experimentales estudiadas y superficies GC/CNT/RPG se calcularon valores de límite de detección de 58 y 22 nM, en la determinación electroquímica de cadmio y plomo respectivamente. En la tabla 5.1, se presentan valores de límites de detección reportados en la literatura, obtenidos usando electrodos de bismuto, con estos valores se puede comparar el desempeño del método analítico desarrollado en esta investigación

Tabla 5.1. Límites de detección para Cd y Pb encontrados en diferentes trabajos

Superficie	LOD (nM)	Referencia
Cadmio		
GC/CNT/RPG	58	Este trabajo
GC/MWCNTs-Nafion	0.36	Xu ⁹
GC/Grafeno-Nafion	0.17	Li ¹⁰
GC/MWCNT/Polipirocatecol violeta	1.78	Chamjangali ¹¹
Plomo		
GC/CNT/RPG	22	Este trabajo
GC/Calixareno-Nafion*	0.096	Torma ¹²
GC/Grafeno-Nafion	0.097	Li ¹⁰
GC	5.25	Tufa ¹³

*5,11,17,23-tetra-tert-butil-25,26,27,28-tetrakis-(piperidinotiocarbonilmetoxi) calix[4]areno (BME-3990)

En la tabla 5.1 se observan valores de LOD 2 órdenes de magnitud menores, que los calculados en este trabajo, sin embargo, las superficies detalladas en este capítulo y el método analítico aún pueden usarse en ensayos de monitoreo ambiental. Por ejemplo, en agua de río para uso agrícola, que según la norma NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales y que fue publicada en el diario oficial el 06 de enero de 1997, establece como concentraciones máximas permisibles para cadmio y plomo valores de 1.80 y 2.41 μM respectivamente.

5.4 Conclusiones

Sobre las siguientes superficies modificadas, GC/CNT, GC/CNT/RPG, CG/CNT/Histm, GC/CNT/NAn y GC/CNT/DA se depositaron películas de bismuto para la determinación simultánea de Cd y Pb. Se encontró que usando electrodos GC/CNT/RPG se obtienen señales de corriente Δi_p más grandes comparadas con las otras superficies modificadas empleadas. Para los dos iones metálicos, se encontró una dependencia lineal entre la diferencia de corriente de pico y la concentración de cada ion. Usando el CME CG/CNT/RPG, se calcularon valores de sensibilidad de 0.299 y 0.130 $\text{A}\cdot\text{L}/\text{mol}$ y valores de límite de detección de 58 y 22 nM para cadmio y plomo

respectivamente. En la determinación simultánea se utilizaron disoluciones de acuosas con Bi(III) 4.5 μ M en HCl 0.1 M, aplicando un pulso de reducción a -0.9 V durante 10 min y utilizando voltamperometría de onda cuadrada. Este método electroquímico podría usarse en la determinación de metales en aguas de riego agrícola, entre otras muestras posibles.

5.5 Referencias

- (1) Maxwell, J. A.; Graham, R. P. The Mercury Cathode and Its Applications. *Chem. Rev.* **1950**, *46* (3), 471–498.
- (2) Smith, E. F. The Use of a Mercury Cathode in Electrochemical Analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1903**, *25* (9), 883–892.
- (3) Economou, A.; Fielden, P. R. Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry on Mercury Film Electrodes. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *273* (1–2), 27–34.
- (4) Economou, A. Bismuth-Film Electrodes: Recent Developments and Potentialities for Electroanalysis. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2005**, *24* (4), 334–340.
- (5) Wang, J.; Lu, J.; Hocevar, S. B.; Farias, P. A. M.; Ogorevc, B. Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. *Anal. Chem.* **2000**, *72* (14), 3218–3222.
- (6) Wang, J. Stripping Analysis at Bismuth Electrodes: A Review. *Electroanalysis* **2005**, *17* (15–16), 1341–1346.
- (7) Švancara, I.; Prior, C.; Hočevar, S. B.; Wang, J. A Decade with Bismuth-Based Electrodes in Electroanalysis. *Electroanalysis* **2010**, *22* (13), 1405–1420.
- (8) Miller, J. N.; Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed.; Pearson/Prentice Hall: Harlow, England ; New York, 2005.
- (9) Xu, H.; Zeng, L.; Xing, S.; Xian, Y.; Shi, G.; Jin, L. Ultrasensitive Voltammetric Detection of Trace Lead(II) and Cadmium(II) Using MWCNTs-Nafion/Bismuth Composite Electrodes. *Electroanalysis* **2008**, *20* (24), 2655–2662.
- (10) Li, J.; Guo, S.; Zhai, Y.; Wang, E. High-Sensitivity Determination of Lead and Cadmium Based on the Nafion-Graphene Composite Film. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *649* (2), 196–201.
- (11) Chamjangali, M. A.; Kouhestani, H.; Masdarolomoor, F.; Daneshinejad, H. A Voltammetric Sensor Based on the Glassy Carbon Electrode Modified with Multi-Walled Carbon Nanotube/Poly(pyrocatechol Violet)/Bismuth Film for Determination of Cadmium and Lead as Environmental Pollutants. *Sens. Actuators B Chem.* **2015**, *216*, 384–393.
- (12) Torma, F.; Grün, A.; Bitter, I.; Tóth, K. Calixarene/Nafion-Modified Bismuth-Film Electrodes for Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Lead. *Electroanalysis* **2009**, *21* (17–18), 1961–1969.
- (13) Tufa, L. T.; Siraj, K.; Soreta, T. R. Electrochemical Determination of Lead Using Bismuth Modified Glassy Carbon Electrode. *Russ. J. Electrochem.* **2013**, *49* (1), 59–66.

6 CAPÍTULO VI. MONOCAPAS AUTOENSAMBLADAS

6.1 Antecedentes

El autoensamblaje molecular es un proceso en el que una superestructura o patrón organizado se forma espontáneamente a partir de un conjunto de las moléculas componentes que no están relacionadas entre sí, en una fase líquida o gaseosa.¹ Los autoensamblados moleculares pueden clasificarse en dos grupos dependiendo de si el sistema se organiza en un medio homogéneo o heterogéneo. Las monocapas autoensambladas (self-assembled monolayers, SAMs por sus siglas en inglés) sobre sustratos, pertenecen al grupo de los sistemas heterogéneos auto-organizados.

Entre 1946 y 1947 Zisman y colaboradores,² presentaron los primeros estudios sobre la formación y caracterización de SAMs usando derivados alquílicos de cadena larga, (alcoholes, aminas y ácidos carboxílicos), sobre superficies limpias de platino y vidrio. En esos años, el potencial que ofrece el proceso de autoensamblaje no fue reconocido en su totalidad, y las primeras publicaciones tuvieron un nivel limitado de interés.³ En 1983, los investigadores Nuzzo y Allara iniciaron una nueva área de investigación, al demostrar que se pueden formar monocapas autoensambladas de alcanotioles, $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_m\text{-SH}$, sobre sustratos de oro.⁴ Posteriores investigaciones se enfocaron en el estudio sistemático de superficies orgánicas construidas a partir de alcanotioles ω -sustituidos de cadena larga, $\text{X-(CH}_2\text{)}_m\text{-SH}$, donde X representa una gran variedad de grupos funcionales.⁵⁻⁷

Las SAMs permiten la construcción de plataformas con enlaces ajustables que tienen aplicación como modelos biomiméticos,⁸ en el estudio de transferencia electrónica de largo alcance,⁹ en la inmovilización de proteínas, en el desarrollo de sensores electroquímicos y bioelectroquímicos,¹⁰ y en la fijación de compuestos redox.¹¹ El autoensamblaje de alcanotioles sobre oro es quizá el sistema auto-organizado más estudiado.¹² La adsorción ocurre mediante la formación de un enlace químico entre los átomos de oro de la superficie y los átomos de azufre del tiol. Además, la adsorción se favorece debido a las interacciones hidrofóbicas entre las cadenas alquílicas del arreglo ordenado, como se esquematiza en la figura 6.1.

En el presente capítulo se busca encontrar las mejores condiciones de pretratamiento de superficies de oro, para la construcción de monocapas autoensambladas de cisteamina (CA), 6-aminohexanotiol (HAt) y ácido 3-mercaptopropiónico (MPA), para evaluar su comportamiento electroquímico y ácido-base utilizando el par hexacianoferrato de potasio como sonda redox. Las

SAMs del MPA se modificaron mediante reacciones de acoplamiento para construir CMEs útiles en la determinación de iones cobre. Todas las SAMs se caracterizaron usando técnicas electroquímicas como voltamperometría cíclica (CV) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).

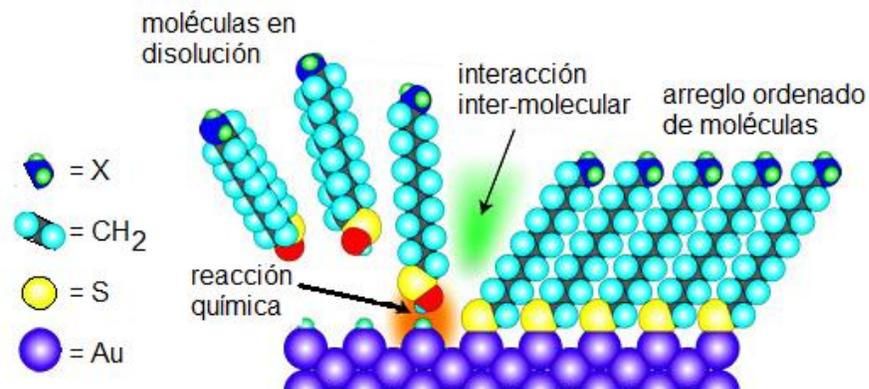


Figura 6.1. Esquema del proceso de autoensamblado de alcanotioles ω -sustituidos de cadena larga, $X-(CH_2)_m-SH$, sobre sustratos de oro. X representa cualquier grupo funcional.

6.2 Sección experimental

6.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se adquirieron en Sigma Aldrich: cisteamina (CA) y 6-aminohexanotiol (6HT), ácido 3-mercaptopropiónico (MPA), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), *N*-hidroxisuccinimida (NHS), dietilentriamina (DTA), bromo acetato de etilo (BrEtAc). Los reactivos detallados a continuación de obtuvieron de J.T. Baker: etanol, Dihidrógeno fosfato de potasio, hidróxido de sodio. Se usó agua desionizada (18.2 M Ω cm) en todos los ensayos.

Los experimentos electroquímicos, se realizaron con una celda compuesta por tres electrodos y un potenciostato CH Instruments, modelo CHI 920C, Empleando: como superficies de trabajo electrodos comerciales de carbono vítreo (3 mm diámetro, CHI) y oro policristalino (2 mm de diámetro, CHI), un alambre de platino de 0.5 mm diámetro y 12 cm de longitud como electrodo de auxiliar, y un electrodo referencia de Ag/AgCl (3 M KCl).

6.2.2 Depósito de oro sobre carbono vítreo

La limpieza de los electrodos de GC se realizó mediante pulido mecánico del electrodo con dispersiones de alúmina en agua, con decreciente tamaño de partícula (1.00, 0.30 y 0.05 μ m). Después de enjuagar los electrodos con abundante agua deionizada, estos se sumergieron en una

celda electroquímica que contiene una disolución acuosa de Au(III) 1.0 mM en HCl 0.2 M. El depósito de oro se realizó mediante la imposición de un pulso de potencial a 0.2 V vs Ag/AgCl durante 45 segundos.

6.2.3 Construcción de monocapas autoensambladas

Los electrodos de oro policristalino se pulieron sobre un paño usando como abrasivo alumina dispersada en agua, con tamaño de partícula decreciente, (1.00, 0.30 y 0.05 μm). Los distintos sustratos de oro (Au policristalino y GC/Au) se sumergieron en disoluciones etanólicas 10 mM del tiol correspondiente (MPA, CA ó 6HT) durante 12 horas, manteniéndolas en la oscuridad a temperatura ambiente (ca. 22 °C).

6.2.4 Modificación de las monocapas de ácido 3-mercaptopropiónico

Los grupos carboxilo de la SAMs de MPA se activaron al entrar en contacto con disoluciones acuosas de EDC/NHS (1:1) 5 mM, durante 90 minutos, como se observa en el mecanismo de reacción A de la figura 6.2.

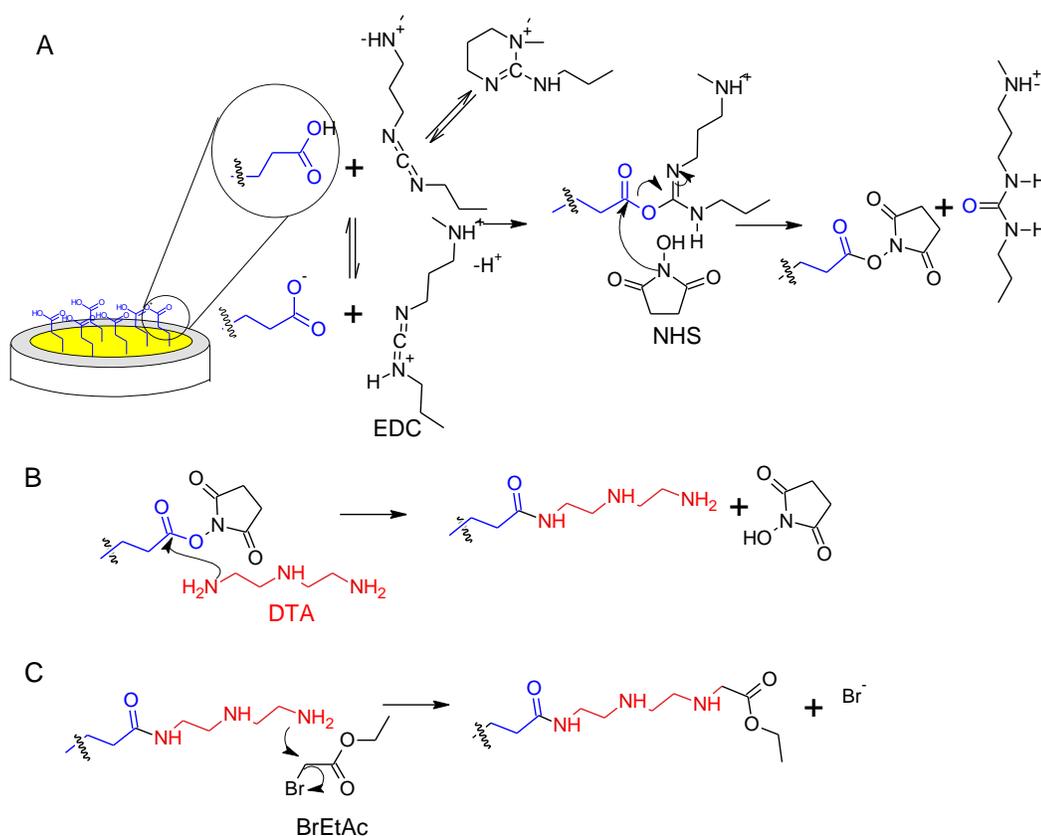


Figura 6.2. Esquema de la modificación de la superficie GC/Au/MPA. A) activación de los grupos carboxilo usando EDC:NHS B) acoplamiento de DTA a los carboxilo activados C) modificación final de la superficie con BrEtAc.

El acoplamiento con la DTA se realiza al poner en contacto los carboxilatos activados con DTA pura, durante 30 minutos, como se presenta en el mecanismo de reacción B de la figura 6.2. Finalmente la superficie con grupos amino terminales, Au/MPA/DTA, se modificó con bromoacetato de etilo mediante una reacción de sustitución nucleofílica, que se esquematiza en el panel C de la figura 6.2.

6.3 Resultados y discusión

6.3.1 Limpieza de los electrodos de oro policristalino

Creager y colaboradores¹³ mostraron que la calidad de las SAMs depende de factores tales como la rugosidad microscópica y las fronteras de grano de la superficie. Con esta premisa en mente, se realizó una revisión bibliográfica buscando tratamientos de limpieza electroquímica usados para tener superficies de oro idóneas para el posterior ensamblado de monocapas. Un resumen de la revisión se presenta en la tabla 6.1.

Tabla 6.1 Tratamientos electroquímicos empleados en la limpieza de superficies de oro.

Código	Número de ciclos	Ventana de E (V vs Ag/AgCl)	Medio	Referencia
i	25	0.1 hasta 0.9	H ₂ SO ₄ 0.5 M	Carvalho ¹⁴
ii	20	-0.4 hasta -1.4	NaOH 0.5 M	Gadzekpo ¹⁵
iii	10	-0.2 hasta 1.5	H ₂ SO ₄ 0.1 M	Burris ¹⁶
iv	10	-0.2 hasta 1.5	H ₂ SO ₄ 0.1 M + KCl 10 mM	Oesch ¹⁷
v	Tratamiento iv, seguido del tratamiento ii.			

Se empleó el factor de rugosidad, ($Fr = A_{elec}/A_{geo}$) de cada superficie tratada para comparar el desempeño de los diferentes procesos de limpieza. Este factor se define como el cociente entre el área electroactiva y el área geométrica. La medición de las áreas electroactivas se realizó mediante la adsorción de oxígeno sobre la superficie de oro (formación de una capa de óxido de oro). Experimentalmente esta capa se obtiene al aplicar un barrido de potencial desde 0.2 hasta 1.65 V vs Ag/AgCl a 50 mV s⁻¹ en una disolución de fosfatos a pH = 7.0 como el que se muestra en el inserto de la figura 6.3 con potencial de inicio del proceso de oxidación de alrededor de 1.1 V vs Ag/AgCl. Inmediatamente obtenida la monocapa de óxido de oro, se invierte el sentido del barrido. En el correspondiente registro i vs E se observa un pico de reducción, con E_{pc} alrededor de 0.9 V

vs Ag/AgCl, correspondiente a la reducción de la capa de oro formada anteriormente, como se observa en inserto de la figura 6.3. La integración del pico de reducción permite obtener el valor de la carga eléctrica usada en la adsorción de oxígeno ($Q_{Au/óxido}$). El área electroactiva de cada superficie de oro se calcula al dividir el valor de $Q_{Au/óxido}$ entre $390 \mu C cm^{-2}$, que es un valor estándar de carga por unidad de área, determinado para oro policristalino (Q^{std}) reportado en la literatura.¹⁴

En la figura 6.3 se presentan los valores del factor de rugosidad de varias superficies de oro después de aplicar los tratamientos detallados en la tabla 6.1. Para el cálculo de estos datos se empleó un valor de área geométrica de $0.031 cm^2$. Cada barra representa el valor promedio calculado con 5 superficies diferentes. Con un Fr de 1.52 ± 0.14 , se encontró que las superficies de oro más homogéneas, se obtienen al aplicar el tratamiento de limpieza v.

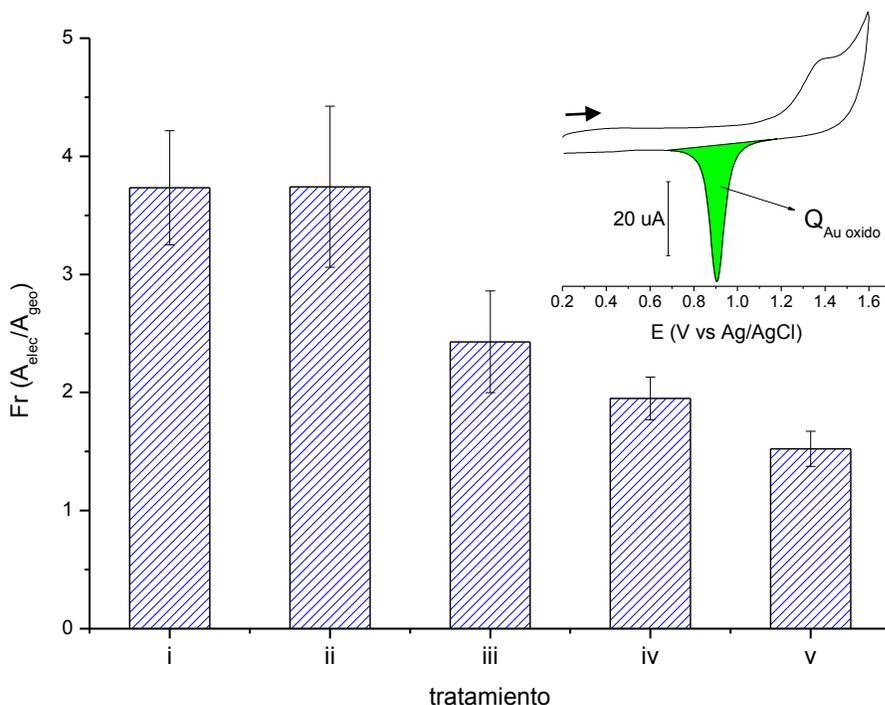


Figura 6.3 Factores de rugosidad de electrodos de Au, obtenidos después de aplicar diferentes procedimientos de limpieza. Cada tratamiento se detalla en la tabla 6.1. Inserto: CV típico de la formación y posterior reducción de una capa de oxígeno adsorbido sobre una superficie de Au.

Después de limpiar las superficies de oro con el tratamiento v, los electrodos se caracterizaron, mediante la determinación de la constante de rapidez heterogénea estándar de transferencia de electrones (k^0) para el par hexacianoferrato(III/II), usando el método reportado por Lavagnini.¹⁸ Usando disoluciones acuosas de hexacianoferrato(III/II) 3 mM en medio de buffer de fosfatos 5.0 mM con KCl 0.1 M, se obtuvo una familia de voltamperogramas con velocidades de barrido de

entre 75 y 2000 mV s^{-1} , como se muestra en el panel A de la figura 6.3. De esos voltamperogramas se midieron los valores de potencial de pico anódico y catódico, con los que se calcularon valores para la diferencia de potenciales de pico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$). Usando los valores de ΔE_p se construyó el correspondiente gráfico Ψ vs $C \times \nu^{-1/2}$, como se detalla en la sección 1.5.1, el valor de k^0 corresponde al valor de la pendiente de la recta obtenida, en esta serie de ensayos se calculó un valor de k^0 de $0.0101 \pm 0.0005 \text{ cm s}^{-1}$, con un coeficiente de correlación r^2 de 0.9883, como se muestra en el panel B de la figura 6.4. El valor calculado en este trabajo coincide con el valor medido por Campbel y colaboradores¹⁹, quienes reportan un valor de $\log k^0 = -2$, obtenido utilizando espectroscopía de impedancia electroquímica.

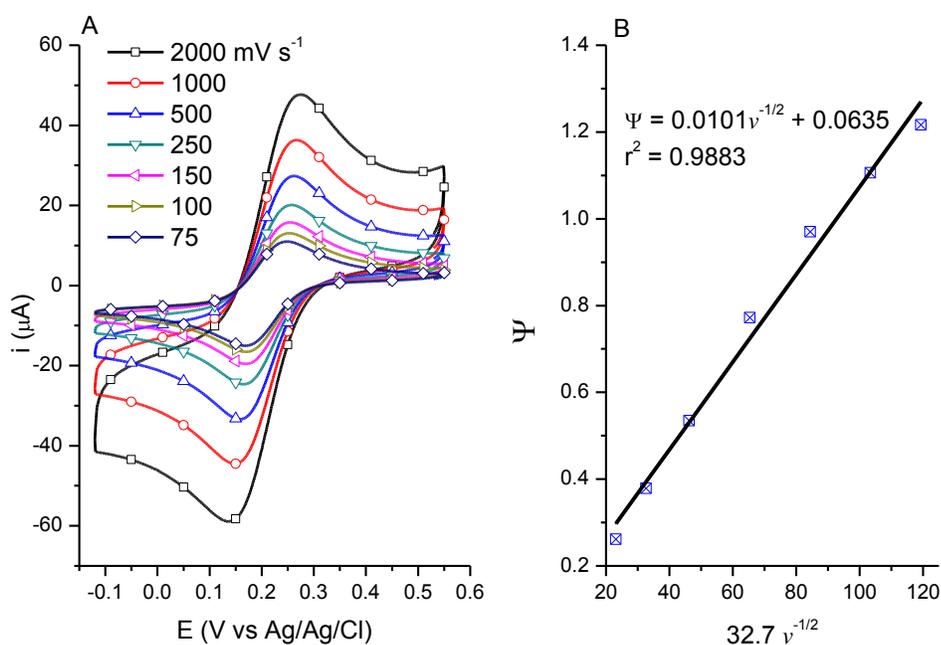


Figura 6.4. A) Familia de voltamperogramas obtenidos a diferentes velocidades de barrido con disoluciones acuosas de hexacianoferrato(III) de potasio 3 mM en buffer de fosfatos pH = 7.0. B) Gráfico Ψ vs $C \times \nu^{-1/2}$ para la determinación de k^0 , sobre electrodos de oro policristalino.

6.3.2 Monocapas autoensambladas del ácido 3-mercaptopropiónico

A continuación, se construyeron SAMs de MPA sobre superficies de oro policristalino. El proceso de modificación de estas superficies se siguió usando espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) para disoluciones acuosas de hexacianoferrato(III/II) de potasio 3 mM, en buffer de fosfatos 40 mM con KCl 0.1 M y a pH = 7.0. En la figura 6.5 se presentan diagramas de Nyquist obtenidos con superficies prístinas de oro (Au) y superficies modificadas (Au/MPA).

Los datos experimentales se ajustaron con el programa Zview (Scribner Inc), usando el circuito equivalente presentado en el inserto. En este circuito equivalente se utilizaron, dos resistencias (R_{ct} y R_s) y dos elementos de fase constante, el primero elemento de fase constante (CPE1) describe el comportamiento de la doble capa eléctrica, el segundo CPE (etiquetado como W) se empleó para modelar la impedancia de Warburg correspondiente a la difusión de la sonda redox,

Ajustando matemáticamente los datos experimentales de la figura 6.5, se determinó el valor de la resistencia a la transferencia de carga R_{ct} , obteniéndose valores de 197 y 2284 Ω para electrodos Au y Au/MPA respectivamente. El aumento de esta magnitud en alrededor de 11 veces se atribuye a la presencia de la capa orgánica (SAM) y a efectos electrostáticos entre la sonda redox y los carboxilos de la SAM. Los valores de los otros componentes del circuito permanecen relativamente constantes antes y después de la modificación como se puede observar en la tabla 6.2.

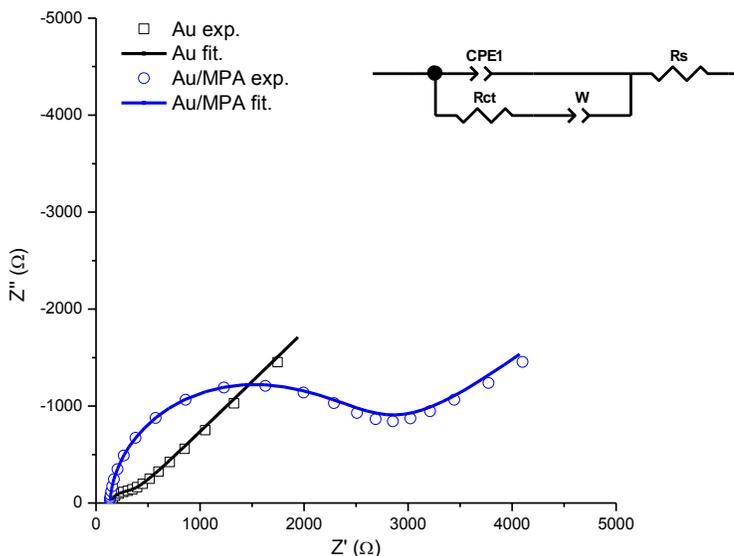


Figura 6.5. Diagramas de Nyquist obtenidos con superficies prístinas de oro y con SAMs de ácido 3-mercaptopropiónico. Se emplearon disoluciones acuosas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 3mM en buffer de fosfatos 40 mM en KCl 0.1 M pH = 7.0. $E = E_{ocp} \sim 0.21$ V vs Ag/AgCl, $f = 1-1 \times 10^{-4}$ Hz, amplitud = 2.5 mV

Al ajustar espectros de EIS usando circuitos equivalentes la impedancia de un CPE está dada por el valor de Q^0 y de su exponente α , que este último parámetro puede tener valores entre 0 y 1. El valor del parámetro α cercano a 1, en un elemento de fase constante describe la tendencia del CPE a comportarse como un capacitor ideal, en estos ensayos se calcularon valores α de 0.89 y 0.96 para superficies Au y Au/MPA. El valor calculado para el parámetro α en el elemento de fase constante W es cercano a 0.5 indicando que dicho elemento se comporta como

un elemento Warburg que a su vez modela la difusión semi-infinita de la sonda redox. χ^2 es el cuadrado de la desviación estándar entre los datos experimentales y los datos teóricos, este valor se emplea como una medida de la bondad del ajuste realizado.

Tabla 6.2. Valores obtenidos mediante ajuste matemático de los datos de espectroscopia de impedancia presentados en la figura 6.3

Electrodo	χ^2	CPE1 ($s^\alpha/\Omega\text{cm}^2$)	α	W ($s^\alpha/\Omega\text{cm}^2$)	α	Rs (Ω)
Au	0.000507	1.62×10^{-6}	0.89	1.64×10^{-4}	0.51	140
Au/MPA	0.000491	1.03×10^{-6}	0.96	1.95×10^{-4}	0.45	133

Las SAMs del MPA tienen propiedades ácido-base debido al grupo carboxílico superficial. Cuando el valor del pH del medio en el que están sumergidas las monocapas es mayor al valor del pKa superficial (5.3), la monocapa se encuentra desprotonada, y en esas condiciones se produce un fenómeno de repulsión electrostática entre la superficie cargada negativamente y el anión hexacianoferrato(III), lo que dificulta el intercambio de electrones. Se propone como hipótesis que la rapidez de transferencia de electrones disminuye o se dificulta a causa de la repulsión electrostática. Por ese motivo se debe suministrar una cantidad mayor de energía para que efectuar el proceso de intercambio electrónico.

Esta última hipótesis se puede confirmar experimentalmente con los datos del panel A de la figura 6.6, donde se presenta una familia de voltamperogramas obtenidos con disoluciones acuosas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, a diferentes valores de pH con superficies de SAMs de MPA. Al cambiar el valor de pH de 3.3 a 8.2 el valor de potencial de pico catódico cambia de 0.172 a 0.067 V vs Ag/AgCl. Para intercambiar electrones entre la sonda y la superficie se debe administrar 0.105 V extra, también se observa la disminución de la corriente de pico en un 35%. Usando el procedimiento descrito en la sección 1.5.1, se determinó el valor de la constante de rapidez heterogénea de electrones, “ k^0 ” para el sistema hexacianoferrato(III/II) a pH = 7.0 sobre superficies Au/MPA, calculándose un valor $4.9 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$, como se muestra en el panel B de la figura 6.7. Con todos estos experimentos se confirmó el autoensamblaje de MPA sobre las superficies de Au.

Usando los datos de corriente de pico de una familia de voltamperogramas como los presentados en el panel de la figura 6.6, se construyó el gráfico i_p vs pH, denominado en este trabajo, titulación amperométrica. El ajuste de estos datos experimentales a un modelo que describe la disociación de

un ácido, realizado mediante mínimos cuadrados como se detalla en el capítulo I, permite estimar el valor de pK_a superficial de la monocapa. Como se muestra en el panel B de la figura 6.6, se determinó un valor de pK_a superficial de 5.3. El valor de constante de acidez obtenido en este trabajo concuerda con el valor de $pK_a = 5.2 \pm 1$ reportado por Zhao y colaboradores.²⁰

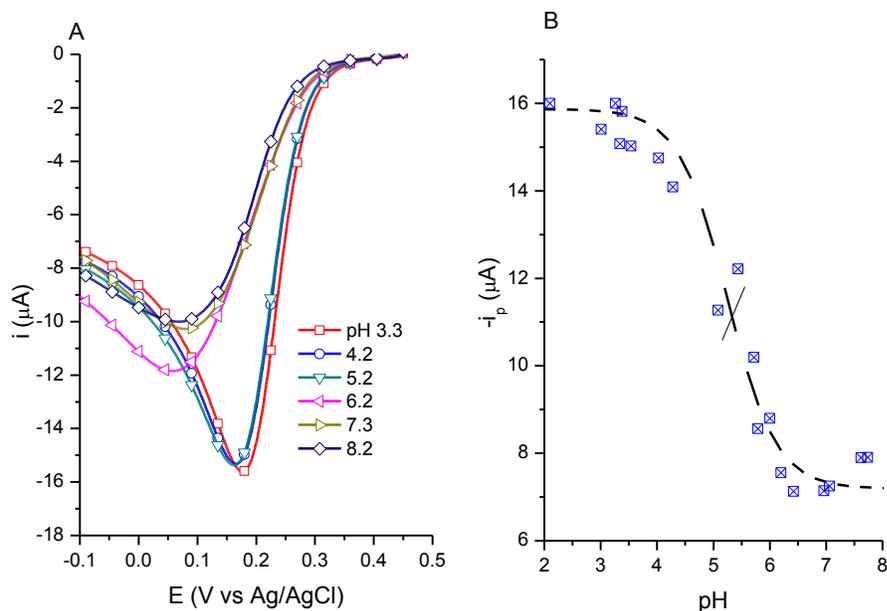


Figura 6.6. A) Familia de voltamperogramas obtenidos usando electrodos de Au modificados con MPA, a diferentes valores de pH. B) Titulación amperométrica de SAMs de MPA sobre Au. Se emplearon disoluciones acuosas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 3mM en KCl 0.1 M y buffer 40 mM de acetatos 0.04 M ($3.3 \leq \text{pH} \leq 5.2$) o de fosfatos ($5.2 \leq \text{pH} \leq 8.2$).

6.3.3 Monocapas autoensambladas de cisteamina

Se construyeron SAMs de cisteamina sobre electrodos de oro policristalino (Au/CA), como se describe en la sección experimental, estas superficies se caracterizaron mediante la determinación de k^0 del par hexacianoferrato(II) y hexacianoferrato(III) de potasio, siguiendo el procedimiento y las condiciones experimentales descritas en la sección 6.3.1 para superficies de oro prístino.

En la figura 6.7 se comparan tres voltamperogramas del par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, obtenidos sobre distintas superficies. En la parte inferior de cada voltamperograma, se presentan los correspondientes gráficos Ψ vs $C \times v^{-1/2}$, contruidos a partir de registros voltamperométricos obtenidos a diferentes velocidades de barrido. Como se mencionó anteriormente, la pendiente de estos gráficos se corresponde con el valor de k^0 , determinandose valores de 101×10^{-4} , 5×10^{-4} y $340 \times 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$, para superficies de Au, Au/MPA y Au/CA respectivamente.

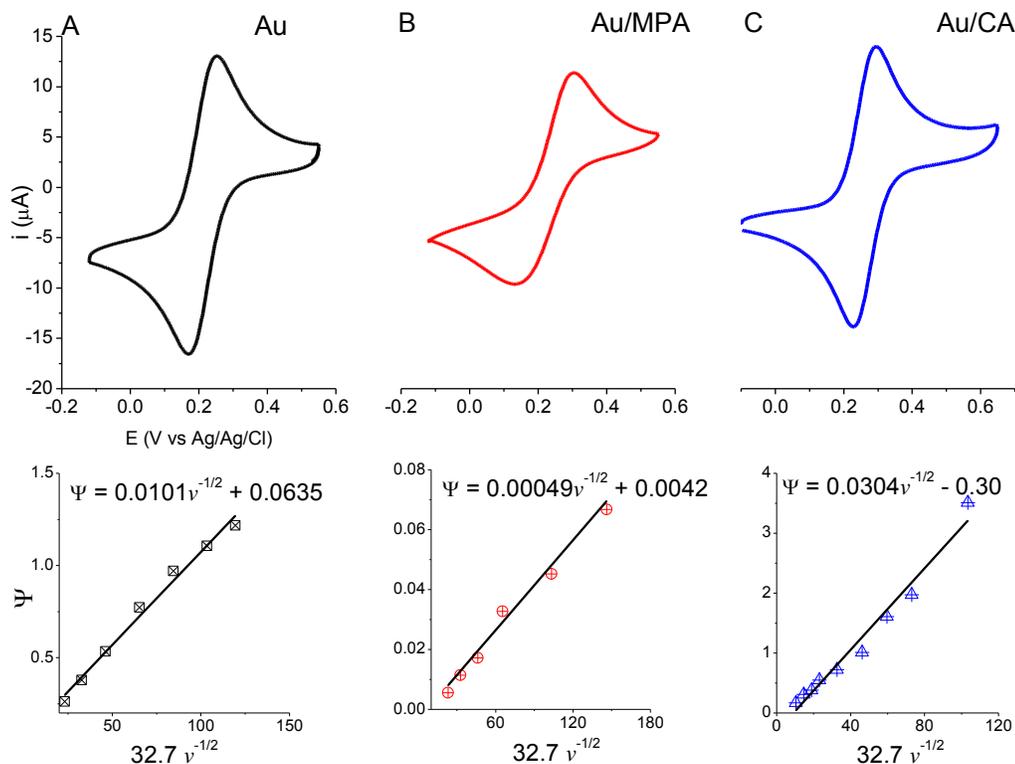


Figura 6.7. Voltamperogramas del par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, 3 mM obtenidos en buffer de fosfatos 40 mM en KCl 0.1 M pH = 7.0 a 100 mV s^{-1} , sobre diferentes superficies de A) Oro prístino. B) SAM del ácido 3-mercaptopropiónico C) SAM de cisteamina. Bajo cada voltamperograma se muestra el correspondiente gráfico Ψ vs $C \times v^{-1/2}$ para la determinación de la constante de rapidez heterogénea estándar de transferencia de electrones, k^0 .

En la figura 6.7 se muestra como al cambiar la naturaleza química de la superficie se puede modular la rapidez de una reacción redox. Por ejemplo, cuando el valor de pH es 7.0, la superficie Au/CA está cargada positivamente, con los grupos amino protonados, por lo que en esas condiciones el intercambio electrónico entre la sonda redox y la superficie del electrodo se favorece debido a interacciones electrostáticas. Se puede corroborar esta hipótesis al comparar los valores de k^0 sobre Au/CA y sobre Au prístino, obteniéndose una razón de 3.4 ($k^0_{\text{Au/CA}}/k^0_{\text{Au}}$), así como en los valores de corriente capacitiva medidos en el potencial de inversión, $-0.1 \text{ V vs Ag/AgCl}$, -6.36 y $-3.17 \mu\text{A}$ para Au y Au/CA respectivamente. Este comportamiento de atracción-repulsión de las SAMs, concuerda con los datos presentados en la sección 6.3.2, donde se muestra el fenómeno contrario, es decir, la repulsión electrostática entre la superficie Au/MPA (pH = 7.0) y la sonda redox. En ese caso se obtiene una razón de $k^0_{\text{Au/MPA}}/k^0_{\text{Au}}$ de 0.05, y una disminución de la corriente de pico catódico de 42.5 % respecto del electrodo de Au prístino, como se observa el panel B de la figura 6.7.

6.3.4 Modificación capa por capa

En esta serie de experimentos se inmovilizaron diferentes capas orgánicas sobre superficies de carbono vítreo (GC), iniciando el recubrimiento de estas superficies con el depósito de una película de oro mediante depósito electroquímico (GC/Au). Seguidamente se autoensamblaron monocapas del ácido 3-mercaptopropiónico. A continuación, se añadieron dos capas orgánicas a las superficies GC/Au/MPA, como se describe en la sección 6.2.4. Al final se obtuvieron superficies modificadas como la esquematizada en la figura 6.8. La adición de cada capa se caracterizó usando CV y EIS con $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 1 mM como sonda redox, en medio de KCl 0.1 M a pH = 7.0, como se presenta en la figura 6.9.

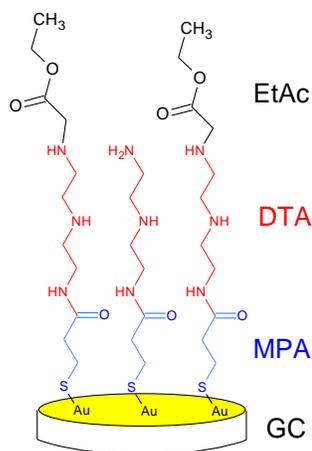


Figura 6.8. Esquema de la plataforma obtenida. GC = carbono vítreo, MPA= ácido 3-mercaptopropiónico, DTA = dietilentriamina, EtAc = etil acetato.

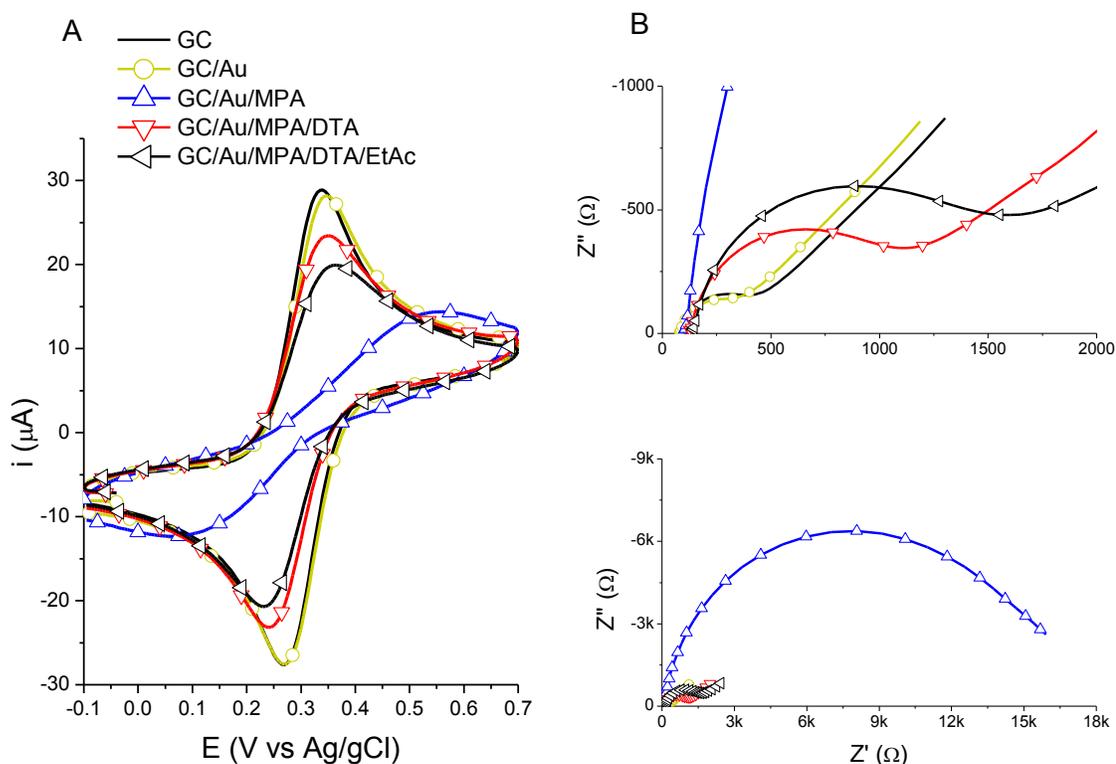


Figura 6.9. Registros A) voltamperométricos e B) impedimétricos de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ 1mM sobre las distintas capas agregadas a electrodos de carbono vitreo. Se emplearon disoluciones buffer de fosfatos 10mM pH =7.0 en KCl 0.1 M

En la figura 6.9 se observa cómo cambia la forma de los voltamperogramas (panel A) y los espectros de Nyquist (panel B), con los diferentes grupos funcionales terminales de cada capa. Para observar las interacciones entre la sonda redox y la superficie modificada, con CV se utilizaron los valores de ΔE_p , mientras que con EIS se usaron los valores de R_{ct} , que se detallan en la tabla 6.3. Al depositar la capa de oro sobre el electrodo de GC se observa un aumento de ΔE_p de 5 mV en CV, que concuerda con un aumento en el valor de R_{ct} de 10 Ω . Cuando se autoensambla la SAM, la superficie de Au se funcionaliza con grupos carboxilato, que en disolución acuosa a pH = 7.0 ejercen una fuerza repulsiva en la sonda redox. Por esta razón, el valor de ΔE_p se incrementa 6.4 veces, y el valor de R_{ct} aumenta 2 ordenes de magnitud. Al acoplar la dietilentriamina, la superficie se funcionaliza con grupos amino que a pH = 7.0 se encuentran protonados, ejerciendo un efecto de atracción con sonda redox y facilitan el proceso de intercambio electrónico. Por ello el valor de R_{ct} tiene el mismo orden de magnitud que el valor obtenido sobre GC/Au con un ΔE_p , que es 1.57 veces mayor. La última capa añadida no tiene propiedades ácido-base, pero en este caso el aumento de los valores ΔE_p y de R_{ct} se debe al grosor de la película formada, que actúa como una barrera física que limita la transferencia de electrones.

Tabla 6.3 Valores de la diferencia de potenciales de pico y resistencia a la transferencia de carga, obtenidos a pH = 7, usando hexacianoferrato(III/II) de potasio sobre diferentes superficies modificadas.

Superficie	Grupo funcional	ΔE_p (mV)	R_{ct} (Ω)
GC	-	70	290
GC/Au	-	75	300
GC/Au/MPA	R-COOH	450	15600
GC/Au/MPA/DTA	R-NH ₂	110	560
GC/Au/MPA/DTA/EtAc	R-O-C ₂ H ₅	135	705

A continuación se estudió el comportamiento de cada capa añadida a diferentes valores de pH, usando CV. Para fijar los valores de pH en las disoluciones se emplearon acetatos para pH = 4, fosfatos para pH = 7 y Bis-tris (1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamino]propano) para pH = 10. En la figura 6.10 se presentan los registros voltamperométricos obtenidos.

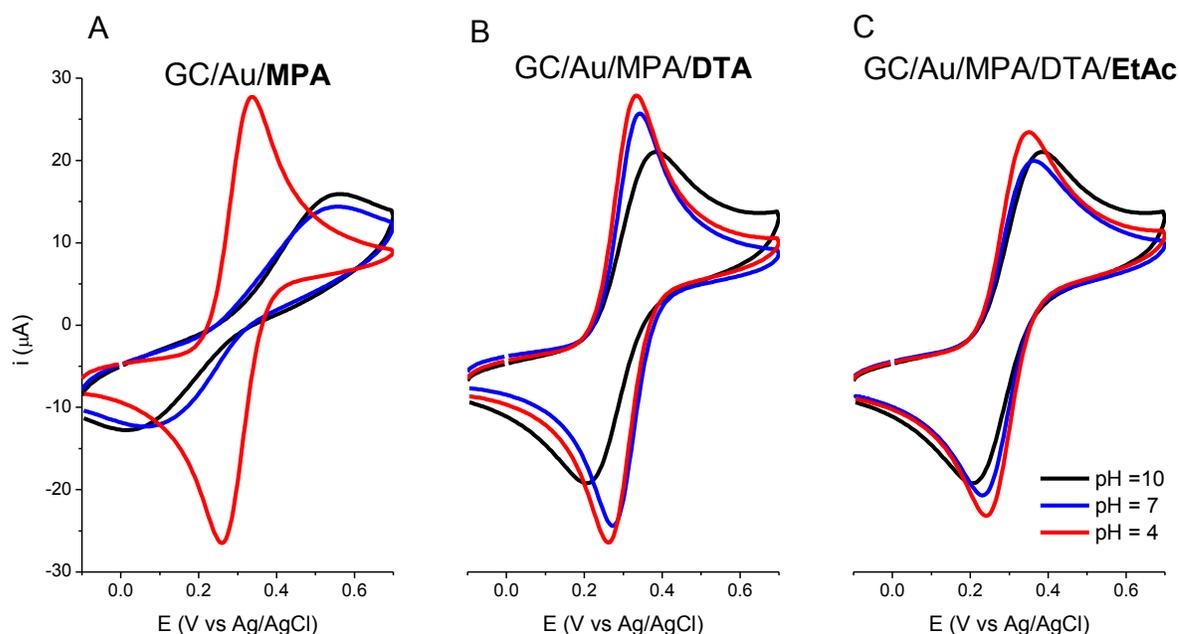


Figura 6.10 Registros de CV de las distintas capas agregadas a electrodos de carbono vitreo, a diferentes valores de pH, se emplearon disoluciones acuosas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ 1mM en diferentes disoluciones amortiguadoras 10 mM.

En el panel A de la figura 6.10 se observa una disminución de las $i_{p,c}$, del 61.0 y 63.9 % cuando el valor de pH es 7 y 10. Como se mencionó en otras secciones, esta disminución se debe a la interacción repulsiva entre la superficie cargada y la sonda redox. A pH = 4 no se observa

interacción repulsiva, puesto que este valor de pH la superficie no está cargada. Después del acoplamiento del electrodo GC/Au/MPA con DTA, esta superficie se funcionaliza con grupos amino, hipótesis que se puede confirmar al observar los valores corriente del panel B, (figura 6.10). Por ejemplo, el valor de $i_{p,c}$ disminuye 21.1 % cuando el valor de pH es 10. En esas condiciones los grupos amino están desprotonados, (la superficie no tiene carga), formando una barrera física entre la sonda redox y la superficie. Esta última explicación se puede usar para describir el comportamiento de la superficie GC/Au/MPA/DTA/EtAc, voltamperogramas del panel C, donde independientemente del valor de pH se observan valores de corriente de pico similares de alrededor de $-19.4 \mu\text{A}$ y corrientes capacitivas de $-5.51 \mu\text{A}$ a 0.5 V vs Ag/AgCl .

6.3.5 Desorción de monocapas

Varias de las superficies modificadas mediante formación de SAMs se utilizaron como electrodos para la determinación de iones Cu(II) en medio acuoso. No obstante, con ninguna superficie se obtuvieron los resultados buscados, esto puede deberse a la desorción reductiva del grupo tiol, como se detalla en la ecuación 6.1.²¹



La desorción reductiva de los grupos tioles se comprobó experimentalmente, empleando electrodos de oro policristalino sobre los que se ensamblaron monocapas de cisteamina (2-aminoetanotiol, CA) y 6-aminohexanotiol, (HAt).

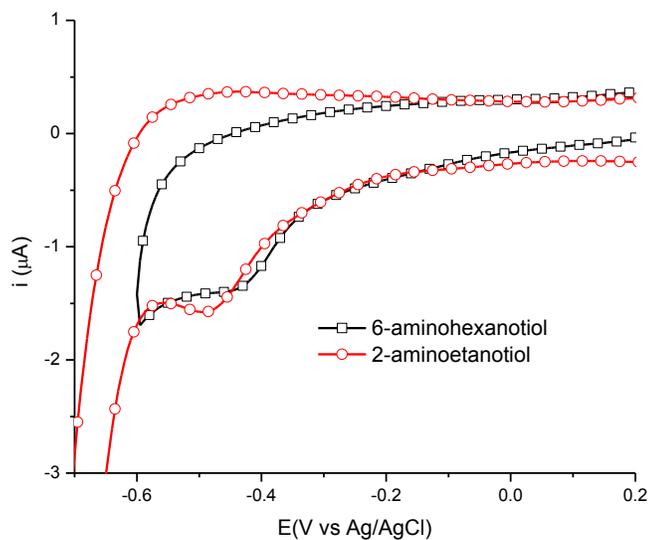


Figura 6.11 Voltamperogramas correspondientes a la desorción reductiva de monocapas autoensambladas de 2-aminoetanotiol y 6-aminohexanotiol. En ambos casos se usaron disoluciones acuosas con buffer de fosfatos 10 mM y KCl 0.1 M, a una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1}

En los voltamperogramas de la figura 6.11 se observan dos señales de reducción con E_{pc} de -0.49 y -0.49 V vs Ag/AgCl para CA y HAt respectivamente. Se encontró que independientemente de la longitud de la cadena alifática, 2 o 6 carbonos, la desorción del grupo tiol ocurre a sobrepotenciales relativamente pequeños.

6.4 Conclusiones

Se encontró un procedimiento de limpieza electroquímica para obtener superficies de oro más homogéneas, este consiste de barridos sucesivos de potencial en una disolución 0.1 M de H_2SO_4 + KCl 10 mM seguido de barridos potenciodinámicos en disoluciones acuosas de NaOH 0.5 M. Se modificaron superficies de oro mediante la formación de monocapas autoensambladas de cisteamina, 6-aminohexanotiol, y ácido 3-mercaptopropiónico. Con estas monocapas se estableció que se puede modular la velocidad de la reacción heterogénea de intercambio de electrones, inmovilizando SAMs con diferentes grupos funcionales. Se determinó el valor de la constante ácida superficial de las SAMs del ácido 3-mercaptopropiónico, encontrándose un valor de $pK_a = 5.3 \pm 0.1$. Se modificaron monocapas de MPA sobre oro, mediante el acoplamiento de dietilentriamina y bromo acetato de etilo, estas superficies se caracterizaron con CV y EIS. Con estos últimos CMEs, no fue posible desarrollar un método para la determinación de iones Cu, puesto que las SAMs se desorben a valores de potencial menores que el depósito del metal.

6.5 Referencias

- (1) Whitesides, G.; Mathias, J.; Seto, C. Molecular Self-Assembly and Nanochemistry: A Chemical Strategy for the Synthesis of Nanostructures. *Science* **1991**, *254* (5036), 1312–1319.
- (2) Bigelow, W. C.; Pickett, D. L.; Zisman, W. A. Oleophobic Monolayers. *J. Colloid Sci.* **1946**, *1* (6), 513–538.
- (3) Ulman, A. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (4), 1533–1554.
- (4) Nuzzo, R. G.; Allara, D. L. Adsorption of Bifunctional Organic Disulfides on Gold Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105* (13), 4481–4483.
- (5) Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y. T.; Evall, J.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G. Formation of Monolayer Films by the Spontaneous Assembly of Organic Thiols from Solution onto Gold. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (1), 321–335.
- (6) Bain, C. D.; Whitesides, G. M. Modeling Organic Surfaces with Self-Assembled Monolayers. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28* (4), 506–512.
- (7) Nuzzo, R. G.; Dubois, L. H.; Allara, D. L. Fundamental Studies of Microscopic Wetting on Organic Surfaces. 1. Formation and Structural Characterization of a Self-Consistent Series of Polyfunctional Organic Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (2), 558–569.
- (8) Orlik, M.; Galus, Z. Electrochemistry of Gold. In *Encyclopedia of Electrochemistry*; Bard, A. J., Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, **2007**.

- (9) Chidsey, C. E. D.; Bertozzi, C. R.; Putvinski, T. M.; Majsce, A. M. Coadsorption of Ferrocene-Terminated and Unsubstituted Alkanethiols on Gold: Electroactive Self-Assembled Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (11), 4301–4306.
- (10) Frasconi, M.; Mazzei, F.; Ferri, T. Protein Immobilization at Gold–thiol Surfaces and Potential for Biosensing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398* (4), 1545–1564.
- (11) Ju, H.; Leech, D. Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549–1554.
- (12) *Modified Electrodes*; Fujihira, M., Bard, A. J., Stratmann, M., Eds.; Encyclopedia of electrochemistry; Wiley-VCH: Weinheim, **2007**.
- (13) Creager, S. E.; Hockett, L. A.; Rowe, G. K. Consequences of Microscopic Surface Roughness for Molecular Self-Assembly. *Langmuir* **1992**, *8* (3), 854–861.
- (14) Carvalhal, R. F.; Sanches Freire, R.; Kubota, L. T. Polycrystalline Gold Electrodes: A Comparative Study of Pretreatment Procedures Used for Cleaning and Thiol Self-Assembly Monolayer Formation. *Electroanalysis* **2005**, *17* (14), 1251–1259.
- (15) Gadzekpo, V. P. Y.; Bühlmann, P.; Xiao, K. P.; Aoki, H.; Umezawa, Y. Development of an Ion-Channel Sensor for Heparin Detection. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *411* (1–2), 163–173.
- (16) Burris, S. C.; Zhou, Y.; Maupin, W. A.; Ebelhar, A. J.; Daugherty, M. W. The Effect of Surface Preparation on Apparent Surface pK_a's of ω-Mercaptocarboxylic Acid Self-Assembled Monolayers on Polycrystalline Gold. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (17), 6811–6815.
- (17) Oesch, U.; Janata, J. Electrochemical Study of Gold Electrodes with Anodic Oxide films—I. Formation and Reduction Behaviour of Anodic Oxides on Gold. *Electrochimica Acta* **1983**, *28* (9), 1237–1246.
- (18) Lavagnini, I.; Antiochia, R.; Magno, F. An Extended Method for the Practical Evaluation of the Standard Rate Constant from Cyclic Voltammetric Data. *Electroanalysis* **2004**, *16* (6), 505–506.
- (19) Campbell, S. A.; Peter, L. M. The Effect of [K⁺] on the Heterogeneous Rate Constant for the [Fe(CN)₆]³⁻/[Fe(CN)₆]⁴⁻ Redox Couple Investigated by a.c. Impedance Spectroscopy. *J. Electroanal. Chem.* **1994**, *364* (1–2), 257–260.
- (20) Zhao, J.; Luo, L.; Yang, X.; Wang, E.; Dong, S. Determination of Surface PK_a of SAM Using an Electrochemical Titration Method. *Electroanalysis* **1999**, *11* (15), 1108–1113.
- (21) Widrig, C. A.; Chung, C.; Porter, M. D. The Electrochemical Desorption of N-Alkanethiol Monolayers from Polycrystalline Au and Ag Electrodes. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1991**, *310* (1–2), 335–359.

7 CAPÍTULO VII. DEPÓSITO DE ORO NANOESTRUCTURADO

7.1 Antecedentes

La construcción de materiales con morfología controlada y gran área superficial es muy importante para el desarrollo de aplicaciones como: catálisis, almacenamiento y transformación de energía,¹ o sensores.² En la literatura se han reportado varios métodos para la obtención de materiales nanoestructurados de oro, entre ellos tenemos: el uso de plantillas rígidas de esferas de SiO₂,³ plantillas de burbujas de hidrógeno,⁴ disolución química de aleaciones,⁵ o depósito electroquímico.⁶ Este último método, se oferta además como una forma fácil, rápida y barata de obtener nanoestructuras.⁷ Se han reportado materiales nanoestructurados con varias formas como esferas, barras, triángulos, entre otras.⁸ Sin embargo, el uso de aditivos para controlar depósito de una fase nanoestructurada afecta las propiedades químicas interfaciales de la superficie final.⁹

La Dopamina (DA), es un neurotransmisor de la familia de las catecolaminas, que tiene un papel fisiológicamente importante en la función del cerebro, sistema nervioso central y sistema cardiovascular. Niveles anómalos de dopamina están relacionados con enfermedades del sistema nervioso como, esquizofrenia, demencia senil y Parkinson.¹⁰ . Para el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades es necesario determinar de forma precisa los niveles de DA. La determinación de DA se ha realizado usando técnicas electroquímicas con electrodos de oro, con la finalidad de mejorar la sensibilidad del método de determinación de DA se han usado electrodos nanoestructurados.² En la literatura se encuentran varios trabajos donde se reporta el depósito nanoestructurados de oro, muchos de estos trabajos utilizan como sustrato materiales de oro como películas delgadas,¹¹⁻¹⁴ o superficies policristalinas.¹⁵

En este capítulo se describe la construcción de superficies nanoestructuradas de oro sobre electrodos de carbono vítreo para la determinación de DA en medio acuoso en presencia de ácido ascórbico y ácido úrico. El electrodeposición se realizó utilizando disoluciones acuosas de Au(III) con iones Pb(II) como agente direccional de crecimiento inorgánico,⁹ utilizando tres métodos diferentes para investigar el efecto de cada método en la estructura del depósito.

7.2 Sección experimental

7.2.1 Reactivos y equipos

Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich Inc. Disolución de cloruro áurico, ([Au] = 1000 ppm en HCl 5%), hidrocloreuro de dopamina (DA), ácido clorhídrico, nitrato de plomo $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, ácido ascórbico (AA), ácido úrico (UA) y cloruro de potasio KCl. Los reactivos detallados a continuación se adquirieron a J.T. Baker H_2SO_4 (J.T. Baker), monohidrógeno fosfato de sodio Na_2HPO_4 , dihidrógenofosfato de sodio NaH_2PO_4 , ácido nítrico HNO_3 (67%), hidróxido de sodio NaOH. Todas las disoluciones fueron preparadas con agua tipo I (18.2 $\text{M}\Omega$ cm), obtenidas de un desionizador Milli-Q.

Se midieron 10mL de disolución estándar de Au 1000 ppm y se las llevó a sequedad, se disolvió el sólido remanente con suficiente agua y se pasó a un matraz aforado de 5 mL, al que se añadieron suficiente ácido nítrico y nitrato de plomo, para obtener una disolución acuosa con: Au(III) 10 mM, Pb(II) 1 mM y HNO_3 0.3 M.

Los experimentos de voltamperometría cíclica (CV), voltamperometría de onda cuadrada (SWV) y cronoamperometría (Cramp) se realizaron con un potencióstato CH Instruments, modelo CHI 920C series, usando una celda de tres electrodos, con electrodos de carbono vítreo (3 mm de diámetro, CHI) como electrodos de trabajo, un alambre de platino de 0.5 mm diámetro y 12 cm de longitud (enrollado en forma de espiral) como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de Ag/AgCl (3 M KCl). Antes de realizar distintos los experimentos electroquímicos, las disoluciones empleadas se desgasificaron mediante burbujeo de nitrógeno (pureza = 4.8), durante al menos 10 min.

La determinación del valor de pH se realizó con un pH-metro Orion 5 STAR, Thermo Scientific. Los análisis de microscopía electrónica de barrido (Scanning electron microscopy ,SEM por sus siglas en inglés) se realizaron con microscopios JEOL JSM-7600F y JEOL JSM-5900LV, antes del cada análisis de microscopía, las superficies se enjuagaron con abundante agua y se secaron al vacío.

7.2.2 Modificación de la superficie

Usando dispersiones de alúmina en agua, con tamaño decreciente de tamaño de partícula (1.00, 0.30 y 0.05 μM), se pulieron mecánicamente electrodos de carbono vítreo (GC). Los electrodos así tratados se enjuagaron con abundante agua deionizada para eliminar residuos de alumina. Después

de la limpieza mecánica, los electrodos se sometieron a un proceso de limpieza electroquímica, que se realizó 2 veces mediante un barrido de potencial desde 0.2 hasta 1.6 V vs Ag/AgCl a una velocidad de 100 mV s^{-1} , en H_2SO_4 0.5 M. Finalmente se depositó oro sobre las superficies limpias de carbono vítreo usando tres técnicas electroquímicas.

7.2.3 Determinación del área

La determinación del área electroactiva se realizó usando el procedimiento descrito en la sección 6.3.1, usando una ventana de potencial que inicia en 0.2 V y termina en 1.6 V vs Ag/AgCl a 100 mV s^{-1} en H_2SO_4 0.5 M. Cada determinación se realizó por triplicado, obteniendo un error típico menor al 5 %

7.3 Resultados y discusión

7.3.1 Electrodeposición de oro

El depósito de oro se realizó sobre superficies de GC, usando disoluciones acuosas de HNO_3 , 0.3 M que contienen $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 1.0 mM. En la figura 7.1 se presenta CV típicos para la reducción de HAuCl_4 , en presencia y ausencia de iones plomo. En esta figura, se observa una señal de reducción correspondiente a Au a $E_{p,c} = 0.58 \text{ V vs Ag/AgCl}$, la presencia de plomo en la disolución hace que el voltamperograma se desplace hacia potenciales más altos facilitando la reducción del Au(III) al reducir el sobrepotencial catódico correspondiente.

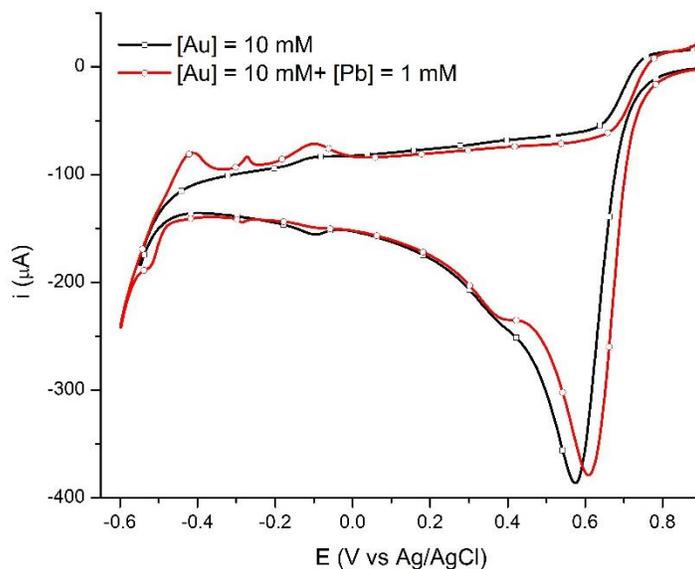


Figura 7.1 Voltamperogramas típicos para la reducción de oro sobre carbono vítreo usando disoluciones que: no contienen Pb (línea negra), contienen Pb (línea roja). En ambos casos se utilizó una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1} y HNO_3 como electrolito soporte.

El depósito de plomo ocurre a -0.51 V vs Ag/AgCl y la respectiva señal de oxidación se observa a -0.40 V. A partir de estos datos se eligieron los valores de potencial para depositar oro.

El depósito de oro se realizó usando tres métodos. El primero es el método potencioestático (PS), donde se aplicó un pulso de potencial durante 300 segundos a -0.1 , 0.1 y 0.3 V vs Ag/AgCl, respectivamente. En esta serie de experimentos, simultáneamente, se midió la carga necesaria para realizar el depósito en cada ensayo. Se calculó un valor promedio de carga de $2.4 \pm 0.09 \times 10^{-2}$ C, independiente del valor de potencial aplicado. Con el segundo método, denominado potenciodiámico (PD) se construyeron una serie de electrodos mediante el depósito de oro usando ciclos de barrido de potencial a 100 mV s⁻¹, que inician en el potencial de circuito abierto (~ 0.95 V), y con diferentes valores de potencial de inversión. Para potenciales de inversión de -0.1 , 0.1 y 0.3 V vs Ag/AgCl, se utilizaron 16, 22 y 31 ciclos respectivamente, de modo que en cada ensayo PD se utilizó un valor de carga cercano a 24 mC. En el último método, denominado galvanostático (GS), se depositó oro, imponiendo una corriente constante de 75 o 100 μ A, hasta que el valor de potencial registrado llegara a 0.0 V vs Ag/AgCl. La carga utilizada en estos ensayos se calcula al multiplicar el tiempo de depósito por el valor de corriente aplicado, midiéndose valores de 7.1 ± 1.7 mC, $n = 12$, para 75 μ A, and 3.6 ± 0.8 mC, $n = 9$, para 100 μ A.

7.3.2 Determinación del área electroactiva

El área electroactiva del conjunto de electrodos recubiertos con oro se determinó inmediatamente después de realizar el depósito. El procedimiento seguido consistió en formar una capa de óxido sobre la superficie de oro (la composición de la capa de óxido corresponde a una estequiometría 1:1 de átomos de oxígeno con los átomos de la superficie del metal)¹⁶ mediante la aplicación de un barrido de potencial desde 0.2 V hasta 1.6 V en H₂SO₄ 0.5 M. Inmediatamente después de la formación del óxido, se invierte el sentido del barrido de potencial y se registra la corriente de reducción. Un voltamperograma típico se presenta en el inserto de la figura 7.2. En el barrido de reducción se observa un pico correspondiente a la reducción de la capa de óxido antes formada, y al integrar el área bajo la curva se conoce el valor de la carga necesaria para desorber los átomos de oxígeno ($Q^{\text{Au/O}}$). El área electroactiva se obtiene al dividir el valor de $Q^{\text{Au/O}}$ entre el valor de Q^{std} , que es un valor de carga estándar por unidad de área (400 μ C cm⁻²), reportado por Plowman y colaboradores² para superficies de oro nanoestructurado.

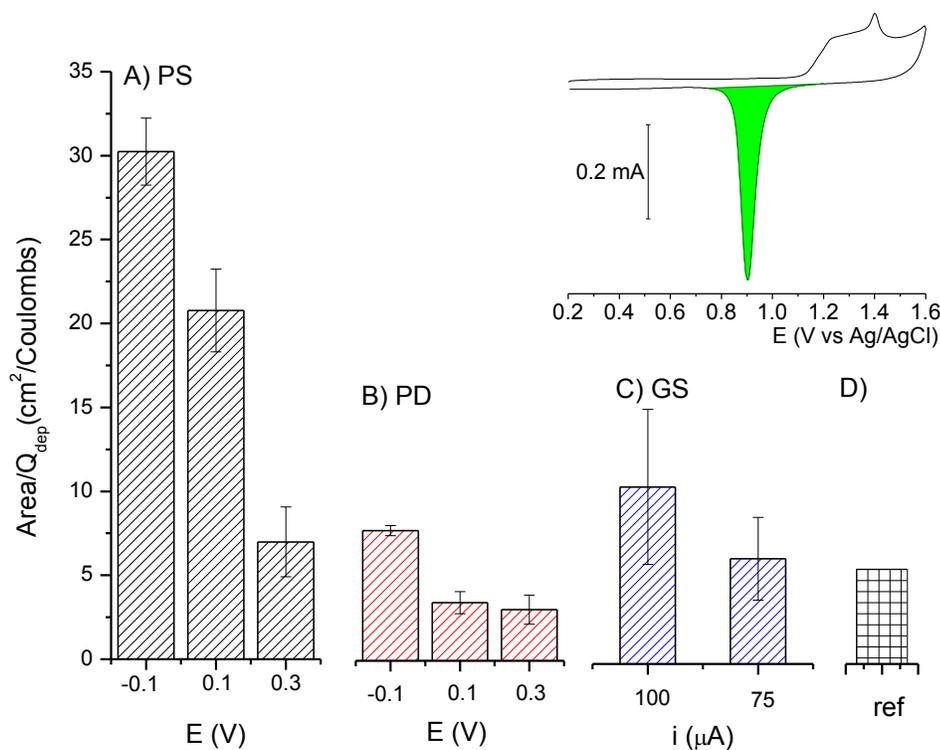


Figura 7.2. Valores de área electroactiva de electrodos recubiertos con oro normalizados por el valor de carga usada para prepararlos. El depósito se realizó usando tres diferentes métodos A) potestático, B) potestodinámico, C) galvanostático D) Valor de referencia de un electrodo tipo disco (3 mm diámetro). Inserto: CV típico de un electrodo recubierto de oro en H_2SO_4 0.5 M

El eje de las ordenadas de la figura 7.2 presenta valores de área normalizada dividiendo el área electroactiva de la superficie entre el valor de carga usada para realizar el depósito. Esta normalización permite comparar la eficiencia del método de depósito incluyendo los datos del método galvanostático. En el panel D de esta figura se presenta una barra titulada como ref, cuyo valor corresponde a la razón entre el área de un electrodo de disco (similar al de GC) y 24 mC. Con este valor es posible estimar fácilmente el factor de rugosidad de cada electrodo modificado.

Con el método PS se obtuvieron los factores de rugosidad más grandes, alrededor de 5, 3.5 y 1.2 para depósitos a -0.1, 0.1 y 0.3 V vs Ag/AgCl respectivamente. Con el método PD se midieron valores de factor de rugosidad de 1.3, 0.5 y 0.5 correspondientes a potenciales de inversión de -0.1, 0.1 y 0.3 V vs Ag/AgCl. Estos valores pequeños pueden estar relacionados con superficies pobremente recubiertas o recubrimientos lisos y homogéneos. Con el método GS se midieron factores de rugosidad de 1.7 y 1.2 para corrientes de 100 y 75 μA respectivamente. Utilizando el

método PD con un potencial de inversión de -0.1 V vs Ag/AgCl se obtiene la mejor reproducibilidad de los datos de área, calculándose un coeficiente de variación menor al 5 %.

7.3.3 Comportamiento electroquímico de DA sobre electrodos de Au

En la figura 7.3 se presentan registros voltamperométricos de la electrólisis de DA sobre electrodos de carbono vítreo recubierto con nanoestructuras de oro (nsAu/GC) y sobre GC prístino.

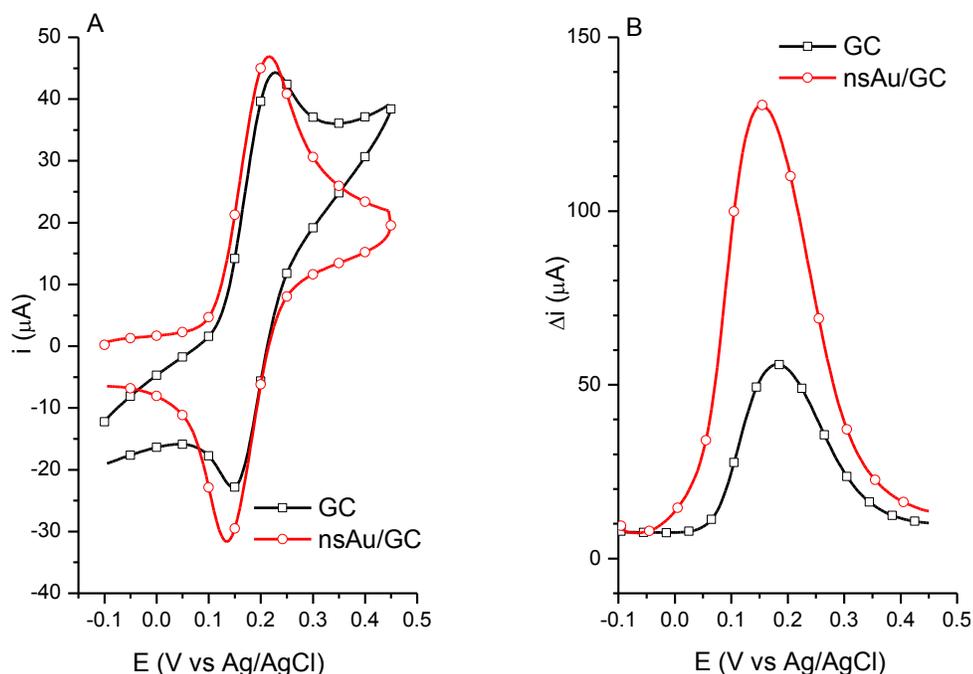


Figura 7.3. Voltamperogramas de la electrólisis de DA 1.2 mM sobre electrodos de carbono vítreo prístino (línea negra), y electrodos de oro nanoestructurado (línea roja). Voltamperimetría cíclica a una velocidad de barrido de 0.1 V s^{-1} B) Voltamperometría de onda cuadrada, $E_{\text{pulso}} = 5$ mV, amplitud = 25 mV, $f = 20$ Hz. En todos los ensayos se utilizaron disoluciones acuosas de buffer de fosfatos, pH = 7.0 en KCl 0.1 M

En la figura 7.3 se observan señales de oxidación y reducción con potencial de media onda $E_{1/2} = 0.195$ V para electrodos de GC y de 0.178 V vs Ag/AgCl para electrodos nsAu/GC. La diferencia de potenciales de pico es 85 y 80 mV para electrodos de GC y nsAu/GC respectivamente. Se midieron valores de $i_{p,a}$ y $i_{p,c}$ de 34.3 y -19.7 μA para electrodos de GC con una relación de corrientes de pico de $i_{p,c}/i_{p,a} = 0.57$, en tanto que con electrodos nsAu/GC se midieron $i_{p,a}$ y $i_{p,c}$ de 42.7 y -37.3 μA con una $i_{p,c}/i_{p,a} = 0.87$. Con electrodos nsAu/GC se registra así una $i_{p,c}$ dos veces más grande, así como un incremento del 25 % en la $i_{p,a}$, para la misma concentración de DA. En los experimentos de voltamperometría de onda cuadrada (SWV), el valor de la diferencia de corrientes ($\Delta i = i_{\text{directa}} - i_{\text{reversa}}$) de pico más alto se obtiene con electrodos nsAu/GC, obteniendo un

valor 2.5 veces más grande ($\sim 121.9 \mu\text{A}$) que el valor encontrado con electrodos GC ($46.8 \mu\text{A}$), además de que este pico aparece 20 mV más abajo en la escala de potencial.

7.3.4 Caracterización microscópica

Las figuras 7.6 y 7.7 muestran imágenes de los electrodos nsAu/GC preparados usando los tres diferentes métodos. La superficie preparada con el método PD (16 ciclos) tiene nanopartículas que pueden agruparse en tres categorías: partículas con diámetros de alrededor de $1 \mu\text{m}$ (aproximadamente 1% de todas las partículas), partículas con diámetros promedio de 300 nm (cerca de 15%) y partículas con tamaño igual o menor que 100 nm (aproximadamente 84%).

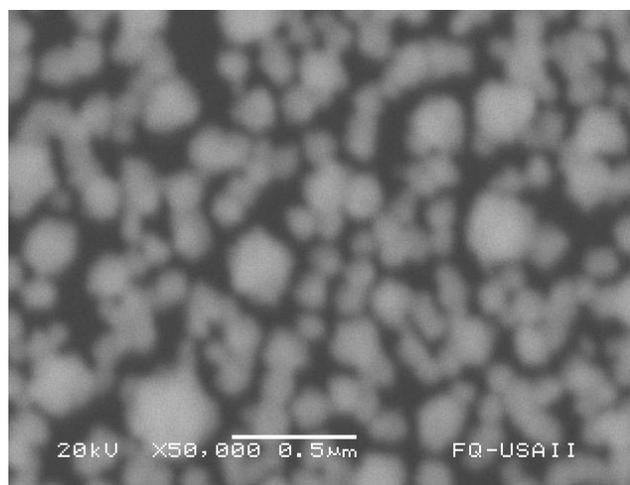


Fig. 7.6. Imagen SEM ($\times 50000$) de un electrodo nsAu/GC preparado potenciodinámicamente, usando 16 ciclos, imagen obtenida con un microscopio JEOL JMS-5900LV.

Los electrodos preparados usando el método PS (aplicando un pulso de potencial a 0.3 V vs Ag/AgCl) tienen una superficie irregular compuesta por cúmulos de nanocristales de alrededor de 100 nm, aglomerados en islas compactas.^{25,26} Esta última superficie contrasta con la preparada galvanostáticamente, (100 s a 75 mA), donde se observa un recubrimiento pobre de alrededor de $0.11 \text{ partículas} / \mu\text{m}^2$, con partículas con un tamaño promedio de entre 500 y 800 nm. Esta serie de análisis confirma el depósito de nanoestructuras de oro sobre la superficie de carbono vítreo.

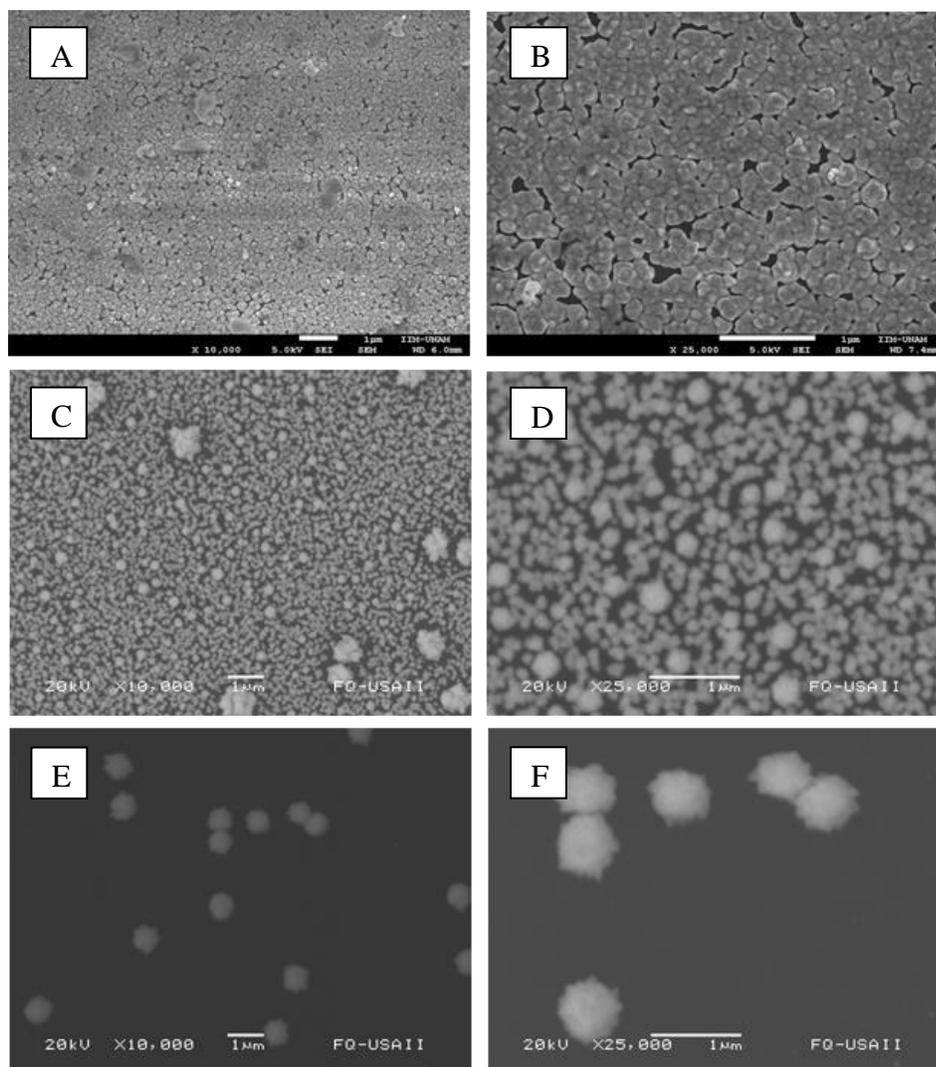


Figure 7.7. Imágenes SEM de electrodos nsAu/GC, preparados con el método: potenciostático, paneles A and B, (usando un microscopio JEOL JSM-7600F); potenciodinámico, paneles C and D (usando un microscopio JEOL JMS-5900LV); y galvanostático paneles E and F (microscopio JEOL JMS-5900LV).

Adicionalmente a la caracterización de los depósitos de oro sobre GC por SEM, se realizaron análisis de espectroscopía dispersiva de energía (*energy dispersive spectroscopy*, EDS por sus siglas en inglés). En estos análisis no se encontraron señales correspondientes a plomo, confirmando que se depositó únicamente oro sobre la superficie de GC, como se observa en la figura 7.8.

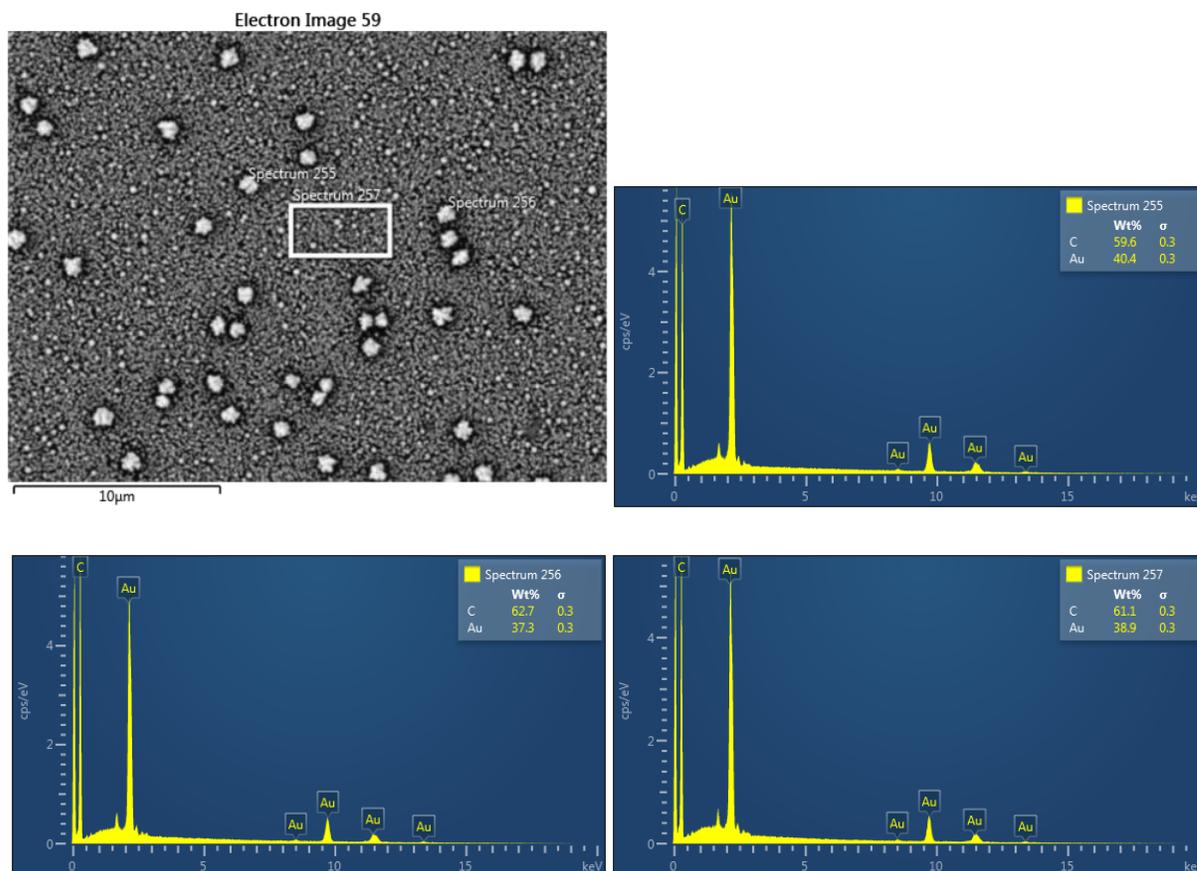


Figura 7.8 Análisis de Espectroscopía dispersiva de Energía (JEOL JMS-5900LV) del electrodo nsAu/GC preparado potenciodinámicamente, aplicando 16 ciclos de barrido de potencial entre 0.95 y -0.1 V vs Ag/AgCl, a una velocidad de barrido de 100 mV s⁻¹.

7.3.5 Determinación de dopamina sobre electrodos nsAu/GC

Utilizando SWV con $E_{\text{pulso}} = 5$ mV, amplitud = 25 mV y $f = 20$ Hz como parámetros experimentales, se determinaron los valores de Δi_p , a diferentes concentraciones de DA sobre los electrodos recubiertos con oro. Las determinaciones se realizaron en disoluciones acuosas de fosfatos 10 mM en KCl 0.1 M a pH = 7.0, con concentraciones de DA de entre 1 y 10 μM. Con excepción de los electrodos construidos con el método PS a potenciales de -0.1 y 0.1 V, en todos los experimentos se encontró una relación directamente proporcional entre Δi_p y la concentración de DA, como se detalla en la tabla 7.1 Cada curva de calibración presentada se obtuvo del promedio de al menos tres electrodos diferentes, con coeficientes de variación que fluctúan entre 2 y 30 %. Con estos resultados se puede comparar fácilmente el desempeño de cada serie de electrodos para la determinación de DA.

Tabla 7.1 Valores de mérito para la determinación de dopamina mediante curvas de calibración usando voltamperometría de onda cuadrada, sobre electrodos de oro nanoestructurados construidos con diferentes métodos.

M/C.D.*	ecuación de la curva	r^2	LOD(μM)**
Potentiostático, pulso de potencial			
-0.1	$\Delta i_p = 3.73[\text{DA}] + 5.86$	0.7735	3.40
0.1	$\Delta i_p = 3.40[\text{DA}] + 2.61$	0.8625	2.51
0.3	$\Delta i_p = 0.29[\text{DA}] + 0.39$	0.9725	2.08
Potentiodinámico, potencial de inversión			
-0.1	$\Delta i_p = 0.22[\text{DA}] + 0.49$	0.9933	0.57
0.1	$\Delta i_p = 0.29[\text{DA}] + 0.30$	0.9892	1.29
0.3	$\Delta i_p = 0.28[\text{DA}] + 0.20$	0.9850	2.15
Galvanostático, valor de corriente			
100	$\Delta i_p = 0.24[\text{DA}] + 0.25$	0.9914	1.15
75	$\Delta i_p = 0.13[\text{DA}] + 0.17$	0.9911	1.17

* M/C.D. = Método o Condiciones experimentales de depósito. ** LOD es el límite de detección calculado como $\text{LOD} = y_b + 3S_{y/x}$, donde y_b es el valor de la ordenada al origen de la curva de regresión lineal y $S_{y/x}$ es un valor estadístico que estima los errores aleatorios en Δi_p .¹⁷

También se realizó la determinación de DA a diferentes concentraciones, sobre superficies de GC prístino y electrodos de oro policristalino. Los valores de mérito analítico respectivos se presentan en la tabla 7.2. Al comparar los valores de las tablas 7.1 y 7.2, se observa que los menores límites de detección se obtienen con los electrodos recubiertos con oro.

Tabla 7.2 Valores de mérito para la determinación de DA mediante SWV por curvas de calibración, usando diferentes electrodos.

superficie	curva de calibración	r^2	LOD (μM)
GC	$\Delta i_p = 0.11[\text{DA}] + 0.30$	0.9928	1.05
Au	$\Delta i_p = 0.02[\text{DA}] + 0.10$	0.9536	2.72

Todas las superficies nsAu/GC tienen mejor sensibilidad en la determinación de DA, comparando con la sensibilidad calculada con GC. Con la superficie de oro policristalino se determinó el valor

más pequeño de sensibilidad. Utilizando el criterio de límite de detección, se encontró que la mejor superficie para la determinación de DA es la superficie preparada potenciodinámicamente aplicando 16 ciclos que inician en 0.95 V, llegan hasta -0.1 V y alcanzan finalmente el potencial inicial (0.95 V vs Ag/AgCl). Con estas superficies se determinó una sensibilidad promedio de 0.22 A·L/mol y un LOD de 570 nM. Se investigó el comportamiento de la superficie al cambiar el número de ciclos aplicados. Cuando se aplican solo 8 ciclos de barrido de potencial, la sensibilidad disminuye un 20%, mientras que al aplicar 24 ciclos la dispersión de los datos aumenta entre 2 y 3 veces.

7.3.6 Interferentes principales

A continuación, se estudió el efecto de interferentes comunes en la determinación de DA. En la figura 7.4 se presentan voltamperogramas correspondientes a la determinación de DA, ácido ascórbico (AA) y ácido úrico (UA) sobre electrodos nanoestructurados de oro. En el panel D de esta figura se comparan las señales de la dopamina con las de sus interferentes obtenidas en disoluciones separadas. Se observa una diferencia de potenciales de pico de alrededor de 0.16 V entre las señales de DA y AA, en tanto que para las señales de DA y UA se observa una diferencia de potenciales de pico de cerca de 0.2 V. Una característica importante del panel D de la figura 7.4 es que la corriente de pico correspondiente a la DA es 10 veces mayor que la del pico correspondiente a UA, pese a que están en la misma concentración, y casi 50 veces más grande que la señal obtenida para AA, aunque el AA duplique la concentración de DA.

Se continuó con la determinación de DA a diferentes niveles de concentración en mezclas ternarias con AA y UA manteniendo constantes las concentraciones de estos últimos analitos (100 μ M), como se observa en la figura 7.5. En el panel B de esta figura se observa la curva de calibración correspondiente. Los datos mostrados representan el promedio de tres electrodos recubiertos independientemente, y la barra de error representa la desviación estándar de los datos.

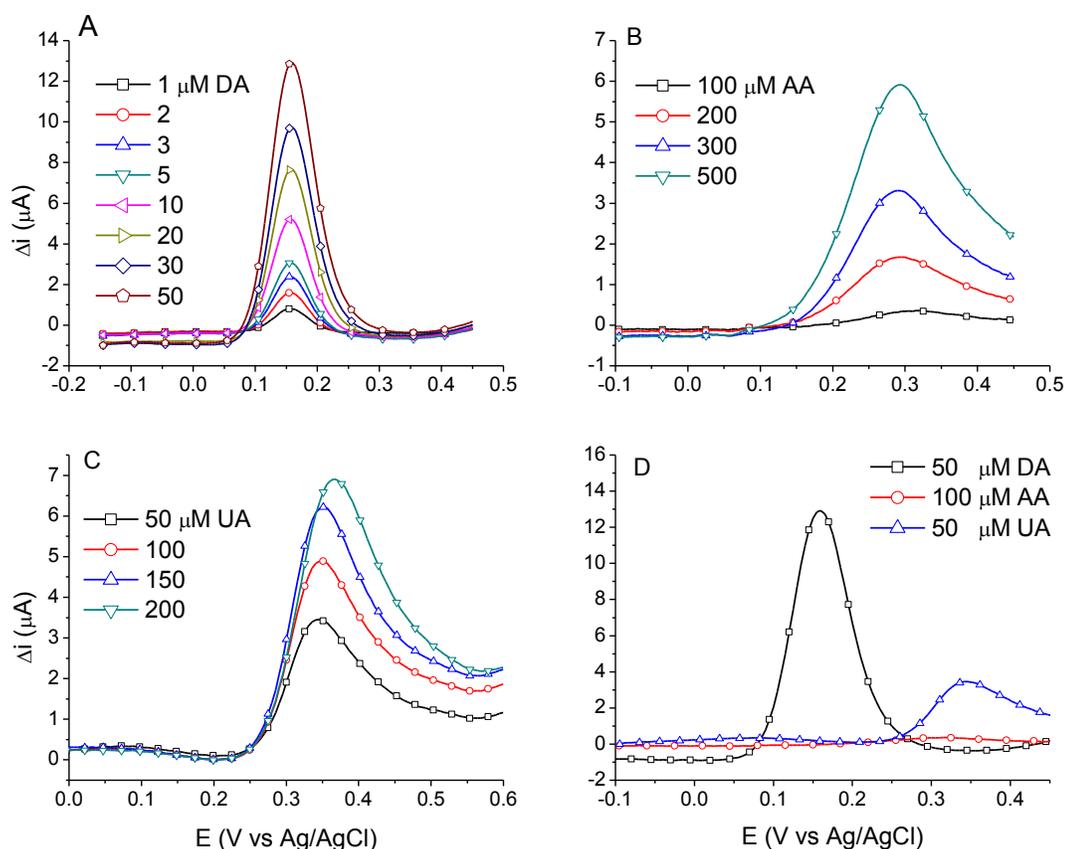


Figura 7.4 Voltamperogramas de onda cuadrada para la determinación de A) dopamina, B) ácido ascórbico y C) ácido úrico. El panel D se presenta voltamperogramas de distintos analitos a una concentración fija. Todas las determinaciones se realizaron usando electrodos nsAu/GC preparados con el método PD, aplicando 16 ciclos de barrido de potencial de 0.95 V hasta -0.1 V vs Ag/AgCl. Otras condiciones experimentales se detallan en la figura 7.3.

En la curva de calibración para la determinación de DA con sus interferentes (panel B, figura 7.5) se encontraron dos intervalos lineales: el primer intervalo tiene una sensibilidad de $0.192 \text{ A}\cdot\text{L/mol}$ con concentraciones de DA entre 0 y 10 μM con un LOD de $0.85 \mu\text{M}$, mientras que el segundo intervalo lineal inicia en una concentración igual a 10 μM , alcanzando una concentración final igual a 30 μM , con una sensibilidad de $0.11 \text{ A}\cdot\text{L/mol}$ y un LOD de $3.84 \mu\text{M}$.

En la tabla 7.3 se presenta los valores de LOD determinados en diferentes trabajos, así como la concentración de interferentes usada. Con los datos presentados en esta tabla se resalta que el LOD obtenido en este trabajo es comparable con los valores reportados en la literatura, pese a la relativa simplicidad en la construcción de los electrodos nsAu/GC.

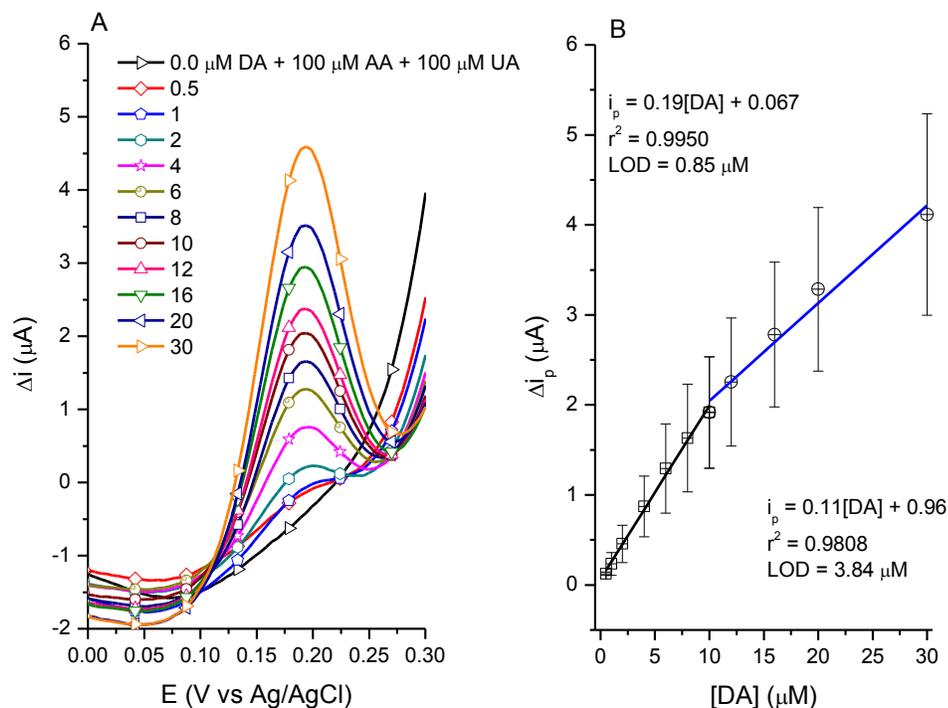


Figura 7.5 Determinación de dopamina en mezcla ternaria con 0.1 mM de ácido ascórbico y 0.1 mM de ácido úrico, sobre electrodos nsAu/GC preparados como se describe en la figura 7.4.

Tabla 7.3 Comparación de LOD para diferentes electrodos modificados, utilizados en la determinación de dopamina. Los valores de concentración están en μM .

Electrodo Modificado	[AA]	[UA]	LOD DA	referencia
P-4-ABA/GC	150	10	1.0	Zheng, ¹⁸
Chitosan-Gr/GC	100	20	1.0	Han, ¹⁹
[C ₈ Py][PF ₆]-CPE	-	-	1.0	Safavi, ²⁰
Pd·NP-CNF/CPE	1000	50	0.2	Huang, ²¹
Au·NP-CD/Gr/GC	500	0.5	0.15	Tian, ²²
Au@Pd·NP-rGO/GC	400	80	0.02	Jiang, ²³
SnO ₂ ·NP-MWCNT-CPE	1000	50	0.03	Sun, ²⁴
nsAu/GC	100	100	0.83	Este trabajo

P-4-ABA = ácido poli-4-aminobutírico, Gr = grafeno, [C₈Py][PF₆] = hexafluorofosfato de 1-octil piridinio, CPE = electrodo de pasta de carbono, X·NP = nanopartículas de Pd, Au o SnO₂, CNF = nanofibras de carbono, CD = β -ciclodextrina, rGO = óxido de grafeno reducido, MWCNT = nanotubos de carbono multi-pared.

7.4 Conclusiones

Se construyeron superficies modificadas (nsAu/GC) que se usaron para la determinación de dopamina en mezcla ternaria con ácido ascórbico y ácido úrico, con LOD de 0.85 mM, sensibilidad de 0.19 A·L/mol y rango lineal de 0 hasta 10 mM. Utilizando el método potenciodinámico y aplicando 16 de 0.95 hasta -0.1 V vs Ag/AgCl se depositaron nanopartículas esféricas de oro cuyo tamaño es menor o igual a 100 nm, sobre electrodos de GC. Con el método potenciostático y galvanostático se obtuvieron cúmulos de cristales de oro con tamaño de partícula entre 500 y 800 nm. Con el método potenciostático se obtuvieron superficies recubiertas un 85% por partículas con diámetro promedio a 100 nm.

7.5 Referencias

- (1) Li, Y.; Fu, Z.-Y.; Su, B.-L. Hierarchically Structured Porous Materials for Energy Conversion and Storage. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22* (22), 4634–4667.
- (2) Plowman, B. J.; Mahajan, M.; O'Mullane, A. P.; Bhargava, S. K. Electrochemical Detection of Dopamine and Cytochrome c at a Nanostructured Gold Electrode. *Electrochimica Acta* **2010**, *55* (28), 8953–8959.
- (3) Wijnhoven, J. E. G. J.; Zevenhuizen, S. J. M.; Hendriks, M. A.; Vanmaekelbergh, D.; Kelly, J. J.; Vos, W. L. Electrochemical Assembly of Ordered Macropores in Gold. *Adv. Mater.* **2000**, *12* (12), 888–890.
- (4) Plowman, B. J.; Jones, L. A.; Bhargava, S. K. Building with Bubbles: The Formation of High Surface Area Honeycomb-like Films via Hydrogen Bubble Templated Electrodeposition. *Chem Commun* **2015**, *51* (21), 4331–4346.
- (5) Xu, Y.; Ke, X.; Yu, C.; Liu, S.; Zhao, J.; Cui, G.; Higgins, D.; Chen, Z.; Li, Q.; Wu, G. A Strategy for Fabricating Nanoporous Gold Films through Chemical Dealloying of Electrochemically Deposited Au-Sn Alloys. *Nanotechnology* **2014**, *25* (44), 445602.
- (6) Jia, F.; Yu, C.; Ai, Z.; Zhang, L. Fabrication of Nanoporous Gold Film Electrodes with Ultrahigh Surface Area and Electrochemical Activity. *Chem. Mater.* **2007**, *19* (15), 3648–3653.
- (7) Hezard, T.; Fajerweg, K.; Evrard, D.; Collière, V.; Behra, P.; Gros, P. Gold Nanoparticles Electrodeposited on Glassy Carbon Using Cyclic Voltammetry: Application to Hg(II) Trace Analysis. *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *664*, 46–52.
- (8) Liu, H.; Tian, Y. Analytical Application of Pyramidal, Rodlike, and Spherical Gold Nanostructures: Simultaneous Detection of Ascorbic Acid and Uric Acid. *Electroanalysis* **2008**, *20* (11), 1227–1233.
- (9) Plowman, B.; Ippolito, S. J.; Bansal, V.; Sabri, Y. M.; O'Mullane, A. P.; Bhargava, S. K. Gold Nanospikes Formed through a Simple Electrochemical Route with High Electrocatalytic and Surface Enhanced Raman Scattering Activity. *Chem. Commun.* **2009**, No. 33, 5039.

- (10) Grace, A. A. Phasic versus Tonic Dopamine Release and the Modulation of Dopamine System Responsivity: A Hypothesis for the Etiology of Schizophrenia. *Neuroscience* **1991**, *41* (1), 1–24.
- (11) Tian, Y.; Liu, H.; Zhao, G.; Tatsuma, T. Shape-Controlled Electrodeposition of Gold Nanostructures. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (46), 23478–23481.
- (12) Toyama, S.; Takei, O.; Tsuge, M.; Usami, R.; Horikoshi, K.; Kato, S. Surface Plasmon Resonance of Electrochemically Deposited Au-Black. *Electrochem. Commun.* **2002**, *4* (7), 540–544.
- (13) van Noort, D.; Mandenius, C.-F. Porous Gold Surfaces for Biosensor Applications. *Biosens. Bioelectron.* **2000**, *15* (3–4), 203–209.
- (14) Notsu, H.; Kubo, W.; Shitanda, I.; Tatsuma, T. Super-Hydrophobic/Super-Hydrophilic Patterning of Gold Surfaces by Photocatalytic Lithography. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15* (15), 1523.
- (15) Imamura, M.; Haruyama, T.; Kobatake, E.; Ikariyama, Y.; Aizawa, M. Self-Assembly of Mediator-Modified Enzyme in Porous Gold-Black Electrode for Biosensing. *Sens. Actuators B Chem.* **1995**, *24* (1–3), 113–116.
- (16) Trasatti, S.; Petrii, O. A. Real Surface Area Measurements in Electrochemistry. *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63* (5).
- (17) Miller, J. N.; Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed.; Pearson/Prentice Hall: Harlow, England ; New York, **2005**.
- (18) Zheng, X.; Zhou, X.; Ji, X.; Lin, R.; Lin, W. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid Using Poly(4-Aminobutyric Acid) Modified Glassy Carbon Electrode. *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, *178*, 359–365.
- (19) Han, D.; Han, T.; Shan, C.; Ivaska, A.; Niu, L. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid with Chitosan-Graphene Modified Electrode. *Electroanalysis* **2010**, *22* (17–18), 2001–2008.
- (20) Safavi, A.; Maleki, N.; Moradlou, O.; Tajabadi, F. Simultaneous Determination of Dopamine, Ascorbic Acid, and Uric Acid Using Carbon Ionic Liquid Electrode. *Anal. Biochem.* **2006**, *359* (2), 224–229.
- (21) Huang, J.; Liu, Y.; Hou, H.; You, T. Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine, Uric Acid and Ascorbic Acid Using Palladium Nanoparticle-Loaded Carbon Nanofibers Modified Electrode. *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24* (4), 632–637.
- (22) Tian, X.; Cheng, C.; Yuan, H.; Du, J.; Xiao, D.; Xie, S.; Choi, M. M. F. Simultaneous Determination of L-Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid with Gold Nanoparticles- β -Cyclodextrin-graphene-Modified Electrode by Square Wave Voltammetry. *Talanta* **2012**, *93*, 79–85.
- (23) Jiang, J.; Du, X. Sensitive Electrochemical Sensors for Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine, and Uric Acid Based on Au@Pd-Reduced Graphene Oxide Nanocomposites. *Nanoscale* **2014**, *6* (19), 11303–11309.
- (24) Sun, D.; Zhao, Q.; Tan, F.; Wang, X.; Gao, J. Simultaneous Detection of Dopamine, Uric Acid, and Ascorbic Acid Using SnO₂ Nanoparticles/Multi-Walled Carbon Nanotubes/Carbon Paste Electrode. *Anal. Methods* **2012**, *4* (10), 3283.
- (25) Hossain, A., H.-D. K. High Sensitive Seawater Resistant SERS Substrates Based on Gold Island Film Produced by Electroless Plating. *Mar. Sci.* **2013**, *3* (1), 1–8.
- (26) Y. Rhieu, S.; Reipa, V. Tuning the Size of Gold Nanoparticles with Repetitive Oxidation-Reduction Cycles. *Am. J. Nanomater.* **2015**, *3* (1), 15–21.

CONCLUSIONES GENERALES

- Se establecieron condiciones operacionales, para la formación de injertos moleculares de: ácido 4-aminobenzoico, 4-nitroanilina, dietilentriamina, dopamina e histamina sobre superficies de carbono vítreo y nanotubos de carbono.
- Se funcionalizaron superficies de oro policristalino con grupos carboxilo y amino, mediante la formación de monocapas autoensambladas, con estos electrodos se realizaron reacciones de acoplamiento.
- Los injertos de dopamina obtenidos por oxidación de amina y 4-nitroanilina construidos mediante la reducción de cationes aril diazonio, se caracterizaron utilizando voltamperometría cíclica.
- Usando voltamperometría cíclica y espectroscopía de impedancia electroquímica se calculó la magnitud de constante de acidez superficial K_a de los electrodos Au/MPA y GC/PABA, encontrándose valores de pKa de 5.3 y 3.3 respectivamente.
- Como prueba de concepto, se determinó que se puede medir la cantidad de iones cobre en disoluciones acuosas, utilizando superficies modificadas mediante la adsorción de los colorantes rojo de pirogalol (RPG) y rojo de alizarina (ARS).
- Se determinaron iones Pb(II) y Cd(II), con LOD = 22 y 58 nM, sensibilidad = 0.29 y 0.13 A·L/mmol respectivamente, para los dos iones se obtuvo un rango lineal desde 0 hasta 500 nM, utilizando superficies modificadas GC/CNT/RPG con películas de bismuto formadas *in-situ*.
- Se investigó el comportamiento de parámetros operacionales tales como: tiempo de depósito o de adsorción, potencial de depósito, ventana de potencial, valor de pH de la disolución e interferentes. Se determinaron los mejores valores de estos parámetros para mejorar el desempeño en la determinación de Cu(II), Cd(II) y Pb(II).
- Se construyeron superficies modificadas (nsAu/GC) para la determinación de dopamina en mezcla ternaria con ácido ascórbico y ácido úrico, con LOD de 0.85 mM, sensibilidad de 0.19 A·L/mol y rango lineal de 0 hasta 10 mM.
- Utilizando el método potenciodinámico y aplicando 16 de 0.95 hasta -0.1 V vs Ag/AgCl se depositaron nanopartículas esféricas de oro cuyo tamaño es menor o igual a 100 nm, sobre electrodos de GC
- Con el método potencioestático y galvanostático se obtuvieron cúmulos de cristales de oro con tamaño de partícula entre 500 y 800 nm.

ANEXOS

Electrodos de carbono vítreo modificados capa por capa

Cevallos-Morillo Carlos, Aguilar-Cordero Julio

Departamento de Química Analítica, Facultad de Química

Universidad Nacional Autónoma de México

julioca@unam.mx

INTRODUCCIÓN

El concepto de electrodos químicamente modificados, (CME por sus siglas en inglés), nace al intentar usar la superficie del electrodo como herramienta extra, para favorecer una reacción química heterogénea dada.¹ El estudio y desarrollo de CMEs es importante puesto que estos materiales tienen múltiples aplicaciones en varios campos como: catálisis, corrosión, sensores, almacenamiento y conversión de energía, entre otras.

OBJETIVO

Construir superficies modificadas sobre carbono vítreo y caracterizarlas usando espectroscopia de impedancia electroquímica y voltamperometría cíclica.

CONSTRUCCIÓN DEL CME

Se modificaron superficies de carbono vítreo mediante la reducción de HAuCl_4 0.1 M, en medio de HCl 0.1 M, sobre esta superficie se adsorbió monopacas de tioles, con lo que la superficie queda funcionalizada con grupos carboxilato. Esta superficie se trató con una mezcla 1:1 de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, *N*-hidroxisuccinimida por una hora y luego con dietilentriamina por 30 min. Finalmente se trató las superficies modificadas con bromoacetato de etilo por 15 min.

RESULTADOS

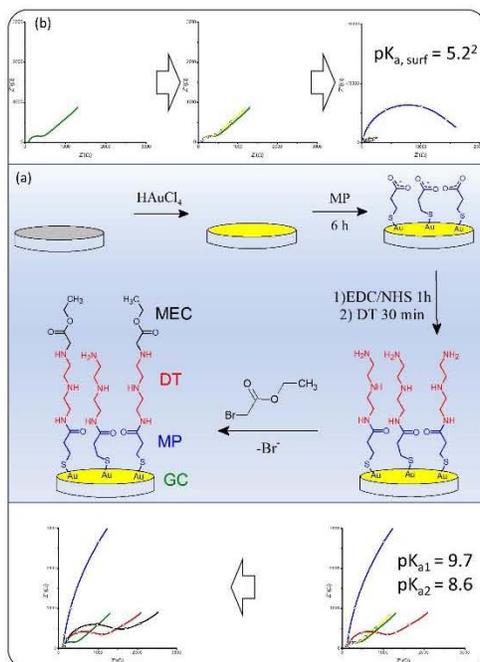


Figura 1. a) Esquema de construcción del CME donde: GC= carbono vítreo, Au = oro, MP= ácido 3-mercaptopropiónico, DT= dietilentriamina, MEC = metil etoxicarbonilo. b) Diagramas de Nyquist para cada una de las capas, se empleó disoluciones acuosas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3/4-}$, 1 mM en medio de KCl 0.1 M y buffer de fosfatos 10 mM, pH=7, frecuencias entre 1 y 1×10^5 Hz, amplitud 5 mV, potencial de polarización $E = E_{\text{ocp}}$.

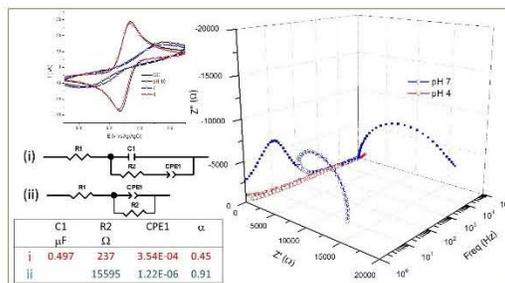


Figura 2. Caracterización de la superficie GC/Au/MP a diferentes valores de pH, circuitos equivalentes empleados) i) pH=4, ii) pH= 7.

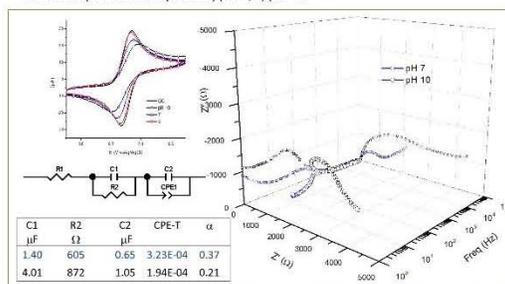


Figura 3. Caracterización de la superficie GC/Au/MP/DT a diferentes valores de pH.

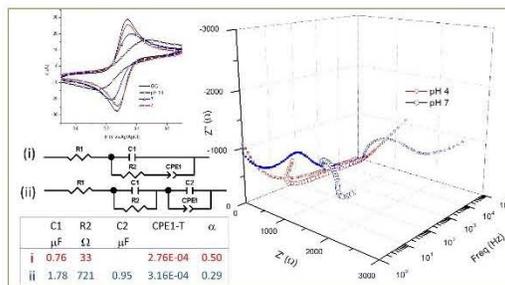


Figura 4. Caracterización de la superficie GC/Au/MP/DT/MEC a diferentes valores de pH, circuitos equivalentes empleados i) pH=4, ii) pH= 7.

CONCLUSIÓN

La espectroscopia de impedancia electroquímica permite el estudio y caracterización de superficies químicamente modificadas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Murray, R. W. *Accounts of Chemical Research* **1980**, *13* (5), 135.
- Zhao, J.; Luo, L.; Yang, X.; Wang, E.; Dong, S. *Electroanalysis* **1999**, *11* (15), 1108.

AGRADECIMIENTOS: A CONACYT por la beca de estudios # 2711166

Copper(II) Determination with Modified Carbon Nanotubes Electrodes using Dyes as Ligands

Cevallos-Morillo Carlos Alberto, Aguilar-Cordero Julio César
 Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México
 Ciudad de México, 04310, México
 julioca@unam.mx

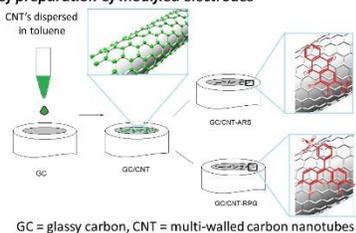
Introduction

Several reports in literature have shown that copper levels in cancer patients are significantly elevated compared to those found in healthy subjects. The studies showed that while zinc, iron and selenium concentrations were significantly lower in cancer patients, the copper concentrations usually showed an increase of 2-3 fold.¹

Pyrogallol red (RPG, A) is a triphenylmethane dye, usually used as a reagent in the analysis of proteins.² Alizarin Red S (ARS, B) is an anionic, sulfonated dihydroxy anthraquinone dye, used as a staining agent in textiles or mineralized bones of biological specimens.³

In this work we show the proof of concept of copper determination employing modified electrodes using dyes adsorbed on MWCNT as ligands.

Scheme of preparation of modified electrodes



Results

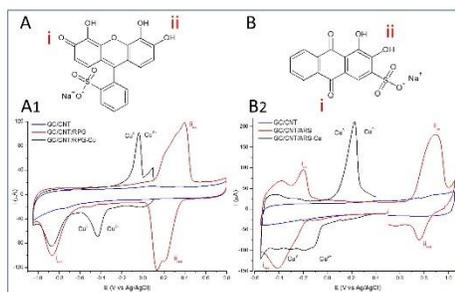


Figure 1. Molecular structure of the dyes used as ligands: A) pyrogallol red, B) alizarin red S. Panels A1 and B1 show cyclic voltammograms of modified electrodes prepared by addition of different components: blue lines = substrate (CNT on GC); red lines = adsorbed dye on GC/CNT; black lines = coordinated Cu(II) on GC/CNT/dye. All cyclic voltammograms were obtained at 100 mV s^{-1} , in 0.01 M MES buffer $\text{pH} = 4.0$, CHI 900C potentiostat, Pt wire as counter electrode. All reagents were purchased from Aldrich and used without further purification.

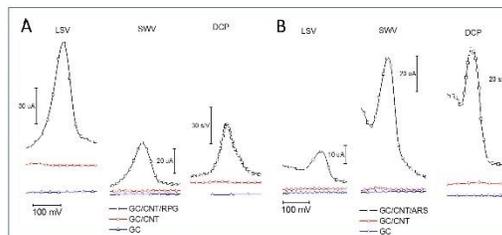


Figure 2. Comparison between different electrochemical techniques for copper determination on different surfaces using A) pyrogallol red and B) alizarin red as ligands. LSV = linear sweep voltammetry ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$), SWV = square wave voltammetry ($E_{\text{top}} = 5 \text{ mV}$, $f = 20 \text{ Hz}$, amplitude = 50 mV), DCP = differential chronopotentiometry ($i = 5 \mu\text{A}$). $2 \mu\text{M}$ copper concentrations were used in all cases.

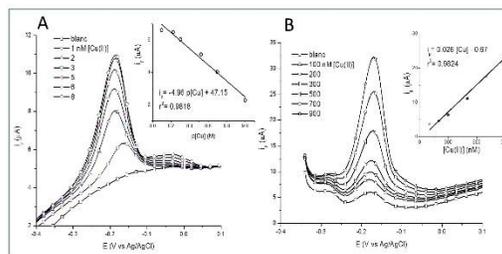


Figure 3. Voltammetric response curves obtained by successively adding copper to aqueous 0.01 M MES buffer, $\text{pH} = 6.5/0.1 \text{ M KCl}$. Adsorbed ligands: A) pyrogallol red and B) alizarin red. Insets illustrate the linear relation between the anodic peak current and copper concentration.

Conclusions

The adsorption of RPG and ARS on carbon nanotubes was confirmed by the presence of the corresponding oxidation-reduction signals. The results obtained show that GC/CNT/ARS and GC/CNT/RPG modified electrodes may enable the determination of copper ions with high sensitivity.

References

- 1) Kuo, H. W.; *et. al. Biol. Trace Elem. Res.* **2002**, *89* (1), 1–12.
- 2) Tokuda, K.; *et. al. Clin. Chem.* **1986**, *32* (8), 1551–1544.
- 3) Dawson, A. B. *Stain Technol.* **1926**, *1* (4), 123–124.

Acknowledgements

Carlos Cevallos gratefully acknowledges financial support from CONACYT (scholarship 271166) and Posgrado UNAM. Authors also are grateful for financial support from PAPIIT-DGAPA-UNAM (Project IN223615).

68th Annual Meeting ISE, September 2017, Providence, Rhode Island, USA

DOI: 10.1002/elan.201700665

Electrochemical Formation of Nanostructured Gold Surfaces on Glassy Carbon for the Determination of Dopamine

Carlos Alberto Cevallos-Morillo,^[a] Salvador G. Hernández-Vargas,^[a] and Julio C. Aguilar-Cordero*^[a]

Abstract: Nanostructured gold surfaces were prepared by potentiostatic, potentiodynamic or galvanostatic Au electrodeposition on glassy carbon electrodes. The nanostructured gold electrodes (nsAu/GC) were used for the determination of dopamine (DA) in aqueous media. A directly proportional relationship was found between the peak current for DA (obtained by square wave voltammetry, SWV) and its concentration for all cases. However, the best performance for DA determination was attained with potentiodynamically electrodeposited surfaces. The SWV peak current was linearly dependent on DA concentration up to 10 μM , with a detection limit (3σ) of

0.57 μM , and a correlation coefficient (r) of 0.9966. A study on the effect of common interfering species such as ascorbic acid (AA) and uric acid (UA) on DA determination was also carried out. The use of a nanostructured surface gives rise to peaks for AA and UA that appear at 0.15–0.20 V above the peak potential for DA. The detection limit obtained for dopamine is below 1 μM in the presence of 0.1 mM AA and 0.1 mM UA. Thus, nanostructuring of glassy carbon surfaces with gold conveniently and easily improves the detection of DA in the presence of their principal interfering species.

Keywords: Nanostructured gold · glassy carbon · dopamine determination

1 Introduction

Gold has been intensely studied as material for fabricating new surfaces with tunable characteristics and properties, mainly due to its biocompatibility, its electrocatalytic activity in a nanostructured form and to the ease of its functionalization with self-assembled monolayers [1]. Several methods have been used to prepare gold surfaces with high surface area, including: hard templating of SiO_2 spheres [2], chemical dealloying [3], H_2 bubble formation [4], and electrochemical deposit [5]. The latter one appears to be a fast and low cost method to fabricate well-defined nanostructured surfaces [6]. Metal nanoparticles in the shape of spheres, rods, triangles and hierarchical flower-like structures, as well as dendritic-like deposits have been prepared under such an approach [7, 8]. Nevertheless, the use of organic additives in solution or previously adsorbed is a common strategy to control the growth of the nanostructured phase, affecting the interfacial chemistry of the final material [9].

Dopamine (DA) is an important neurotransmitter pertaining to the catecholamines family. It plays an important physiological role in the brain as well as in the central nervous and cardiovascular system [10]. Anomalous levels of DA are related to disorders such as schizophrenia, senile dementia and Parkinson's disease [11]. For diagnosis and treatment of these diseases, the accurate determination of DA is required. Gold electrodes have been used in electrochemical DA detection, and many efforts have been made in order to improve the sensitivity of DA analysis using them. The modification of

the gold electrodes is relatively complex in most cases, and the presence of ascorbic acid (AA) and uric acid (UA) in biological samples hinders the determination of DA at some extent. There are several reports in the literature regarding nanostructured gold deposits [12], most of them using gold in the form of evaporated thin films [13–16], or polycrystalline gold as substrates [17]. In this work we fabricated nanostructured gold surfaces on glassy carbon electrodes by gold electrodeposition from aqueous Au(III) solutions, using Pb(II) as an inorganic directional growth agent [1]. These nanostructured surfaces were successfully used as electrodes for DA detection in aqueous media in the presence of 100-fold AA and UA.

2 Experimental

2.1 Reagents and Apparatus

Gold(III) chloride solution (Au=1000 ppm in HCl 5%), dopamine hydrochloride (99.9%), hydrochloric acid (99.999%), lead(II) nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, 99.995%), ascorbic

[a] C. A. Cevallos-Morillo, S. G. Hernández-Vargas, J. C. Aguilar-Cordero
Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, C.P. 04510, México
E-mail: julioca@unam.mx

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/elan.201700665>

acid (AA, ACS Reagent), uric acid (UA, >99%), potassium chloride (KCl, ACS Reagent), were acquired from Aldrich. Sulfuric acid (H_2SO_4 , 98.7%), sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4), nitric acid (HNO_3 , 67%) and sodium hydroxide (NaOH, 99%) were acquired from J.T. Baker. All reagents were used as received. Deionized water (Milli-Q Water Purifier System), with a resistivity of $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$, was employed in all experiments.

A CHI Instruments (CHI) model 920C potentiostat was used for the electrochemical measurements and for gold electrochemical deposition. A conventional three-electrode cell was employed using a glassy carbon working electrode of 3 mm diameter (CHI), a silver/silver chloride (Ag/AgCl 3 M KCl, CHI) reference electrode, and a helical platinum wire as auxiliary electrode. All electrochemical experiments were conducted under nitrogen atmosphere at ambient temperature ($22 \pm 2^\circ \text{C}$).

The pH values of all solutions were measured with an Orion 5 STAR Thermo Scientific pH meter and a Thermo Scientific combined pH electrode. Scanning electron microscopy (SEM) measurements were performed on a JEOL JSM-7600F and a JEOL JSM-5900LV instruments. Before SEM analysis, gold-coated electrodes were washed with abundant water and dried under vacuum.

2.2 Electrode Preparation

Glassy carbon electrodes were mechanically polished with sandpaper grit No 1000, and with alumina suspensions in water using three different particle sizes (1, 0.3 and $0.05 \mu\text{m}$) for each electrode. Next, electrodes were washed with copious water to eliminate any further alumina residues. In order to increase the cleanliness of the surfaces, the electrodes were immersed in an electrochemical cell containing a $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ aqueous solution. A potential sweep from 0.15 to 1.6 V vs Ag/AgCl, at a scan rate of 100 mVs^{-1} , was twice applied. On a later stage, gold was deposited on the clean glassy carbon electrodes using different electrochemical techniques, from a 10 mM Au(III) solution containing 1 mM Pb(II) in 0.3 M HNO_3 as supporting electrolyte.

2.3 Electrochemical Area Determination

The active electrochemical area of each Au modified electrode was measured using the charge required for the reduction of a chemisorbed oxygen monolayer. Gold oxidation was carried out by sweeping the electrode potential once from 0.2 up to 1.6 V vs Ag/AgCl, at a scan rate of 100 mVs^{-1} in aqueous $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$. Afterwards, a cathodic sweep of potential was performed from 1.6 down to 0.2 V in order to reduce the gold oxide previously deposited. Each measurement was repeated 3 times for each electrode, and the typical error on the measured active area was less than 5%.

3 Results and Discussion

3.1 Electrodeposition of Gold

Gold deposition was performed on clean glassy carbon electrodes from aqueous 0.3 M HNO_3 solutions containing $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Typical cyclic voltammograms for the reduction of HAuCl_4 in the absence and in the presence of Pb^{2+} are shown in Figure 1. The gold(III) reduction peak appears at 0.58 V vs Ag/AgCl, and the introduction of lead ions shifts the voltammogram to higher potentials, reducing the cathodic overpotential [18]. Lead deposition occurs at -0.51 V vs Ag/AgCl, and the corresponding anodic stripping peak appears at -0.40 V . Having this information at hand, three different potential values were selected for the potentiostatic or potentiodynamic deposition of gold.

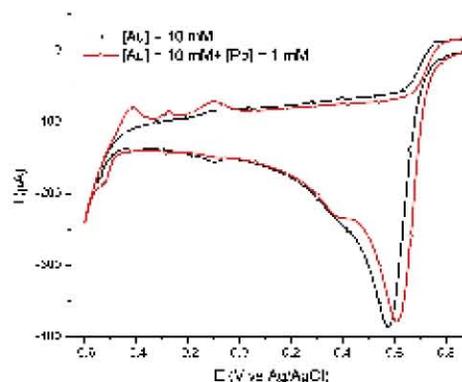


Fig. 1. Typical voltammograms for gold reduction on glassy carbon electrodes, using solutions with (red line) and without (black line) lead, obtained at a scan rate of 0.1 Vs^{-1} . In both cases, 0.3 M HNO_3 was used as supporting electrolyte.

In order to compare different gold deposition procedures, we have used potentiostatic (PS), potentiodynamic (PD), and galvanostatic (GS) methods for the electrochemical deposition of gold on glassy carbon electrodes in the presence of Pb(II) . Using the potentiostatic method, three sets of gold-coated electrodes were obtained by applying a 300 s potential pulse at -0.1 , 0.1 and 0.3 V vs Ag/AgCl respectively, while measuring the charge used to accomplish the deposit in each trial. An average of $2.4 \pm 0.09 \times 10^{-2} \text{ C}$ were calculated for all the trials for each applied potential. The potentiodynamically gold-coated electrodes were prepared using cyclic voltammetry with a total charge of 24 mC and an initial potential of 0.95 V (the value of the OCP), setting the lower vertex potential at -0.1 (16 cycles), 0.1 (22 cycles) and 0.3 V (31 cycles) vs Ag/AgCl. The scan rate was kept at 100 mVs^{-1} in all cases. For the galvanostatically gold coated electrodes, two constant current levels were used: 75 and $100 \mu\text{A}$.

These currents were applied to the electrochemical cell until the measured potential attained a value of 0.1 V vs Ag/AgCl, in order to avoid the deposit of Pb(II). The electric charge consumed was determined from the electric current and time used in each experiment (7.1 ± 1.7 mC, $n=12$, for 75 μ A, and 3.6 ± 0.8 mC, $n=9$, for 100 μ A).

3.2 Area Determination

The active area for each gold-coated electrode was determined right after its preparation. The determination of the electrochemically active area by oxygen adsorption (oxide formation) from solution is applicable to gold because this metal shows well-developed electric potential regions for oxide monolayer formation and reduction. Oxygen is assumed to be chemisorbed in a monoatomic gold oxide layer, with a one-to-one correspondence with surface metal atoms [19]. After oxidation of the gold coating on the glassy carbon electrode by linear sweep voltammetry with an initial potential of 0.2 V and a final potential of 1.6 V vs Ag/AgCl, the gold oxide monolayer was reduced using the same electrochemical technique, swapping the initial and final potentials. Integrating the gold oxide reduction peak at ca. 0.92 V vs Ag/AgCl (shown in the inset of Figure 2), it is possible to find the charge used to carry out oxygen desorption. The active area of each electrode was determined employing the electric charge consumed in oxygen desorption and the factor of $400 \mu\text{Ccm}^{-2}$, reported by Rand *et al.* as the charge needed to reduce a monolayer of gold oxide [20].

A summary of area measurements for all three sets of gold-coated electrodes, as well as for a polycrystalline

gold electrode, is shown in Figure 2. Each bar represents the average of four measurements made for three independent coatings (twelve overall experiments). Error bars illustrate the standard deviation obtained for each deposition method. The Y-axis in Figure 2 represents values of normalized surface, i.e., the ratio between electroactive area and the charge used to make the corresponding gold coating (these charges are proportional to the amount of substance deposited, and for the polycrystalline gold surface, a charge of 24 mC was used for the normalization). This normalization step allows us to compare the efficiency of the gold coating procedure, including data from the galvanostatic electrodeposition method. The corresponding value for the reference polycrystalline gold disk electrode can be used to estimate the roughness factor of each modified electrode.

Based on the calculated electroactive area of a gold disk electrode, the calculated roughness factor is higher for the potentiostatic method (ca. 5, 3.5 and 1.2 for deposition at -0.1 , 0.1 and 0.3 V vs Ag/AgCl, respectively). For the potentiodynamic method, roughness factors of ca. 1.3, 0.5 (maybe related to a poorly coated surface) and 0.5 were obtained for vertex potentials of -0.1 , 0.1 and 0.3 V vs Ag/AgCl, correspondingly, while for the galvanostatic method, the calculated roughness factors were 1.7 and 1.2 for applied currents of 100 μ A and 75 μ A, respectively. The reproducibility of the electroactive area measurements greatly improves for the potentiodynamic method (a coefficient of variation of less than 5% was obtained for the potentiodynamic method with a vertex potential of -0.1 V vs Ag/AgCl).

3.3 Electrochemical Behavior of Dopamine on Nanostructured Gold-coated Glassy Carbon Electrodes

Typical cyclic voltammograms for DA electrolysis on nanostructured gold-coated glassy carbon electrodes (nsAu/GC) and on bare glassy carbon electrodes (GC) are illustrated in Figure 3A. A well-defined redox wave is clearly observed for a DA concentration of 1.2 mM, showing differences between the anodic peak potential, E_{pa} , and the cathodic peak potential, E_{pc} , of 85 and 80 mV for GC and nsAu/GC electrodes, respectively, with half-wave potentials ($E_{1/2} = 0.5(E_{pa} + E_{pc})$) of 0.195 V for GC electrodes and 0.178 V for nsAu/GC electrodes. The anodic and cathodic peak currents, i_{pa} and i_{pc} are 34.3 and 19.7 μ A for GC electrodes ($i_{pc}/i_{pa} = 0.57$) and 42.7 and 37.3 μ A for nsAu/GC electrodes ($i_{pc}/i_{pa} = 0.87$). Therefore, there is a 2-fold increase in the cathodic peak current and a slight (25%) increase in the anodic peak current when using the nsAu/GC electrode in 1.2 mM DA solutions in aqueous 10 mM phosphate buffer (pH=7.0)/0.1 M KCl solution. In the square wave voltammetry (SWV) experiment, the difference current ($\Delta i = i_c - i_a$) reaches a higher peak with nsAu/GC electrodes than the one observed with the GC ones, mainly due to the increase in the reaction rate of reduction of the protonated dopamine quinone [21], on the nanostructured surface, as shown in

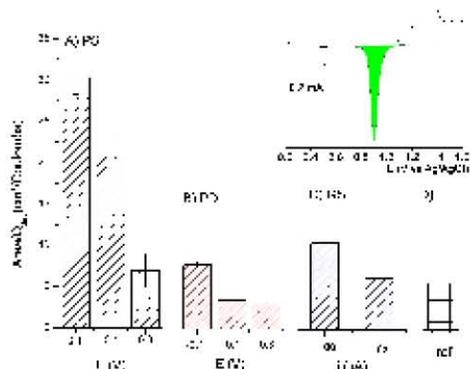


Fig. 2. Electroactive surface area of gold-coated electrodes normalized by the charge used to prepare them. The gold deposit on glassy carbon was carried out with three different methods: A) potentiostatic, B) potentiodynamic and C) galvanostatic (refer to Experimental section for details). D) Reference value (obtained using a gold disk electrode). Inset: Typical CV of gold-coated electrode in 0.5 M aqueous H_2SO_4 .

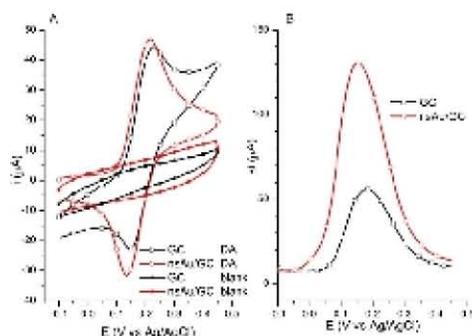


Fig. 3. Typical voltammograms for the electrolysis of 1.2 mM DA on glassy carbon (black lines) or on nanostructured gold-coated glassy carbon electrodes (red lines). A) Cyclic voltammetry at a scan rate of 0.1 V s^{-1} ; B) Square wave voltammograms with $E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$, amplitude = 25 mV , $f = 20 \text{ Hz}$. 10 mM phosphate buffer solutions, $\text{pH} = 7.0$ in $\text{KCl } 0.1 \text{ M}$ were used in all cases.

the cyclic voltammetry experiments. The difference current peak, Δi_p , is ca. 2.5 times higher with the nsAu/GC electrodes, and appears at a potential that is almost 20 mV lower than the one observed with GC electrodes.

3.4 Dopamine Determination on nsAu/GC Electrodes

From SWV experiments with E_{step} of 5 mV, amplitude of 25 mV and frequency of 20 Hz as operational parameters, values of Δi_p were measured for different DA concentrations on the nanostructured gold-coated electrodes previously described. These determinations were made in 10 mM phosphate buffer/ 0.1 M KCl solution at $\text{pH} = 7.0$, with DA concentrations ranging from 0 to $10 \mu\text{M}$. In all cases, except for the potentiostatic method with deposition potentials of -0.1 and 0.1 V vs Ag/AgCl, the SWV Δi_p is directly proportional to DA concentration up to $10 \mu\text{M}$, as shown in Table 1. Each calibration curve presented was obtained from at least three different electrodes. These results can be used to compare the relative performance of each set of electrodes for the determination of DA.

As for comparison, we also obtained calibration curves using a bare GC electrode or a polycrystalline gold electrode (Table 2). According to these data, the lowest limit of detection of DA is achieved with a nanostructured gold-coated electrode.

All gold-coated surfaces show a higher sensitivity for DA determination compared to the one calculated using the bare GC electrodes. The polycrystalline gold electrode showed the lowest sensitivity overall. For the best gold-coated electrode (rated in terms of lower LOD), prepared potentiodynamically (CV) scanning the working electrode potential from 0.95 down to -0.1 V vs Ag/AgCl, using 16 cycles, the sensitivity was $0.22 \text{ A}\cdot\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$, and a LOD of

Table 1. Figures of merit for the SWV determination of DA on nanostructured gold-coated electrodes prepared with different methods

D.C. [a]	Calibration curve	r^2	LOD (μM) [b]
Potentiostatic			
-0.1	$\Delta i_p = 3.73[\text{DA}] + 5.86$	0.7735	3.40
0.1	$\Delta i_p = 3.40[\text{DA}] + 2.61$	0.8625	2.51
0.3	$\Delta i_p = 0.29[\text{DA}] + 0.39$	0.9725	2.08
Potentiodynamic			
-0.1	$\Delta i_p = 0.22[\text{DA}] + 0.49$	0.9933	0.57
0.1	$\Delta i_p = 0.29[\text{DA}] + 0.30$	0.9892	1.29
0.3	$\Delta i_p = 0.28[\text{DA}] + 0.20$	0.9850	2.15
Galvanostatic			
100	$\Delta i_p = 0.24[\text{DA}] + 0.25$	0.9914	1.15
75	$\Delta i_p = 0.13[\text{DA}] + 0.17$	0.9911	1.17

[a] Deposition conditions. [b] LOD is limit of detection, calculated as $\text{LOD} = y_b + 3s_{y_x}$, where y_b is the intercept for the linear regression, and s_{y_x} is the estimation of random errors in Δi_p [22].

Table 2. Figures of merit for DA determination on different surfaces using SWV ($n = 3$ in each case).

surface	Calibration curve	r^2	LOD (μM)
GC	$\Delta i_p = 0.11[\text{DA}] + 0.30$	0.9928	1.05
Au	$\Delta i_p = 0.02[\text{DA}] + 0.10$	0.9536	2.72

570 nM was calculated. Reducing the number of potential scan cycles down to 8 lowers the sensitivity in a 20%, while increasing the number of cycles up to 24 cycles increases by 2–3 fold the dispersion of the data.

3.5 Principal Interferents

The effects of common interfering species on the response of gold nanostructured electrode were also examined. Figure 4 shows square wave voltammograms for determination of DA, AA and UA on nsAu/GC, obtained separately. Figure 4D illustrates the relative height of the signals for the three analytes present at fixed concentrations in separate solutions. The peak potential difference for DA and AA is of approximately 0.16 V , while for DA and UA the corresponding peak potential difference is of ca. 0.2 V .

An important feature observed in Figure 4D, is that the peak current for DA is 10 times larger than the one obtained for UA at the same concentration level, and almost 50-fold larger than the Δi_p obtained for AA, regardless that the last analyte is present at a 2-fold larger concentration in solution.

A family of square wave voltammograms is presented in Figure 5A. This family of curves was recorded in ternary mixtures of DA, AA and UA, prepared by making successive additions of DA to the solution, while keeping a constant $100 \mu\text{M}$ concentration of AA and UA. Fig-

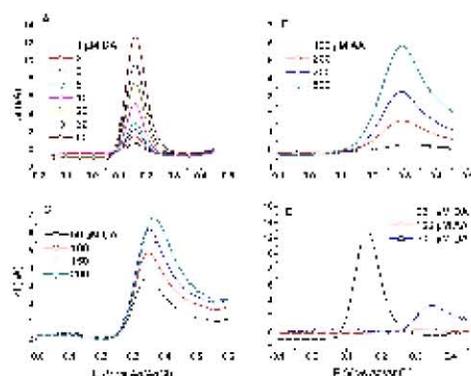


Fig. 4. Square wave voltammograms for the determination of A) Dopamine, (DA). B) Ascorbic Acid, (AA) and C) Uric Acid, (UA). Panel D shows a comparison among signals of different analytes at fixed concentration. All measurements were carried out on nsAu/GC electrodes prepared potentiodynamically by cycling the potential between 0.95 and -0.1 V vs Ag/AgCl 16 times at a scan rate of 100 mVs $^{-1}$. Other experimental conditions as given for Figure 3B.

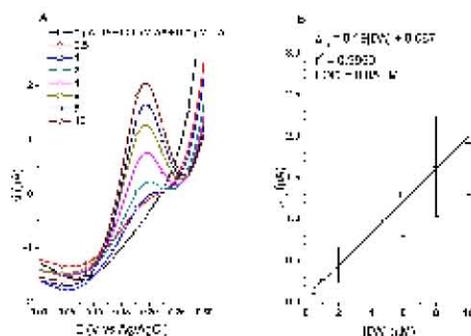


Fig. 5. Determination of DA in an aqueous ternary mixture with 0.1 mM AA and 0.1 mM UA on a nsAu/GC electrode. Gold was electrodeposited employing the potentiodynamic (CV) method described in the text, using 16 cycles from 0.95 down to -0.1 V, at a scan rate of 0.1 Vs $^{-1}$.

ure 5B shows the corresponding calibration plot, each point being the average ΔI_p obtained using three different gold-coated surfaces. Error bars represent standard deviation of the data. A linear interval was found for concentrations ranging from 0 up to 10 μ M with a sensitivity of 0.192 A \cdot L/mol and a LOD of 0.85 μ M. A second linear interval was observed in the range of DA concentrations that extends from 10 up to 30 μ M, with a sensitivity of 0.109 A \cdot L/mol and a LOD of 3.84 μ M, as seen in Figure S1. In Table 3, we compare different modified electrodes used for the determination of DA

Table 3. Comparison of the LOD of some modified electrodes used in the determination of DA. All concentrations are in μ M.

Modified electrode	[AA]	[UA]	LOD DA	Ref.
P-4-ABA/GC	150	10	1.0	[23]
Chitosan-Gr/GC	100	20	1.0	[24]
[C ₆ Py][PF ₆]-CPE	–	–	1.0	[25]
Pd-NP-CNF/CPE	1000	50	0.2	[26]
Au-NP-CD/Gr/GC	500	0.5	0.15	[27]
Au@PdNP-rGO/GC	400	80	0.02	[28]
SnO ₂ -NP-MWCNT-CPE	1000	50	0.03	[29]
nsAu/GC	100	100	0.85	This work

P-4-ABA = poly-4-aminobutyric acid, Gr = graphene, [C₆Py][PF₆] = 1-octyl pyridinium hexafluorophosphate, CPE = carbon paste electrode, X-NP = Pd, Au or SnO₂ nanoparticles, CNF = carbon nanofibers, CD = β -cyclodextrin, rGO = reduced graphene oxide, MWCNT = multi-walled carbon nanotubes.

previously informed in the literature with the ones prepared in the present work.

As seen in Table 3, the modified electrodes prepared in this work have a relatively simple composition, compared to other Au modified electrodes used in the determination of dopamine.

3.6 Scanning Electron Microscopy Characterization

Figure 6 and 7 show SEM images obtained for the nsAu/GC modified electrodes prepared using the three methods proposed in this work. The surface of the potentiodynamically prepared modified electrode (CV 16 scanning cycles), has particles with sizes that can be grouped in three different categories: particles with diameters of ca. 1 μ m (approximately 1% of particles); particles with a size of approximately 300 nm (ca. 15% of particles); and particles with sizes equal to or smaller than 100 nm (approximately 84% of particles). Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis was also carried out, and the different spectra obtained show that only gold was deposited on the GC electrode, as seen in Figure S2.

The potentiostatically prepared electrodes (using a deposition potential of 0.3 V vs Ag/AgCl) show an irregular surface formed by clumps of uneven Au nanocrystals of approximately 100 nm, arranged in compact islands [30,31]. By contrast, the surface of the galvanostatically prepared electrodes (100 s at 75 μ A) shows a low coverage (ca. 0.11 particles/ μ m²) of almost monodisperse Au particles of 500 – 800 nm. From these images is clear that the potentiodynamic method yields a true nanostructured gold surface on top of the glassy carbon substrate, a feature that reflects in the overall electrode behaviour regarding the determination of DA.

4 Conclusions

We found appropriate experimental conditions to prepare nanostructured gold surfaces by electrochemical deposi-

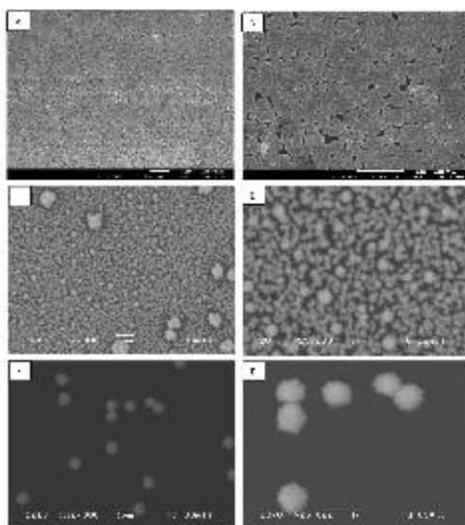


Fig. 6. SEM images of nsAu/GC electrodes prepared by the potentiostatic method (panels A and B, SEM images obtained using JEOL JSM-7600F); the potentiodynamic method (C and D, SEM images from JEOL JMS-5900LV); and the galvanostatic method (E and F, SEM images from JEOL JMS-5900LV).

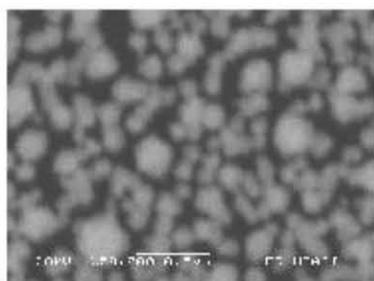


Fig. 7. SEM image of a nsAu/GC electrode prepared by the potentiodynamic method (CV, 16 cycles) (see section 3.1, SEM image from JEOL JMS-5900LV).

tion of Au(III) on glassy carbon electrodes. Three different sets of electrodes were prepared using potentiostatic, potentiodynamic and galvanostatic methods. The potentiodynamic method yields a nanostructured gold surface with a great amount (ca. 85% of the electrodeposited particles) of particles smaller than 100 nm, while the potentiostatic and galvanostatic methods generate, in the first case, islands of irregular Au nanocrystals that are clumped together on top of the glassy carbon surface, and a low coverage of 500–800 nm Au particles in the second one. Electrodes obtained by the potentiodynamic method,

based on cyclic voltammetry, display the best performance overall in the determination of dopamine in terms of limit of detection and dispersion of data. These surfaces also resolve the otherwise overlapping peaks in a ternary mixture of dopamine, ascorbic acid and uric acid. The modified electrodes prepared in this work have a relatively simple composition, compared to other Au modified electrodes used in the determination of dopamine. Further studies on the role of Pb ions on nanostructured Au electrodeposition and on the lifespan of the nsAu/GC electrodes are currently underway.

Acknowledgements

C-M.C. is thankful for the scholarship provided by CONACYT (No. 271166). Authors also are grateful for financial support from PAPIIT-DGAPA-UNAM (project IN223615), and from PAIP project 5000-9031 (FQ-UNAM). We are also in debt for the SEM analysis performed by Q. Rafael Iván Puente Lee (FQ-USAI-UNAM) and Dr. Omar Novelo Peralta (IIM-UNAM).

References

- [1] B. J. Plowman, M. Mahajan, A. P. O'Mullane, S. K. Bhargava, *Electrochimica Acta* **2010**, *55*, 8953–8959.
- [2] J. E. G. J. Wijnhoven, S. J. M. Zvenhuizen, M. A. Hendriks, D. Vanmaekelbergh, J. I. Kelly, W. L. Vos, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 888–890.
- [3] Y. Xu, X. Ke, C. Yu, S. Liu, J. Zhao, G. Cui, D. Higgins, Z. Chen, Q. Li, G. Wu, *Nanotechnology* **2014**, *25*, 445602–445608.
- [4] B. J. Plowman, L. A. Jones, S. K. Bhargava, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 4331–4346.
- [5] F. Jia, C. Yu, Z. Ai, L. Zhang, *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 3648–3653.
- [6] T. Hezard, K. Fajerweg, D. Evrard, V. Collière, P. Behra, P. Gros, *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *664*, 46–52.
- [7] H. Liu, Y. Tian, *Electroanalysis* **2008**, *20*, 1227–1233.
- [8] L. Wang, S. Guo, X. Hu, S. Dong, *Electrochem. Commun.* **2008**, *10*, 95–99.
- [9] B. Plowman, S. J. Ippolito, V. Barsal, Y. M. Sabri, A. P. O'Mullane, S. K. Bhargava, *Chem. Commun.* **2009**, 5039–5041.
- [10] A. I. Gopalan, K.-P. Lee, K. M. Manesh, P. Santhosh, J. H. Kim, J. S. Kang, *Talanta* **2007**, *71*, 1774–1781.
- [11] A. A. Grace, *Neuroscience* **1991**, *41*, 1–24.
- [12] H. Shu, L. Cao, G. Chang, H. He, Y. Zhang, Y. He, *Electrochimica Acta* **2014**, *132*, 524–532.
- [13] Y. Tian, H. Liu, G. Zhao, T. Tatsuma, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 23478–23481.
- [14] S. Toyama, O. Takei, M. Tsuge, R. Usami, K. Horikoshi, S. Kato, *Electrochem. Commun.* **2002**, *4*, 540–544.
- [15] D. van Noort, C.-F. Mandenius, *Biosens. Bioelectron.* **2000**, *15*, 203–209.
- [16] H. Notsu, W. Kubo, I. Shitanda, T. Tatsuma, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1523–1527.
- [17] M. Imamura, T. Haruyama, E. Kobatake, Y. Ikariyama, M. Aizawa, *Sensor. Actuat. B Chem.* **1995**, *24*, 113–116.
- [18] J. D. E. McIntyre, W. F. Peck, Jr., *J. Electrochem. Soc.* **1976**, *123*, 1800–1813.
- [19] S. Trasatti, O. A. Petrii, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 711–734.

- [20] D. A. J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1971**, *31*, 29–38.
- [21] A. Sánchez-Rivera, S. Corona-Avenidaño, G. Alarcón-Angeles, A. Rojas-Hernández, M. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2003**, *59*, 3193–3203.
- [22] J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson/Prentice Hall, New York, **2005**.
- [23] X. Zheng, X. Zhou, X. Ji, R. Lin, W. Lin, *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, *178*, 359–365.
- [24] D. Han, T. Han, C. Shan, A. Ivaska, L. Niu, *Electroanalysis* **2010**, *22*, 2001–2008.
- [25] A. Safavi, N. Maleki, O. Moradlou, F. Tajabadi, *Anal. Biochem.* **2006**, *359*, 224–229.
- [26] J. Huang, Y. Liu, H. Hou, T. You, *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24*, 632–637.
- [27] X. Tian, C. Cheng, H. Yuan, J. Du, D. Xiao, S. Xie, M. M. F. Choi, *Talanta* **2012**, *53*, 79–85.
- [28] J. Jiang, X. Du, *Nanoscale* **2014**, *6*, 11303–11309.
- [29] D. Sun, Q. Zhao, F. Tan, X. Wang, J. Gao, *Anal. Methods* **2012**, *4*, 3283–3289.
- [30] H.-D. K. Hossain, A., *Mar. Sci.* **2013**, *3*, 1–8.
- [31] S. Y. Rhieu, V. Reipa, *Am. J. Nanomater.* **2015**, *3*, 15–21.

Received: October 24, 2017

Accepted: March 5, 2018

Published online on ■ ■ ■