

UCH-FC
DOC-Química
C129
C.1



**“DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
ELECTRODOS MODIFICADOS BASADOS EN PORFIRINAS
TETRA-RUTENADAS - PVC Y/O NAFION: EVALUACIÓN
ELECTROCATALÍTICA Y ELECTROANALÍTICA FRENTE A
MOLÉCULAS DE INTERÉS AMBIENTAL Y BIOLÓGICO”**

**Tesis entregada a la Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos**

para optar al grado de

Doctor en Química

Facultad de Ciencias

Por

Karla Ariana Calfumán Bravo

Junio, 2011

Directores de Tesis:

Dr. Mauricio Isaacs C. - Dra. Soledad Bollo D.

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por la candidata.

Karla Ariana Calfumán Bravo

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día

Director de Tesis:

Dr. Mauricio Isaacs C.

Dra. Soledad Bollo D.

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Hernán Ríos

Dra. Maria Angélica Del Valle

Dr. Pablo Richter

Dr. Mehrdad Yazdani-Pedram

M. Isaacs
.....
Soledad Bollo
.....



[Handwritten signature]
.....
[Handwritten signature]
.....
[Handwritten signature]
.....
[Handwritten signature]
.....

"Las cosas más importantes son siempre las más difíciles de contar. Al formular de manera verbal algo que mentalmente nos parecía ilimitado, lo reducimos a tamaño natural. Todo aquello que consideramos más importante está siempre demasiado cerca de nuestros sentimientos y deseos más recónditos. Y a veces hacemos revelaciones de este tipo y nos encontramos con la mirada extrañada de gente que no entiende nada en absoluto lo que hemos contado, ni por qué nos puede parecer tan importante. Creo que eso es precisamente lo peor, que el secreto lo siga siendo, no por falta de un narrador, sino por falta de un oyente comprensivo."

Stephen King



Dedicada a Rosa, René, Seba y Lula.

RESUMEN BIOGRÁFICO



Karla Calfumán Bravo nació en Santiago el 8 de Noviembre de 1982. Egresó de cuarto medio en el año 2000, del Colegio Industrial Domingo Matte Pérez recibiendo el Reconocimiento a la Mejor Promoción. Efectuó su práctica laboral en Goodyear S.A. obteniendo en 2001 el título de “Técnico nivel medio en Química Industrial”. Ese mismo año, ingresa a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, para realizar sus estudios de Licenciatura en Ciencias con mención en Química. Su Unidad de Investigación, fue realizada en el laboratorio de Química de Compuestos de Coordinación y Electrocatalisis de la misma Facultad, bajo la tutela del Dr. Mauricio Isaacs. Karla egresa de la carrera en diciembre de 2006, recibiendo el reconocimiento de Mejor Labor Académica de la Generación. En el año 2007, se integró al Programa de Doctorado en Química de la Universidad de Chile, desarrollando su trabajo de Tesis en las Facultades de Ciencias y Ciencias Químicas y Farmacéuticas, bajo la dirección de los Dres. Mauricio Isaacs y Soledad Bollo.

El desarrollo de su carrera como investigadora, se refleja hasta la fecha, en variados reconocimientos otorgados por mérito académico, en seis publicaciones de revistas indexadas y numerosas presentaciones a congresos nacionales e internacionales.

AGRADECIMIENTOS



Después de todos estos años de trabajo en el laboratorio, llega el momento de culminar los resultados obtenidos con la escritura de esta tesis. También es el momento de reunir todos esos agradecimientos puntuales a tanta gente que, directa o indirectamente, me han ayudado durante este tiempo en la realización de este trabajo.

A MAIC, por haberme dado la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación, pero por sobre todo por su confianza, apoyo y disposición durante todos estos años (que no son pocos), por ayudarme a crecer como persona y a madurar como investigadora.

A la Dra. Soledad Bollo, por su apoyo, preocupación y conocimientos entregados.

A los profesores miembros de mi comisión: Dr. María Angélica del Valle, Dr. Hernán Ríos, Dr. Pablo Richter y Dr. Mehrdad Yazdani-Pedram por su excelente disposición y los aportes brindados durante el desarrollo de esta Tesis.

A Macarena, Camilo y Paulina que más que simples compañeros de trabajo se convirtieron en grandes amigos y un apoyo fundamental para seguir adelante. No puedo dejar de mencionar a San Martín quien fue uno de mis primeros mentores en la búsqueda del electrón. También a la Fran, Cesar, Negra, Domínguez, Alvaro, Carlos y Diego.

A Eli, Pajara y Valeria grandes personas que me recibieron con los brazos abiertos de par en par entregándome compañerismo, preocupación, y constante ayuda. Mención especial para mi gran amiga Pau Lina que siempre ha estado presente otorgándome cariño y un apoyo incondicional.

A la Dra. Rosa Llusar y Dr. Sixte Safont de la Universidad Jaume I, Castellón, España, por darme la oportunidad de realizar una estadía de investigación, la cual fue de vital importancia para mi crecimiento personal y profesional. A Tomás, Ederley, Julián y Kike por esos inolvidables momentos que vivimos.

También agradezco a los profesores y funcionarios de la Universidad de Chile, que de una manera u otra han sido partícipes de este proceso, en particular: Profesor Patricio Jara, Prof. Víctor Vargas, Dr. Renato Contreras, Dr. Marcelo Campos, Dr. Nicolás Yutronic, Dra. Claudia Yañez, Dr. Sturm, Maria Inés Polanco, Inés Saavedra y Juan Carlos Machuca.

A la Dra. María Jesús Aguirre y al Dr. Diego Villagra por los conocimientos otorgados.

A la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), por las becas Realización de Estudios de Doctorado D-21070729 y Apoyo de Tesis AT-24091042. A Becas Chile por Beca de Estadía Corta en el Extranjero y a los proyectos FONDECYT 1100203 y 1080526.

Finalmente y no por eso menos importante, a mi pilar fundamental Rosa, René, Seba y Lula, por su incondicional apoyo, amor y aliento. Sin dejar de mencionar a mi abuelo y tío que me apoyan a la distancia.



LISTA DE MATERIAS



ÍNDICE DE MATERIAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
RESUMEN	xviii
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 ASPECTOS GENERALES.....	2
1.2 ELECTROCATÁLISIS DE CONTAMINANTES AMBIENTALES.....	12
1.3 ELECTROCATÁLISIS DE MOLÉCULAS DE INTERÉS BIOLÓGICO.....	17
1.4 HIPÓTESIS DEL TRABAJO.....	23
1.5 OBJETIVOS.....	24
1.5.1 Objetivo general.....	24
1.5.2 Objetivos específicos.....	24
2. EXPERIMENTAL	27
2.1 REACTIVOS.....	27
2.2 MATERIALES.....	30
2.3 APARATOS E INSTRUMENTOS.....	30
2.4 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.....	32
2.4.1 Síntesis y purificación de complejos.....	32
2.4.2 Caracterización de H ₂ ⁻ y MTRP.....	33
2.4.3 Electroodos modificados.....	34
2.4.4 Electroquímica.....	36
2.4.5 Estudio electro-catalítico de la reducción de NO ₂ ⁻	40
2.4.6 Estudio electro-catalítico de la reducción de CO ₂	42
2.4.7 Estudio electro-catalítico reducción simultánea de NO ₂ ⁻ /CO ₂	44
2.4.8 Estudio electro-analítico de la oxidación de ADN.....	45
2.4.9 Estudio electro-analítico de la oxidación de H ₂ O ₂	47
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.1 CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS.....	49
3.1.1 Espectroscopia ¹ H-RMN.....	49
3.1.2 Espectroscopia FIT-IR.....	50
3.1.3 Espectrofotometría UV-Visible.....	52
3.1.4 Análisis elemental.....	54

3.1.5 Voltametría cíclica.....	55
3.2 OPTIMIZACIÓN DE PROTOCOLOS DE MODIFICACIÓN.....	59
3.2.1 Matriz de Nf.....	59
3.2.2 Matriz de Nf/NTC.....	62
3.2.3 Matriz de PVC.....	63
3.3 CARACTERIZACIÓN DE ELECTRODOS MODIFICADOS.....	67
3.3.1 Matriz de Nf.....	67
3.3.1.1 Microscopía electrónica de barrido.....	67
3.3.1.2 Microscopía electrónica de transmisión.....	69
3.3.1.3 Espectroscopia Raman.....	70
3.3.1.4 Microscopía de barrido electroquímico.....	71
3.3.1.5 Microscopía de fuerza atómica.....	74
3.3.2 Matriz de Nf/NTC.....	76
3.3.2.1 Microscopía de barrido electroquímico.....	76
3.3.3 Matriz de PVC.....	78
3.3.3.1 Microscopía electrónica de barrido.....	78
3.3.3.2 Microscopía electrónica de transmisión.....	80
3.3.3.3 Espectroscopia Raman.....	82
3.3.3.4 Microscopía de barrido electroquímico.....	83
3.3.3.5 Microscopía confocal.....	84
3.3.3.6 Análisis termogravimétrico.....	85
3.4 ESTUDIOS ELECTRO-CATALÍTICOS.....	89
3.4.1 Electro-reducción de NO_2^-	89
3.4.1.1 Estudios voltamétricos.....	89
3.4.1.2 Electrólisis a potencial controlado y análisis de productos.....	90
3.4.1.3 Estudios en electrodo de disco rotatorio.....	96
3.4.2 Electroreducción de CO_2	102
3.4.2.1 Estudios Voltamétricos.....	102
3.4.2.2 Electrolisis a potencial controlado y análisis de productos.....	104
3.4.2.3 Estudios en electrodo de disco rotatorio.....	108
3.4.3 Electroreducción simultanea de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$	111
3.4.3.1 Estudios Voltamétricos.....	111
3.4.3.2 Electrolisis a potencial controlado y análisis de productos.....	112
3.5 ESTUDIOS ELECTROANALÍTICOS.....	117
3.5.1 Oxidación electrocatalítica de las bases guanina presentes en el ADN.....	117
3.5.1.1 Estudios en solución.....	117

3.5.1.2 Estudios con electrodos modificados CV/Nf/MTRP.....	129
3.5.2 Oxidación electrocatalítica de peróxido de hidrógeno.....	132
3.5.2.1 Estudio hidrodinámico mediante CV/Nf/MTRP.....	132
3.5.2.2 Estudio voltamétrico mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP.....	135
3.5.2.3 Estudios en electrodo de disco rotatorio mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP.....	138
3.5.2.4 Determinación amperométrica de H ₂ O ₂ mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP.....	141
4. DISCUSIÓN GENERAL.....	145
5. CONCLUSIONES.....	154
6. REFERENCIAS.....	156
ANEXO I: PRESENTACIONES A CONGRESOS NACIONALES.....	176
ANEXO II: PRESENTACIONES A CONGRESOS INTERNACIONALES.....	177
ANEXO III: PUBLICACIONES.....	178



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Reactivos utilizados en la síntesis y purificación de los macrociclos.....	27
Tabla 2. Reactivos utilizados en la preparación de electrodos modificados.....	27
Tabla 3. Reactivos utilizados en electrocatálisis.....	28
Tabla 4. Reactivos utilizados en electroanálisis.....	29
Tabla 5. Disolventes utilizados.....	29
Tabla 6. Gases utilizados.....	29
Tabla 7. Resumen de las distintas modificaciones realizadas utilizando mezclas Ni/ H ₂ TRP.....	34
Tabla 8. Curvas de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de NO ₂ ⁻	42
Tabla 9. Curvas de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de CO ₂	43
Tabla 10. Curva de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de mezcla NO ₂ /CO ₂	45
Tabla 11. Corrimientos químicos y asignación de señales para el espectro ¹ H-RMN de H ₂ TRP.....	50
Tabla 12. Asignación de modos vibracionales de H ₂ TRP (ν= stretching, δ= bending en el plano).....	51
Tabla 13. Resumen de bandas de absorción de H ₂ TRP, CoTRP, NiTRP y ZnTRP en DMF.....	54
Tabla 14. Análisis elemental de H ₂ TRP.....	55
Tabla 15. Análisis elemental de NiTRP.....	55

Tabla 16. Resumen de procesos electroquímicos de los macrociclos.....	58
Tabla 17. Pérdidas de masa de los distintos compuestos analizados.....	87
Tabla 18. Recubrimiento superficial aparente antes y después de cada electrólisis.....	92
Tabla 19. <i>Turnover frequency</i> para electrodos modificados.....	92
Tabla 20. Pendientes de Tafel para la reducción de NO_2^-	100
Tabla 21. Recubrimiento superficial aparente antes y después de cada electrólisis.....	104
Tabla 22. <i>Turnover frequency</i> para electrodos modificados.....	105
Tabla 23. <i>Turnover frequency</i> para electrodos modificados.....	113
Tabla 24. Valores de K_b determinados para la interacción MTRP- ADN.....	118
Tabla 25. Bandas de absorción de ZnTRP, NiTRP y ZnTRP en tampón fosfato 0,05M pH 7,4.....	120
Tabla 26. Efecto de la concentración de ADN sobre la señal voltamétrica del EM en NaClO_4 0,1M.....	131
Tabla 27. Parámetros electroanalíticos para la determinación de H_2O_2 mediante CV/Ni/CoTRP y CV/Ni/NTC/CoTRP en NaClO_4 0,1.....	142

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructuras de porfirinas β y meso sustituidas.....	4
Figura 2: Estructura μ -(meso-5,10,15,20-tetra(piridil) porfinina {tetrakis(bis(bipiridina) (cloruro) rutenio (II))}.....	8
Figura 3: Estructura de cloruro de vinilo (monómero) y de su correspondiente polímero (policloruro de vinilo) a la derecha.....	9
Figura 4: Estructura Nafion.....	10
Figura 5: Modelo de nanotubos de carbono A) de pared simple (NTCPS) y B) de pared múltiple (NTCPM).....	21
Figura 6: Montaje experimental para electrólisis: a) electrodo de trabajo; b) electrodo de referencia; c) electrodo auxiliar; d) llave para entrada de gases; e) puente salino; f) salida de gases.....	37
Figura 7: Modo de retro-alimentación.....	39
Figura 8: Asignación de los distintos protones en la molécula.....	50
Figura 9: Asignación modos vibracionales de H ₂ TRP.....	52
Figura 10: Espectro UV-Visible de: A) H ₂ TRP; B) CoTRP; C) NiTRP; y D) ZnTRP en DMF.....	53
Figura 11: Perfiles voltamétricos de: A) H ₂ TRP; B) CoTRP; C) NiTRP; D) ZnTRP 1mM en ACN. Intervalo de potencial -1,3 a 1V ($v = 100$ mV/s).....	57
Figura 12: A) Ciclado continuo de potencial y B) perfil voltamétrico después del último ciclo para EM1a, EM2a y EM3a en NaClO ₄ 0,1M entre 0 y 1V. Línea punteada perfil voltamétrico de carbón vítreo, velocidad de barrido 100 mV/s.....	60

Figura 49: Perfiles voltamétricos de A) NiTRP y B) CoTRP a diferentes tiempos en tampón fosfato 0,05M. Tiempo cero (línea sólida) y después de 24 horas (línea discontinua).....	124
Figura 50: Respuesta voltamétrica de A) ZnTRP, B) NiTRP y C) CoTRP a concentraciones crecientes de ADN (0-40 μ M) en tampón fosfato. Inserto: Gráfica de I_p vs [ADN].....	125
Figura 51: Comportamiento electroquímico de Ru(bipi) ₃ ⁺² 20 μ M en tampón fosfato pH 7,4 A) sin ADN (entre 20 y 300 mV/s), B) en presencia de concentraciones crecientes de ADN.....	127
Figura 52: Gráficas de I vs E aplicado para CV (cuadrado), CV/Nf/CoTRP (estrella), CV/Nf/NiTRP (triangulo) y CV/Nf/ZnTRP (círculo) obtenidos para la oxidación de H ₂ O ₂ 0,02M en NaClO ₄ 0,1M.....	132
Figura 53: Respuesta voltamétrica de A) CV, B) CV/NTC, C) CV/Nf/CoTRP y D) CV/Nf/NTC/CoTRP en ausencia (línea punteada) y presencia (línea sólida) de H ₂ O ₂ 0,02M en NaClO ₄ 0,1M. Velocidad de barrido 100 mV/s.....	135
Figura 54: Pendientes de Tafel de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en H ₂ O ₂ 1 mM.....	137
Figura 55: Respuesta voltamétrica en electrodo de disco rotatorio de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en presencia de H ₂ O ₂ 1mM. Velocidad de barrido: 5 mV/s.....	138
Figura 56: Gráficas de Levich de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en presencia de H ₂ O ₂ 1mM. Inserto: Gráfica de Koutecky – Levich.....	139
Figura 57: Respuesta amperométrica de (a) CV, (b) CV/Nf/CoTRP y (c) CV/Nf/NTC/CoTRP obtenidas a A) 700 y B) 800 mV para adiciones sucesivas de H ₂ O ₂ . Inserto: Gráfica de corriente observada vs concentración de H ₂ O ₂	141

Figura 39: Respuesta voltamétrica en electrodo de disco rotatorio de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/PVC/CoTRP en NaClO ₄ 0,1M en presencia de NO ₂ ⁻ 10 mM. Velocidad de barrido: 5 mV/s. Inserto: Gráfica de Levich.....	97
Figura 40: Diagrama de los posibles procesos que ocurren en un electrodo modificado, donde A, P, Q y B corresponden: al sustrato en disolución, especie reducible en la película, especie reducida en la película y producto respectivamente.....	99
Figura 41: Perfil voltamétrico entre -1 y 0,4V de A) CV, B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP en NaClO ₄ 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de CO ₂ , línea punteada: en presencia de CO ₂ 32,9 mM.....	102
Figura 42: Respuesta voltamétrica en electrodo de disco rotatorio de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/PVC/CoTRP en NaClO ₄ 0,1M en presencia de CO ₂ 32,9 mM. Velocidad de barrido: 5 mV s ⁻¹ . Inserto: Gráfica de Levich.....	109
Figura 43: Gráfica de Koutecky-Levich para CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP en NaClO ₄ 0,1M en presencia de CO ₂ 32,9 mM.....	109
Figura 44: Principales caminos de reacción en la superficie electródica.....	110
Figura 45: Perfil voltamétrico de: A) CV; B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP entre 0,4 y -1,25 V. Condiciones: NaClO ₄ 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de NO ₂ ⁻ /CO ₂ , línea punteada: en presencia de NO ₂ ⁻ 0,01M y CO ₂ 32,9 mM.....	111
Figura 46: Efecto de la concentración de ADN en el espectro UV-Visible de A) ZnTRP, B) NiTRP y C) CoTRP. Línea punteada en ausencia de ADN, línea continua en presencia de cantidades crecientes de ADN (tendencia según flecha). Condiciones experimentales: tampón fosfato 0,05M pH 7,4, [MTRP] 25μM y [DNA] 0-50 μM.....	117
Figura 47: Respuesta espectroelectroquímica de ZnTRP. Intervalo de potencial aplicado 0,6-1V, tiempo de electrólisis 180s. Inserto: Respuesta en presencia de ADN 50μM en las mismas condiciones.....	121
Figura 48: Perfil voltamétrico de: A) ZnTRP; B) NiTRP y C) ZnTRP a diferentes velocidades de barrido (20-300 mV/s) en tampón fosfato 0,05 pH 7,4.....	122

Figura 26: Representación esquemática posible disposición de Nf/MTRP sobre la superficie electródica. Los círculos rojos corresponden a MTRP's.....	75
Figura 27: Imágenes de superficie SECM A) 2D y B) 3D de CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/NTC y CV/Nf/NTC/CoTRP.....	76
Figura 28: Imágenes SEM de ITO/PVC A) 2000X y B) 5000X.....	79
Figura 29: Imágenes SEM de ITO/PVC/ZnTRP A) 2000X, B) 5000X y C) 15000X.....	79
Figura 30: Imágenes TEM de ITO/PVC A) 500nm y B) 500nm.....	80
Figura 31: Imágenes TEM de ITO/Nf/ZnTRP A) 500nm, B) 20nm y C) 5nm.....	80
Figura 32: Espectros Raman de CV/PVC y CV/PVC/CoTRP excitados con línea láser 633 nm.....	82
Figura 33: Imágenes de superficie SECM A) 2D y B) 3D de CV/PVC, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP.....	84
Figura 34: Imágenes micrográficas de ITO/PVC/ZnTRP.....	85
Figura 35: Análisis termogravimétrico de A) PVC sólido, B) LiTFMS sólido, C) mezcla PVC y D) mezcla PVC/ZnTRP.....	86
Figura 36: Representación esquemática posible disposición de PVC/MTRP sobre la superficie electródica. Los círculos rojos corresponden a MTRP's.....	88
Figura 37: Perfil voltamétrico entre -1 y 0.4V de A) CV, B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP en NaClO ₄ 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de NO ₂ ⁻ , línea punteada: en presencia de NO ₂ ⁻ 0,01M.....	89
Figura 38: Cambios en las concentraciones de nitrito y nitrato con el pH, a una velocidad de aireación de 1,5 L/min (NO ₂ ⁻ : figuras huecas y NO ₃ ⁻ : figuras achuradas).....	94

Figura 13: (A) Ciclado continuo de potencial y (B) perfil voltamétrico después del último ciclado EM1c, EM2c y EM3c en NaClO ₄ 0,1M entre 0 y 1V. Línea punteada perfil voltamétrico de carbón vítreo, velocidad de barrido 100 mV/s.....	60
Figura 14: Efecto electrocatalítico de A) EM1c, B) EM2c y C) EM3c en NaClO ₄ 0.1M entre -1 y 0V a 100mV/s. Línea sólida corresponde al electrodo modificado en ausencia de NO ₂ ⁻ . Línea punteada corresponde al electrodo modificado en presencia de NO ₂ ⁻ 0,01M.....	61
Figura 15: Perfil voltametrico de CV/Nf/NTC/MTRP línea sólida y CV línea punteada NaClO ₄ 0.1M entre 0 y 1V a 100 mV/s.....	63
Figura 16: Perfil voltamétrico de electrodos modificados en presencia de (P1) 0,5mg; (P2) 1mg; (P3) 1,5mg; (P4) 2mg; (P5) 2,5mg y (P6) 3mg de H ₂ TRP en NaClO ₄ 0,1M entre -1 y 1V a 100 mV/s.....	64
Figura 17: Perfil voltamétrico de 2-NPOE en NaClO ₄ 0,1M entre -1 y 1V a 100 mV/s.....	65
Figura 18: Estructuras de A) 2-NPOE y B) DBP.....	66
Figura 19: Imágenes SEM de ITO/Nf A) 30000X y B) 50000X.....	68
Figura 20: Imágenes SEM de ITO/Nf/CoTRP A) 30000X y B) 50000X.....	69
Figura 21: Imágenes TEM de A) ITO/Nf 10 nm, B) ITO/Nf/ZnTRP 10 nm y C) ITO/Nf/ZnTRP 5 nm	70
Figura 22: Espectro Raman de A) CoTRP sólido y B) CV/Nf/CoTRP, ambos excitados con línea láser de 633 nm.....	71
Figura 23: Imágenes de superficie SECM A) 2D y B) 3D de CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP.....	73
Figura 24: Comparación de imágenes de superficie SECM 3D de CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP.....	74
Figura 25: Imágenes AFM de A) ITO/Nf y B) ITO/Nf/MTRP.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

- AFM:** Microscopía de fuerza atómica
- Ag/AgCl:** Electrodo plata cloruro de plata en solución saturada con KCl 3M
- CoTRP:** Porfirina tetra-rutenada de Co(II)
- CV:** Carbón vítreo
- DBP:** Dibutilftalato
- DOP:** Dioctilftalato
- EDTA:** ácido etilendiaminotetraácetico
- EM:** Electrodo modificado
- FcOH:** Ferrocenometanol
- FIT-IR:** Espectroscopía IR con transformada de fourier
- H₂TRP:** Porfirina tetra-rutenada libre
- I_T:** Corriente del tip
- I_{T,co}:** Corriente del tip normalizada
- ITO:** *Indium Tin Oxide*
- LD:** Limite de detección
- LiTFMS:** Trifluorometanosulfonato de litio
- MTRP:** Porfirina tetra-rutenada metalada
- Nf:** Nafion
- NiTRP:** Porfirina tetra-rutenada de Ni(II)
- 2-NPOE:** 2-nitrofeniloctil éter
- NTC:** Nanotubos de carbono
- NTCPM:** Nanotubos de carbono de pared multiple
- NTCPS:** Nanotubos de carbono de pared simple
- PE:** peso equivalente
- PVC:** Cloruro de polivinilo
- RMN:** Espectroscopía de resonancia magnética nuclear
- SECM:** Microscopía de barrido electroquímico
- SEM:** Microscopía de barrido electrónico
- TEM:** Microscopía electrónica de transmisión
- THF:** Tetrahidrofurano
- TOF:** *Turnover frequency*
- TRIS:** tris(hidroximetil)aminometano
- VC:** Voltametría cíclica
- VPD:** Voltametría de pulso diferencial
- ZnTRP:** Porfirina tetra-rutenada de Zn(II)

RESUMEN

Las porfirinas son un importante grupo prostético y su función depende principalmente de los iones metálicos coordinados, la naturaleza de los ligandos axiales y del entorno específico. Por otro lado, complejos polipiridínicos de rutenio representan una de las clases más importantes de compuestos de coordinación y muestran un carácter redox muy interesante. La combinación de los dos tipos de complejos genera una nueva serie de compuestos mixtos, que permite la explotación de sus propiedades supramoleculares. Algunos de estos macrociclos permiten la modificación de superficies electródicas para mejorar sus propiedades electrocatalíticas y, en consecuencia, ser usados en reacciones de oxido-reducción. No obstante, su empleo en las disoluciones requeridas en los análisis (medios acuosos, diversos valores de pH, matrices complejas, etc.) se ve dificultado, debido a la inestabilidad de la capa modificadora, mediante procesos de disolución, que conllevan a una degradación de la eficiencia del electrodo.

En la presente investigación se diseñaron, construyeron y caracterizaron películas basadas en una meso-(4-piridil)porfirina coordinada a cuatro ligandos periféricos equivalentes $[\text{Ru}(\text{bipi})_2\text{Cl}]^+$ y soportada en dos matrices poliméricas distintas, PVC y Nafion. Además, la cavidad central de la porfirina fue coordinada con tres metales de transición diferentes, a saber, Co(II), Ni(II) y Zn(II). Estas películas mantuvieron las propiedades electrocatalíticas exhibidas por el macrociclo en electrodos modificados por

simple adsorción, además de una estabilidad mejorada respecto a los sistemas utilizados en la actualidad.

Los protocolos de modificación óptimos se obtuvieron mediante la evaluación de la actividad electrocatalítica frente a una reacción determinada y de su estabilidad al ciclado continuo de potencial. Posteriormente, los electrodos modificados con Nafion-MTRP (CV/Nf/MTRP) y PVC-MTRP (CV/PVC/MTRP) se caracterizaron tanto morfológica como electroquímicamente.

Las propiedades electrocatalíticas de estos electrodos modificados se evaluaron mediante la reducción tanto individual como simultánea de NO_2^- y CO_2 . Las propiedades electroanalíticas de estos electrodos modificados se evaluaron mediante la oxidación de las bases guanina, lo que nos permitió detectar y cuantificar ADN. Además, se ensayó su utilización en la oxidación de peróxido de hidrógeno, importante mediador en reacciones enzimáticas e industriales.

ABSTRACT

Porphyrins are an important prosthetic group and their redox properties depend mainly on the coordinated metal ions, the nature of axial ligands and specific environment. On the other hand, polypyridine ruthenium complexes represent an important class of coordination compounds and show a very interesting redox character. The combination of the two types of complexes generated a new series of mixed compounds, allowing the exploitation of supramolecular properties. Some of these macrocycles allows the modification of electrode surfaces to improve its electrocatalytic character and, consequently, can be used in redox reactions. However, their use as components of modified electrodes in aqueous solutions it is difficult, due to the instability of the modifier layer, through processes of dissolution leading to a degradation of the electrode efficiency.

In the present doctoral thesis, films based on meso-(4-pyridyl)porphyrin coordinated to four equivalent peripheral ligands $[\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{Cl}]^+$ were designed, built and characterized. The complexes were supported in two different polymer matrices, PVC and Nafion. Also, central cavity of the porphyrin was coordinated with three different transition metals, namely, Co(II), Ni(II) and Zn(II). These films maintained the electrocatalytic properties exhibited by the macrocycle on modified electrodes by simple adsorption, in addition to enhanced stability compared to systems in use today.

The optimal modification protocols were obtained by evaluating of the electrocatalytic activity against a particular reaction and their stability was measured by repetitive cyclic voltammetry. Subsequently, the modified electrodes Nafion-MTRP (CV/Nf/MTRP) and PVC-MTRP (CV/PVC/MTRP) were characterized by electrochemical and surface analysis methods.

Electrocatalytic properties of these modified electrodes were evaluated toward the electrochemical reduction of NO_2^- and CO_2 carrying out independent and simultaneous experiments. Electroanalytical properties of these modified electrodes were evaluated by oxidation of guanine bases of DNA enabling its detection and quantification. Also, the modified electrodes were tested in the oxidation of hydrogen peroxide, an important mediator in enzymatic and industrial processes.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ASPECTOS GENERALES

Enmarcado en el contexto de la química de coordinación se encuentra la llamada "química supramolecular" que se define a menudo como "la química más allá de la molécula", expresión vaga y misteriosa. Una supramolécula es una entidad organizada y compleja que se crea a partir de la asociación de dos o más especies químicas que se mantienen unidas por fuerzas intermoleculares. Las estructuras supramoleculares son el resultado de interacciones no solo aditivas si no también cooperativas, incluyendo enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y de coordinación. Además, sus propiedades son diferentes (a menudo mejores) que la suma de las propiedades de cada componente individual. Una buena organización y una combinación de elementos supramoleculares bien seleccionados conducen a sistemas con un desempeño increíble [Ariga y Kunitake, 2006].

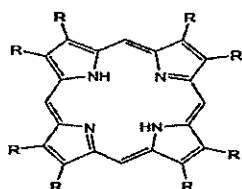
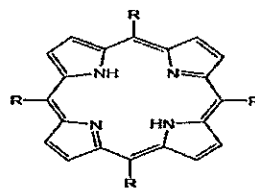
El proceso de la fotosíntesis, crucial para la continuidad de la vida en la Tierra, es el proceso que convierte la energía solar en energía química. La forma en que los tintes y las proteínas se organizan en un sistema de fotosíntesis es uno de los ejemplos más elegantes de las matrices funcionales visto en los sistemas biológicos. Son excelentes ejemplos de sistemas supramoleculares bien diseñados. Por otra parte, los procesos biológicos que en general son muy sofisticados, se producen debido a complicadas combinaciones de reacciones químicas conocidas. Estas reacciones químicas se llevan a cabo gracias a las enzimas (catalizadores biológicos), las que favorecen las reacciones

deseables para que se produzcan con alta selectividad y eficiencia. La aplicación de las enzimas naturales de los sistemas artificiales ha dado lugar a muchas tecnologías beneficiosas. Sin embargo, no todas las reacciones son catalizadas por enzimas. Las condiciones que se necesitan para que las enzimas cumplan su función son limitadas, y éstas a menudo están lejos de las necesarias para procesos de la ingeniería. Además, la cantidad de enzima que se produce naturalmente, es por lo general limitado, y el proceso de extracción de la enzima puede ser costoso y consume mucho tiempo. Por lo tanto, es importante para desarrollar enzimas artificiales que puedan superar estos inconvenientes [Ariga y Kunitake, 2006; Beletskaya y col., 2009]. En la actualidad la química supramolecular es la base para el desarrollo de la química de sistemas complejos, dispositivos moleculares, ensambles y nanoquímica [Beletskaya y col., 2009].

Uno de los pilares en que se basa la existencia de la vida y funciones bioquímicas importantes como fotosíntesis, transporte de oxígeno y catálisis son las metaloporfirinas [Beletskaya y col., 2009; Kadish y col., 2000; Kadish y col., 2003]. El rápido desarrollo de la química supramolecular ha promovido la comprensión de los conceptos de diseño y estrategias de auto-ensamblaje de estructuras basadas en las interacciones intermoleculares para dar lugar a complejos de metalo-porfirinas supramoleculares naturales y sintéticas [Ariga y Kunitake, 2006; Beletskaya y col., 2009].

Por otra parte, las porfirinas son buenos catalizadores de reacciones redox, ya que sus estructuras presentan un sistema π extendido y forman una variedad de complejos estables con diferentes iones metálicos situados en su cavidad central. De acuerdo a la naturaleza del ión metálico central, del macrociclo y el tipo de ligando axial se obtienen los diferentes valores de potenciales redox, los cuales también son dependientes de los

solventes a utilizar [Calfumán y col., 2010 a, b]. En este sentido la síntesis de porfirinas es el primer paso en muchos proyectos de investigación. Las porfirinas ofrecen la posibilidad de tener diversos sustituyentes y en distintos patrones específicos alrededor de la periferia del macrociclo. El control sintético sobre las entidades moleculares unidas a la periferia facilita el diseño y síntesis de porfirinas para aplicaciones específicas. Las porfirinas ofrecen dos tipos de sustitución (Figura 1), las de las posiciones β -pirrólicas, que requieren la introducción de sustituyentes en la síntesis previa de las unidades pirrólicas, y la de las posiciones puente, denominadas *meso*, que pueden ser sustituidas en el proceso de síntesis del anillo. Las porfirinas β -sustituidas tienen la ventaja de su similitud con las porfirinas de origen biológico mientras que las *meso*-sustituidas no tienen contraparte biológica directa pero son de fácil acceso sintético y tienen una gran variedad de aplicaciones [Pingarrón y Sánchez, 1999].

Porfirina β -sustituidaPorfirina *meso*-sustituidaFigura 1: Estructura de porfirinas β y meso sustituidas.

Las *meso*-tetraarilporfirinas son muy versátiles en el diseño de estructuras tridimensionales basadas en el autoensamblaje de porfirinas. La demanda de crear estructuras más complejas ha incitado al desarrollo de una variedad de métodos sintéticos más elaborados que permitan sintetizar porfirinas con un patrón de sustitución

específico [Pingarrón y Sánchez, 1999]. Un método muy usado es la preparación de porfirinas *meso*-tetrasustituidas a partir de la condensación de un aldehído y pirrol utilizando el proceso de “un solo paso”. La amplia variedad y fácil manipulación de los aldehídos ha permitido disponer de diversas porfirinas sin la necesidad de síntesis largas de precursores sintéticos. Los grupos funcionales incorporados en el aldehído utilizado amplían el uso de las porfirinas en nuevas estrategias sintéticas. Los sustituyentes en la posición *meso* pueden ser grupos alquilo, arilo, heterociclos, organometálicos e incluso otra porfirina. Para la preparación de porfirinas sustituidas en *meso* por distintos grupos se ha recurrido a la condensación estadística del pirrol con los correspondientes aldehídos. No obstante en muchos casos la separación es laboriosa y aparecen problemas de estabilidad con algunos de los esquemas de sustitución [Pingarrón y Sánchez, 1999].

1.1.2 PORFIRINAS TETRA-RUTENADAS Y ELECTRODOS MODIFICADOS

Los electrodos de pasta de carbono y de películas de mercurio significaron el comienzo de una nueva era en electroanálisis y electro-catálisis caracterizadas por el advenimiento de los electrodos de superficies modificadas [Pingarrón y Sánchez, 1999]. El término “electrodos modificados” (EM) comenzó a utilizarse a mediados de la década de los setenta por Moses y Murray [Moses y Murray, 1975]. Con esto se buscaba aumentar la reactividad de un electrodo mediante la incorporación en la superficie de éste de moléculas con propiedades específicas, para promover una reacción de transferencia de carga determinada. La superficie del electrodo actúa en este caso sólo como una

fuelle o pozo de electrones y además permite modular, mediante el potencial aplicado, diferentes estados de oxidación de un centro activo en la molécula inmovilizada [Zagal y col., 2003]. A través de la incorporación de un modificador superficial apropiado, se intentaba ejercer un mayor control sobre sus características electroquímicas e influir no solo en el potencial aplicado sino también en la reactividad superficial, pudiendo pre-seleccionar o anticipar la respuesta del EM hacia especies externas. Así el material modificador se elige de tal manera que sea selectivo (o incluso específico) a un analito en particular o bien sea capaz de acelerar reacciones redox, que son cinéticamente lentas, e incluso imposibles en el electrodo sin modificar. La gama de especies modificadoras utilizadas es muy amplia, va desde depósitos metálicos hasta el uso de materiales orgánicos, enzimas o polímeros. La unión de estos centros mediadores a la base del electrodo se consigue de muy diversas formas, tanto físicas, como químicas [Pingarrón y Sánchez, 1999].

De la gran cantidad de sistemas supramoleculares que se han reportado en la literatura, el interés se ha centrado principalmente en una notable serie constituida por las porfirinas y complejos de rutenio, que ha sido objeto de investigación sistemática durante los últimos 10 años [Toma y Araki, 2000]. Anson y colaboradores, reportaron la reducción electrocatalítica de O₂ en EM con porfirinas de cobalto tetraaminorutenadas [Anson y col., 1997]. Los resultados indicaron que la reducción se llevo a cabo vía 4 electrones para dar agua en condiciones donde una simple mezcla de porfirina de cobalto con pentaamino de rutenio (II) o con piridilpentaamino de rutenio (II) no opera de la misma forma (hasta esa época se esperaba una reducción vía 2 electrones a peróxido de hidrógeno) [Anson y col., 1997]. Esto indica, una transferencia electrónica intramolecular simultanea

proveniente de los 4 grupos rutenio hacia el centro de cobalto, que a su vez los transferiría en un solo paso al oxígeno. Los autores postulan que los sustituyentes tetraaminorutenados en la periferia del macrociclo donarían densidad electrónica independientemente por retrodonación a un mismo potencial [Anson y col., 1997].

En 1993 Toma y colaboradores [Toma y Araki, 1993] sintetizaron por primera vez la μ - (meso-5,10,15,20-tetra(piridil) porfinina {tetrakis(bis(bipiridina) (cloruro) rutenio (II))} también denotada H₂TRP (Figura 2). Este macrociclo ha sido sistemáticamente estudiado por sus marcadas propiedades electrocatalíticas. Su principal característica es su capacidad de producir numerosos procesos redox simultáneos trabajando así como una bomba de electrones. Los reportes de carácter electroquímico se centran en la obtención de electrodos modificados y su posterior evaluación electro-catalítica frente a diversos analitos [Calfumán y col., 2010 a, b; Rea y col., 2001; Araki y col., 1995; Azevedo y col., 1999; Winnischofer y col., 2004; Nunes y col., 2005]. Sin embargo, la estabilidad de las películas modificadoras es baja, debido a la elevada carga que presenta el complejo este se disuelve rápidamente en la solución a analizar [Toma y Araki, 2000]. Es así que se han probado distintas técnicas de modificación que eliminen estos problemas como la adición de elevadas concentraciones de electrolito soporte [Pingarrón y Sánchez, 1999], la adsorción simultánea con complejos de carga negativa [Araki y col., 2006], o la síntesis de polímeros conductores [Dreyse y col., 2010] obteniéndose resultados alentadores.

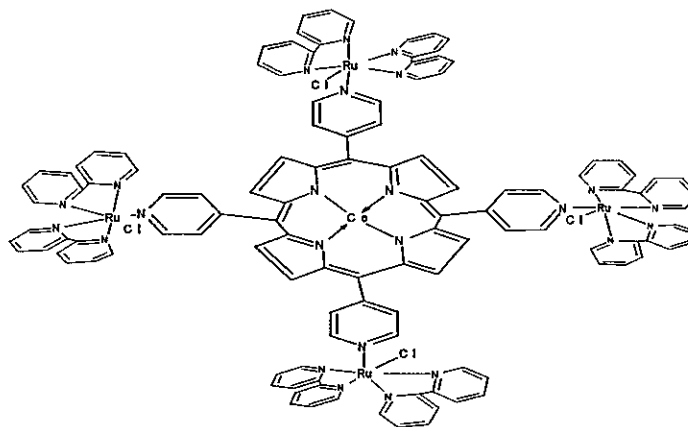


Figura 2: Estructura μ -(meso-5,10,15,20-tetra(piridil) porfirina {tetrakis(bis(bipiridina) (cloruro) rutenio (II))}. En la cavidad central de la porfirina se encuentra coordinado un metal de transición M.

Porfirinas dispuestas en distintos polímeros también han sido utilizadas para la construcción tanto de sensores ópticos, como potenciométricos [Gupta y col., 2007; Singh y col., 2008; Wang y col., 2008], donde mediante la incorporación de aditivos es posible mejorar las propiedades de la película. Recientemente se dio a conocer que un EM con mezclas de polímeros conductores/ PVC exhiben señal electroquímica, aún cuando el PVC presenta características de aislante eléctrico [Singh y col., 2008]. Se ha informado también, que porfinas solubles en alcoholes pueden ser incluidas en membranas de Nafion, prolongando considerablemente la vida útil del electrodo [Kashevskii y col., 2001; Casella y col., 1997].

COLORURO DE POLIVINILO

El cloruro de polivinilo (PVC por sus siglas en inglés) ha demostrado ser uno de los termoplásticos comerciales más versátiles con un rango amplio de aplicaciones

dependiendo de su formulación. El PVC se elabora mediante la adición repetida del monómero cloruro de vinilo (Figura 3).

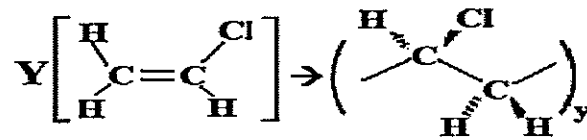


Figura 3: Estructura de cloruro de vinilo (monómero) y de su correspondiente polímero (cloruro de polivinilo) a la derecha.

Dependiendo de su aplicación, el PVC generalmente es acompañado de plastificantes y estabilizantes. La función principal de los plastificantes es mejorar la flexibilidad y capacidad de procesamiento de los polímeros mediante la reducción de la temperatura de transición vítrea [Rosen, 1993]. Los plastificantes son resinas o líquidos de bajo peso molecular que forman enlaces secundarios a las cadenas del polímero separándolas. Por lo tanto, los plastificantes reducen los enlaces secundarios entre las cadenas del polímero otorgando una mayor movilidad de las macromoléculas, como resultado se obtiene una masa suave y más fácilmente deformable. Los plastificantes se incorporan en las partes amorfas de los polímeros, mientras que la estructura y el tamaño de cualquier parte cristalina no se ven afectada [Fedorko y col., 2003]. Además de la reducción de la temperatura de transición vítrea los plastificantes reducen el módulo, fuerza de tracción, dureza, densidad, viscosidad en estado fundido, capacidad de carga electrostática y la resistividad al volumen de un polímero, mientras que al mismo tiempo aumenta su flexibilidad, elongación al quiebre, resistencia, constante dieléctrica y el factor de potencia [Matthews, 1996]. El plastificante ideal debe ser altamente compatible con los polímeros, estable tanto en entornos de alta y baja temperatura, otorgar una lubricación

suficiente en un amplio rango de temperaturas, insensible a los rayos ultravioleta (UV), resistente a la lixiviación y migración, de bajo costo y que cumpla con las normas de salud y seguridad. El mercado actual ofrece numerosas opciones de plastificantes con una serie de atributos que se pueden seleccionar de acuerdo a la aplicación necesaria [Rahman y Brazel, 2004].

NAFION

El Nafion fue desarrollado por el Dr. Walther Grot en DuPont a finales de 1960, mediante la modificación de teflón. El Nafion fue el primer polímero sintético que se desarrolló con propiedades iónicas, y comenzó con una nueva clase de polímeros llamados ionómeros. Su cadena es un copolímero, donde una de las unidades monoméricas es el tetrafluoretileno (TFE) y el comonomero es un éter de vinilo con cadenas laterales perfluoradas y con grupos sulfónicos ácidos en los extremos como se representa en la Figura 4 [Calfumán y col., 2010 a; García-Fresnadillo y col., 1999; Rollet y col., 2002].

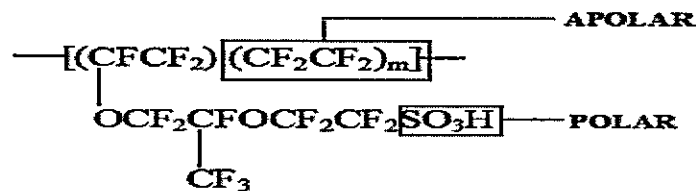


Figura 4: Estructura de Nafion.

El peso molecular de Nafion es incierto debido a las diferencias en el procesamiento y la morfología en solución. Los métodos convencionales de determinación del peso molecular no son aplicables porque el Nafion es insoluble, igualmente su peso molecular

se ha estimado en el intervalo de 10^5 - 10^6 Da. En cambio, el peso equivalente (PE) y el espesor del material se utilizan para describir la mayoría de las membranas disponibles en el mercado. El PE se define como el peso de Nafion (en gramos) por mol de grupo sulfónico. Por ejemplo, Nafion 117 representa un PE de 1100 g + 0,007 pulgadas de espesor [Calfumán y col., 2010 a; García-Fresnadillo y col., 1999; Rollet y col., 2002].

En 1970, utilizando espectros de relajación dieléctrica y mecánica se observó que el Nafion posee dos temperaturas de transición vítrea, ~ 20 ° C y 110 ° C [Eisenberg, 1971; Hodge y Eisenberg, 1978]. Este resultado se atribuyó a la existencia de dos regiones en el polímero, una zona hidrófila asociada con grupos sulfónicos de las cadenas laterales y otra hidrofóbica asociada con la cadena flurocabonada del polímero (PTFE). En 2008 mediante el uso de dispersión de rayos X de ángulo ultra bajo se analizaron las heterogeneidades del Nafion revelando aun más información sobre su estructura [Schmidt-Rohr y Chen, 2008]. El estudio demostró que Nafion esta constituido de clusters iónicos paralelos de forma cilíndrica conectados entre sí, con un diámetro aproximado de 4nm. Para una fracción del volumen de agua cercana al 20%, la morfología de Nafion se caracteriza por clusters cilíndricos con un diámetro que varia entre los 1,8 hasta los 3,5 nm [Schmidt-Rohr y Chen, 2008]. Según este modelo, la morfología de Nafion es de una estructura micelar invertida de cilindros conectados.

Finalmente, el Nafion es utilizado en la fabricación de membranas de intercambio iónico, para humidificar gases, como membranas de intercambio de protones en celdas de combustible, como catalizador superácido en la producción de química fina, entre otras aplicaciones.

1.2 ELECTRO-CATÁLISIS DE CONTAMINANTES AMBIENTALES

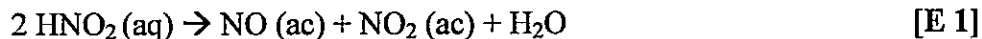
NITRITO

El ión nitrito es una de las especies intermediarias más activas en el ciclo del nitrógeno y un indicador útil del estado de equilibrio de las vías oxidativa y reductiva de este ciclo [Zhang y Luo, 2009]. Por otra parte, el nitrito puede ser tóxico para el ser humano. Una vez dentro del cuerpo humano, tiene la capacidad de interactuar con la hemoglobina (por oxidación de Fe^{+2}) generando metahemoglobina compuesto incapaz de transportar oxígeno en la sangre, lo que genera una condición conocida como síndrome del bebé azul o metahemoglobinemia [Chan T.Y., 1966]. Además, es conocida la capacidad del nitrito de reaccionar con aminas secundarias o amidas para formar nitrosaminas que pueden actuar como agentes cancerígenos [Airoldi y col., 1997], por estas razones, se han utilizado varios métodos para determinar los iones nitrito entre los que se incluyen: espectrofotometría [Greenway y col., 1999], cromatografía [Helaleh y Korenaga, 2000] y métodos electroquímicos [Cai y Zhao, 1988; Kozub y col., 2010; Stolzenberg y col., 1981; Raoof y col., 2009; Thamae y Nyokong, 1999; Caro y col., 2004; Chen y Su, 1990; San Martín y col., 2007; Blair y col., 2006; Mimica y col., 2001]. Dentro de estos, los métodos electroquímicos son favorables para la determinación de nitrito, debido a la rápida respuesta y simple operación.

La reducción directa de los iones nitrito en la mayoría de las superficies electródicas no modificadas está limitada por el envenenamiento que experimenta la superficie del electrodo y por los altos sobrepotenciales requeridos para que ocurra la reacción. Sin

embargo, informes recientes han demostrado que el carbón vítreo (CV) puede ser utilizado en la determinación cuantitativa de iones nitrito requiriéndose un tratamiento con ultrasonido para limpiar la superficie de CV después de cada medición para mantener la actividad de los electrodos, obteniéndose límites de detección de alrededor de 10^{-6} M [Kozub y col., 2010]. A pesar de la viabilidad termodinámica de la reducción directa de los nitritos la cinética del proceso de transferencia de carga es lenta [Kozub y col., 2010]. Una buena manera de reducirlos es a través de la utilización de electrodos modificados con mediadores redox para facilitar los procesos de transferencia de carga. Algunos reportes han publicado el uso de macrociclos que contienen metales de transición como porfirazina [Thamae y Nyokong, 1999], ftalocianinas [Caro y col., 2004], porfirinas [Chen y Su, 1990; San Martín y col., 2007], ciclams [Blair y col., 2006], hemoglobina [Mimica y col., 2001] entre otros. Estos compuestos se han utilizado como electrocatalizadores para fines de análisis [Kozub y col., 2010] o imitar la actividad de nitrito reductasa [Isoda y col., 2010].

En este campo, la reducción electrocatalítica del ion nitrito ha sido estudiada en electrodos modificados con porfirinas metálicas y protoporfirinas, obteniendo como productos de la reacción NH_3 , NH_2OH y N_2O . La distribución de estos productos está fuertemente ligada a la química ácido-base que se produce dentro de la esfera de coordinación [Chen y Su, 1990; Chen y Su, 1994; Rosca y col., 2009]. Por ejemplo, porfirinas solubles en agua convierten al nitrito en NH_3 y NH_2OH en casi un 80% a un pH de 4,5 con mínima formación de N_2O [Chen y Su, 1994]. Además, las soluciones de HNO_2 dismutan a pHs ácidos. La descomposición acuosa fue reportada a fines de la década de los 80 [Park y Lee, 1988], según muestra la Ecuación I:



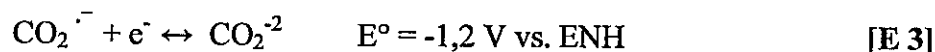
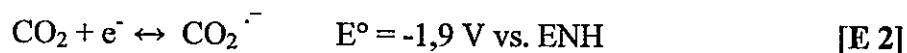
De acuerdo a esto la formación de NO implicaría una posible coordinación de éste con el catalizador y, por lo tanto, puede participar en la cinética de la electrocatálisis [Chen y Su, 1990; Chen y Su, 1994].

DIOXIDO DE CARBONO

El uso de combustibles fósiles y la deforestación ha provocado el aumento de las concentraciones de los gases que aumentan el efecto invernadero, perturbando directamente el balance de la temperatura global. La Comisión Intergubernamental de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) ha estimado en 0,6 °C el aumento de la temperatura a nivel global durante los últimos años. Además, se espera un aumento mayor de la temperatura entre 1990 y 2100 si no se siguen las recomendaciones del Protocolo de Kyoto [Microsoft® Encarta®, 2006]. Este aumento de temperatura podría provocar un cambio climático tan radical como la desaparición parcial de glaciares, el avance de la desertización en las zonas más cálidas y la disminución del hielo en los polos. La situación mencionada ha impulsado el estudio de la reacción de reducción de CO₂ con la finalidad de disminuir sus concentraciones atmosféricas a partir de su conversión en productos químicos de utilidad, como por ejemplo metano, metanol, ácido fórmico, entre otros [Zagal y col., 2003].

La reducción química o electroquímica del CO₂ es difícil debido a la alta estabilidad termodinámica del dióxido de carbono, pues, siendo el último producto de la oxidación del carbón posee un ΔG° muy negativo (-394 kJ/mol). La reducción electroquímica del

CO₂ no es favorable ni del punto de vista termodinámico ni del cinético. Esto último involucra altos sobrepotenciales para el proceso. Los potenciales rédox estándar (E°) para la reducción del CO₂ son los que se presentan en las Ecuaciones 2 y 3 [Keen, 1993]:



El alto valor observado en la ecuación 2 se atribuye a un cambio en la geometría molecular de lineal a angular, que contribuye notablemente el incremento de la energía de activación del proceso [Keen, 1993].

Los sistemas reportados no han sido lo suficientemente efectivos, debido a la necesidad de que el macrociclo presente un ión metálico central en su estado de oxidación mas bajo M(I) para asegurar la coordinación del CO₂ como ligando axial [Furuya y Koide, 1991; Isaacs y col., 2002; Isaacs y col., 2003]. De esta manera, se produce una transferencia bi-electrónica para generar CO como producto de reacción. El CO al ser una especie estable interrumpe la transferencia de un mayor número de electrones impidiendo la obtención de una especie más reducida como por ejemplo CH₄, el cual sería potencialmente útil como combustible [Furuya y Koide, 1991; Isaacs y col., 2002; Isaacs y col., 2003]. Furuya y

Matsui reportaron un estudio sistemático sobre la reducción de CO₂ en electrodos de difusión de gas para ftalocianinas de un conjunto de elementos representativos y metales de la primera serie de transición revelando que el producto de reacción es una función clara del metal. Para metales del grupo VII B el producto es CO para Sn, In y Pb que genera mayoritariamente ácido fórmico, mientras que Cu, Ti y Ga generan CH₄. La diferencia en el comportamiento de los metales se debe a la variación en la

configuración electrónica del metal. Entonces, si como intermediario se genera CO enlazado al metal a través de un enlace σ enlazante se generará metano. Sin embargo, si el metal posee como electrones más externos electrones s o p, no puede ocurrir una ocupación electrónica del LUMO y por tanto no puede activarse una reducción posterior del CO₂ a CO [Tanabe y Ohno, 1987; Furuya y Matsui, 1989]. Toma y col. [Toma y Araki, 2000] estudiaron los procesos redox en solución de una porfirina tetrarutenada de níquel frente a la reducción de CO₂. Los resultados confirman que es el níquel reducido (Ni(I)) la especie que posibilita la coordinación del CO₂ como ligando axial. Se encontró además, que los grupos periféricos [Ru(bipy)₂Cl]⁺ aumentan la actividad catalítica del centro de la porfirina incrementando el carácter del estado Ni(I).

Considerando las consecuencias adversas, que desencadenan tanto la acumulación de CO₂, como la formación de nitrito, diversos estudios han considerado llevar a cabo la reducción simultánea de ambas especies [Shibata y col., 1998; Shibata y col., 1995]. El objetivo de este tipo de investigaciones está orientado a la obtención de productos de reacción que presenten enlaces C-N, y que sean potencialmente utilizables como por ejemplo la urea (fertilizante) [Shibata y col., 1998; Shibata y col., 1995].

La reducción electroquímica simultánea de CO₂ y NO₂⁻ se ha llevado a cabo en electrodos de difusión de gas, usando diferentes catalizadores metálicos (Cr, Mo, Mn, Ru, Co, Ir, Pd, Pt, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, In, Tl, Sn y Pb), donde se ha logrado obtener urea como producto de reacción. Sin embargo, la reducción se ve impedida tanto por los elevados sobrepotenciales requeridos como por la poca selectividad que ésta presenta, ya que, existe competencia con la reducción de hidrógeno y los diversos productos de

reacción [Shibata y col., 1998; Shibata y col., 1995]. La selectividad en la obtención de urea, está estrechamente relacionada con el tipo de catalizador metálico utilizado, el cual debe tener la capacidad de formar CO y NH₃ in situ y simultáneamente, en la superficie de la interfase electródica. Experimentos en donde se ha usado CO, obtenido de la reducción de CO₂, combinado con NH₃ disuelto en la solución, no generan urea como producto [Shibata y Furuya, 2001].

1.3 ELECTRO-ANÁLISIS DE MOLECULAS DE INTERES BIOLÓGICO

ADN

Idealmente el ADN doble hebra presenta 2 nm de diámetro y 3,4 nm de altura entre cada vuelta pero como el emparejamiento entre las bases no es simétrico esta se tuerce y da lugar a los dos surcos uno mayor y otro menor de 22 y 12 Å de diámetro [Guschlbauer, 1976; Neidle, 1994; Richards y Rodger, 2007]. Por lo tanto, la planaridad es un factor muy importante que afecta el comportamiento de las interacciones ADN con otras especies. El ADN juega un rol importante en los procesos de la vida, ya que, contiene información de herencia, síntesis de proteínas y enzimas. Estudios sobre el mecanismo de unión de moléculas pequeñas con ADN han sido identificados como un tópico importante para comprender el mecanismo de acción o la toxicidad de diferentes contaminantes y fármacos [Palchetti y Mascini, 2008; Arias y col., 2009].

Los métodos electroquímicos han demostrado ser muy exitosos como alternativa a otros como los espectroscópicos para obtener una detección sensible a los ácidos nucleicos. Es así que los estudios se enfocaron en la oxidación directa de las bases adenina y guanina de ADN adsorbido en electrodos de carbón [Mugweru y Rusling, 2002; Wang y Rusling, 2003]. La mayor dificultad de este método es la interferencia causada por el agua que es oxidada a potenciales cercanos [Armistead y Thorp, 2000]. Por otra parte, se ha encontrado que el complejo $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ es un catalizador eficaz para la oxidación de las bases de guanina del ADN mejorando considerablemente la respuesta electroquímica [Wang y Rusling, 2003]. El uso del complejo $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ofrece una ventaja sobre la detección de guanina por oxidación directa, ya que, exhibe una cinética de transferencia electrónica rápida con la mayoría de los materiales electródicos [Armistead y Thorp, 2000; Johnston y col., 1995]. La transferencia electrónica de $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ a la guanina se observa en la onda de la oxidación de $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, no siendo interferida por agua y con un aumento significativo de la señal de corriente en comparación con el ADN sin catalizador [Johnston y col., 1995; Mugweru y Rusling, 2001]. Li y colaboradores, estudiaron el par porfirina monoruteneda/ADN y lo compararon con la interacción $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /ADN. Los resultados sugieren un alto carácter enlazante entre la porfirina monorutenada y ADN, resultado acorde con la mayor capacidad de aceptar electrones de la tetrafenilporfirina comparada con el ligando de bipyridina. Entre los principales modos de coordinación entre ADN y metaloporfirinas destacan la intercalación, enlaces en la superficie de los surcos y la interacción electrostática entre los cationes coordinados y las cadenas cargadas azúcar-fosfato [Li y col., 2007]. Basándose en la rica respuesta electroquímica de las porfirinas y sus derivados metalados, sus propiedades enlazantes con ADN han

sido extensamente estudiadas en los últimos años [Johnston y col., 1995; Li y col., 2007; Araki y col., 2000].

PEROXIDO DE HIDROGENO

El peróxido de hidrógeno se encuentra en un gran número de productos comerciales, este hecho ha llevado al desarrollo de diversos métodos analíticos para su cuantificación en muchas áreas de aplicación tales como la industria alimenticia, medicina, procesos bioquímicos y de la atmósfera [Quintino y col., 2005]. Entre los métodos que se han utilizado para determinar el peróxido de hidrógeno encontramos, la espectrofotometría [Pappas y col., 2002; Vieira y Fatibello-Filho, 1998], fluorimetría [Holm y col., 1987; Sakuragawa y col., 1998], quimioluminiscencia [Kiba y col., 2003; Qin y col., 1998], cromatografía [Pinkernell y col., 1997; Hong y col., 1998], volumetría [Didenko y Pugach, 1994; Klassen y col., 1994] y métodos electroquímicos [Quintino y col., 2005; Salimi y col., 2007; Zhang y col., 2008; Araminaité y col., 2010]. Los métodos electroquímicos, una vez mas son favorables para esta determinación debido a que presentan una respuesta rápida y su operación es simple.

Debido a los altos sobrepotenciales requeridos y posibles interferencias, un sistema de detección amperométrico directo de peróxido de hidrógeno no parece factible en una muestra compleja, ya sea, una muestra medioambiental o una biológica [Lin y Jan, 1997]. Una buena manera de reducir el potencial requerido es a través de la utilización de electrodos modificados con mediadores redox para facilitar los procesos de transferencia de carga. Algunos estudios han reportado el uso de hexacianoferrato [Lin y Jan, 1997], azul de prusia [Araminaité y col., 2010; Pournaghi-Azar y Ahour, 2010],

óxidos metálicos [Salimi y col., 2007; Zhuang y col., 2009; Bo y col., 2009], perovskitas [Luque y col., 2009], nanotubos de carbono [Li y col., 2007; Guzmán y col., 2009], porfirinas [Pappas y col., 2002; Shao y col., 2010] y ftalocianinas [Ozoemena y col., 2005; Mashazi y col., 2010; Ozoemena y Nyokong, 2006]. En general estos compuestos han sido utilizados como electrocatalizadores para fines de análisis [Lin y Jan, 1997; Pournaghi-Azar y Ahour, 2010; Zhuang y col., 2009; Bo y col., 2010; Luque y col., 2009; Li y col., 2007; Guzmán y col., 2009; Shao y col., 2010; Ozoemena y col., 2005; Mashazi y col., 2010] o imitar la actividad de la peroxidasa [Ozoemena y Nyokong, 2006; Shamsipur y col., 2010]. Cuando el estudio se enfocó en la parte electroanalítica, todos los casos exhibieron un excelente comportamiento electrocatalítico con un amplio rango de respuesta lineal, alta sensibilidad y bajos límites de detección [Shao y col., 2010; Ozoemena y col., 2005; Mashazi y col., 2010; Ozoemena y Nyokong, 2006].

Por otra parte, los nanotubos de carbono (NTC) desde su descubrimiento en 1991 [Lijita, 1991] han atraído el interés general debido a sus propiedades electrónicas, estructurales y mecánicas únicas. Los NTC son estructuras de forma cilíndrica con radios del orden de los nanómetros. Las paredes de estos tubos están formadas por redes hexagonales de átomos de carbono análogo a los planos del grafito. Sus puntas están cerradas en estructuras de semi-fullerenos, cada uno formado por la introducción de defectos pentagonales y heptagonales [Ha y col., 2008].

La primera indicación de los factores que explican la electroquímica de los nanotubos de carbono es su estructura. NTC se puede dividir en dos categorías generales: nanotubos de carbono de pared simple (NTCPS) que pueden ser descritos como una hoja de

grafeno enrollada formando un cilindro (ver figura 5A) y los nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM) aquellos formadas por hojas de grafeno concéntricas de estructura cilíndrica, separadas aproximadamente por una distancia similar a la distancia interplanar del grafito (0,32nm) es decir, nanotubos de diferentes diámetros uno dentro del otro (ver Figura 5B). Los NTCPS tienen un diámetro típico entre 1,2-5 nm, mientras que en NTCPM este valor se encuentra entre los 10 y 50 nm [Pumera, 2009].

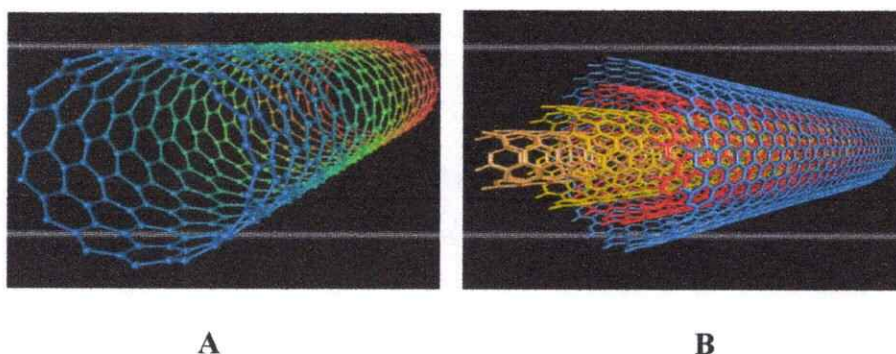


Figura 5: Modelo de nanotubos de carbono A) de pared simple (NTCPS) y B) de pared múltiple (NTCPM) [Merkoçi y col., 2006].

Compton y colaboradores [Moore y col., 2004], compararon la respuesta electroquímica de NTCPM y electrodo de grafito pirolítico plano basal modificado con micropartículas de grafito hacia las propiedades redox del NADH, epinefrina y norepinefrina. Se encontró que tanto la respuesta de NTCPM como la del electrodo de grafito modificado era esencialmente la misma. En investigaciones posteriores, el mismo grupo de investigación estudió las razones de este comportamiento. Al comparar las respuestas de electrodos fabricados con grafito pirolítico altamente orientado en dos disposiciones distintas (plano basal “basal-plane” y borde “edge-plane”), con los modificados con

NTCMP se encontró que el electrodo de grafito “edge-plane” los extremos del tubo son los sitios electroquímicamente activos [Banks y col., 2004; Banks y col., 2005]. Las paredes prístinas de los nanotubos de carbono se comportan como un plano basal de grafito con una constante heterogénea de transferencia electrónica cercana a cero [Davies y col., 2005], mientras que los extremos de los nanotubos de carbono y los defectos en sus paredes se asemejan al comportamiento y a la rápida transferencia electrónica del grafito pirolítico “edge-plane” [Banks y col., 2005; Holloway y col., 2006]. Entonces, es posible mejorar la actividad electroquímica de los NTCPM mediante la inducción de defectos en las paredes de los nanotubos de carbono, como se ha demostrado últimamente [Pumera y col., 2008; Sánchez y col., 2009].

Recientemente se han introducido NTC en materiales compuestos de algunas nanopartículas metálicas [Guzmán y col., 2009; Shamsipur y col., 2010] y porfirinas [Salami y col., 2007; Turdean y col., 2006], mostrando una mejora considerable en la sensibilidad hacia la detección de moléculas pequeñas como peróxido de hidrógeno [Guzmán y col., 2009], glucosa [Shamsipur y col., 2010], halogenuros [Salami y col., 2007], nitrito [Turdean y col., 2006] y metanol [Frackowiak y col. 2005].

1.4 HIPOTESIS DE TRABAJO

La construcción de películas [M-TPyP{Ru(bipy)₂Cl}₄⁺⁴]- PVC y Nafion, permitirá generar un recubrimiento capaz de modificar superficies electródicas fácilmente, las cuales mantendrían las propiedades electrocatalíticas otorgadas por el macrociclo, además de una resistencia mecánica y química mejorada por el PVC y/o Nafion.

Además, estas películas serán efectivas en los procesos electro-catalíticos que involucran **transferencias multielectrónicas** desde los compuestos periféricos de Ru (II) hacia el metal central de la porfirina y éste, a su vez, al analito de interés con la finalidad de promover la reacción de reducción simultánea de CO₂ y NO₂⁻, así como también para la reacciones de oxidación de las bases guaninas en el ADN y del H₂O₂.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo General

Diseñar, construir, optimizar y caracterizar nuevas películas de porfirinas tetrarutenadas de Co, Ni y Zn con PVC y Nafion, con el objeto de generar recubrimientos electródicos con una mayor estabilidad que los reportados hasta el momento.

Además, estos electrodos modificados serán empleados tanto en electro-catálisis como en electro-análisis con el fin de proyectar su aplicación en la reducción simultanea de contaminantes ambientales y/o como sensor amperométrico de moléculas de interés biológico.

1.5.2 Objetivos Específicos

1.5.2.1. Síntezar metaloporfirinas tetrarutenadas (MTRP):

- Sintetizar y purificar ZnTRP, NiTRP y CoTRP.
- Caracterizar ZnTRP, NiTRP y CoTRP mediante técnicas espectroscópicas, electroquímicas y análisis elemental.

1.5.2.2. Obtener Electroodos Modificados (EM) con MTRP's:

- Diseñar y construir películas modificadoras
- Optimizar el protocolo de modificación
- Caracterizar electroquímicamente los EM

- Caracterizar morfológicamente los EM mediante: SEM, TEM, AFM, SECM y espectroscopía Raman.
- Caracterizar térmicamente PVC/MTRP

1.5.2.3. Reducir electrocatalíticamente contaminantes ambientales utilizando EM con MTRP's:

- Estudiar la reducción electroquímica de NO_2^-
- Optimizar protocolos para la determinación de productos de reducción de NO_2^-
- Realizar electrolisis a potencial controlado de NO_2^-
- Estudiar la reducción electroquímica de CO_2
- Optimizar protocolos para la determinación de productos de reducción de CO_2
- Realizar electrolisis a potencial controlado de CO_2
- Realizar electrolisis a potencial controlado de $\text{NO}_2^- / \text{CO}_2$

1.5.2.4. Determinar mediante técnicas electroanalíticas, analitos de interés biológico utilizando EM con MTRP's:

- Estudiar electroquímicamente la interacción MTRP-ADN
- Estudiar la oxidación de las bases guaninas presentes en el ADN mediante EM
- Estudiar la oxidación de H_2O_2 mediante EM
- Determinar parámetros analíticos en la detección de H_2O_2 mediante EM

CAPÍTULO 2

2. EXPERIMENTAL

2.1 REACTIVOS

Tabla 1. Reactivos utilizados en la síntesis y purificación de los macrociclos.

Reactivos	Procedencia
Cloruro de rutenio (III) hidratado	Sigma-Adrich $\geq 99\%$
2,2 dipiridil	Sigma-Adrich $\geq 99\%$
5,10,15,20-tetra(4-piridil)-21H, 23H-porfirina	Sigma-Adrich $\geq 97\%$
Acetato de zinc (II) tetrahidratado	Sigma-Adrich $\geq 98\%$
Acetato de níquel (II) tetrahidratado	Sigma-Adrich $\geq 98\%$
Acetato de cobalto (II) tetrahidratado	Sigma-Adrich $\geq 98\%$
Hexafluorofosfato de tetrabutilamonio	Sigma-Adrich p.a.
Cloruro de litio	Fisher Scientific p.a.
Hexafluorofosfato de amonio	Alfa-Aesar grado electroquímico
Oxido de aluminio neutro activado	Sigma-Aldrich

Tabla 2. Reactivos utilizados en la preparación de electrodos modificados.

Reactivos	Procedencia
ZnTRP	Preparado en laboratorio
NiTRP	Preparado en laboratorio
CoTRP	Preparado en laboratorio
Solución Nafion 117	Fluka-chemica
Nanotubos de carbono multipared 1-5mm	
Largo y (30 ± 14) nm de diámetro	NanoLab (USA)
Cloruro de polivinilo $M_w \sim 80000$, $M_n \sim 47000$	Sigma-Aldrich

Trifluorometanosulfonato de litio	Sigma-Aldrich p.a.
dibutilftalato	Sigma-Aldrich
diocilftalato	Sigma-Aldrich
2-nitrofenil octil eter	Sigma-Aldrich
Alúmina de 0,3 y 0,05 μm	Struers

Tabla 3. Reactivos utilizados en electro-catálisis.

Reactivos	Procedencia
Perclorato de sodio monohidratado	Sigma-Adrich p.a.
Nitrito de sodio	Sigma-Adrich p.a.
Ferrocenometanol 97%	Sigma-Aldrich
Magnesio en polvo	Sigma-Aldrich
Ácido cromotrópico sal dihidratada	Merck p.a.
Rojo neutro	Sigma-Aldrich
Iodato de potasio	Sigma-Aldrich ACS
Fenol	Sigma-Aldrich ACS
Hipoclorito de sodio	
Citrato de sodio dihidrato tribásico	Sigma-Aldrich ACS
Hidróxido de sodio	Merck p.a.
Nitroprusiato de sodio dihidratado	Merck ACS
4-dimetilamino benzaldehido	Sigma-Aldrich ACS
Ureasa canavalia ensiformis 10KU	Calbiochem
Sulfato de hidracina	Sigma-Aldrich p.a.
Sulfato de hidroxilamina	Sigma-Aldrich p.a.
Agar	Sigma-Aldrich
Cloruro de potasio	Sigma-Aldrich p.a.
Formaldehído 37%	Merck ACS
Ácido fórmico 98-100%	Merck p.a.

Tabla 4. Reactivos utilizados en electro-análisis.

Reactivos	Procedencia
Perclorato de sodio	Sigma-Adrich p.a.
Ferrocenometanol 97%	Sigma-Aldrich
Peróxido de hidrógeno 30% V/V	Merck
Ácido deoxiribonucleico activado, Tipo XV liofilizado	Sigma-Aldrich
Tris(hidroximetil) aminometano	Merck ACS
Ácido etilendiamino tetraacético	Merck

Tabla 5. Disolventes utilizados.

Solvente	Procedencia
Acetonitrilo	Merck ACS
N,N-dimetilformamida	Merck ACS
Metanol	Merck p.a.
Tetrahidrofurano	Merck ACS
Acetona	Merck ACS
Acido acético glacial 100%	Merck ACS
Acido sulfúrico 95-97%	Merck ACS
Ácido clorhídrico 37%	Merck ACS
Eter dietílico	Merck ACS
Ácido fosfórico	Merck ACS

Tabla 6. Gases utilizados.

Gas	Procedencia
Nitógeno	Indura > 99,99 %
Argón	Indura > 99,99%
Dióxido de carbono	Aga > 99,99%

2.2 MATERIALES

- ° Material de vidrio (vasos precipitados, pipetas, balones de 3 bocas, refrigerantes, matraces erlenmeyer y de aforo, fritas n°4, kitsatos, columnas para purificación, tubos de ensayo, etc.)
- ° Micropipetas Arquimed 10, 100, 1000 y 5000 μ L
- ° Magnetos, perlas de ebullición, termómetro, septas, espátulas
- ° Celdas electroquímicas pyrex de 1 y 3 compartimientos tipo H para electrólisis
- ° Celda de cuarzo para electrólisis 0,2 cm de paso óptico
- ° Celda de cuarzo 1 cm de paso óptico

2.3 APARATOS E INSTRUMENTOS

- ° Agitadores magnéticos Hotplate Stirrer LabTech
- ° pH-metro PHM84 RESEARCH Ph METER y Microprocessor pH/ION Meter pMX3000
- ° Balanza analítica Precisa 40SM-200A y Belltronic ESI 200
- ° Destilador de agua SG Labostar y Milli-Q Millipore cartucho Millipak Gamma Gold 0,22 μ m
- ° Rotavapor RE-52AA Shangai Ya Rong Biochemistry Instrument Factory
- ° Vortex Super Mixer LAB-LINE Instruments y Heidolph REAX2000
- ° Baño Ultrasónico Elma D78224 y Transsonic Digital Elma
- ° Espectrofotómetro Shimadzu Multispec 1501
- ° Espectrómetro FT-IR, Perkin Elmer System 2000

- ° Espectrómetro de resonancia magnetica nuclear (RMN) Bruker Avance 400 MHz
- ° Analizador elemental de C-H-N-S CE Instruments, modelo EA 1108
- ° Potenciostato CH Instrument 620B
- ° Bipotenciostato CH Instrument 760C
- ° Experimentos de disco rotatorio para experimentos electrocatalíticos se llevaron a cabo mediante una unidad de control Radiometer Analytical CTV101 acoplada a una unidad de rotación Radiometer Analytical BM-EDI101, mientras que para el item electroanálisis estas mediciones fueron realizadas en BAS CV-50W con una unidad de rotación BAS RDE-I
- ° Electrodo de trabajo carbón vítreo CH Instrument ($r = 1,5\text{mm}$), Radiometer Analytical ($r = 3\text{mm}$) y Pine Instruments ($r = 1,96\text{mm}$), oxido de indio y estaño ITO ($A = 1,89\text{ cm}^2$) y malla de Pt ($1,2\text{ cm}^2$)
- ° Para medidas en microscopio de barrido electroquímico se utilizó como tip un electrodo de fibra de carbono ($r = 0,5\text{ mm}$)
- ° Electrodo referencia Ag/AgCl CH Instrument todos los potenciales fueron referidos a este electrodo
- ° Electrodo Auxiliar alambre de Pt CH Instrument
- ° Espectrómetro Raman Renishaw RM1000 equipado con un microscopio láser con arreglo de diodos (linea laser 633nm)
- ° Microscopio de barrido electrónico (SEM) JEOL 7001F
- ° Microscopio de transmision electrónica (TEM) JEOL 2100
- ° Perfilometro óptico PL μ 2300 Sensofar
- ° Microscópio de fuerza atómica (AFM) JSPM-5200 JEOL modo contacto

- ° Microscopio de barrido electroquímico (SECM) bipotenciostato CH Instrument 900
- ° Análisis Térmico equipo simultáneo TG/STDA Mettler Toledo modelo 851e/LF/1600, rampa de calentamiento 5°C/min
- ° Titulación espectrofotométrica y espectroelectroquímica UV fueron realizadas en espectrofotometro Agilent 8453 acoplado a un potenciostato BAS Power Module PWR3.

2.4 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

2.4.1 Síntesis y purificación de complejos

2.4.1.1 Síntesis del ligando Ru(bipy)₂Cl₂

Se desarrolló de acuerdo a la ruta sintética reportada por Sullivan [Sullivan y col., 1978].

2.4.1.2 Síntesis de H₂TPyP{Ru(bipy)₂Cl₂Cl₄ (H₂TRP)

Se desarrolló de acuerdo a la ruta sintética descrita por Toma [Toma y Araki., 1993].

2.4.1.3 Metalación de H₂TPyP{Ru(bipy)₂Cl₂Cl₄ (MTRP)

1 mmol de H₂TRP es disuelto en 20ml de metanol y desgasificado durante 20 minutos con N₂. Luego se añaden 1,1 mmol del acetato de metal disuelto en el mismo volumen de metanol y se refluja durante 3 horas 30 minutos bajo atmósfera inerte. El método descrito es válido para la obtención de Co(II)TRP y Zn(II)TRP [Araki y Toma 2000, Toma y Araki, 2006].

La obtención de Ni(II)TRP se lleva a cabo metalando primero la tetrapiridilporfirina (TPyP) de acuerdo al método descrito anteriormente y luego se coordinan los ligandos periféricos (Ru(bipy)₂Cl₂) tal como lo indica el punto anterior.

2.4.1.4 Purificación de MTRP's

Las porfirinas tetrarutenadas metaladas y libre se purificaron mediante cromatografía en columna, usando alúmina neutra y acetonitrilo como solvente. Los productos se agregaron disueltos en el mínimo volumen de metanol, la elusión comenzó con 100% de acetonitrilo luego mezclas en distintas proporciones de acetonitrilo/metanol tal que la polaridad fuera aumentando gradualmente. Al utilizar mezclas al 75% en acetonitrilo se obtuvieron las fracciones de interés confirmadas mediante espectroscopia UV-Visible.

Posteriormente las MTRP's son disueltas en el mínimo volumen de metanol, al que se le añade NH₄PF₆ disuelto en el mínimo volumen de agua nanopura. El producto obtenido se filtra a presión reducida. Para asegurar el intercambio completo de iones Cl⁻ por PF₆⁻ se repite el procedimiento disolviendo ahora el macrociclo en el mínimo volumen de una solución (2:1) de acetona/metanol. Finalmente se lava con éter y se seca durante 4 horas a 120 °C bajo presión reducida.

2.4.2 Caracterización de H₂- y MTRP

Los macrociclos fueron caracterizados mediante ¹H-RMN, IR, espectroscopía UV-visible, análisis elemental y voltametría cíclica.

2.4.3 Electroodos modificados

2.4.3.1 Preparación de soluciones

Las soluciones de H₂TRP y MTRP (M: Co(II), Ni(II), Zn(II)) utilizadas para la modificación del electrodo de carbón vítreo fueron preparadas a una concentración de 1 mM en metanol.

Nafion al 1% se preparó diluyendo Nafion 117 al 5% con metanol.

2.4.3.2 Optimización protocolo modificación de electrodos utilizando Nf y H₂TRP

Con el fin de optimizar el protocolo de modificación se llevaron a cabo diversas series de combinaciones de métodos que integran tanto Nafion como porfirina tetra-rutenada. La Tabla 7 presenta los protocolos de modificación más destacados. Finalmente, como la síntesis de MTRP's no presenta buenos rendimientos se utilizó H₂TRP en los estudios preliminares.

Tabla 7. Resumen de las distintas modificaciones realizadas utilizando mezclas Nf/ H₂TRP

5 μ L Nf al 1% +	5 μ L H ₂ TRP → EM1a
	Inmersión durante 2 min H ₂ TRP → EM1b
	Inmersión durante 4 min H ₂ TRP → EM1c
Inmersión 1 min Nf 1% +	5 μ L H ₂ TRP → EM2a
	Inmersión durante 2 min H ₂ TRP → EM2b
	Inmersión durante 4 min H ₂ TRP → EM2c
Inmersión 2 min Nf 1% +	5 μ L H ₂ TRP → EM3a
	Inmersión durante 2 min H ₂ TRP → EM3b
	Inmersión durante 4 min H ₂ TRP → EM3c

2.4.3.3 Optimización protocolo modificación de electrodos utilizando PVC y H₂TRP

Con el fin de optimizar el protocolo de modificación se llevaron a cabo diversas series de combinaciones de métodos que integran tanto PVC como porfirina tetra-rutenada. Sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron a partir de la generación de una mezcla base que consta de PVC y un plastificante disuelto en tetrahidrofurano (THF) [Yuan y col., 1993]. Como H₂TRP no es completamente soluble en THF resultó necesario incorporar acetona a la mezcla.

2.4.3.4 Preparación de electrodos modificados

El electrodo de carbón vítreo es pulido con alúmina 0,3 y 0,05 μm , luego es enjuagado con agua bidestilada, desionizada y sonicado durante 30 s con el fin de remover algún remanente de alúmina, posteriormente es lavado con abundante agua desionizada.

El procedimiento para la preparación de los electrodos modificados es descrito a continuación:

- *CV/Nf*; 5 μL de Nafion 1% es dispuesto sobre la superficie del carbón vítreo. El electrodo se deja secar a temperatura ambiente [Calfumán y col., 2010 a, b].
- *CV/Nf/MTRP*; el electrodo *CV/Nf* fue sumergido en una solución 1mM de MTRP durante 4 min. El electrodo se deja secar a temperatura ambiente [Calfumán y col., 2010 a,b].

- *CV/Nf/NTC*; la superficie electródica es modificada con 5 μ L de una dispersión preparada a partir de 1mg de NTC cortos multipared en Nafion al 1% por sonicación durante 20 minutos. El electrodo se deja secar a temperatura ambiente.
- *CV/Nf/NTC/CoTRP*; la superficie electródica es modificada con 8 μ L de una dispersión preparada a partir de 1 mg de NTC cortos multipared y 5 mM de CoTRP en Nafion al 1% por sonicación durante 30 minutos. El electrodo se deja secar a temperatura ambiente.
- *CV/PVC*; 16 mg de PVC, 100mg de LiTFMS y 2 μ L de DBP son disueltos en una mezcla 1:1 de Acetona/THF por agitación durante 90 min. A continuación, 5 μ L de esta mezcla es dispuesta en la superficie del carbón vítreo.
- *CV/PVC/MTRP*; 16 mg de PVC, 3 mg de MTRP, 100mg de LiTFMS y 2 μ L de DBP son disueltos en una mezcla 1:1 de Acetona/THF por agitación durante 90 min. A continuación, 5 μ L de esta mezcla es dispuesta en la superficie del carbón vítreo. El electrodo se deja secar a temperatura ambiente.

2.4.4 Electroquímica

2.4.4.1 Voltametría Cíclica

Se usó una celda convencional de vidrio Pyrex de tres compartimientos, de diámetro aproximado 3 cm, y una tapa de tres orificios, que permite mantener fijos a los tres electrodos. Esta tapa tiene un pequeño orificio para introducir una manguera que proporcione el burbujeo de gases. Como electrodo de trabajo se utilizó carbón vítreo ($r = 1,5$ mm), Ag/AgCl como electrodo de referencia y un electrodo auxiliar de Pt.

2.4.4.2 Disco Rotatorio

Los experimentos con electrodo de disco rotatorio se realizaron en una celda de 3 compartimientos. La velocidades de rotación utilizadas fueron 1900, 1600, 900, 400 y 200 rpm, mientras la velocidad de barrido de potencial se mantuvo en 0,005 V/s.

2.4.4.3 Electrólisis a potencial controlado

Electrólisis a potencial controlado se llevaron a cabo en una celda como la esquematizada en la Figura 6. Como electrodo de trabajo se utilizó carbón vítreo ($r = 1,96 \text{ mm}$), Ag/AgCl como electrodo de referencia y un electrodo auxiliar de Pt.

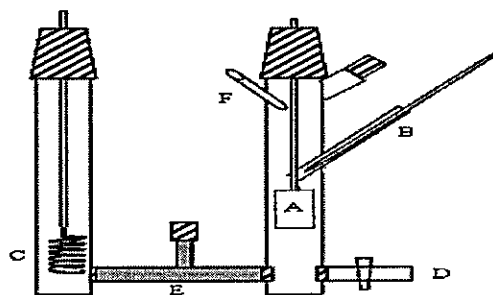


Figura 6: Montaje experimental para electrólisis: a) electrodo de trabajo; b) electrodo de referencia; c) electrodo auxiliar; d) llave para entrada de gases; e) puente salino; f) salida de gases.

Para cada electrólisis se determinó el número de moles de producto formado a partir de 1 mol de catalizador en una unidad de tiempo y área (TOF). Este parámetro proporciona la selectividad relativa del electrodo modificado hacia un producto en particular.

$$\text{TOF} = \frac{\text{moles de producto}}{\text{moles de catalizador} * t * A} \quad [\text{E } 4]$$

Donde "t" es el tiempo de electrólisis expresado en segundos

$$\text{Moles de catalizador} = \frac{Q}{n * F * A} \quad [\text{E 5}]$$

Donde: "Q" = Área bajo la curva de la cupla de oxidación de Ru(II)

"n" = Número de electrones involucrados

"F" = Constante de Faraday (96500 C/mol)

"A" = Área del electrodo (0,196 cm²)

2.4.4.4 Microscopio de barrido electroquímico

Este equipo consta de un microposicionador que permite mover un microelectrodo o tip sobre el sustrato y una celda compuesta por cuatro electrodos (auxiliar alambre de Pt, referencia Ag/AgCl, tip fibra de carbono y sustrato carbón vítreo) conectados a un bipotenciostato. Las medidas se realizaron por aproximación del tip al sustrato en presencia de un mediador redox, empleando el modo de retroalimentación (Figura 7). En este modo, la oxidación o reducción del mediador es producido en el tip mientras que en el sustrato, solo cuando el electrodo esta muy cerca, el potencial aplicado permite la regeneración del mediador redox y, por lo tanto, toma lugar la retroalimentación entre los electrodos [Bard y Mirkin, 2001].

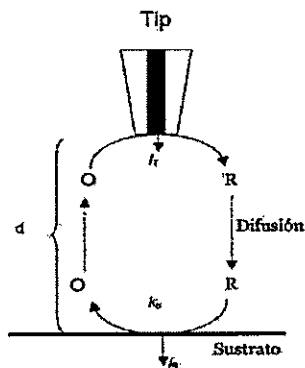


Figura 7: Modo de retro-alimentación

Los experimentos se realizaron en NaClO_4 0,1M usando ferrocenometanol (FcOH) como mediador redox. El potencial del tip se mantuvo en 0,6 V para producir la oxidación del FcOH, mientras el potencial del sustrato permaneció en -0,1 V para permitir la retroalimentación entre los electrodos, ya que FcOH_{OX} generado en el tip es reducido a este potencial regenerando la matriz de FcOH.

Parte de la película (no más de 1/3 de la superficie) fue removida del electrodo de carbón vítreo modificado. Posteriormente, se realizó una curva de aproximación en la superficie del carbón vítreo expuesto con una velocidad de barrido del tip de $0.5 \mu\text{m s}^{-1}$. La punta se detuvo cuando i_T alcanzó 1,25 veces el valor de $i_{T,\infty}$ ($i_{T,\infty} = 4nFDCa$, donde F es la constante de Faraday, n es el número de electrones transferidos en la reacción del tip, D es el coeficiente de difusión de la especie electroactiva, C concentración en el seno de la solución de la especie electroactiva y " a " es el radio del tip). De acuerdo con la curva teórica que describe la dependencia de i_T con la distancia entre el tip y el sustrato (d), 1,25 veces $i_{T,\infty}$ corresponde a $d \sim 10 \mu\text{m}$, cuando se usa un tip de $5 \mu\text{m}$ de radio [Bard y Mirkin, 2001]. Después de la curva de aproximación, la punta se mueve en

la dirección x para asegurar que el tip está sobre la película y una serie de imágenes SECM de altura constante y área $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ fueron registradas a una velocidad de barrido del tip de $1 \mu\text{m s}^{-1}$. Estos resultados se presentan en forma adimensional en forma de I_T , por la normalización de corrientes de retroalimentación experimentales (i_T) con corrientes de estado estacionario obtenidas cuando el tip estaba lejos del sustrato ($i_{T,\infty}$), esto es, $I_T = i_T / i_{T,\infty}$.

2.4.4.5 Limpieza de celda y preparación del electrodo de trabajo

La limpieza de las celdas se realizó luego de cada medida. Estas se dejaron sumergidas en una mezcla sulfonítrica durante 12 horas, posteriormente se lavaron con abundante agua potable, bidestilada y nanopura.

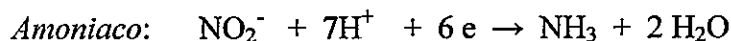
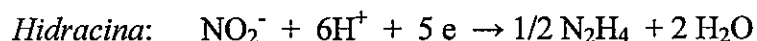
Antes de utilizar el electrodo de carbón vítreo, éste se pulió manualmente sobre una felpa humedecida con una suspensión de alúmina, y luego se enjuagó con abundante agua nanopura. Posteriormente, el electrodo se sumergió en un baño de ultrasonido durante 30 segundos.

2.4.5 Estudio electro-catalítico reducción de Nitrito

Todos los estudios se realizaron en $0,1 \text{ M NaClO}_4$ y con una concentración de $0,01 \text{ M}$ de NaNO_2 . Para las electrólisis el potencial aplicado fue -1V bajo atmósfera de argón y agitación constante durante las 6 horas de experimento.

2.4.5.1 Análisis de productos de reducción

Las reacciones propuestas llevan a la formación de los principales productos de reducción de nitrito:



° Hidroxilamina [Afkhami y col., 2006]

Para el análisis, 50 μL de la muestra de electrolisis se lleva a 6ml con agua desionizada, luego se adicionan 1000 μL solución yodato 0,047 M y 1000 μL de ácido sulfurico 3 M. Se esperan 10 minutos, se añaden 2000 μL de indicador rojo neutro 0,346 M y se mide el espectro UV-visible en 525 nm.

° Hidracina [Thomas y Chamberlain, 1974]

Para el análisis, 500 μL de la muestra de electrolisis y 500 μL p-dimetilaminobenzaldehído al 1% en H_2SO_4 0,5 M se llevan a 5 ml con agua desionizada. Se esperan 15 minutos y se mide el espectro UV-visible en 455 nm.

° Amoniaco [Eaton y col., 2002]

Para el análisis, 500 μL de la muestra de electrolisis acidificada, 200 μL fenol 1 M, 200 μL nitroprusiato de sodio 0,02 M y 500 μL solución oxidante se llevan a 10 ml con agua desionizada. Se esperan 2 horas y se mide el espectro UV-visible en 640 nm.

Los intervalos de concentración y las curvas de calibración obtenidas se especifican en la Tabla 8.

Tabla 8. Curvas de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de NO_2^- .

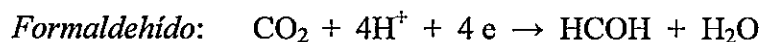
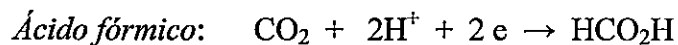
Producto	Rango concentración mg/L	Curva de calibración
Hidroxilamina	0,1 – 1	Abs = 1,48 – 0,57 $[\text{NH}_2\text{OH}]$
Hidracina	0,1 – 1	Abs = 0,0577 + 0,260 $[\text{N}_2\text{H}_4]$
Amoniaco	0,1 – 1	Abs = 0,0913 + 0,275 $[\text{NH}_3]$

2.4.6 Estudio electro-catalítico reducción de dióxido de carbono

Las electrolisis se realizaron en una solución 0,1 M NaClO_4 saturada con CO_2 . El potencial aplicado fue -1 V bajo atmósfera de CO_2 y con agitación constante durante las 6 horas de experimento.

2.4.6.1 Análisis de productos de reducción

Las reacciones propuestas llevan a la formación de los principales productos de reducción de CO_2 :



° Ácido Fórmico [Bricker y Johnson 1945; Ramos Sende y col., 1995]

Para el análisis, 500µL de la muestra de electrólisis, 500 µL HCl y una punta de espátula de Mg en polvo se dejan reaccionar por 10 minutos. Posteriormente se adicionan 500 µL de ácido cromotrópico y 4000 µL de ácido sulfúrico. La mezcla se calienta durante 45 minutos entre 80 y 100 °C. Una vez transcurrido el tiempo se añaden 2000 µL de agua nanopura, se esperan 20 minutos y se mide el espectro UV-visible en 575 nm.

° Formaldehído [Bricker y Jonson 1945; Ramos Sende y col., 1995]

Para el análisis, 500 µL de la muestra de electrólisis, 500 µL de ácido cromotrópico y 4000 µL de ácido sulfúrico se calientan durante 45 minutos entre 80 y 100 °C. Posteriormente se adicionan 2000 µL de agua nanopura, se esperan 20 minutos y se mide el espectro UV-visible en 575 nm.

Los intervalos de concentración y las curvas de calibración obtenidas se especifican en la Tabla 9.

Tabla 9. Curvas de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de CO₂.

Producto	Rango concentración mg/L	Curva de calibración
Ácido fórmico	0,1 – 1	Abs = -0,0425 + 0,119 [HCO ₂ H]
Formaldehído	0,1 – 1	Abs = -0,0116 + 0,0562 [HCOH]

2.4.7 Estudio electro-catalítico reducción simultánea de nitrito y dióxido de carbono

Las electrolisis se realizaron en una solución 0,1 M de NaClO_4 con 0,01 M de NaNO_2 y saturada con CO_2 . El potencial aplicado fue -1V con agitación constante durante las 6 horas de experimento.

2.4.7.1 Análisis de productos de reducción

Se realizaron todos los análisis previamente descritos para determinar hidracina, hidroxilamina, amoniaco, ácido fórmico y formaldehído, además del análisis para la determinación de urea.

° Urea [Fawcett y Scott 1960; Franz y Applegath, 1961].

Para el análisis, 500 μL de la muestra de electrólisis acidificada, 2000 μL de agua nanopura y 10 μL de ureasa (0,0005 g en 3 ml de agua) se dejan reaccionar por 20 minutos. Posteriormente se añade 200 μL fenol 1M, 200 μL de nitroprusiato 0,02 M y 500 μL solución oxidante, se afora a 10 ml con agua nanopura y se esperan 2 horas. Finalmente, se mide el espectro UV-visible en 640 nm.

Los intervalos de concentración y las curvas de calibración obtenidas se especifican en la Tabla 10.

Tabla 10. Curva de calibración e intervalo de concentraciones para la determinación de productos de reducción de mezcla $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$.

Producto	Rango concentración mg/L	Curva de calibración
Urea	0,1 – 1	Abs = 0,0763 + 0,417 $[\text{H}_3\text{NCONH}_3]$

2.4.8 Estudio electro-analítico de la oxidación de ADN

2.4.8.1 Preparación de soluciones de trabajo

A) Preparación ADN.

1 mg de ADN (timo de vaca) liofilizado es disuelto en 1ml de tampón TRIS-EDTA a pH 8 utilizando el siguiente protocolo. El ADN en presencia de TRIS-EDTA se mantiene durante 15 minutos en un baño de agua tibia y posteriormente se agita en vortex por 3 minutos, este procedimiento se replica 3 veces. La concentración de ADN resultante se calcula mediante espectrofotometría UV-Visible a 260 nm.

B) Preparación tampón TRIS-EDTA pH 8.

Se preparan 50 ml de Tris(hidroximetil) aminometano 20 mM y ácido etilendiamino tetraacético 1 mM en agua nanopura. El pH se ajusta con HCl o NaOH concentrado según sea necesario.

2.4.8.2 Técnicas Voltamétricas empleadas

A) Voltametría de pulso diferencial (VPD)

En una celda con 1,5 ml de tampón se estabilizó el electrodo modificado mediante 10 ciclos continuos entre 0,2 y 1,2 V, luego se tomó registro de la señal obtenida mediante

VPD en las siguientes condiciones: potencial inicial 0,2 V, potencial final 1,2 V, incremento 0,004 E/V, amplitud 0,05 V, ancho y periodo del pulso 0,05 s y 0,2 s respectivamente. Posteriormente, en una celda distinta se llevo a cabo el proceso de acumulación de ADN variando las condiciones de agitación, concentración y tiempo, para finalmente registrar la señal del electrodo mediante VPD utilizando las mismas condiciones experimentales anteriormente descritas.

B) Espectroelectroquímica

Los estudios espectroelectroquímicos se llevaron a cabo en una celda de cuarzo de 0,2 cm de paso óptico. Como solvente se utilizó tampón fosfato 0,05 M pH 7,4, el tiempo de electrolisis fue de 180 s, los potenciales aplicados 0,6; 0,8; 1 V y las concentraciones utilizadas de MTRP y ADN fueron de 2,5 y 50 μM , respectivamente. Además, como electrodo de trabajo se utilizó una malla de Pt de 1,2 cm^2 de área, tanto los electrodos de referencia como auxiliar son los mismos que los utilizados en el resto de la tesis.

Para determinar los potenciales y tiempo de electrolisis, se realizó un estudio voltamétrico previo para determinar el tiempo necesario para que la corriente final llegase al 5% de la corriente inicial y así asegurar que toda la especie en solución se encontrase electrolizada.

C) Voltametría cíclica

Se estudió el comportamiento electroquímico de MTRP's 2,5 μM tanto en ausencia como presencia de ADN en tampón fosfato pH 7,4, en el intervalo de potencial comprendido entre 0 y 1 V.

2.4.9 Estudio electro-analítico de la oxidación de peróxido de hidrógeno

2.4.9.1 Preparación de soluciones de trabajo

A) Solución stock H_2O_2 0,02 M.

Se preparó diluyendo peróxido de hidrógeno al 30% V/V con NaClO_4 0,1 M.

2.4.9.2 Técnicas voltamétricas empleadas

A) Voltametría hidrodinámica.

Una celda con 6ml de NaClO_4 0,1M se somete a agitación constante, una vez transcurridos 400 s se adicionan 60 μL de una solución de H_2O_2 1 M. El potencial aplicado es variado entre 1 hasta -0,2 V con el objeto de realizar una gráfica de la intensidad de corriente producida en cada salto versus el potencial.

B) Amperometría.

Una celda con 6 ml de NaClO_4 0,1M se somete a agitación y se aplica un potencial constante. Transcurridos 400 s se adicionan sucesivamente 30 μL de una solución de H_2O_2 2 M cada 50 s. Tiempo total del experimento 900 s.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS

3.1.1 Espectroscopía ^1H -RMN

Las señales más características en el espectro ^1H -RMN de H_2TRP purificada se señalan a continuación.

En primera instancia se encuentra el corrimiento de los protones internos del anillo de porfirina a campos altos (-3,2 ppm). Por otra parte, los protones Ha y Hb son asignados a las piridinas puente coordinadas tanto al centro porfirínico como al ligando, éstos aparecen a campos bajos comparados con los protones internos de la porfirina debido a su mayor apantallamiento. Finalmente, los protones Hd de los ligandos de bipyridina centrados en los 10 ppm son los que se ubican a campos más bajos comparados con el resto, este hecho puede ser explicado en función del efecto anisotrópico que ocurre entre Hd y el nitrógeno de las piridinas puente. En la Tabla 11 se presentan los valores de corrimiento y asignación de las señales para el espectro ^1H -RMN registrado para H_2TRP , mientras que la Figura 8 presenta la asignación de los distintos protones en la molécula.

Tabla 11. Corrimientos químicos y asignación de señales para el espectro $^1\text{H-RMN}$ de H_2TRP .

Corrimiento/ ppm	Protón	Asignación
-3,2	H	Internos del anillo de porfirina
6,7	Hb	Sistema a,b de la piridina
7,3	Ha	Sistema a,b de la piridina
7,5	Hc	Pirrólicos
8	He, He', He'', He'''	Ligandos de bipyridina
8,2 -8,3	Hg, Hg', Hg'', Hg'''	Ligandos de bipyridina
8,7-8,9	Hf, Hf', Hf'', Hf'''	Ligandos de bipyridina
9,1	Hd'', Hd'''	Ligandos de bipyridina
10	Hd, Hd'	Ligandos de bipyridina

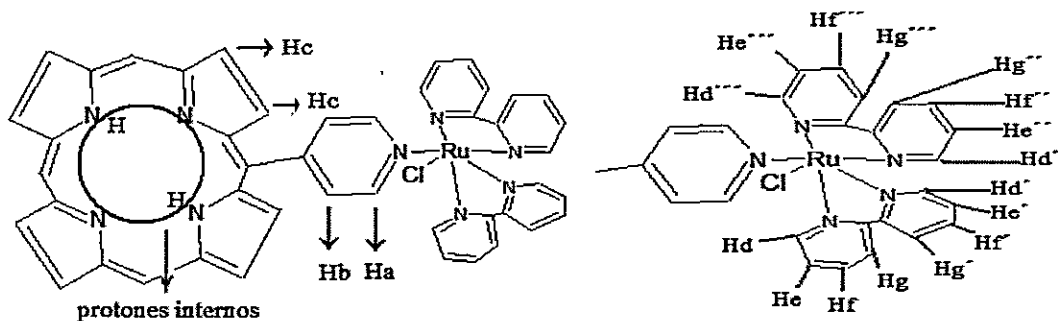


Figura 8: Asignación de los distintos protones en la molécula.

3.1.2. Espectroscopía FIT-IR

El espectro de H_2TRP sigue el patrón característico previamente reportado [Nakamoto, 1997], sin embargo de las aproximadamente 30 señales reportadas aparecen solo 25. Entre las señales ausentes se encuentran la sustitución de la piridina en posición “para” que normalmente aparece en la región comprendida entre los $780\text{-}810\text{cm}^{-1}$ y que en el

espectro no es identificada. Este hecho puede ser atribuido a la gran banda del contra-ión o al apantallamiento del estiramiento del pirrol en esa región del espectro. El contra-ión del complejo, esto es, PF_6^- absorbe alrededor de los 850 cm^{-1} siendo su banda lo bastante fuerte y ancha como para apantallar las tres absorciones que el macrociclo presenta entre 800 y 900 cm^{-1} .

Las señales mas relevantes para la caracterización del macrociclo son asignadas en la Tabla 12, mientras que los modos vibracionales asignados se esquematizan en la Figura 9. Además es importante mencionar que los espectros para CoTRP, NiTRP y ZnTRP no presentan mayor variación con respecto al espectro FIT-IR de H_2TRP .

Tabla 12. Asignación de modos vibracionales de H_2TRP (ν = *stretching*, δ = *bending* en el plano).

Frecuencia/ cm^{-1}	Asignación
3430	$\nu(>\text{N-H})$
1635	$\nu(\text{C}_\alpha\text{-C}_m)_{\text{asim}}$
1608	$\nu(>\text{C}=\text{N-})$ M
1550	$\nu(\text{C}_\beta\text{-C}_\beta)$
1464	$\nu(\text{C}_\alpha\text{-C}_m)_{\text{sim}}$
1398	$\nu(\text{pirrol } \textit{quarter-ring})$
1307	$\nu(\text{pirrol } \textit{half-ring})_{\text{sim}}$
1260	$\delta(\text{C}_\beta\text{-H})_{\text{asim}}$
1094	$\delta(\text{C}_\beta\text{-H})_{\text{sim}}$
1021	$\nu(\text{pirrol } \textit{half-ring})_{\text{asim}}$
961	$\nu(\text{pirrol } \textit{breathing})$
798	$\delta(\text{pirrol})_{\text{asim}}$
752	$\delta(\text{pirrol})_{\text{sim}}$

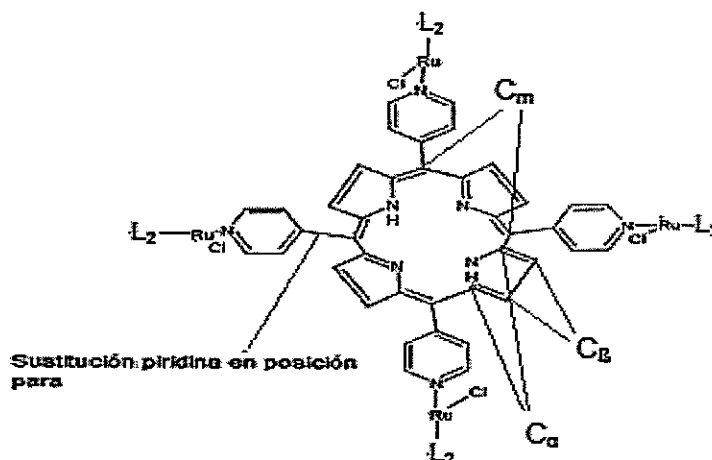


Figura 9: Asignación modos vibracionales de H_2TRP .

3.1.3 Espectroscopía UV-Visible

En general, los espectros electrónicos de las porfirinas se caracterizan por presentar varias bandas de transición $\pi-\pi^*$, una de gran intensidad (denominada banda Soret) y cuatro menos intensas (denominadas bandas Q) dependiendo si la porfirina esta libre o metalada en su cavidad central. Estas últimas exhiben dos bandas de absorción menos que su análogo libre, debido al cambio de simetría que se origina al insertar el ión metálico en el centro del macrociclo [Toma y Araki, 2000]. La coordinación de los complejos periféricos distorsiona el sistema π -porfirínico, efecto que ha mostrado ser lo suficientemente fuerte como para influenciar significativamente el espectro electrónico de los cromóforos constituyentes de estas porfirinas supramoleculares [Toma y Araki, 2000]. Los espectros electrónicos obtenidos para cada uno de los compuestos sintetizados en DMF se presentan en la Figura 10, donde además aparecen dos bandas asociadas a los complejos periféricos, una transferencia electrónica $\pi-\pi^*$ en la bipyridina

cerca de los 300 nm y otra de transferencia de carga ligando metal (MLCT2) cerca de los 350 nm.

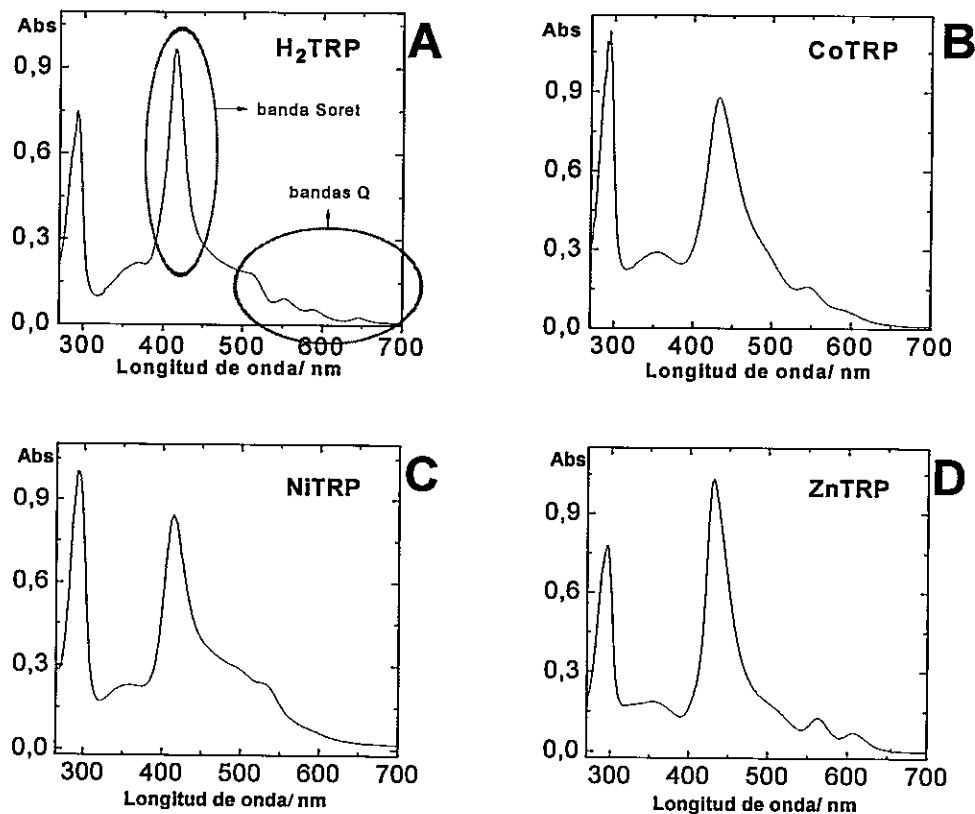


Figura 10: Espectro UV-Visible de: A) H₂TRP; B) CoTRP; C) NiTRP y D) ZnTRP en DMF.

Como era de esperar el espectro electrónico de CoTRP, NiTRP y ZnTRP mostró la desaparición de dos bandas Q y un corrimiento batocrómico de la banda Soret en comparación con H₂TRP, el que puede explicarse cualitativamente como resultado de los cambios que el efecto de metalación produce en los niveles π y π^* .

Puesto que un desplazamiento al rojo de la banda Soret corresponde a una disminución de la energía de transición entre los niveles π y π^* en el anillo de porfirina, implicaría

que el nivel π será más alto o el nivel π^* más bajo, o ambos casos a la vez; esto se traduce en una transición electrónica menos energética o visto desde otro punto de vista existirá una mayor probabilidad de transición entre los niveles.

Los valores de longitudes de onda donde se presentan las absorciones de los cuatro complejos sintetizados se presentan en la Tabla 13. Los valores presentan buena concordancia con los reportados con anterioridad [Toma y Araki, 2006].

Tabla 13. Resumen de bandas de absorción de H₂TRP, CoTRP, NiTRP y ZnTRP en DMF (donde MLCT: transferencia de carga ligando-metal).

	H ₂ TRP/ nm	CoTRP/ nm	NiTRP/ nm	ZnTRP/ nm
Bipy ($\pi \rightarrow \pi^*$)	295	295	295	295
MLCT2	368	354	354	354
Banda Soret	414	433	414	430
Bandas Q	514	548	534	562
	552	598	584	607
	588			
	645			

3.1.4 Análisis Elemental

El análisis fue realizado a H₂TRP y NiTRP los resultados obtenidos se detallan a continuación.

• H₂TRP

El resultado del análisis concuerda con H₂TRP * 10 H₂O de peso molecular igual a 3173 g/mol (C₁₂₀H₁₁₀N₂₄Cl₄Ru₄O₁₀P₄F₂₄), los valores obtenidos están dentro del 5% de error y se detallan en la Tabla 14.

Tabla 14. Análisis elemental de H₂TRP.

Elemento	% Calculado	% Obtenido en análisis
C	45,4	43,37
N	10,58	10,12
H	3,46	3,49

• NiTRP

El resultado del análisis concuerda con NiTRP* 10 H₂O de peso molecular igual a 3230 g/mol (C₁₂₀H₁₀₈N₂₄Cl₄Ru₄O₁₀P₄F₂₄ Ni), los valores obtenidos están dentro del 5% de error y se detallan en la Tabla 15.

Tabla 15. Análisis elemental de NiTRP.

Elemento	% Calculado	% Obtenido en análisis
C	44,62	45,63
N	10,4	10,7
H	3,34	2,02

3.1.5 Voltametría Cíclica

Se registraron perfiles voltamétricos para las cuatro porfirinas a una concentración 1 mM en acetonitrilo seco, utilizando perclorato de tetra-butilamonio 0,1 M como electrolito soporte (Figura 11).

El voltamograma cíclico de H₂TRP exhibe tres señales características en el intervalo de potencial estudiado como se observa en la Figura 11A. La señal reversible observada en 0,89 V puede ser asignada al par redox [Ru^{III/II} (bipi)₂(TPyP)Cl]^{2+/1+} por analogía con el potencial del par redox [Ru^{III/II} (bipi)₂(pi)Cl] (0,90 V) [Toma y Araki, 1993]. La

intensidad de esta señal es cuatro veces mayor que las observadas a potenciales negativos y provee un fuerte soporte de la composición del macrociclo. Cabe señalar que una metalación parcial o la presencia del complejo de rutenio precursor pueden ser fácilmente detectados por voltametría cíclica, ya sea, por la disminución de la intensidad relativa de la señal en 0,89 V o por la presencia de una señal adicional en 0,52 V correspondiente a la especie $\text{Ru}(\text{bipi})_2\text{Cl}_2$ que no ha reaccionado. La aparición de una sola señal reversible en 0,89 V en las porfirinas tetra-rutenadas es coherente con el comportamiento general de los sistemas polinucleares que contienen grupos redox idénticos. En este caso, se ha demostrado que las respuestas corriente vs potencial presentan la misma forma que la obtenida con la molécula correspondiente que contiene un solo centro, pero la magnitud de la corriente se ve incrementada por la presencia de centros electro-activos adicionales, esta sería la razón de la mayor intensidad del par redox de rutenio. A potenciales negativos una onda reversible en -0,74 V es seguida por otra en -1,02 V como se observa en la Figura 11A. Estas exhiben intensidades comparables y no se encuentran en la voltametría cíclica del complejo $[\text{Ru}^{\text{III/II}}(\text{bipi})_2(\text{pi})\text{Cl}]$ sugiriendo procesos redox monoelectrónicos consecutivos en el anillo de porfirina.

Los perfiles voltamétricos para CoTRP, NiTRP y ZnTRP son muy similares al descrito para H_2TRP como se muestra en la Figura 11B, C y D. Sin embargo, hay que destacar una leve diferencia para los macrociclos CoTRP y NiTRP que presentan un par redox adicional centrado alrededor de los 0 V correspondiente a los procesos redox del metal central coordinado a la porfirina, esto es, $\text{Co}^{\text{III/II}}$ y $\text{Ni}^{\text{III/II}}$ [Araki y Toma, 1999; Araki y Toma, 2006; Mayer y col., 2006].

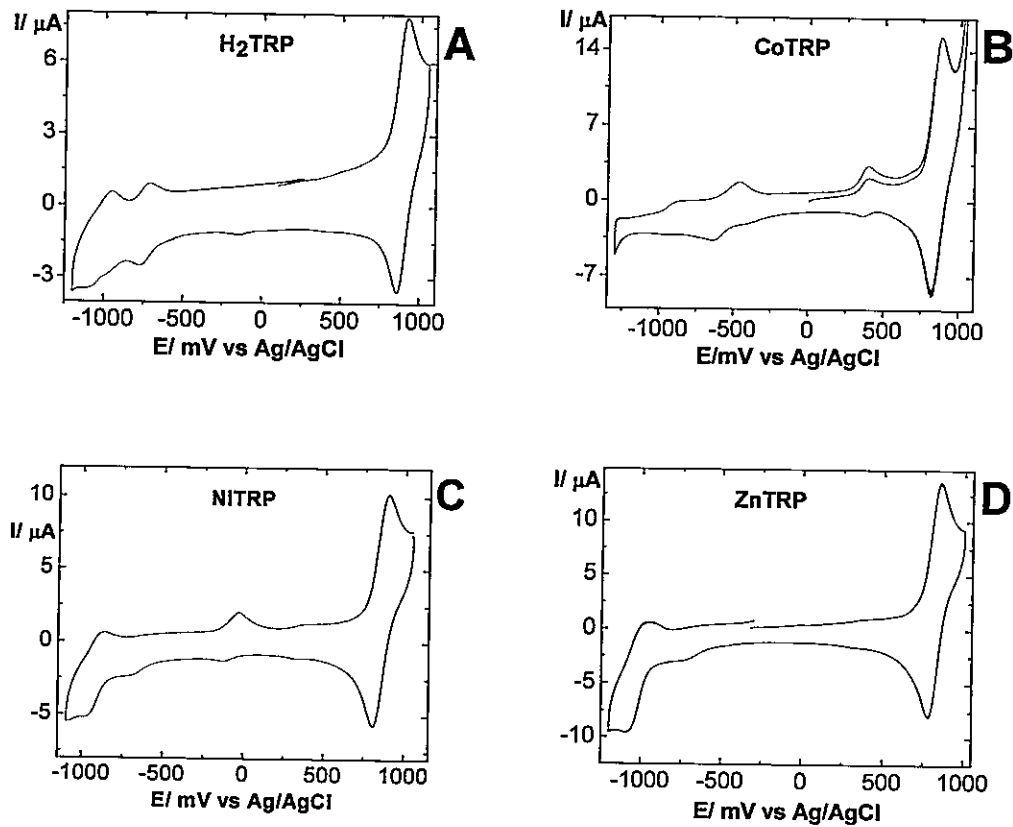


Figura 11: Perfiles voltamétricos de: A) H_2TRP ; B) CoTRP ; C) NiTRP y D) ZnTRP 1mM en ACN. Intervalo de potencial -1,3 a 1V ($v = 100 \text{ mV/s}$). Radio electrodo 1,5 mm.

En la tabla 16 se resumen los procesos redox y la respectiva asignación para cada uno de ellos, esta información es consistente con la reportada previamente por Toma [Toma y Araki, 2006].

Tabla 16. Resumen de procesos electroquímicos de los macrociclos.

	H ₂ TRP [(E _{pa} -E _{pc})/2] V	CoTRP [(E _{pa} -E _{pc})/2] V	NiTRP [(E _{pa} -E _{pc})/2] V	ZnTRP [(E _{pa} -E _{pc})/2] V
Proceso redox Ru ^{III/II} complejo periférico.	0,89	0,85	0,85	0,82
Proceso cuasi-reversible Co ^{III/II} .	---	0,38	---	---
Proceso cuasi-reversible Ni ^{III/II} .	---	---	-0,075	---
Reducción anillo porfirina al anión π-radical.	-0,74	-0,55	-0,65	-0,70
Reducción anión π-radical de porfirina al dianión.	-1,02	-0,92	-0,92	-1,02

3.2 DESARROLLO DE ELECTRODOS MODIFICADOS CON PORFIRINAS TETRA-RUTENADAS

3.2.1 Matriz Nafion (Nf)

Para generar los electrodos se ensayaron dos protocolos diferentes, el primero depositando alternadamente 5 μL , ya sea, de una solución de Nafion y/o H_2TRP (*drop coating*) y el segundo por inmersión de la superficie electródica en estas soluciones también de forma alternada (*dip coating*).

La estabilidad de los electrodos generados por ambos métodos se evaluó por ciclado continuo de potencial entre 0 y 1 V y se definió en función del decaimiento de la onda voltamétrica asociada al proceso redox $\text{Ru}^{\text{III/II}}$. Del conjunto de electrodos modificados ensayados (ver Tabla 7) no se obtuvieron respuestas estables con EM1a, EM2a y EM3a (Figura 12), ya que después de 10 ciclos la señal decayó un 35% en promedio por lo que esos protocolos fueron descartados inmediatamente, mientras que los resultados estables en la medición se obtuvieron con EM1c, EM2c y EM3c (Figura 13).

En conclusión, el protocolo que resultó más efectivo fue aquel que independientemente del método utilizado para disponer el Nafion sobre la superficie electródica, incorpora la H_2TRP por inmersión del electrodo en una disolución metanólica durante 4 min.

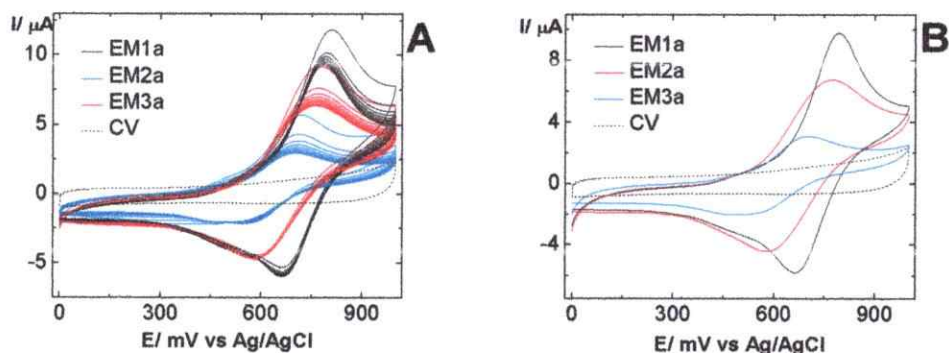


Figura 12: A) Ciclado continuo de potencial y B) perfil voltamétrico después del último ciclo para EM1a, EM2a y EM3a en NaClO_4 0,1 M entre 0 y 1 V. Línea punteada perfil voltamétrico de carbón vítreo, velocidad de barrido 100 mV/s.

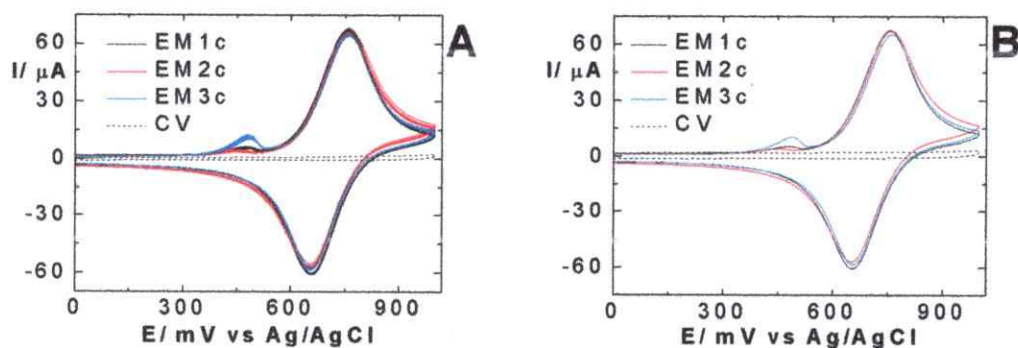


Figura 13: A) Ciclado continuo de potencial y B) perfil voltamétrico después del último ciclado EM1c, EM2c y EM3c en NaClO_4 0,1 M entre 0 y 1 V. Línea punteada perfil voltamétrico de carbón vítreo, velocidad de barrido 100mV/s. Radio electrodo 1,5 mm.

Posteriormente, las tres modificaciones más estables, esto es, EM1c, EM2c y EM3c fueron chequeadas mediante una evaluación rápida de su carácter electrocatalítico frente a la reducción de NaNO_2 0,01M (Figura 14).

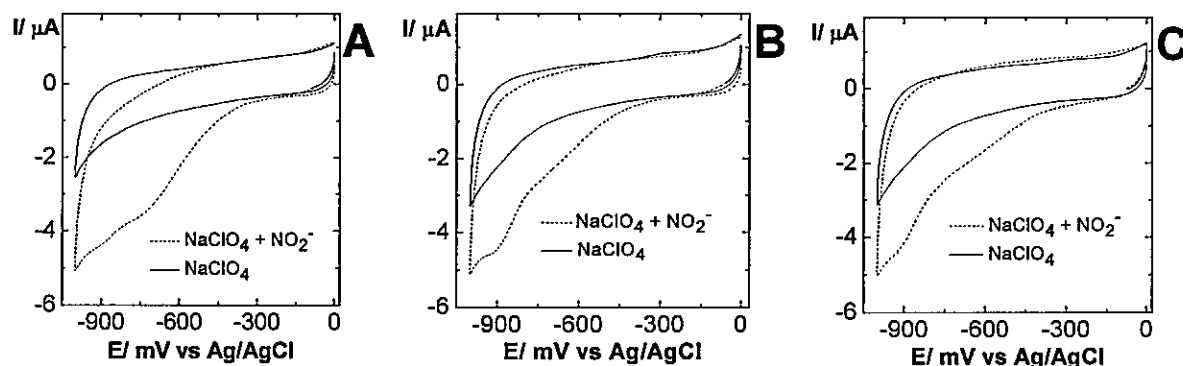


Figura 14: Efecto electro-catalítico de A) EM1c, B) EM2c y C) EM3c en NaClO_4 0.1M entre -1 y 0 V a 100 mV/s. Línea sólida corresponde al electrodo modificado en ausencia de NO_2^- . Línea punteada corresponde al electrodo modificado en presencia de NO_2^- 0,01 M. Radio electrodo 1,5 mm.

De la Figura 14 se desprende que todos los electrodos reducen nitrito aproximadamente al mismo potencial, hecho por el cual la evaluación electro-catalítica de los electrodos modificados se llevo a cabo en función del incremento en la corriente.

De acuerdo a los parámetros anteriormente descritos el mejor electrodo modificado de acuerdo a su estabilidad y efecto electro-catalítico es EM1c. Por otra parte, se evaluó el efecto de la concentración del complejo en la modificación encontrándose que 1mM de H_2TRP es la concentración óptima.

En conclusión, se estableció que el protocolo de modificación para la matriz de Nafion es: A la superficie de carbón vítreo recién pulida se le adicionan 5 μL de Nafion al 1%. Una vez seca, la superficie se sumerge en una solución metanólica de M-TRP 1mM durante 4 minutos. Esta modificación será denotada CV/Nf/MTRP.

Una vez establecido el protocolo de modificación se evaluó nuevamente la estabilidad de la modificación tras la realización de 20 ciclos continuos de potencial y se midió el

decaimiento de la onda voltamétrica asociada al proceso redox $\text{Ru}^{\text{III/II}}$. La corriente no decae más del 5% respecto a la corriente inicial y la reproducibilidad de la modificación mediante el coeficiente de variación que resultó de 4,14%.

3.2.2 Matriz Nafion/Nanotubos de carbono (Nf/NTC)

La utilización de nanotubos de carbono fue incorporada en la parte electro-analítica de la presente tesis con el propósito de mejorar los límites de detección y evaluar su efecto dentro de la película.

La preparación de electrodos modificados con fines analíticos debe cumplir ciertos criterios básicos, entre los que destacan la reproducibilidad y estabilidad de la modificación. Así, por ejemplo, la utilidad del electrodo depende de manera crítica de su capacidad para transducir una concentración o la naturaleza de un analito de una forma predecible y reproducible. Sin embargo, es de esperar que la respuesta dependa del método de preparación del electrodo modificado, y en particular, de factores tales como el recubrimiento superficial, la composición y la morfología de la película modificadora. Entre los electrodos modificados, los que presentan la mejor reproducibilidad y estabilidad son los preparados con Nafion, es por esta razón que los NTC fueron incorporados en esta modificación. En primera instancia, se intentó incorporar los nanotubos de carbono sobre la modificación previamente optimizada, pero no fue posible debido a que ocurría un desprendimiento de la MTRP de la modificación, provocando la formación de aglomerados en solución. Esto probablemente es debido a que la interacción NTC-MTRP es más fuerte que entre Nf-MTRP. Luego de diversos

cambios se logró modificar el electrodo utilizando el siguiente protocolo: la superficie electródica se modifica con 8 μL de una dispersión preparada a partir de 1 mg de NTCPM y 5 mM de CoTRP en 1 ml de Nafion al 1% (dispersión sonicada durante 30 minutos). Este electrodo modificado presenta una buena estabilidad y su reproducibilidad es comparable a la de CV/Nf/MTRP, su perfil voltamétrico se presenta en la Figura 15.

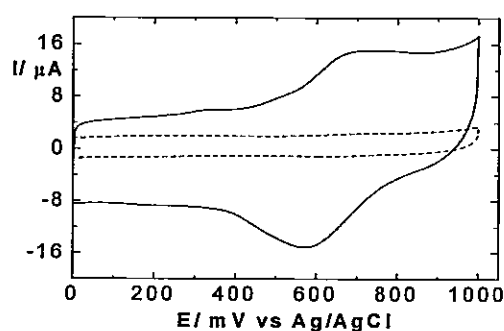


Figura 15: Perfil voltamétrico de CV/Nf/NTC/MTRP línea sólida y CV línea punteada NaClO_4 0,1M entre 0 y 1V a 100 mV/s. Radio electrodo 1,5 mm.

3.2.3 Matriz PVC

Las modificaciones se realizaron depositando 5 μL de una mezcla generada a partir de la agitación continua de PVC y H_2TRP disueltos en acetona/THF sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo. De esta manera, se obtiene una película muy frágil y poco resistente incluso en ausencia de potencial aplicado. Con el fin de aumentar la resistencia de la película se incorporó 2-nitrofeniloctil éter como plastificante.

En primera instancia a una concentración fija de PVC se añadieron concentraciones crecientes de H_2TRP . Posteriormente, el electrodo modificado con esta mezcla se evaluó

por voltametría cíclica en el intervalo de potencial comprendido entre -1 y 1V hasta vislumbrar el par redox asociado al $\text{Ru}^{\text{III/II}}$ (Figura 16).

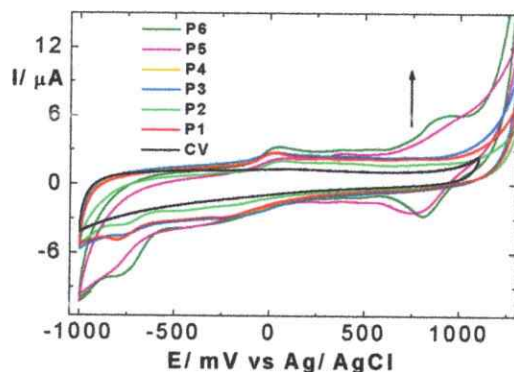


Figura 16: Perfil voltamétrico de electrodos modificados en presencia de (P1) 0,5mg; (P2) 1mg; (P3) 1,5mg; (P4) 2mg; (P5) 2,5mg y (P6) 3mg de H_2TRP en NaClO_4 , 0,1M entre -1 y 1V a 100mV/s. Radio electrodo 1,5 mm.

De la Figura 16 se concluye que la mínima cantidad de complejo en la película para que la señal de $\text{Ru}(\text{III})/(\text{II})$ sea visible por voltametría cíclica es 3 mg. Además, se evaluó el tiempo de agitación mediante la comparación de las respuestas voltamétricas de la película después de 1, 2, 3 y 4 horas de agitación, no presentándose cambios significativos, sin embargo para los futuros trabajos se decidió agitar la mezcla durante 90 minutos. Por otra parte, no solo el proceso asociado al par redox $\text{Ru}^{\text{III/II}}$ es visible, es posible distinguir también otras señales en -0,3 y -0,8 V. Con el fin de asignar las señales que aparecen a potenciales más negativos se modificó el electrodo con: a) mezcla de PVC en ausencia tanto de plastificante como de H_2TRP y b) mezcla PVC en ausencia de H_2TRP (no mostrados). Los resultados sugieren que las señales observadas corresponden a procesos redox del plastificante, específicamente de su grupo nitro

presente en la estructura. La Figura 17 presenta la caracterización de 2-nitrofeniloctil éter en NaClO_4 .

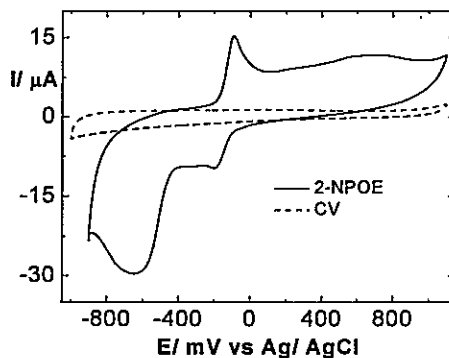


Figura 17: Perfil voltamétrico de 2-NPOE en NaClO_4 0,1M entre -1 y 1V a 100 mV/s. Radio electrodo 1,5 mm.

Las señales asociadas al 2-NPOE son interferentes en la aplicación de estos electrodos modificados en la reducción tanto de CO_2 como de NO_2^- , por esta razón se cambió el plastificante a dibutilftalato (DBP).

Una nueva mezcla se realizó intercambiando 2-NPOE por DBP. Sin embargo, esta nueva película es menos conductora que el carbón vítreo asociado directamente con el cambio de plastificante, ya que si comparamos las estructuras de ambos, se tiene que el DBP posee dos cadenas hidrocarbonadas en comparación con solo una del 2-NPOE (Figura 18). Posiblemente es este hecho el que le otorga carácter de aislante eléctrico.

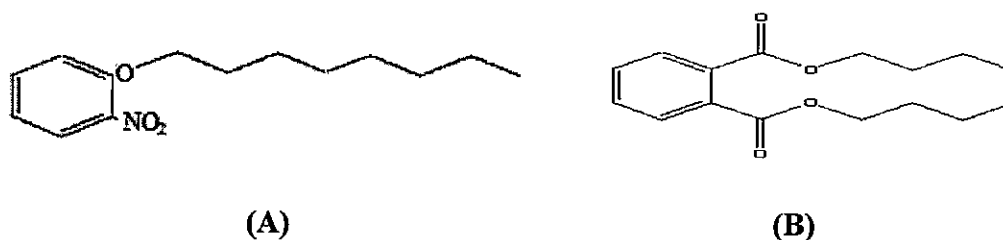


Figura 18: Estructuras de A) 2-NPOE y B) DBP.

Se pensó que una manera de evitar este problema sería disminuir la cantidad de plastificante en la mezcla o adicionar sales que aumentaran la conductividad de la película. Tras varios intentos que incluyeron variar la cantidad de PVC y la incorporación de diversas sales, se llegó a una composición óptima de la mezcla estableciendo el protocolo de modificación para la matriz de PVC como sigue: a partir de 16 mg de PVC, 3 mg de MTRP, 100 mg trifluorometanosulfonato de litio (LiTFMS) y 2 μL DBP en 2 ml de THF: Acetona (1:1) se genera una mezcla la que es agitada durante 90 minutos. El electrodo de carbón vítreo es modificado por la incorporación de 5 μL de esta mezcla en su superficie. Esta modificación será denotada CV/PVC/MTRP.

Una vez optimizado el protocolo de modificación se realizaron 20 ciclos continuos de potencial para evaluar la estabilidad de la modificación en función del decaimiento de la señal voltamétrica asociada al proceso redox Ru^{III} . En general la corriente no decae más del 10% respecto a la corriente inicial. Se evaluó además la reproducibilidad de la modificación mediante el coeficiente de variación el que resulto de casi un 15%.

3.3 CARACTERIZACIÓN ELECTRODOS MODIFICADOS

Los electrodos modificados fueron caracterizados mediante:

- Microscopías de barrido electrónico (SEM)
- Microscopía de efecto tunel (TEM)
- Microscopía de barrido electroquímico (SECM)
- Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) (solo matriz Nafion)
- Microscopía Confocal (solo matriz PVC)
- Espectroscopía Raman
- Análisis Térmico (solo matriz PVC)

3.3.1 Matriz Nf

Con el fin de simplificar el montaje experimental las caracterizaciones SEM, TEM y AFM fueron realizadas en vidrios conductores ITO. La congruencia entre las modificaciones fue chequeada por análisis previos tanto electroquímicos como de microscopía. El protocolo de modificación del vidrio conductor es el siguiente: ITO es sumergido durante 30s en una solución alcohólica de Nafion al 1%, una vez seco es inmerso durante 4 minutos en una solución metanólica de MTRP (1mM). El electrodo ITO/Nf/MTRP es dejado secar a temperatura ambiente y finalmente enjuagado con agua desionizada.

3.3.1.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes SEM para ITO/Nf se presentan en la Figura 19, observándose que el Nafion forma nódulos regulares en la superficie del electrodo ITO.

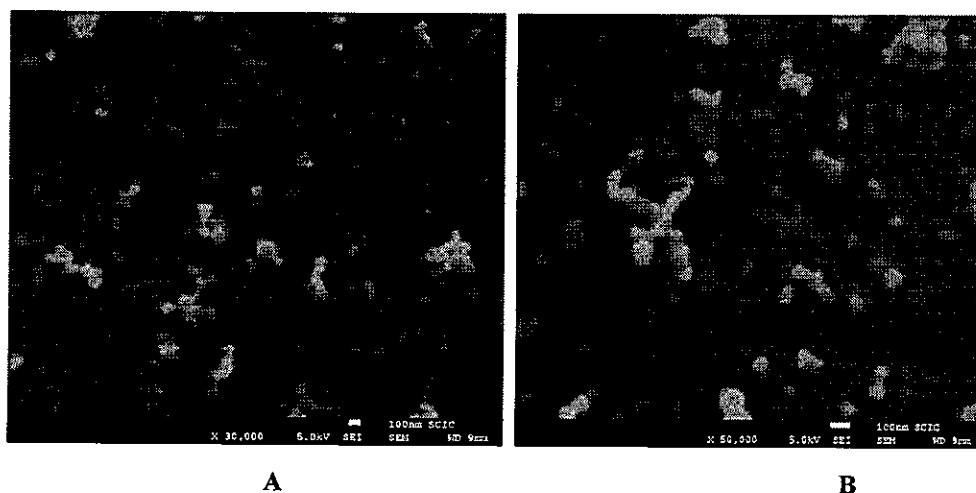


Figura 19: Imágenes SEM de ITO/Nf A) 30000X y B) 50000X.

Cuando ZnTRP es incorporado a la modificación (Figura 20) la superficie se vuelve más densa y homogéneamente, además el análisis EDX corrobora la presencia de rutenio en la superficie. Es conocido que el ligando de bipyridina puede ser considerado como un sistema π -extendido y lo suficientemente plano como para facilitar las interacciones por apilamiento entre moléculas adyacentes, como por ejemplo: i) bipi-bipi, ii) bipi-sistema π porfirínico y iii) sistema π porfirínico- sistema π porfirínico [Da Rocha y col., 2002].

Por otra parte, es reconocida la existencia de dos tipos de interacciones entre el macrociclo y Nafion [García-Fresnadillo y col., 1999; Sabatini y col., 1996]. Primero, una interacción electrostática entre los grupos sulfonato dentro de los poros hidrofílicos de la estructura del polielectrólito y las cargas positivas de ZnTRP, mientras la segunda interacción será de naturaleza hidrofóbica entre la cadena fluorocarbonada de Nafion y el sistema π del anillo aromático. De acuerdo a estos resultados se puede suponer que las porfirinas tetra-rutenadas deben estar dentro de los poros de Nafion y en las regiones hidrofóbicas formando un apilamiento de las capas de espesor suficiente para prevenir la

exposición directa del polielectrolito a la solución electrolítica [Cañete y col., 2008; Isaacs y col., 2006]. Finalmente, los electrodos modificados ITO/Nf/NiTRP e ITO/Nf/CoTRP (no mostrados) presentan un comportamiento similar al exhibido por ITO/Nf/ZnTRP.

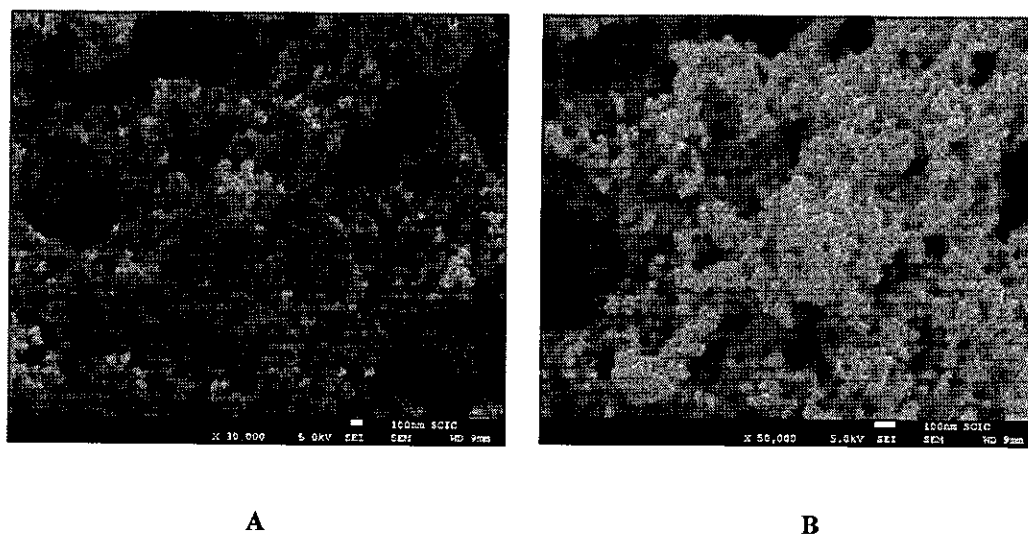


Figura 20: Imágenes SEM de ITO/Nf/ZnTRP A) 30000X y B) 50000X.

3.3.1.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Usando microscopía de transmisión electrónica fue posible verificar la existencia de poros en la superficie modificada cuando Nafion es la única especie en la superficie (Figura 21A). Por otro lado, las Figuras 21B-C muestran imágenes TEM a diferentes resoluciones para la modificación Nf/ZnTRP, donde es posible distinguir los poros, aunque estos son difusos debido al incremento en el grosor de la película por la inclusión del macrociclo. En estos poros difusos es posible suponer una alta densidad electrónica que se explica como consecuencia del apilamiento de las porfirinas. En la Figura 21C es posible observar que en las zonas densas dispuestas en la Figura 21B hay sitios que

presentan una densidad electrónica mayor con un diámetro aproximado de 5nm, valor que se ajusta al diámetro de una unidad de MTRP [Toma y Araki, 2000].

Finalmente, cabe señalar que este análisis fue realizado sólo para Nf y Nf/ZnTRP, puesto que no es posible realizar este análisis en presencia de compuestos paramagnéticos.

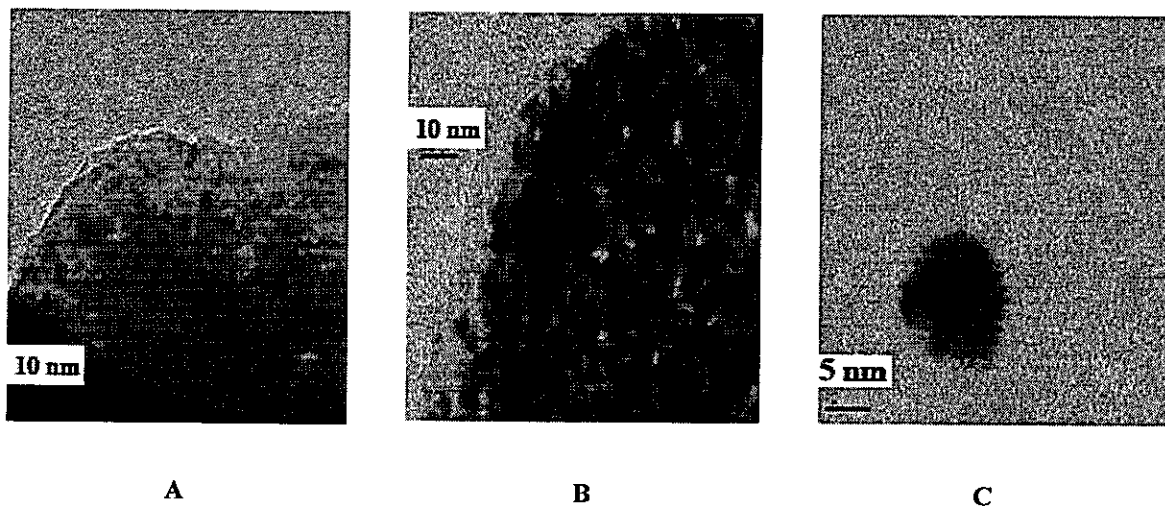


Figura 21: Imágenes TEM de A) ITO/Nf 10nm, B) ITO/Nf/ZnTRP 10nm y C) ITO/Nf/ZnTRP 5nm.

3.3.1.3 Espectroscopía Raman

En la Figura 22 se presenta el espectro Raman del complejo CoTRP sólido (A), donde las principales señales corresponden a vibraciones: i) del esqueleto de la porfirina en 1369, 1249 y 404 cm^{-1} , ii) del ligando de bipyridina en 1500 y 1318 cm^{-1} , iii) asociados con las fuertes vibraciones de piridinas acopladas con el sistema π del anillo porfirinico en 1217 y 1020 cm^{-1} , iv) que involucran los modos degenerados de los grupos piridina y bipyridina puenteados en 1608 y 1564 cm^{-1} [Araki y col., 1995]. El espectro (B) es el obtenido para el electrodo modificado CV/Nf/CoTRP. Al comparar los espectros no se observan diferencias notables, lo que indica que CoTRP no cambia su estructura, ni hay

formación de nuevos enlaces entre los grupos sulfonato y el complejo. Los espectros de NiTRP y ZnTRP y sus correspondientes electrodos modificados resultaron completamente equivalentes.

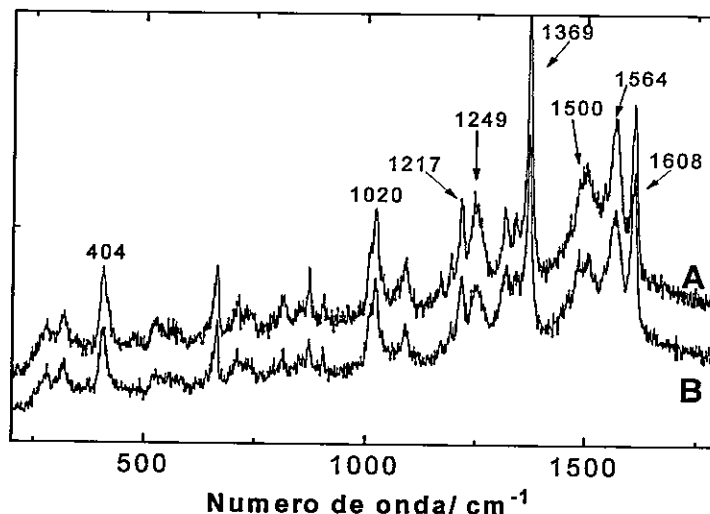


Figura 22: Espectro Raman de A) CoTRP sólido y B) CV/Nf/CoTRP, ambos excitados con línea láser de 633 nm.

3.3.1.4 Microscopia de barrido electroquímico (SECM)

Como medidas complementarias las superficies fueron además caracterizadas por SECM usando FcOH como mediador redox y modo feedback, de esta manera se obtuvo información acerca de la electroactividad de las superficies resultantes.

La Figura 23 se presentan las imágenes de superficies SECM 2 y 3D para las modificaciones CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP. Como muestra la Figura 23, la superficie electródica CV/Nf revela una actividad electroquímica irregular, este hecho puede explicarse en función de los poros presentes en la película de polielectrolito. Esto es, mediante la oxidación de FcOH se genera FcOHox

positivamente cargado el que podría ser absorbido en los poros negativos del Nafion, cubriendo la superficie y evitando cualquier transferencia de carga en esta zona. El carácter adsorptivo de FcOHox también se observó en los perfiles voltamétricos de FcOH en CV/Nf (no mostrado). En contraste, la cadena fluorocarbonada mantendría su superficie libre de especies adsorbidas mostrando zonas de actividad electroquímica homogénea.

Por otra parte, CV/Nf/MTRP presentó valores de corriente normalizada constantes, lo que se traduce en electrodos modificados de actividad electroquímica homogénea [Leroux y col., 2010; Lu y col., 2006; Lu y col., 2010; Okunola y col., 2009]. Los resultados nuevamente confirman la interacción entre el polielectrólito y el macrociclo mediante la formación de una capa de espesor suficiente para cubrir por completo la superficie de Nafion, incluso sus poros. De esta manera, se obtiene una actividad electroquímica homogénea debido a que FcOHox no puede difundir en los poros del polielectrólito.

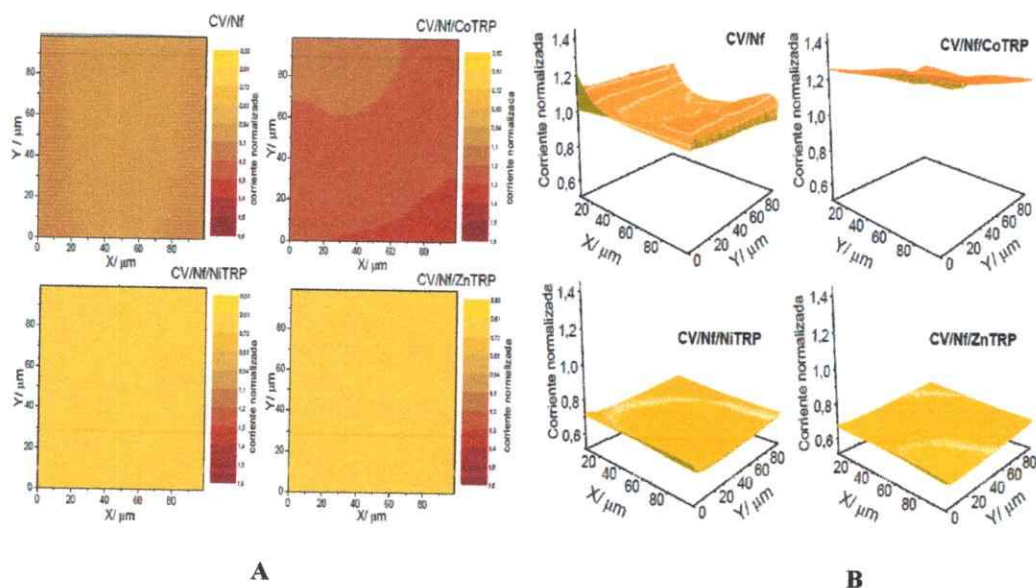


Figura 23: Imágenes de superficie SECM A) 2D y B) 3D de CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP. Radio electrodo 1,5 mm.

Por otra parte, mediante el uso de SECM fue posible comparar el efecto del metal presente en la cavidad central del macrociclo a través del desempeño de CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP frente a la oxidación electroquímica de FcOH. La Figura 24, presenta una grafica comparativa de la respuesta electroquímica a través del mapeo 3D de cada superficie modificada. Es claramente perceptible la mayor respuesta electroquímica de CoTRP sobre sus análogos de Ni y Zn, hecho que puede ser interpretado en función de los electrones d no apareados presentes en el centro de Co (d⁷), donde esta configuración electrónica debería proporcionar una mejor conductividad.

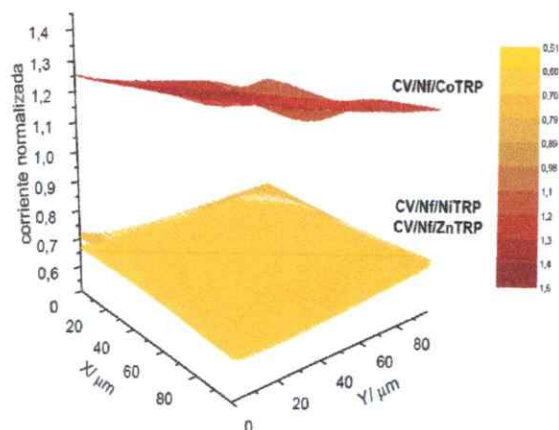


Figura 24: Comparación de imágenes de superficie SECM 3D de CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP. Radio electrodo 1,5 mm.

3.3.1.5 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Utilizando microscopía de fuerza atómica fue posible estimar el espesor de las películas ITO/Nf e ITO/Nf/ZnTRP las cuales presentaron valores promedios de 35 y 190 nm, respectivamente (Figuras 25A-B), para los macrociclos de Co y Ni los valores de espesor están en el mismo orden de magnitud. El valor obtenido es consistente con la hipótesis propuesta anteriormente, donde ZnTRP está dispuesta sobre el polielectrolito en una capa lo suficientemente gruesa como para impedir el contacto directo del Nafion con la disolución.

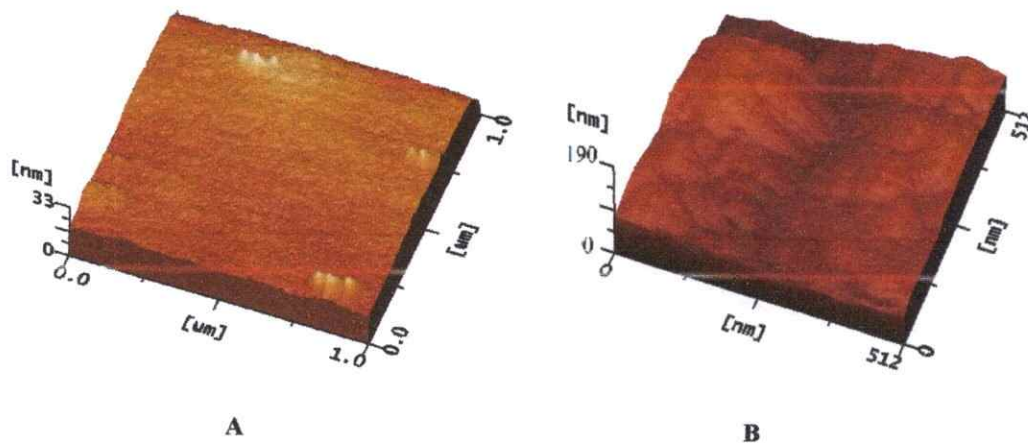


Figura 25: Imágenes AFM de A) ITO/Nf y B) ITO/Nf/MTRP.

De acuerdo a los datos entregados por las distintas micrografías y microscopías se postuló una representación de la disposición espacial más probable tanto del Nafion como de las MTRP's sobre la superficie electródica, tal como se presenta en la Figura 26.

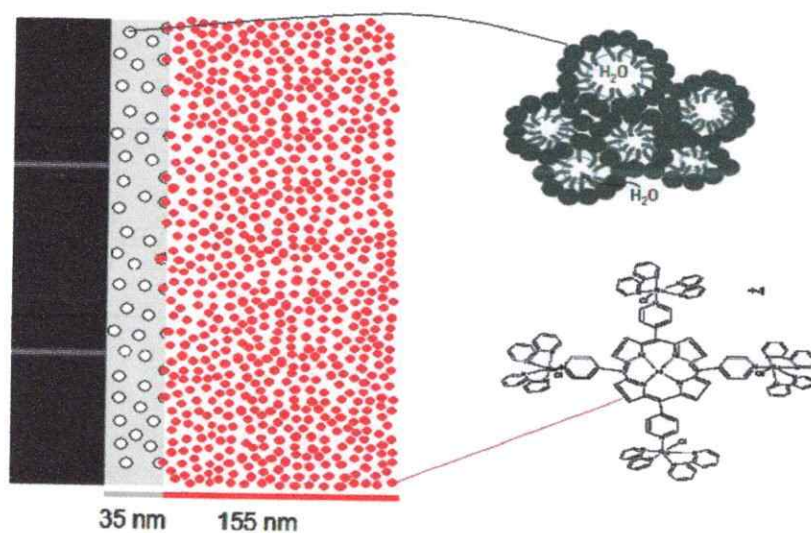


Figura 26: Representación esquemática posible disposición de Nf/MTRP sobre la superficie electródica. Los círculos rojos corresponden a MTRP's.

3.3.2 Matriz Nf/NTC

3.3.2.1 Microscopía de barrido electroquímico (SECM)

Los experimentos SECM se realizaron utilizando FcOH como mediador redox y modo feedback. La Figura 27 muestra imágenes de superficies SECM 2D y 3D para las modificaciones CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NTC y CV/Nf/NTC/CoTRP.

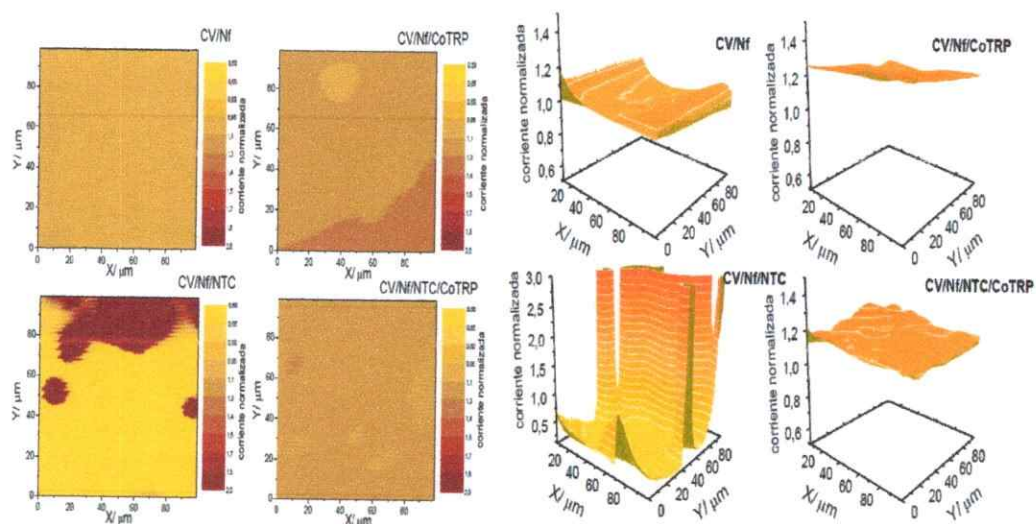


Figura 27: Imágenes de superficie SECM A) 2D y B) 3D de CV/Nf, CV/Nf/CoTRP, CV/NTC y CV/Nf/NTC/CoTRP. Radio electrodo 1,5 mm.

La actividad electroquímica tanto de CV/Nf como de CV/Nf/CoTRP se expuso en la sección 3.3.1.4 y en esta instancia solo se muestran como punto de comparación.

Como se observa en la Figura 27, el electrodo modificado CV/Nf/NTC presenta altos y dispares valores de corriente normalizada, clara evidencia del aumento de superficie activa que se genera en la superficie electródica al incorporar NTC en la modificación. Sin embargo, los resultados no sólo se traducen en un aumento de la actividad

electroquímica, si no también en un aumento de la rugosidad de la superficie debida principalmente a una pobre dispersión generando una alta e irregular densidad de NTC en la superficie. Por otra parte, cuando se incorporó la CoTRP a la dispersión se genera una película modificadora bastante homogénea con valores de corriente similares a CV/Nf/CoTRP, pero de mayor rugosidad como se aprecia en la Figura 27. Esto da cuenta de interacciones específicas entre la CoTRP y los NTC que permiten una mejor dispersión de éstas y por ende una modificación más homogénea.

3.3.3 Matriz PVC

Con el fin de simplificar el montaje experimental las caracterizaciones SEM, TEM y AFM fueron realizadas en vidrios conductores ITO. La congruencia entre las modificaciones fue chequeada por análisis previos tanto electroquímicos como de microscopía. El protocolo de modificación del vidrio conductor es el siguiente: durante 90 minutos es agitada una mezcla generada a partir de 80% PVC, 16% M-TRP y 4% DBP en acetona/THF 1:1. El aditivo LiTFMS es añadido en relación a la cantidad añadida de MTRP. La modificación del ITO se lleva a cabo por inmersión durante 30s en la mezcla anteriormente descrita. Una vez seco el electrodo es enjuagado con agua desionizada.

3.3.3.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes SEM para ITO/PVC se presentan en la Figura 28, la modificación con PVC genera nódulos de diámetro irregular estimado entre los 100 y 500 nm en la superficie del vidrio conductor. En el PVC el átomo de cloro enlazado a cada átomo de carbono le confiere características principalmente amorfas. Además, la adición de DBP como plastificante aumenta el volumen libre entre las cadenas del polímero aumentando la movilidad entre cadenas, es decir, su flexibilidad lo que da lugar a torsiones, pliegues y dobleces que impiden la ordenación de cada segmento aumentando su carácter amorfo [Billmeyer, 1979]. Entonces es coherente pensar que los nódulos anteriormente mencionados corresponden a cadenas enmarañadas del polímero dispuesto sobre la superficie electródica.

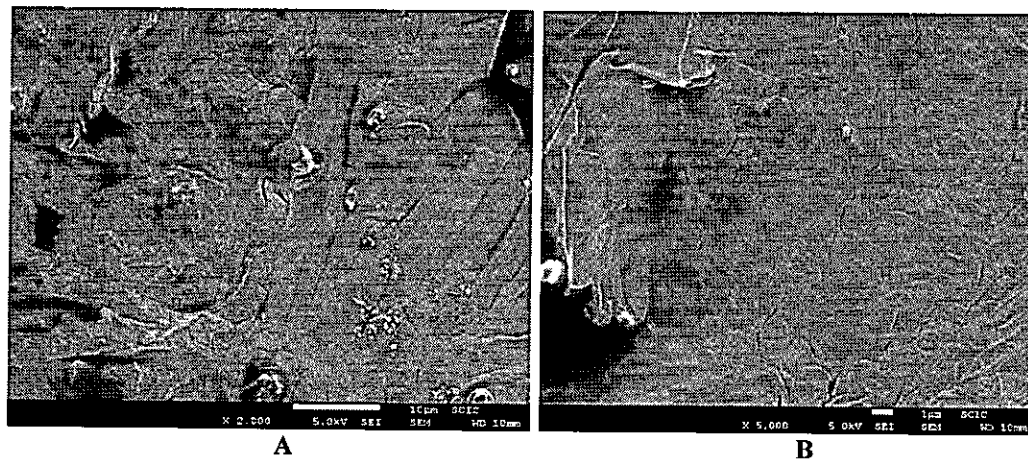


Figura 28: Imágenes SEM de ITO/PVC A) 2000X y B) 5000X.

Cuando ZnTRP es incorporado a la modificación, al igual que el ITO/PVC se observan nódulos pero esta vez mucho más regulares y distribuidos homogéneamente en la superficie del ITO (Figura 29).

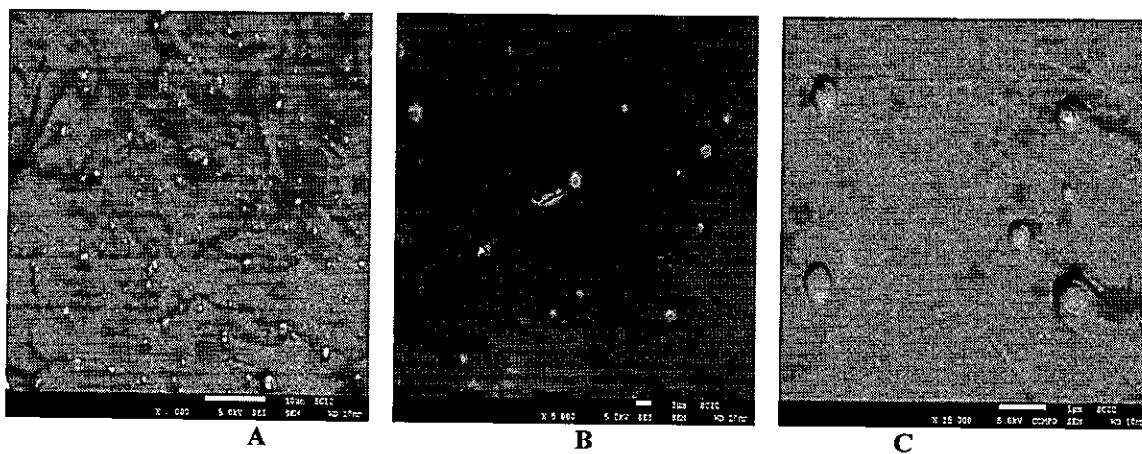


Figura 29: Imágenes SEM de ITO/PVC/ZnTRP A) 2000X, B) 5000X y C) 15000X.

3.3.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las imágenes TEM para la modificación ITO/PVC se muestran en la Figura 30 y confirman las características observadas mediante SEM.

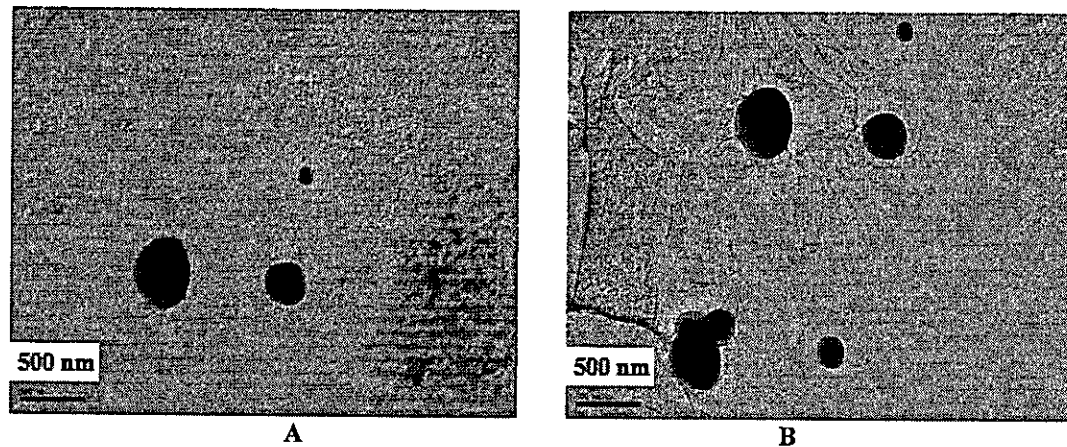


Figura 30: Imágenes TEM de ITO/PVC A) 500nm y B) 500nm.

En la figura 31, se presentan las micrografías para el electrodo modificado ITO/PVC/ZnTRP.

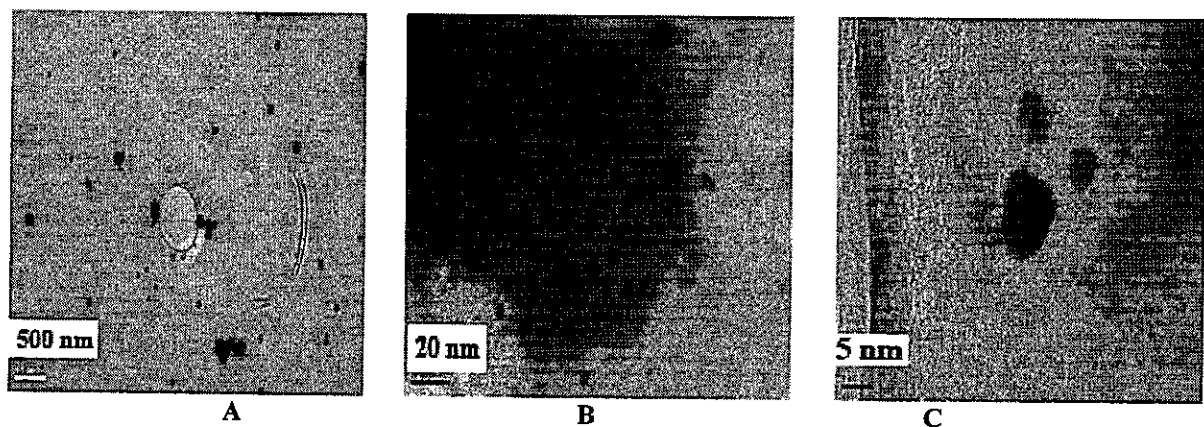


Figura 31: Imágenes TEM de ITO/Nf/ZnTRP A) 500nm, B) 20nm y C) 5nm.

A partir de las imágenes TEM de ITO/PVC/ZnTRP (Figura 31) es posible discriminar algunas zonas de alta densidad electrónica en el interior de estos nodos, el diámetro aproximado está entre los 3 y 5 nm como lo confirma la Figura 31C y coincide con el diámetro de la porfirina tetra-rutenada [Toma y Araki, 2000].

Al generar la mezcla las cadenas de PVC tienen mayor movilidad y se distribuyen homogéneamente al azar. Sin embargo, cuando 5 μL de ésta son depositados en la superficie electródica y después que el solvente ha sido totalmente evaporado, las cadenas de polímero tienden a enmarañarse formando un ovillo macromolecular [Billmeyer, 1979]. De esta manera podría ser explicada la formación de nódulos irregulares en la superficie del electrodo. Por otra parte, cuando las MTRP's forman parte de la mezcla, estas también se distribuyen de manera homogéneamente al azar en la solución. Como resultado, al modificar el electrodo éstas quedarían atrapadas entre las cadenas polímero, dando lugar a nódulos regulares y homogéneamente dispuestos en la superficie electródica. Las MTRP's en este caso actuarían como una especie de "dispersante", hecho que origina la formación de nódulos bastante más regulares que los formados en su ausencia. Las interacciones más probables entre PVC y MTRP serán de naturaleza hidrofóbica entre la cadena clorocarbonada del PVC y el sistema π de las MTRP's [Zhao y col., 1999].

Los electrodos modificados ITO/Nf/NiTRP e ITO/Nf/CoTRP (no mostrados) presentan un comportamiento similar al exhibido por ITO/Nf/ZnTRP.

3.3.3.3 Espectroscopia Raman

En la Figura 32 se muestra el espectro Raman de los electrodos modificados CV/PVC y CV/PVC/CoTRP

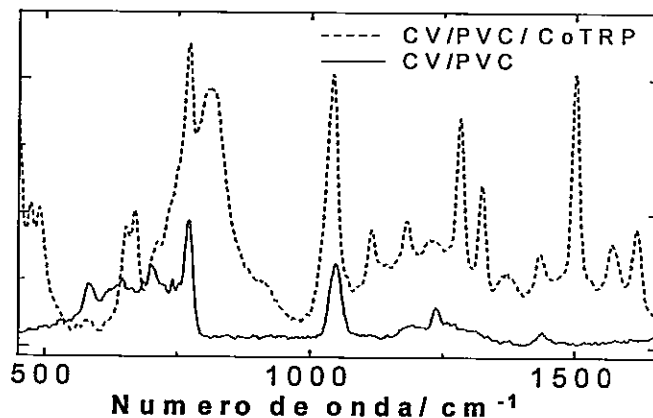


Figura 32: Espectros Raman de CV/PVC y CV/PVC/CoTRP excitados con línea láser 633 nm.

Las principales bandas para ITO/PVC corresponden al estiramiento C-Cl de las diferentes conformaciones del PVC (vibraciones en la zona cristalina y amorfa) en la región comprendida entre 600-800 cm^{-1} ; modo vibracional de giro alrededor de los $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 1230 cm^{-1} y la flexión de CH_2 a 1430 cm^{-1} [Voyiatzis y col., 2000]. Estudios realizados con dioctilftalato (plastificante de estructura similar a DBP) asocian una banda alrededor de los 1050 cm^{-1} a un enlace C-O presente en su estructura [Reyes-Labarta y col., 2003]. Por lo tanto la señal intensa en 1020 cm^{-1} es asociada al plastificante presente en la mezcla, esto es, DBP. Por otra parte, las principales bandas del espectro Raman del complejo CoTRP sólido corresponden a las descritas anteriormente en el punto 3.3.1.3. Por otro lado, el espectro Raman del electrodo

modificado CV/PVC/CoTRP corresponde a la sumatoria de las bandas tanto de MTRP como PVC, sin embargo, hay que señalar que algunas bandas presentaron un leve corrimiento. De acuerdo a esto, podemos suponer que el complejo no cambia su estructura, descartando la formación de nuevos enlaces tanto con la matriz de PVC como con los aditivos. Los espectros para NiTRP y ZnTRP resultaron completamente equivalentes.

3.3.3.4 Microscopia de barrido electroquímico (SECM)

La Figura 33 muestra imágenes de superficie SECM 2 y 3D para las modificaciones CV/PCV, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP. Como lo exhibe la figura la superficie electródica CV/PVC revela una actividad electroquímica bastante regular en comparación con su análogo CV/Nf (Figura 23).

En contraste, para los electrodos modificados CV/PVC/MTRP los valores de corriente normalizada se vuelven muy dispares, éstos van desde valores cercanos a cero a otros que casi triplican la corriente obtenida con CV/PVC. La incorporación de MTRP en la modificación cumple un doble rol, por una parte actúa como electro-catalizador y por otra, provoca un aumento en la rugosidad de la película. Los resultados se traducen en superficies mucho más activas electroquímicamente, además de confirmar la formación de nodos, debido a los extremos valores de corriente obtenidos.

Por otra parte, no fue posible diferenciar el efecto del metal central presente en la cavidad^h central del macrociclo a través del desempeño de CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP frente a la reducción electroquímica de FcOH.

"
"

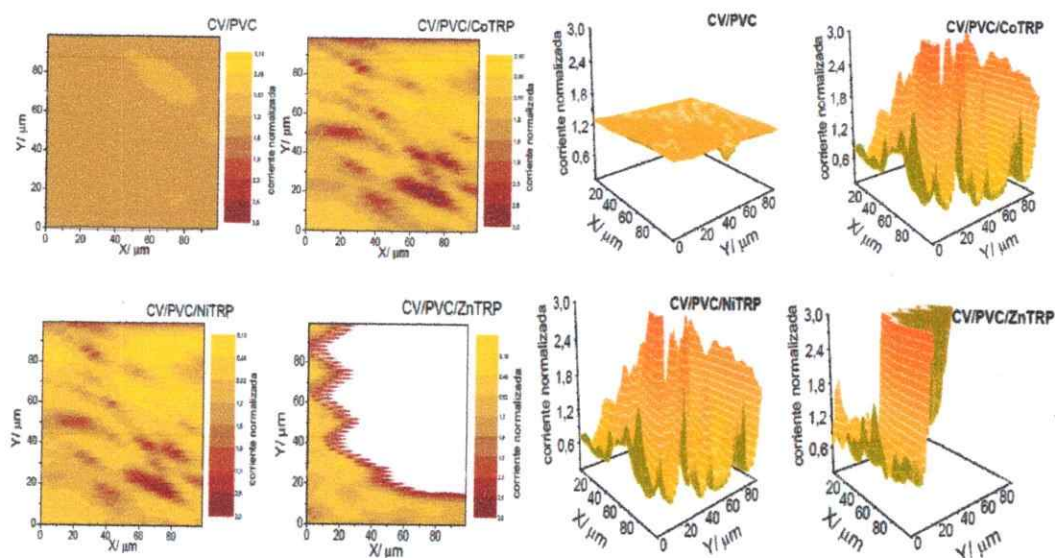


Figura 33: Imágenes de superficie SEMC A) 2D y B) 3D de CV/PVC, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP.

3.3.3.5 Microscopia confocal

Utilizando microscopía confocal fue posible promediar el espesor de las películas ITO/PVC/ZnTRP en $60 \mu\text{m}$ (Figura 34), para los macrociclos de Co y Ni los valores de espesor están en el mismo orden de magnitud (50 a $60 \mu\text{m}$). Como se mencionó anteriormente el espesor estimado es un valor promedio el que incluyó valores muy pequeños y otros lo suficientemente altos, resultado consistente con la hipótesis propuesta donde ZnTRP está dispuesta en nódulos de PVC formados sobre la superficie.

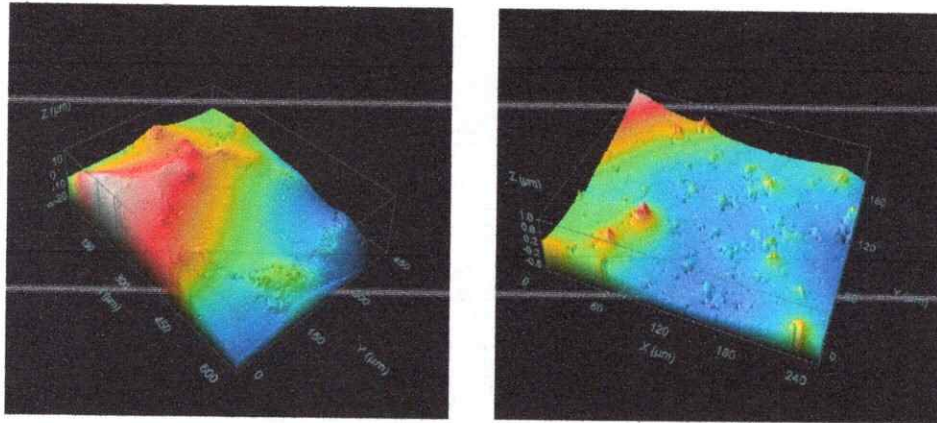


Figura 34: Imágenes micrográficas de ITO/PVC/ZnTRP.

3.3.3.6 Análisis termogravimétrico

En general el análisis termogravimétrico es usado para medir las propiedades térmicas de los materiales. En la figura 35, se muestra la variación de masa que experimenta tanto la mezcla de PVC con y sin MTRP además de algunos componentes de la misma en función de la temperatura.

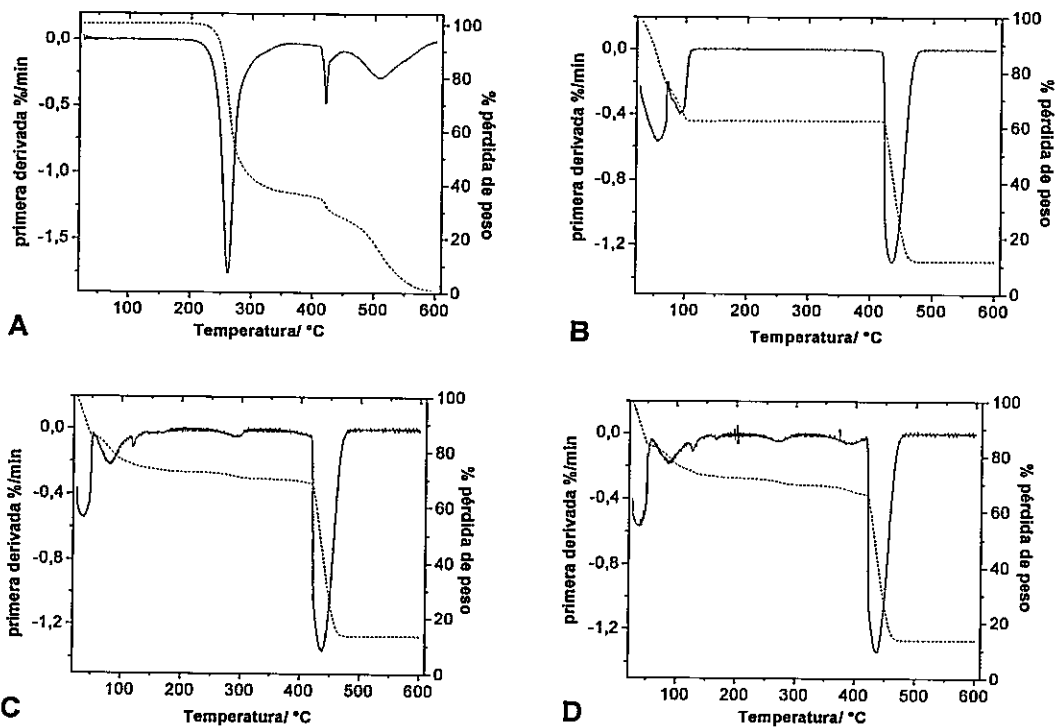


Figura 35: Análisis termogravimétrico de: A) PVC sólido; B) LiTFMS sólido; C) mezcla PVC y D) mezcla PVC/ZnTRP.

La Tabla 17 resume los valores de las señales mostradas en la figura 35.

Tabla 17. Pérdidas de masa de los distintos compuestos analizados. Donde d=débil, m=mediana e i=intensa.

	Perdida 1 / °C	Perdida 2 / °C	Perdida 3 / °C	Perdida 4 / °C	Perdida 5 / °C	Perdida 6 / °C	Perdida 7 / °C
A PVC sólido	---	---	---	261 (i)	420 (m)	---	508 (m)
B LiTFMS sólido	55 (m)	92 (m)	---	---	---	435 (m)	---
C Mezcla PVC	37 (m)	80 (d)	120 (d)	290 (d)	---	437 (i)	---
D Mezcla PVC/ZnTRP	36 (m)	85 (d)	125 (d)	270 (d)	390 (d)	437 (i)	---

Las señales por debajo de los 100 °C (perdidas 1 y 2) representan la pérdida de masa debido al solvente tanto para las mezclas (THF/acetona) como para LiTFMS, sólido altamente higroscópico.

En la figura 35A se observa el perfil de PVC sólido que exhibe pérdida de masa en 3 pasos, el primero a 260°C debido a la deshidroclorinación del polímero (pérdida de HCl), mientras que los dos siguientes (420 y 508°C) son referidos a la degradación continua del polímero, esto es, pirolisis de hidrocarburos lineales o cíclicos de bajo peso molecular [Singh y col., 2008; Belhanechu-Bensemra y col., 2003]. Mientras que, para LiTFMS (figura 35B) sólo tenemos una pérdida de masa correspondiente a la descomposición del producto (435°C).

Los perfiles de pérdida de masa obtenidos en el análisis de las mezclas tanto de PVC como PVC/ZnTRP se ilustra en la figura 35C y D respectivamente. Podemos notar la existencia de las mismas bandas en ambas, salvo por una señal en 390°C que correspondería a la primera degradación del PVC, la hipótesis del porqué no es visible en la mezcla en ausencia ZnTRP es que se solape con la banda debida a la

descomposición de LiTFMS. La pérdida de masa de los 3 pasos restante corresponde a: 1) 120°C pérdida de CO₂, 2) 270-290°C pérdida de HCl en las cadenas de PVC, 3) 437°C descomposición de LiTFMS.

De acuerdo a los datos entregados por las distintas micrografías y microscopías se postuló una representación de la disposición espacial más probable de las mezclas PVC/MTRP's sobre la superficie eléctrica, tal como se presenta en la Figura 36.

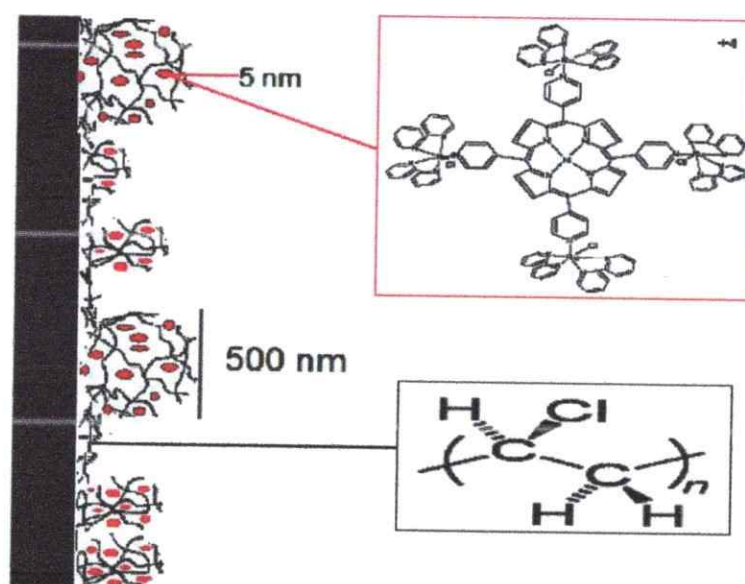


Figura 36: Representación esquemática posible disposición de PVC/MTRP sobre la superficie eléctrica. Los círculos rojos corresponden a MTRP's.

3.4 ESTUDIOS ELECTRO-CATALÍTICOS

3.4.1 Electroreducción de NO_2^-

3.4.1.1 Estudios voltamétricos

El comportamiento voltamétrico de CV, CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP frente a la reducción electroquímica de NO_2^- se presenta en la Figura 37.

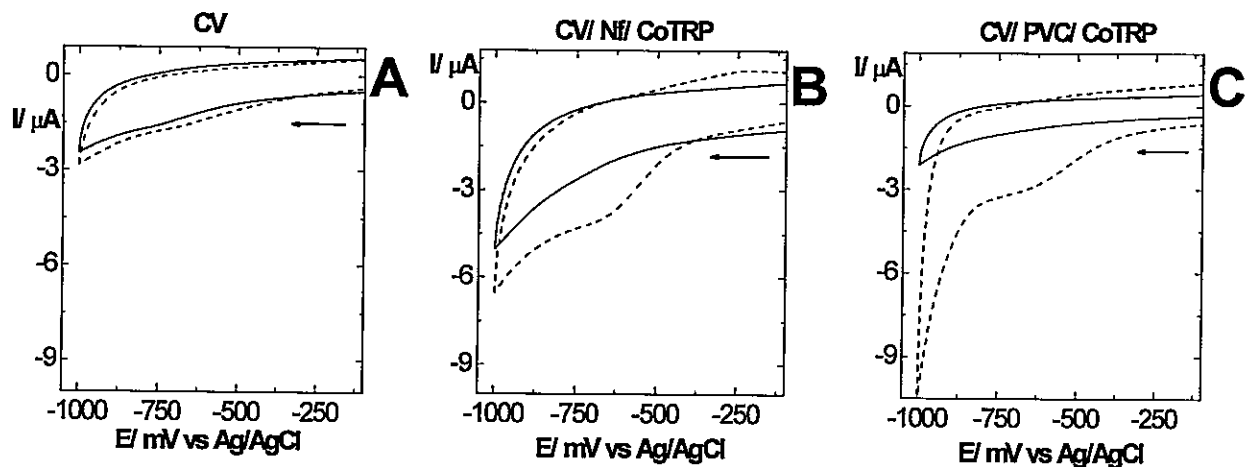


Figura 37: Perfil voltamétrico entre 0,4 y -1 V de A) CV, B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP en NaClO_4 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de NO_2^- , línea punteada: en presencia de NO_2^- 0,01M. Radio electrodo 1,5 mm.

En ausencia de NO_2^- tanto carbón vítreo como los electrodos modificados no exhiben ninguna señal electroquímica. Sin embargo, cuando NO_2^- 0,01M es añadido a la solución de trabajo se observa un aumento de corriente a partir de -400 mV aproximadamente tanto para CV/Nf/CoTRP como para CV/PVC/CoTRP con un pico centrado cerca de los -700mV. En todos los casos este proceso voltamétrico está relacionado con la reducción electrocatalítica de NO_2^- . Además, la corriente obtenida para la reducción de NO_2^- con

todos los electrodos modificados es varias veces mayor que el valor obtenido con carbón vítreo, lo que confirma el carácter electro-catalítico de éstos. Cabe destacar que macrociclos similares, tales como porfirinas, ftalocianinas y cyclams, comienzan a reducir NO_2^- por sobre los -800 mV [Li y col., 1988; Shibata y Furuya, 2001; Ozoemena y col., 2006]. Este hecho podría explicarse en términos de la presencia de los ligandos periféricos de Ru (II), los que podrían inducir densidad electrónica al anillo porfirínico y/o a su centro metálico.

Al ciclar el potencial del electrodo de manera continua en presencia de NO_2^- conduce a una pérdida significativa de la corriente de reducción revelando la obstrucción de la superficie. Sin embargo, realizando un simple enjuague con abundante agua destilada se reactiva la superficie del electrodo.

Finalmente, hay que señalar que los electrodos modificados CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP presentan un comportamiento similar a CV/Nf/CoTRP, mientras que CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP lo hacen con CV/PVC/CoTRP por esta razón solo se presentó un perfil voltamétrico con cada matriz polimérica.

3.4.1.2 Electrólisis a potencial controlado y análisis de productos

Con el fin de evaluar la actividad catalítica de los electrodos modificados, así como también determinar los productos de reacción se realizaron electrólisis a potencial controlado para CV, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP, CV/Nf/ZnTRP, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP de acuerdo a lo expuesto en el punto 2.4.4.3.

De los perfiles de voltamétricos (Figura 37) se determinó que la reducción del nitrito alcanza su máximo valor de corriente a un potencial cercano a $-0,8$ V para todos los electrodos modificados. Para extremar las condiciones de electrólisis, éstas se realizaron a un potencial de -1 V, demostrando que incluso a potenciales donde es posible la producción hidrógeno los electrodos modificados se mantienen estables y selectivos a la conversión del sustrato. Una vez finalizado el proceso, la solución se acidifica con H_2SO_4 3M y se almacena en botellas selladas para su posterior análisis. Los productos se determinaron mediante análisis colorimétricos cuantitativos [Afkhami y col., 2006; Thomas y Chamberlain, 1974; Eaton y col., 2002].

Además, se registra un perfil voltamétrico del electrodo modificado antes y después de realizada la electrólisis con el fin de determinar el recubrimiento superficial aparente del electrodo. Las diferencias observadas (ver Tabla 18) son una forma indirecta de demostrar la estabilidad de los electrodos modificados. Después de seis horas continuas de electrólisis, ninguno de los electrodos modificados perdió más del 50% de su masa original. Probablemente esta pérdida de material que se produce en las capas más externas es debida a las condiciones de agitación y valores de potencial aplicado.

Tabla 18. Recubrimiento superficial aparente antes y después de cada electrólisis.

Electrodo Modificado	$\Gamma_{\text{Antes}} * 10^{-10}$ (mol/cm ²)	$\Gamma_{\text{Después}} * 10^{-10}$ (mol/cm ²)	% pérdida masa
CV/Nf/CoTRP	1,65	0,82	50
CV/Nf/NiTRP	3,91	2,19	44
CV/Nf/ZnTRP	4,50	3,70	18
CV/PVC/CoTRP	0,31	0,23	26
CV/PVC/NiTRP	0,74	0,58	22
CV/PVC/ZnTRP	0,53	0,36	31

Los TOF se determinaron después de cada electrólisis y se presentan en la Tabla 19. Bajo las condiciones experimentales utilizadas en este trabajo, los productos de reducción de los electrodos modificados son hidroxilamina, hidracina, y amoníaco.

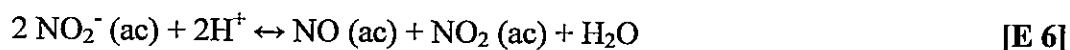
Tabla 19. *Turnover frequency* para electrodos modificados.

	TOF/ s ⁻¹ cm ⁻²					
	CV/Nf			CV/ PVC		
	CoTRP	NiTRP	ZnTRP	CoTRP	NiTRP	ZnTRP
Hidroxilamina	9392	3923	2996	16310	7335	8531
Hidracina	1717	809	709	9249	4338	6104
Amoniaco	3171	1110	853	16583	8154	10556

De la Tabla 19, se observa que la actividad electrocatalítica en términos de *turnover frequency* presenta el siguiente orden para los electrodos modificados con Nafion: CoTRP > NiTRP ≥ ZnTRP. Los tres electrodos modificados son más activos a la producción de hidroxilamina. Los TOF para la obtención de amoniaco son casi un tercio

del valor obtenido para hidroxilamina, mientras que los TOF para hidracina son los menos significativos. Por otra parte, para los electrodos modificados con PVC se presenta la siguiente tendencia: $\text{CoTRP} > \text{ZnTRP} > \text{NiTRP}$. Los tres electrodos modificados son igualmente activos tanto a la producción de hidroxilamina como a la de amoníaco. Sin embargo, nuevamente la obtención de hidracina es la menos significativa. De los resultados obtenidos hay que señalar dos hechos particularmente importantes: los altos valores de TOF obtenidos para los electrodos modificados tanto con Nafion como con PVC comparados con los expuestos en literatura [San Martín y col., 2007; Dreyse y col., 2011] y la mayor producción de hidroxilamina y amoníaco comparada con la obtención de hidracina.

Como se sabe NO_2^- puede dismutar según la Ecuación 6 [Rosca y col., 2009]:



Sin embargo, en las condiciones experimentales utilizadas (ambiente ligeramente ácido), el ión NO_2^- es lo suficientemente estable para ser considerado como única especie en solución (Figura 38).

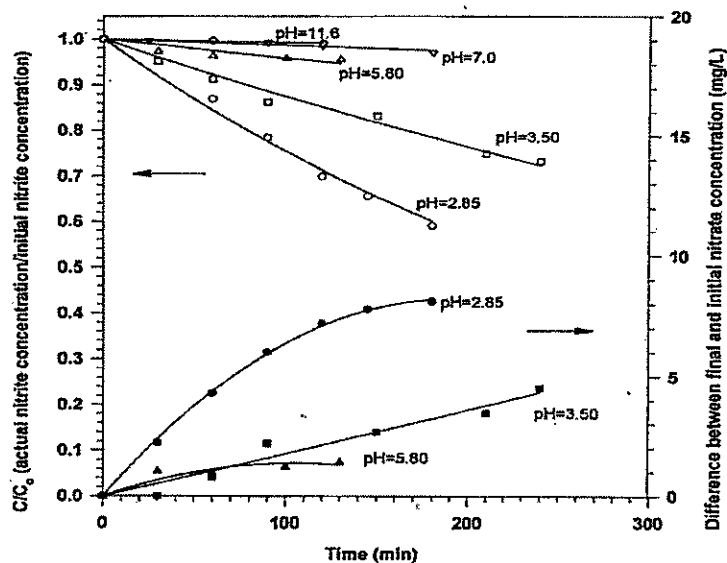


Figura 38: Cambios en las concentraciones de nitrito y nitrato con el pH, a una velocidad de aireación de 1,5 L/min (NO_2^- : figuras huecas y NO_3^- : figuras achuradas) [Braidá y Ong, 2000].

De acuerdo a literatura la reducción de NO_2^- vendría mediada por la especie NO^+ , la cual tras una serie de transferencias de cargas se transformaría en hidroxilamina ($\text{NO}^+ \rightarrow \text{NO}^* \rightarrow \text{NO}^- \rightarrow \text{NOH}_n \rightarrow \text{NH}_2\text{OH}$), especie que puede seguir reduciéndose hasta la obtención de amoníaco [Barley y col., 1986; Cheng y Su, 1990; De Groot y Koper, 2004; Rosca y col., 2009]. Los resultados concordarían además con información reciente que señala que en la reducción de NO_2^- en cátodos metálicos, la selectividad a la producción de amoníaco disminuye al disminuir el pH y la formación de productos gaseosos tales como, N_2 , NO y N_2O (no determinados en esta investigación) se incrementan [Hasnat y col., 2010; Duca y col., 2010].

Finalmente, cabe destacar que en los electrodos modificados tanto el complejo de Zn como el de Ni presentan una actividad catalítica similar, hecho que nos puede orientar sobre cual es el sitio activo en el catalizador. Anteriormente se ha informado que metales

de transición de capa abierta son activos hacia la reducción de varias moléculas tales como O_2 , CO_2 , tioles, etc. [Rosca y col., 2009; Cheng y Su, 1990; Mayer y col., 2006; Isaacs y col., 2002; Isaacs y col., 2005; Costamagna y col., 2006], ya que, son capaces de formar un complejo intermediario antes de la transferencia electrónica o coordinarse al analito en un estado de oxidación bajo. Como se sabe Zn (II) no presenta esta propiedad, ya que, es un metal de transición de capa cerrada, entonces de acuerdo a los hechos expuestos es muy probable que la reducción de NO_2^- sea activada por una transferencia electrónica resultante desde el anillo macrocíclico sin la intervención del ión metálico central [Zhang y col., 1998; Zhang y col., 2000; Kashevskii y col., 2001; Winnischofer y col., 2003; Pang y Wang, 1993].

Por otra parte, la acrecentada actividad electrocatalítica exhibida por CoTRP en comparación con el comportamiento de los complejos mencionados anteriormente, podría explicarse si se considera la coordinación efectiva de NO_2^- al centro metálico en su estado reducido, esto es Co(I). Estudios espectroelectroquímicos en electrodos modificados no fueron capaces de confirmar la existencia de esta especie debido principalmente a su corto tiempo de vida y a las condiciones experimentales utilizadas, sin embargo este hecho no implica su inexistencia.

3.4.1.3 Electrodo de disco rotatorio (RDE) y estudios de mecanismo

Se realizaron experimentos de disco rotatorio con el fin de comprender el mecanismo y los factores cinéticos que controlan la reducción electroquímica de NO_2^- en los diferentes electrodos modificados.

La expresión que gobierna el régimen convectivo dado por el electrodo de disco rotatorio es conocida como la ecuación de Levich (Ecuación 7), que provee un excelente test para las corrientes que están controladas por el transporte de masa [Pingarrón y Sánchez, 2003].

$$I_L = 0,62 n F A D^{2/3} \omega^{1/2} \nu^{-1/6} C^* \quad [\text{E } 7]$$

Donde, “n” corresponde al número de electrones transferidos; “F” es la constante de Faraday; “A” es el área del electrodo; “D” es el coeficiente de difusión de la especie electroactiva; “ ω ” es la velocidad de rotación del electrodo; “ ν ” es la viscosidad cinemática y “C” es la concentración.

Para reacciones irreversibles (en el caso del nitrito) la curva I-E de RDE para cada reacción será una familia de curvas, las que presentarán 3 regiones características:

- i) región plató de la corriente límite (I_L), donde la densidad de corriente depende solo de la velocidad de transporte de masa y I_L será proporcional a $\omega^{1/2}$,
- ii) a bajas densidades de corriente, la densidad de corriente es totalmente determinada por la cinética de transferencia electrónica y la velocidad de transporte de masa no afectará la densidad de corriente. Aquí I es independiente de ω ,
- iii) zona intermedia-zona de control mixto, la densidad de corriente es parcialmente controlada por el transporte de masa y I deberá variar con ω , pero el gráfico I vs a $\omega^{1/2}$ no es lineal.

La figura 39 presenta las curvas de polarización I-E de la reducción electro-catalítica de NO_2^- de los electrodos modificados CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP registrados a diferentes velocidades de rotación. Ninguno de los gráficos I-E exhibidos en la Figura 36 muestra una corriente plató, este hecho sugiere que la transferencia electrónica es más lenta que la velocidad de transporte de masa. Además, como se expuso anteriormente la reducción de nitrito se produce en promedio en $-0,8\text{V}$ y si consideramos que la descarga de hidrogeno se presenta a potenciales cercanos [Bard y Faulkner, 2001], no sería sorprendente que ambas reducciones se acoplaran.

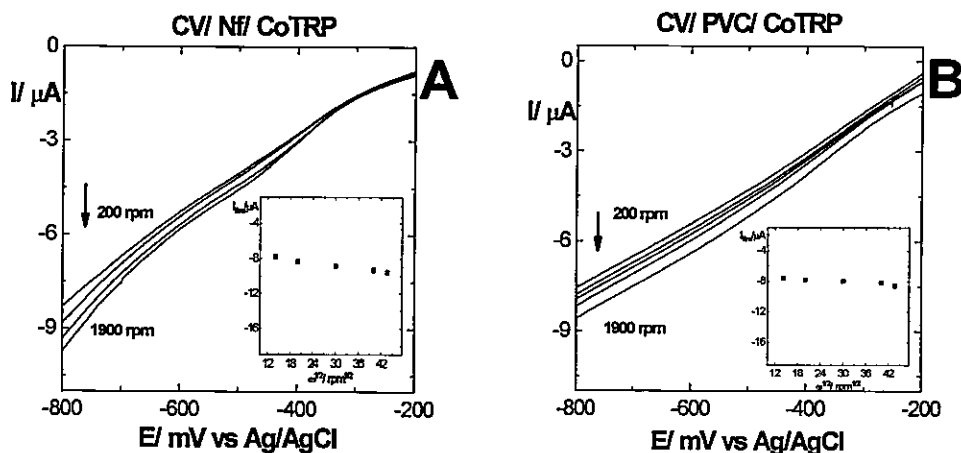


Figura 39: Respuesta voltamétrica en electrodo de disco rotatorio de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/PVC/CoTRP en NaClO_4 0,1M en presencia de NO_2^- 10mM. Velocidad de barrido: 5 mV s^{-1} . Inseto: Gráfica de Levich. Radio electrodo 1,96 mm.

Por otra parte, las graficas de I_{lim} vs $\omega^{1/2}$ (graficas de Levich) para estos sistemas no pasan por el origen (insertos Figura 39), hecho que puede ser explicado debido a la existencia de un factor que limita la cinética de transferencia electrónica más importante que la difusión de NO_2^- a la superficie electródica.

La Figura 39 muestra también que en ambos casos la corriente de reducción es virtualmente independiente de la velocidad de rotación. De acuerdo con la teoría de Andrieux-Saveant sobre la cinética de electrodos modificados con polímeros electroactivos, I_{lim} en electrodos de disco rotatorio es gobernada por cinco corrientes características [Leddy y col., 1985]:

“ I_A ” velocidad de transferencia de masa del sustrato A, en solución al electrodo desnudo (en este caso NO_2^-); “ I_S ” transferencia de masa del sustrato A en la película; “ I_E ” velocidad de transferencia de carga efectiva vía mediador (en este caso la cupla redox Ru III/II); “ I_K ” velocidad de cross-exchange reacción entre NO_2^- y el mediador; “ I_P ” velocidad de transferencia de masa del sustrato a través de la interfase película-solución.

Sin embargo, de todas las contribuciones posibles en los sistemas experimentales (Figura 40), solo dos o tres son significativas [Leddy y col., 1985]:

Caso R, reacción de intercambio entre el electro-catalizador y el sustrato

Caso S, transferencia de masa del sustrato a través de la película

Caso E, propagación de carga (vía mediador) a través de la película.

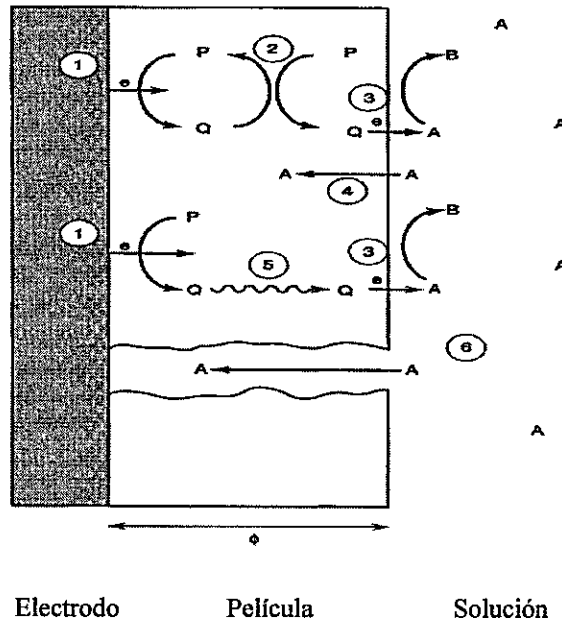


Figura 40: Diagrama de los posibles procesos que ocurren en un electrodo modificado, donde A, P, Q y B corresponden: al sustrato en disolución, especie reducible en la película, especie reducida en la película y producto, respectivamente. Los procesos esquematizados son: (1) transferencia electrónica heterogénea desde P para producir la forma reducida Q; (2) transferencia electrónica desde Q a otra especie P en la película (difusión electrónica o salto de electrones en la película); (3) transferencia electrónica desde Q a A en la interfase película/solución; (4) penetración de A en la película (donde puede reaccionar con Q o en la interfase electrodo/película); (5) transferencia de masa de Q a través de la película; (6) movimiento de A a través de huecos o canales en la película desde el electrodo [Bard y Faulkner, 2001].

Se han desarrollado varios criterios de diagnóstico para determinar a través de las gráficas de Koutecky-Levich ($1/I_{lim}$ vs $1/\omega^{1/2}$) el factor con mayor contribución cinética.

Si la teoría se extrapola a los resultados experimentales tanto CV/Nf/CoTRP como CV/PVC/CoTRP exhiben la pendiente de la gráfica de Koutecky-Levich muy cercana a cero (no mostrado), es decir, I_{lim} independiente de la velocidad de rotación lo que implica que el factor que rige la cinética del proceso en ambos casos es la propagación de carga a través de la película (caso E).

Además, se determinaron las pendientes de Tafel (ver Tabla 20) para las familias de electrodos modificados frente a la reducción de NO_2^- a 1600 rpm, donde las curvas I-E corresponden a la región de baja polarización.

Tabla 20. Pendientes de Tafel para la reducción de NO_2^- .

Electrodo Modificado	Valor Pendiente mV/dec
CV/Nf/CoTRP	380
CV/Nf/NiTRP	380
CV/Nf/ZnTRP	380
CV/PVC/CoTRP	310
CV/PVC/NiTRP	320
CV/PVC/ZnTRP	340

Pendientes con valores entre 300 y 400 mV/dec, implicarían un bloqueo de los sitios activos [Climent y col., 2000]. Sin embargo, está descrito en literatura que pendientes suficientemente altas pueden asociarse con mecanismos del tipo $\hat{\text{C}}\text{E}$ [Fletcher, 2009].

Se ha demostrado que porfirinas de Co (II) (es decir, el macrociclo sin los ligandos de Ru (II)) pueden coordinar NO_2^- en solución acuosa a $\text{pH} = 5$ [Kudrik y col., 2003].

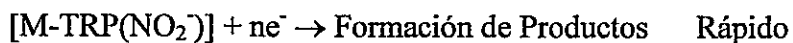
De experimentos adicionales (no mostrados) se encontró que espectros UV-Visibles de CoTRP en DMF exhiben un desplazamiento batocrómico de la banda Soret desde 430 a 447 nm cuando 10 mM de NO_2^- son añadidos, evidencia de una coordinación efectiva entre el nitrito y el centro metálico. Mientras que tanto para NiTRP como para ZnTRP no hay cambios drásticos en presencia de nitrito por lo que no es posible asumir tal

afirmación, sin embargo, la coordinación al anillo macrocíclico no se descarta. Este hecho, puede ser uno de los factores que favorecen las excelentes propiedades catalíticas de CoTRP en contraste con sus pares de Ni y Zn.

Esta información además es capaz de avalar el mecanismo tipo $\hat{C}E$ previamente propuesto, donde un paso químico (coordinación del NO_2^- al macrociclo) sería el determinante de la velocidad, mientras que la posterior transferencia electrónica para la obtención de los productos de reacción sería un proceso rápido, este mecanismo se presenta en el Esquema 1.

Esquema 1

($\hat{C}E$ por sus siglas en inglés de mecanismo químico/electroquímico)



Cabe señalar que las modificaciones CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP presentan un comportamiento similar a CV/Nf/CoTRP, mientras que CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP se comportan de acuerdo a CV/PVC/CoTRP por estas razones sólo se presentaron los resultados de un electrodo de cada familia.

3.4.2 Electro-reducción de CO₂

3.4.1.1 Estudios voltamétricos

La actividad electro-catalítica de CV, CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP fue evaluada por comparación de la respuesta voltamétrica obtenidas tanto en atmósfera de CO₂ como de Ar en condiciones experimentales idénticas. En la Figura 41 se presentan los perfiles obtenidos para CV, CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP.

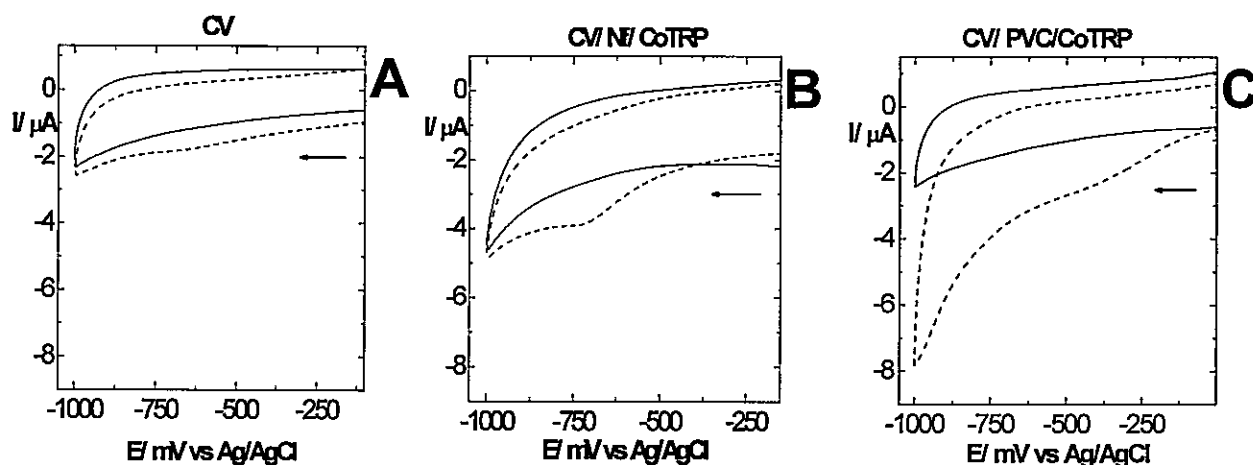


Figura 41: Perfil voltamétrico entre 0,4 y -1 V de A) CV, B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP en NaClO₄ 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de CO₂, línea punteada: en presencia de CO₂ 32,9 mM. Radio electrodo 1,5 mm.

En ausencia de CO₂ tanto carbón vítreo como los electrodos modificados no exhiben ninguna señal voltamétrica. Sin embargo, cuando CO₂ es burbujeadado a la solución de trabajo se observa un aumento de corriente relacionada con la reducción electrocatalítica de CO₂. Si bien la onda voltamétrica asociada con la reducción de CO₂ mediante CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP (además de sus análogos de NiTRP y ZnTRP) no está

bien definida, la magnitud de corriente es superior al valor obtenido con carbón vítreo desnudo hecho que avala el carácter electro-catalítico de los electrodos modificados.

La reducción electro-catalítica de CO_2 ha sido estudiada en electrodos metálicos (Ag, In, Cu) [Ohkawa y col., 1993; Ohkawa y col., 1994; Gattrell y Gupta, 2006; Kaneco y col., 2002; Innocent y col., 2009], de difusión de gases (Ag, Pb, Pt, Cu, Ru-Pd, Ag) [Mahmood y col., 1987; Cook y col., 1990; Furuya y col., 1997; Hara y Sakata, 1997; Sánchez-Sánchez y col., 2001; Jeong y col., 2007] y en presencia de sistemas macrocíclicos (porfirinas, ftalocianinas, tetrazamacrociclos, polipiridinas) [Ogura y Yoshida, 1988; Hammouche y col., 1988; Furuya y Koide, 1991; Isaacs y col., 2003; Beley y col., 1986; Christensen y Higgins, 1995; Ramos Sende y col., 1995]. En todos los casos para que el proceso se lleve a cabo son requeridos altos sobrepotenciales, esto es, entre -1 y -2,5 V dependiendo de las condiciones experimentales (solvente, electrólito soporte, temperatura, presión, etc). Extrapolando esta información a los resultados experimentales obtenidos encontramos que la utilización de los electrodos modificados CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP, disminuye considerablemente los sobrepotenciales requeridos para reducir CO_2 en medio acuoso y bajo condiciones ambientales de temperatura y presión. Para ambos electrodos modificados la reducción comienza antes de -0,5 V (Figura 41), más aún cuando la matriz es PVC la descarga de corriente se inicia alrededor de los -0,25 V, hecho que sin duda pronostican un comportamiento electro-catalítico sobresaliente frente a la reducción de CO_2 .

3.4.2.2 Electrolisis a potencial controlado y análisis de productos

Con el fin de evaluar la actividad catalítica de los electrodos modificados, así como también determinar los productos de reacción se realizaron electrólisis a potencial controlado para CV, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP, CV/Nf/ZnTRP, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP de acuerdo a lo expuesto en el punto 2.4.4.3. El potencial se mantuvo en -1V durante las 6 horas de experimento con el fin de extremar y homogeneizar las condiciones experimentales. Los productos de reacción fueron determinados mediante análisis colorimétricos cuantitativos [Bricker y Johnson 1945; Ramos Sende y col., 1995].

Además, se registró un perfil voltamétrico del electrodo modificado antes y después de realizada la electrólisis con el fin de determinar el recubrimiento superficial aparente del electrodo. Después de seis horas continuas ninguno de los electrodos modificados perdió más del 50% de su masa original (ver Tabla 21), confirmando la presencia de la especie electroactiva durante el transcurso de todo el experimento.

Tabla 21. Recubrimiento superficial aparente antes y después de cada electrólisis.

Electrodo Modificado	$\Gamma_{\text{Antes}} * 10^{-11}$ (mol/cm ²)	$\Gamma_{\text{Después}} * 10^{-11}$ (mol/cm ²)	% pérdida masa
CV/Nf/CoTRP	48,5	36,0	25,8
CV/Nf/NiTRP	152	109	28,3
CV/Nf/ZnTRP	143	72,0	49,7
CV/PVC/CoTRP	0,78	0,56	28,2
CV/PVC/NiTRP	9,34	6,49	30,5
CV/PVC/ZnTRP	0,61	0,31	49,2

Los TOF se determinaron después de cada electrólisis y se presentan en la Tabla 22. Mediante la utilización de los electrodos modificados, los probables productos de reducción de CO_2 bajo las condiciones experimentales empleadas son: ácido fórmico, formaldehído, monóxido de carbono y posiblemente metanol y metano. Sin embargo, solo fueron determinados los productos de reducción solubles esto es, ácido fórmico y formaldehído.

Tabla 22. *Turnover frequency* para electrodos modificados.

	TOF/ $\text{s}^{-1} \text{cm}^{-2}$					
	CV/Nf			CV/PVC		
	CoTRP	NiTRP	ZnTRP	CoTRP	NiTRP	ZnTRP
Ácido fórmico	--	--	34	--	--	--
Formaldehído	383	118	32	8812	1383	4850

En la Tabla 22, se observa que con excepción de CV/Nf/ZnTRP, todos los electrodos modificados producen principalmente formaldehído. Además, la actividad electrocatalítica en términos de *turnover frequency* para los electrodos modificados CV/Nf/MTRP es: $\text{CoTRP} > \text{NiTRP} > \text{ZnTRP}$, mientras que para CV/PVC/MTRP presenta el siguiente orden: $\text{CoTRP} > \text{ZnTRP} > \text{NiTRP}$. Cabe destacar que la tendencia es exactamente la misma que la exhibida frente a la reducción de NO_2^- , hechos que confirman la hipótesis planteada anteriormente de que tanto la reducción de CO_2 como la de NO_2^- sea activada por una transferencia electrónica resultante desde el anillo macrocíclico sin la intervención del ión metálico central en los electrodos modificados

con NiTRP y ZnTRP, mientras que en CoTRP la transferencia electrónica podría ocurrir mediante la coordinación del sustrato con Co (I).

Sin embargo, en este caso la presencia de alta densidad electrónica en el anillo porfirínico debido a efectos cooperativos de los ligandos, hace posible también su desempeño como base en una reacción ácido-base. De este modo, el macrociclo reducido será capaz de atraer especies de carácter ácido tales como H^+ y CO_2 (ácido de Lewis) [Atoguichi y col., 1991; Aga y col., 1997]. La selectividad de este tipo de catalizadores parece surgir de la reacción preferencial de las especies intermediarias reducidas con CO_2 en lugar de H^+ . Esta selectividad estaría de acuerdo además con la naturaleza del producto de reducción observado. De esta manera, si el catalizador en su forma reducida reacciona con el CO_2 para formar un complejo M- CO_2 , la subsiguiente protonación promueve la formación de un ácido metalocarboxílico y la reacción posterior puede producir CO por ruptura de un enlace C-O para formar hidróxido o agua. Por lo tanto, la reacción de la forma reducida del catalizador con CO_2 dará lugar a la formación de CO y si la transferencia electrónica continúa el producto será HCOH. En contraste, si el catalizador en su forma reducida reacciona con los protones en primera instancia formará un complejo hidruro y la reacción posterior de los hidruros con CO_2 conducirá a la producción de HCOOH [Beley y col., 1986; Arakawa y col., 2001].

Por otra parte, se ha reportado que la reducción de CO_2 es acelerada por la presencia de iones Mg^{+2} . La acción combinada del macrociclo en estado reducido y Mg^{+2} ofrece un importante ejemplo de una catálisis bi-metálica donde un centro rico en electrones comienza el proceso de reducción y el centro deficiente en electrones asiste la transformación del sistema. Los autores demostraron que la adición de ácidos de

Bronsted o de Lewis como Mg^{+2} , Ca^{+2} , Ba^{+2} , Li^+ y Na^+ resulta en una considerable mejora de la catálisis de CO_2 por tetrafenilporfirina de hierro (III). Estos cationes aceleran el proceso catalítico por la creación de pares iónicos con la carga negativa de los átomos de oxígeno de CO_2 después de coordinado al centro reducido, ya que, como se trata de cationes pequeños presentan una solvatación lo suficientemente fuerte como para impedir su absorción en la superficie del electródica [Hammouche y col., 1991; Bhugun y col., 1996; Costamagna y col., 2006].

La naturaleza del electrodo y del electrólito son algunas de las variables que afectan el perfil de los productos de reducción de CO_2 con mayor intensidad. Por ejemplo, la naturaleza de la distribución del catalizador en el electrodo afectará el número de sitios activos. Al comparar los electrodos modificados en función de la matriz polimérica utilizada, la morfología de las modificaciones y la presencia de LiTFMS en CV/PVC/MTR pueden explicar los altos valores de TOF obtenidos para estos electrodos en comparación con sus análogos de Nafion. Al modificar el electrodo con la mezcla PVC/MTRP, el macrociclo quedaría entrampado entre las cadenas polímero, dando lugar a nódulos regulares y homogéneamente dispuestos en la superficie electródica. Las MTRP's cumplirían un rol doble en la modificación, ya que por una parte, actuarían como electro-catalizadores y, por otra, provocarían un aumento en la rugosidad y porosidad de la película. Ésta porosidad se vería incrementada además por los aditivos incorporados en la mezcla inicial, esto es, DBP y LiTFMS. Como se sabe la velocidad de una reacción disminuye significativamente con el aumento en el espesor del recubrimiento. La velocidad de propagación de carga a través de películas gruesas es bastante menor en comparación con porciones delgadas o porosas de material [Fletcher,

2010]. De acuerdo a las caracterizaciones morfológicas registradas para ambos electrodos modificados, la película de CV/PVC/MTRP es mucho más porosa que su análogo de Nafion razón por lo cual se esperaba una transferencia electrónica más rápida en este sistema.

3.4.2.3 Estudios en electrodo de disco rotatorio (RDE)

Se realizaron experimentos de disco rotatorio con el fin de comprender el mecanismo y los factores cinéticos que controlan la reducción electroquímica de CO_2 en los diferentes electrodos modificados. La Figura 42 presenta las curvas de polarización I-E de la reducción electrocatalítica de CO_2 de los electrodos modificados CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP registrados a diferentes velocidades de rotación a 5 mVs^{-1} . Ninguno de los gráficos I-E exhibe una corriente plató. Probablemente al igual que en el caso del nitrito la reducción de CO_2 se acople con la producción de hidrógeno que ocurre a potenciales cercanos.

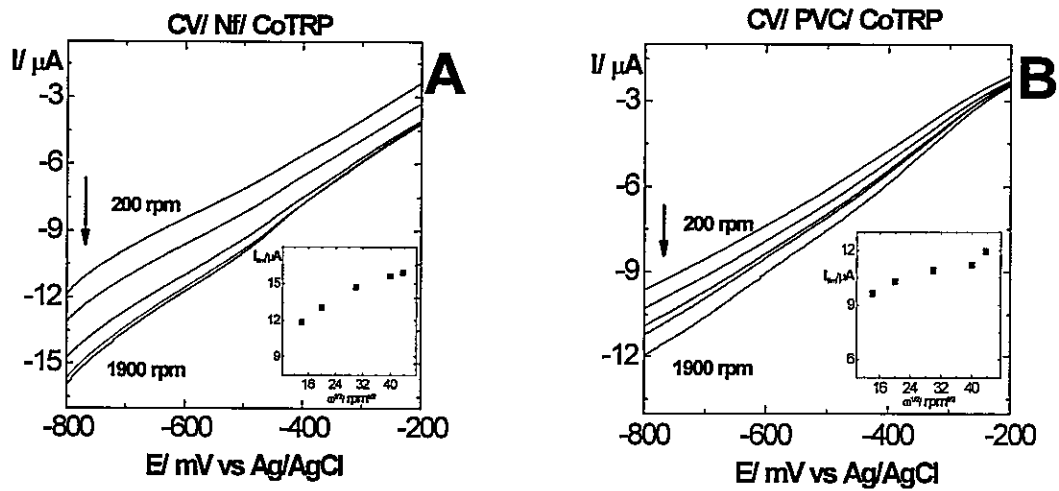


Figura 42: Respuesta voltamétrica en electrodo de disco rotatorio de A) CV/Ni/CoTRP y B) CV/PVC/CoTRP en NaClO_4 0,1M en presencia de CO_2 32,9mM. Velocidad de barrido: 5 mV s^{-1} . Inseto: Gráfica de Levich. Radio electrodo 1,96 mm.

Las gráficas Levich para ambos sistemas no pasan por el origen (insertos Figura 42), lo que implica la existencia de un factor que limita la cinética de transferencia electrónica. Sin embargo, las gráficas de Koutecky-Levick tanto para CV/Ni/CoTRP como CV/PVC/CoTRP presentan un comportamiento lineal con una pendiente distinta de cero (Figura 43).

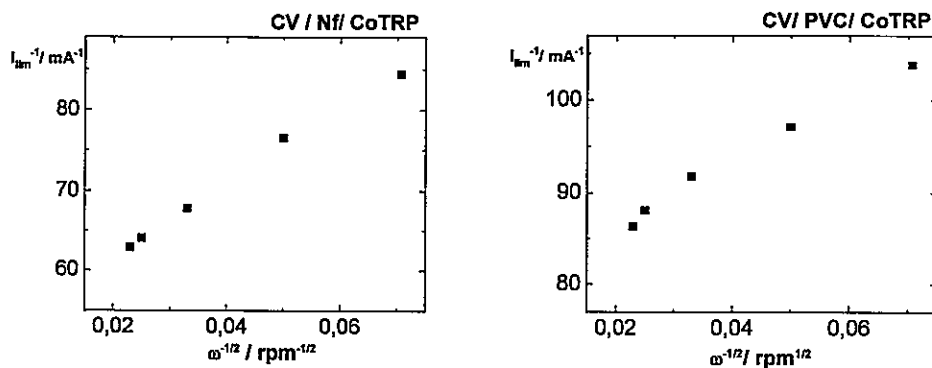


Figura 43: Gráfica de Koutecky-Levick para CV/Ni/CoTRP y CV/PVC/CoTRP en NaClO_4 0,1M en presencia de CO_2 32,9mM.

Entonces, de acuerdo con la teoría de Andrieux-Saveant [Leddy y col., 1985] tanto la propagación de carga como la transferencia de masa del sustrato a través de la película (permeación de CO_2), esto es, casos E y S (página 92) son los factores que limitan la cinética de transferencia electrónica [Leddy y col., 1985].

Se determinaron además las pendientes de Tafel para las familias de electrodos modificados frente a la reducción de CO_2 a 1600 rpm, donde las curvas I-E corresponden a la región de baja polarización. Los valores obtenidos en torno a los 400 mV/dec implicarían un bloqueo de los sitios activos, posiblemente debido a reacciones competitivas (producción de H_2) o productos de reducción de CO_2 adsorbidos en la superficie (Figura 44) [Climent y col., 2000].

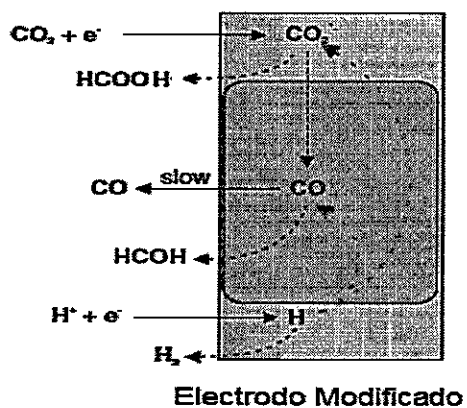


Figura 44: Principales caminos de reacción en la superficie electródica.

3.4.3 Electro-reducción simultánea de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$

3.4.3.1 Estudios voltamétricos

El comportamiento voltamétrico de CV, CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP frente a la reducción electroquímica de la mezcla $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$ se presenta en la Figura 45.

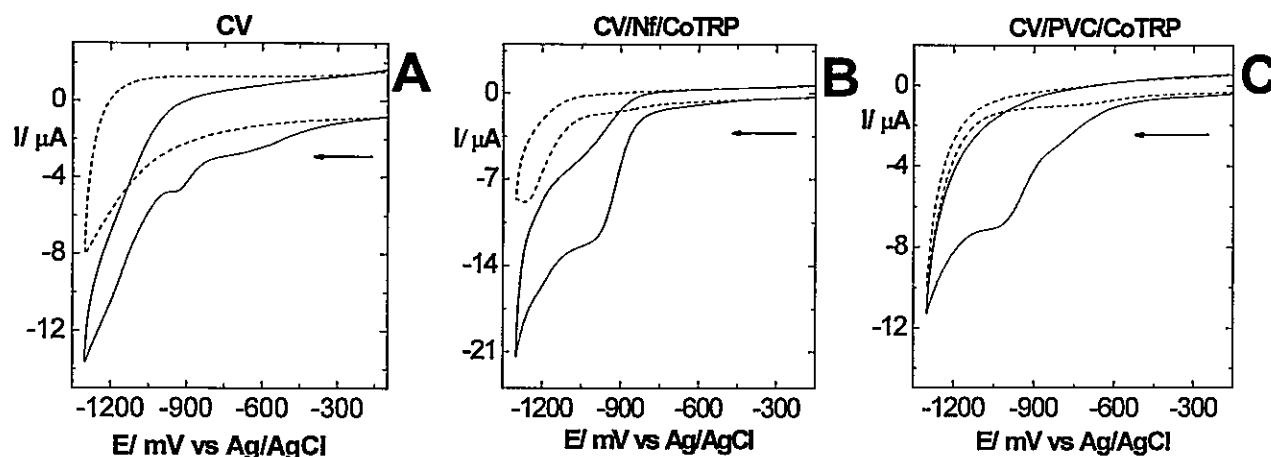


Figura 45: Perfil voltamétrico de A) CV, B) CV/Nf/CoTRP y C) CV/PVC/CoTRP entre 0,4 y -1,25 V. Condiciones: NaClO_4 0,1M, velocidad de barrido 0,1 V/s. Línea sólida: ausencia de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$, línea punteada: en presencia de NO_2^- 0,01M y CO_2 32,9 mM. Radio electrodo 1,5 mm.

En ausencia de la mezcla tanto carbón vítreo como los electrodos modificados no exhiben ninguna señal electroquímica., salvo la reducción de hidrogeno que comienza a potenciales mas negativos que -1 V. Al realizar un barrido de potencial en presencia tanto de NO_2^- 0,01M y CO_2 32,9 mM es posible observar un incremento en la corriente para los todos los electrodos estudiados.

Para CV se observan dos señales voltamétricas una centrada alrededor de los -0,7 y la otra en -0,95 V justo antes del inicio de la reducción de hidrógeno. Este hecho se puede

explicar en función del intervalo de potencial utilizado para realizar los perfiles en la mezcla (0,4 y -1,25V), intervalo ligeramente superior al utilizado para los sustratos por separado (0,4 y -1V). Se sabe también que el carbón vítreo presenta grupos amino en su superficie, esto sumado al incremento en el sobrepotencial aplicado favorecerían la adsorción y posterior reducción de los iones nitrito. Esta nueva especie reducida y adsorbida, podría interactuar con CO_2 para dar un producto de reducción indeterminado. Por otra parte, tanto en CV/Nf/CoTRP como en CV/PVC/CoTRP la reducción comienza alrededor de los -0,5 y se centra en torno a -1 V. Cabe destacar que en ambos casos solo es visible una señal voltamétrica con una intensidad de corriente muy superior a la obtenida para el CV bajo las mismas condiciones experimentales, este hecho nos conduce a suponer que la reducción en CV/Nf/CoTRP y CV/PVC/CoTRP se lleva a cabo con algún tipo de sinergia o cooperación entre los sustratos favoreciendo su reducción.

Finalmente, hay que señalar que los electrodos modificados CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP presentan un comportamiento similar a CV/Nf/CoTRP, mientras que CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP lo hacen con CV/PVC/CoTRP por esta razón sólo se presentó un perfil voltamétrico con cada matriz polimérica.

3.4.3.2 Electrólisis a potencial controlado y análisis de productos

La actividad electrocatalítica de los electrodos CV, CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP fue evaluada anteriormente (puntos 3.4.1 y 3.4.2) tanto para NO_2^- como para CO_2 individualmente. Con el fin de determinar si urea (u otro compuesto que presente enlaces C-N) puede ser sintetizada electroquímicamente a partir de la reducción

simultánea de nitrito y dióxido de carbono en condiciones normales de temperatura y presión, se realizaron electrólisis a potencial controlado de mezclas $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$ (10 y 32,9 mM respectivamente) mediante la utilización de CV, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP, CV/Nf/ZnTRP, CV/PVC/CoTRP, CV/PVC/NiTRP y CV/PVC/ZnTRP de acuerdo a lo expuesto en el punto 2.4.4.3. El potencial se mantuvo en -1V durante las 6 horas de experimento con el fin de extremar y homogeneizar las condiciones experimentales. Los productos de reacción hidroxilamina, hidracina, amoníaco, ácido fórmico, formaldehído y urea, fueron determinados mediante análisis colorimétricos cuantitativos [Afkhami y col., 2006; Thomas y Chamberlain, 1974; Eaton y col., 2002; Bricker y Johnson 1945; Ramos Sende y col., 1995; Fawcett y Scott 1960].

Los TOF (moles de producto formado a partir de 1mol de catalizador en una unidad de tiempo y área) se determinaron después de cada electrólisis y se presentan en la Tabla 23.

Tabla 23. *Turnover frequency* para electrodos modificados.

	TOF/ $\text{s}^{-1} \text{cm}^{-2}$					
	CV/Nf			CV/ PVC		
	CoTRP	NiTRP	ZnTRP	CoTRP	NiTRP	ZnTRP
Hidroxilamina	484	92	186	9971	3241	5832
Hidracina	452	106	130	11087	3676	4559
Amoníaco	664	180	225	18004	6842	7277
Ácido fórmico	--	--	--	--	--	--
Formaldehído	1179	112	175	20408	3589	5131
Urea	1499	405	566	28952	12309	14653

En la Tabla 23 se observa que la producción de urea en términos de *turnover frequency* para los electrodos modificados tanto con Nafion como con PVC presenta la siguiente tendencia: CoTRP > ZnTRP > NiTRP.

Las diferencias electro-catalíticas entre los electrodos CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP son atribuidas a las diferencias morfológicas entre las películas. Por una parte, las películas de Nafion generan un apilamiento molecular muy compacto y regular sobre la superficie electródica que impide la libre difusión de las moléculas en solución, mientras que las de PVC generan nódulos de tamaños variables y bastante porosos en comparación con el Nafion. Además, si comparamos en ambos casos las superficies electro-catalíticamente activas que son expuestas tanto a NO_2^- como a CO_2 nuevamente la película de PVC es la más eficiente.

Uno de los objetivos de la presente tesis es la generación de compuestos con enlaces C-N tales como la urea, a partir de reducción simultánea de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$ mediante electrodos modificados. Sin embargo, según reportes anteriores [Shibata y col., 1995; Shibata y Furuya, 2001; Shibata y Furuya, 2003] la selectividad en la obtención de urea se relaciona estrechamente con el tipo de catalizador metálico utilizado, el cual debe tener la capacidad de formar CO y NH_3 de manera *in situ* y simultáneamente en la interfase electródica. Este hecho se confirmó mediante el seguimiento de la reducción electroquímica de CO_2 con concentraciones crecientes de amoníaco disuelto, donde sólo se encontró como productos de reacción ácido fórmico y CO, mientras que la generación de urea no fue determinada [Shibata y col., 1998b]. El estudio en sentido inverso también se llevó a cabo, esto es, la electroreducción de NO_2^- con concentraciones variables de CO disuelto donde tampoco fue posible determinar urea. En este sentido, la

imposibilidad de contar con un sistema adecuado para de determinación y cuantificación de CO en el desarrollo de esta investigación, impidió la confirmación exhaustiva de su producción, sin embargo considerando los hechos expuestos anteriormente, donde la producción de urea no es posible sin la presencia de CO y NH₃ generado *in situ* en la interfaz electródica es posible avalar de manera indirecta la generación de CO como producto de reducción, ya que, como se discutió en el punto anterior el CO es una especie intermediaria que puede seguir reduciéndose para generar formaldehído [Beley y col., 1986; Arakawa y col., 2001].

De la tabla 24 se desprende que, en todos los casos, los TOF's para la formación de NH₃ en la reducción de NO₂⁻/CO₂ decrecen considerablemente en comparación con los determinados para la reducción sólo de NO₂⁻. Este hecho no es sorprendente, ya que, el NH₃ producido en la interfaz debe ser consumido para formar urea.

Se ha reportado que la producción de CO mediante la utilización de electrodos modificados con macrociclos, como por ejemplo ftalocianinas metálicas esta relacionada con su habilidad de coordinar un quinto ligante axial y por lo tanto, con la diferencia en energía de los orbitales d del metal y los orbitales frontera de los ligandos coordinados [Ramos Sende y col., 1995; Costamagna y col., 2006]. Las ftalocianinas reducidas tienen un HOMO de alta energía formado a partir del complejo neutro, localizado principalmente en los átomos N del anillo. Así pues, el complejo es un agente reductor fuerte y el principal producto de reducción será CO. En el caso de las porfirinas tetra-rutenadas de Ni y Zn, es muy probable que la reducción tanto de NO₂⁻ como de CO₂ sea activada por una transferencia electrónica desde el anillo porfirínico sin la intervención del ión metálico central [Winnischofer y col., 2003; Pang, y Wang ,1993; Zhang y col.,

1998; Zhang y col., 2000; Kashevskii y col., 2001; Costamagna y col. 20006]. Por otra parte, la elevada actividad electro-catalítica de la porfirina tetra-rutenada de Co en contraste con sus pares, podría explicarse considerando la coordinación efectiva de los sustratos al centro metálico en su estado reducido, hecho que aumentaría considerablemente la transferencia electrónica efectiva.

3.5 ESTUDIOS ELECTRO-ANALÍTICOS

3.5.1 Oxidación electro-catalítica de las bases guanina presentes en el ADN

3.5.1.1 Estudios en solución

3.5.1.1.1 Titulación espectrofotométrica de MTRP con ADN

La interacción de MTRP con ADN fue monitoreada a partir de los cambios inducidos por el ADN en el espectro de absorción del macrociclo en tampón fosfato pH 7,4. La adición de cantidades crecientes de ADN (0 a 50 μM) conduce a un desplazamiento batocrómico de la banda Soret de los complejos estudiados, como se observa en la Figura 46.

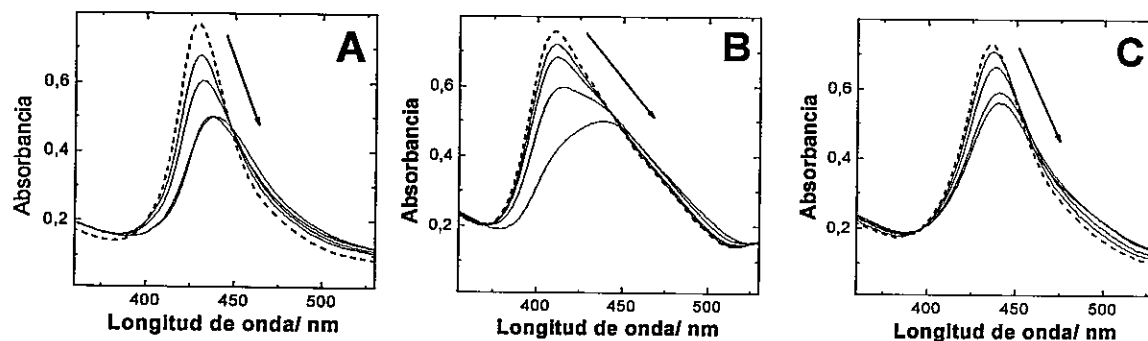


Figura 46: Efecto de la concentración de ADN en el espectro UV-Visible de A) ZnTRP, B) NiTRP y C) CoTRP. Línea punteada: en ausencia de ADN, línea continua: en presencia de cantidades crecientes de ADN (tendencia según flecha). Condiciones experimentales: tampón fosfato 0,05 M pH 7,4, [MTRP] 25 μM y [DNA] 0-50 μM .

La disminución en la intensidad de absorción de la banda Soret sumada a su desplazamiento a mayores longitudes onda con el incremento en la concentración de ADN, sugiere la existencia de algún tipo de interacción complejo-ADN.

La constante de asociación, K_b , para el rango de concentraciones de ADN comprendida entre 5 y 50 μM fue determinada cuantitativamente aplicando la Ecuación 7 a los datos recopilados a partir de las titulaciones espectrofotométricas realizadas [Araki y col., 2000; Naue y col., 2009].

$$[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b (\epsilon_b - \epsilon_f) \quad [\text{E } 7]$$

Donde, " ϵ_a " absorbancia/[complejo]; " ϵ_b " coeficiente de extinción para el complejo enlazado y " ϵ_f " coeficiente de extinción para el complejo en su forma libre.

K_b se obtuvo a partir de los valores de intercepto y pendiente obtenidas de graficas $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ vs $[\text{DNA}]$. La Tabla 24 presenta los valores obtenidos para CoTRP, NiTRP y ZnTRP en presencia de cantidades crecientes de ADN.

Tabla 24: Valores de K_b determinados para la interacción MTRP- ADN.

Macrocielo	K_b (M^{-1}) ADN
CoTRP	$5,7 \pm 0,4 \times 10^5$
NiTRP	$6,2 \pm 0,4 \times 10^5$
ZnTRP	$5,2 \pm 0,4 \times 10^5$

Los valores obtenidos para K_b están de acuerdo en magnitud con otras constantes asociativas reportadas para la interacción de este tipo de macrociclos con ADN en sistemas acuosos. Además, si comparamos el valor de la constante de asociación

obtenida experimentalmente para MTRP/ADN ($\sim 5,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) con el valor reportado para la asociación de una porfirina bi-rutenada/ADN ($1,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$), es evidente que el aumento de la interacción del macrociclo con el ADN es directamente proporcional al número de complejos de Ru (II) presentes en éste. Por otra parte, de la Tabla 24 se desprende que la interacción es de una intensidad considerable y que no existe una interacción diferenciada por el metal coordinado a la cavidad central del anillo porfirínico.

Finalmente, estudios previos señalan que sólo dos tipos de interacciones son posibles para este tipo de sistemas: intercalación e interacción externa al azar [Narra y col., 2006; Mugweru y Rusling, 2001].

3.5.1.1.2 Espectroelectroquímica de MTRP-ADN

Se llevaron a cabo estudios espectroelectroquímicos con el fin de caracterizar los cambios en el espectro de MTRP tanto en presencia como ausencia de ADN en función del potencial aplicado (donde es posible oxidar la base púrica guanina). Para determinar el intervalo de potenciales y tiempo de electrólisis se realizaron estudios voltamétricos, los que incluyeron una electrólisis para determinar el tiempo necesario para que la corriente final llegase al 5% de la corriente inicial y así asegurar que toda la especie en solución se encontrase electrolizada.

Como se expuso anteriormente, el espectro electrónico de las porfirinas se caracteriza por presentar varias bandas de transición $\pi-\pi^*$, una de gran intensidad que aparece cercana a los 410 nm (banda Soret) y otras cuatro de menor intensidad que aparecen a

longitudes de onda superiores (bandas Q). Estas bandas son sensibles tanto a la metalación de la cavidad central de la porfirina (desaparición de dos bandas Q) como al metal utilizado para este propósito (corrimiento de la banda Soret). La Tabla 25 presenta los valores de absorción resultantes para los distintos complejos utilizados en tampón fosfato 0,05M pH 7,4. Estos presentan buena concordancia con los reportados previamente para MTRP's en solventes orgánicos [Toma y Araki, 2006].

Tabla 25: Bandas de absorción para ZnTRP, NiTRP y ZnTRP en tampón fosfato 0,05M pH 7,4.

	ZnTRP/ nm	NiTRP/nm	CoTRP/nm
Bipi ($\pi \rightarrow \pi^*$)	290	292	290
Banda Soret	430	408	435
Bandas Q	562	537	548
	604	bnv	bnv

bnv: banda no visible

Para la ZnTRP, en ausencia de ADN antes y después de aplicar potencial (Figura 47) el cambio más significativo es el decaimiento en la intensidad de absorción de la banda Soret, asociado en primera instancia a la oxidación del rutenio de los ligandos periféricos y posteriormente del anillo porfirínico al correspondiente catión π -radical [Toma y Araki, 2000]. Por otra parte, cuando ADN es incorporado (inserto Figura 47) las bandas asociadas tanto con el ligando como con la porfirina, permanecen prácticamente inalteradas después de la aplicación de potencial, esto es, la adición de ADN inhibe (o retarda) su oxidación.

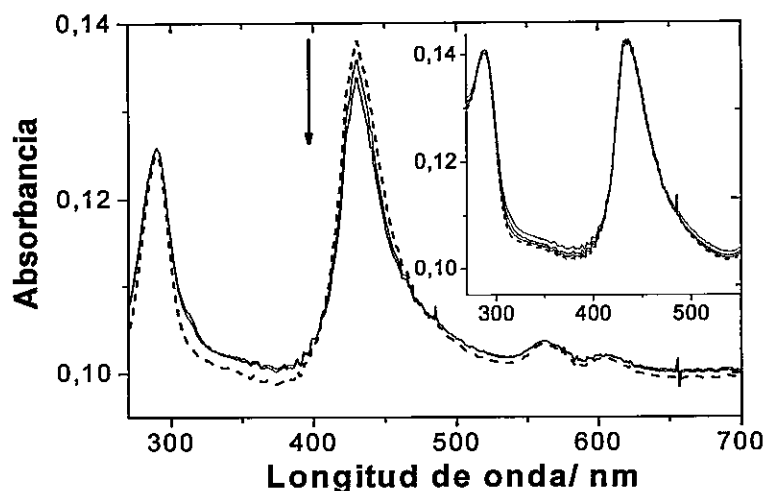


Figura 47: Respuesta espectroelectroquímica de ZnTRP. Intervalo de potencial aplicado 0,6-1V, tiempo de electrólisis 180 s. Inserto: Respuesta en presencia de ADN 50 μ M en las mismas condiciones.

Estudios espectroelectroquímicos tanto para NiTRP y CoTRP exhiben un comportamiento similar al obtenido para ZnTRP. Los resultados exhibidos mediante espectroelectroquímica confirman la existencia de una fuerte interacción entre MTRP y ADN [Narra y col., 2006; Naue y col., 2009].

3.5.1.1.3 Estudios voltamétricos de MTRP-ADN

La Figura 48 muestra el perfil voltamétrico de ZnTRP, NiTRP y CoTRP en tampón fosfato 0,05M pH 7,4 a distintas velocidades de barrido.

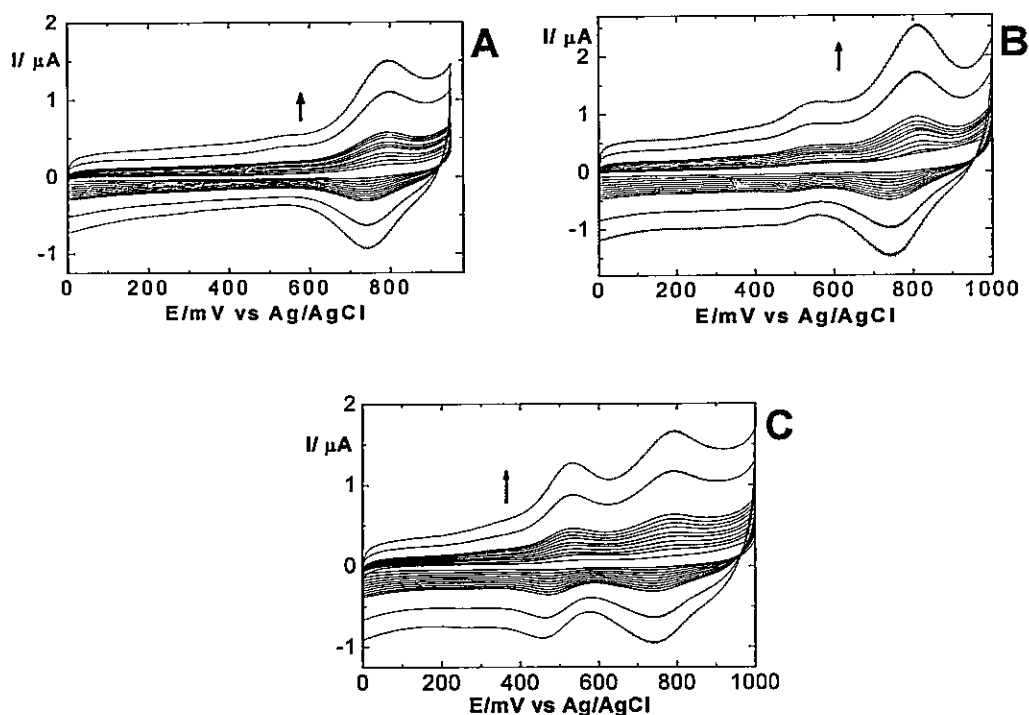


Figura 48: Perfil voltamétrico de A) ZnTRP, B) NiTRP y C) ZnTRP a diferentes velocidades de barrido (20-300 mV/s) en tampón fosfato 0,05 pH 7,4. Radio electrodo 1,5 mm.

El perfil voltamétrico para los tres macrociclos (Figuras 48A, B y C) exhibe dos procesos, uno centrado en 500mV y otro en 770mV este último asociado al par redox Ru(III)/(II).

A partir de los valores de corriente de pico en función de la velocidad de barrido, es posible distinguir si un determinado proceso reversible es controlado por difusión o adsorción. Los procesos controlados por difusión cumplen con la relación:

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad [E 9]$$

Mientras que procesos controlados por adsorción cumplen con:

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v \quad [E 10]$$

Donde, "C" concentración [mol / cm³]; "A" área del electrodo [cm²]; "D₀" coeficiente de difusión de la especie electro-activa [cm² / s]; "v" velocidad de barrido [V / s]; "n" número de electrones transferidos; "i_p" Intensidad de pico [A].

De la Ecuación 9, es posible obtener una relación logarítmica entre I_p y v^{1/2} tal como sigue:

$$\log i_p = \log (k) + \frac{1}{2} \log v \quad \rightarrow \quad (\delta \log i_p / \delta \log v) = 0,5$$

De esta manera, un valor de pendiente cercano a 0,5 para la grafica log i_p vs log v indica que el proceso está controlado por difusión. Por otra parte, aplicando el mismo tratamiento a la Ecuación 10 se encuentra que un valor de pendiente cercano a 1 (para la gráfica anteriormente mencionada) sugiere que el proceso está controlado por adsorción. Las graficas log i_p vs log v para los datos experimentales siguen una tendencia lineal, los valores de pendiente determinados se localizan entre 0,5 y 1 tanto para ZnTRP, NiTRP y CoTRP. De acuerdo a lo anteriormente expuesto el proceso redox Ru(III)/(II) presenta un control mixto en los tres macrociclos, esto es, existe difusión y adsorción de la especie electroactiva en la superficie electródica.

En un experimento adicional y con el fin de revelar el origen del proceso redox centrado en 500mV se realizó un seguimiento de voltamétrico de NiTRP y CoTRP a diferentes tiempos, a saber, 0, 1, 3, 5, 7 y 24 horas después de la disolución del complejo en tampón fosfato 0,05 M pH 7,4. Los resultados se muestran en la Figura 49.

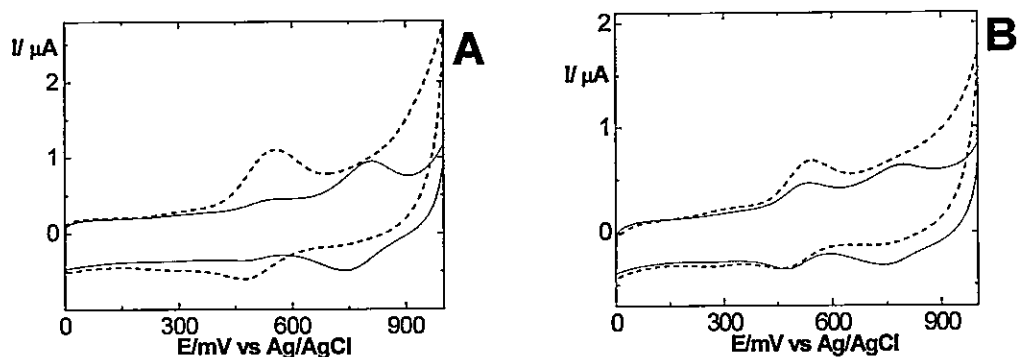


Figura 49: Perfiles voltamétricos de A) NiTRP y B) CoTRP a diferentes tiempos en tampón fosfato 0,05M. Tiempo cero (línea sólida) y después de 24 horas (línea discontinua). Radio electrodo 1,5 mm.

Después de 24 horas de preparada la solución de MTRP en tampón fosfato el proceso redox que aparecía centrado en 750mV y originalmente asociado al par redox Ru(III)/(II), desaparece y es reemplazado en su totalidad por un el proceso centrado cerca de los 550mV. Este efecto puede estar relacionado con un intercambio de ligandos cloruros (muy lábiles) por grupos fosfato. Reportes confirman la coordinación efectiva de grupos fosfato con complejos de rutenio [Juris y col., 1988; Lisowski y col., 2004], validando esta hipótesis. Por lo tanto, ambos procesos corresponden al par Ru(III)/(II), pero con distinto ligando asociado.

Una vez caracterizado el comportamiento voltamétrico del complejo en tampón fosfato se añadieron concentraciones crecientes de ADN en la solución tampón. La Figura 50 exhibe la respuesta voltamétrica obtenida para cada uno de los tres complejos.

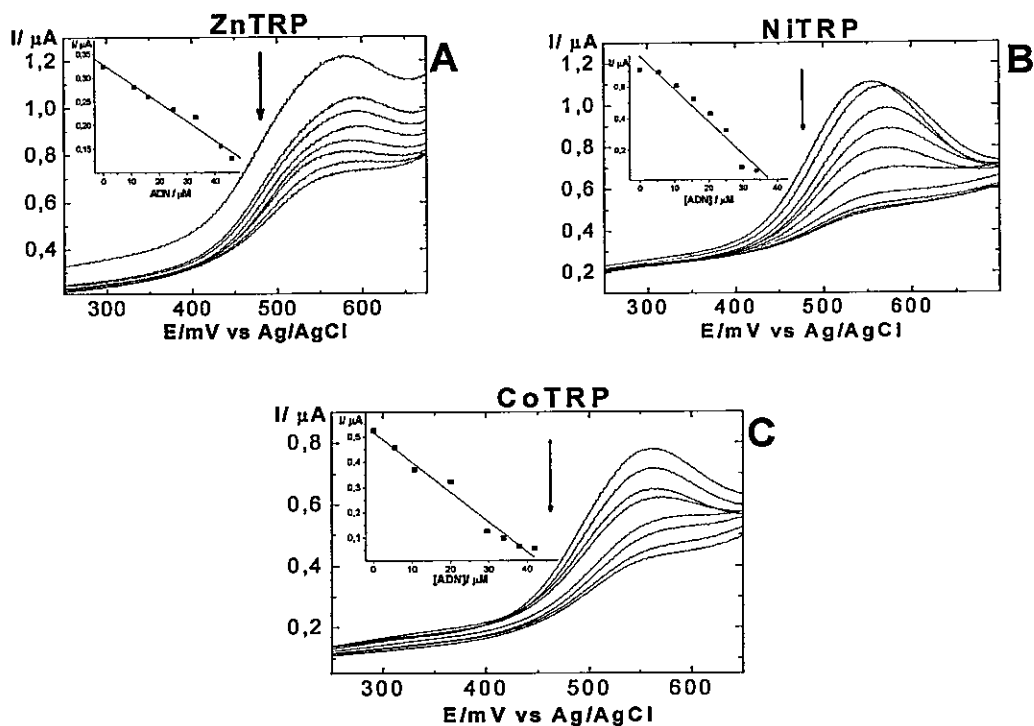


Figura 50: Respuesta voltamétrica de A) ZnTRP, B) NiTRP y C) CoTRP a concentraciones crecientes de ADN (0-40 μM) en tampón fosfato. Inserto: Gráfica de I_p vs $[\text{ADN}]$. Radio electrodo 1,5 mm.

De la Figura 50 se desprende que para los tres macrociclos, esto es, ZnTRP, NiTRP y CoTRP, la corriente disminuye de manera lineal con el incremento en la concentración de ADN en el intervalo comprendido entre 1 y 40 μM (inserto Figura 50). Además, la sensibilidad mostrada por los macrociclos frente al ADN disminuye en el siguiente orden: NiTRP \approx CoTRP \gg ZnTRP.

Por otra parte, se realizaron perfiles voltamétricos con ADN adsorbido en la superficie del electrodo y dejando al macrociclo en solución. En todos los casos el par redox asociada al proceso Ru(III)/(II) no fue observada. Este hecho implica que la interacción MTRP-ADN inhibe la transferencia electrónica en el ADN.

En general, como los pares de bases son planares se favorece la interacción por apilamiento de los sistemas aromáticos ($\pi \rightarrow \pi$) entre el anillo de porfirina o bipyridinas (ligandos del macrociclo) y las bases del ADN. Además, la fuerza atractiva entre el macrociclo y el ADN esta favorecida desde el punto de vista electrostático, ya que, los grupos fosfato presentes en el ADN atraen al macrociclo de carga positiva. Por otra parte, el transporte de carga en el ADN es debido a saltos de electrones a través del apilamiento de los sistemas π de las bases. De esta manera un intercalador activo puede actuar como dopante de carga y una deformación de la doble hebra o mal emparejamiento de bases puede disminuir y/o interrumpir el transporte [Treadway y col., 2002]. Esta información nos permite descartar la intercalación activa del macrociclo en el ADN tanto por su tamaño (2,2nm de diámetro), como por la disminuida transferencia electrónica cuando el ADN se encuentra adsorbido en la superficie electródica.

Teniendo en cuenta los hechos anteriores y considerando el alto valor de K_b , se puede afirmar que las interacciones MTRP-ADN son lo suficientemente intensas como para deformar la doble hélice e impedir la transferencia electrónica. Ya que, como sabemos el ADN existe en los sistemas biológicos principalmente en su llamada “forma B”, pero también existen diferentes polimorfos como A- ADN y Z-ADN [Richards y Rodger, 2007]. Esta hipótesis explicaría además la razón del porque I_p asociada a Ru (III)/(II) disminuye con el incremento de la concentración de ADN.

3.5.1.1.4 Estudios voltamétricos de $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ -ADN y su comparación con MTRP-ADN

Finalmente se reproducen estudios voltamétricos reportados previamente [Mugweru y Rusling, 2002; Johnston y col., 1995] para la interacción $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ -ADN con el objeto de comparar su comportamiento con el exhibido por las porfirinas tetra-rutenadas.

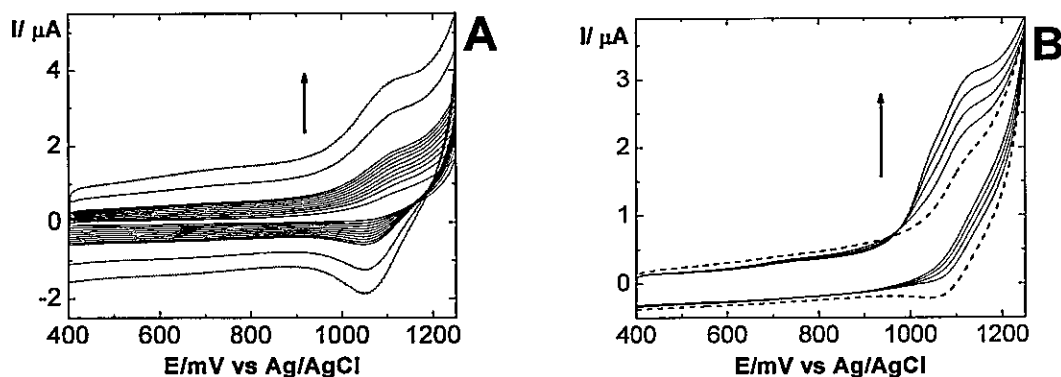


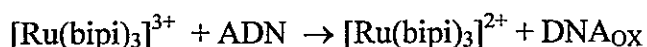
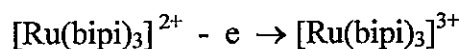
Figura 51: Comportamiento electroquímico de $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ 20 μM en tampón fosfato pH 7,4 A) sin ADN (entre 20 y 300 mV/s), B) en presencia de concentraciones crecientes de ADN. Radio electrodo 1,5 mm.

Como se observa en la Figura 51, el proceso redox $\text{Ru}(\text{III})/(\text{II})$ en $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ aparece a potenciales mucho más anódicos (mayores sobrepotenciales) en comparación con MTRP, esto es, la porfirina tetrarutenada debido a su sistema π -extendido rico en electrones es mucho más susceptible de ser oxidada en comparación a $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$. Además, la pendiente de la gráfica $\log I_{\text{pa}}$ vs $\log v$ resultó de 0,44 hecho que indica que el proceso redox está controlado solo por la difusión de la especie electroactiva a la superficie electródica.

Por otra parte, la intensidad de corriente del proceso $\text{Ru}(\text{III})/(\text{II})$ aumenta proporcionalmente con la concentración de ADN, este resultado indica una marcada

diferencia entre la interacción de MTRP-ADN y $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ -ADN. Reportes anteriores [Mugweru y Rusling, 2002; Johnston, 1995] describieron este aumento en I_p en presencia de ADN como función de la oxidación de las bases guaninas mediante un mecanismo electroquímico-químico según el esquema 2:

Esquema 2 (ÊC)



Además, se ha descrito que en la titulación espectrofotométrica de $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ las bandas asociadas al complejo no presentan corrimiento al rojo con adición de ADN [Mugweru y Rusling, 2002; Johnston, 1995], lo que estaría de acuerdo con una interacción intercalativa de $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ que actuaría como dopante aumentando la transferencia de carga en la doble hebra.

Los resultados muestran que existe una clara diferencia entre las interacciones de MTRP y $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ con ADN. El desplazamiento batocrómico de la banda Soret en MTRP con el incremento de la concentración de ADN sugiere la existencia de una alta afinidad que está de acuerdo con la capacidad de aceptar electrones del macrociclo porfirínico en comparación con los ligandos bipyridina. Además, se encontró que la señal voltamétrica del proceso $\text{Ru}(\text{III})/(\text{II})$ en MTRP exhibe un decrecimiento gradual con el incremento de la concentración de ADN, mientras que en $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ la señal aumenta directamente proporcional con la concentración de la biomolécula, es decir, mejora el comportamiento electrocatalítico [Narra y col., 2006; Li y col., 2007].

En consecuencia, $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ actuaría como un intercalador en el ADN dopándolo de carga y en MTRP esta interacción sería lo suficientemente intensa (debido al gran tamaño y extenso sistema π del macrociclo) como para deformar la doble hélice e impedir la transferencia electrónica a través de ella.

3.5.1.2 Estudios con electrodos modificados CV/Nf/MTRP

3.5.1.2.1 Estabilidad de los EM en distintos medios

Para que un método analítico sea robusto se deben considerar algunos criterios numéricos tales como: precisión, sensibilidad, límite de detección, intervalo de concentración y selectividad. Conforme a lo expuesto se compararon los coeficientes de variación de los resultados obtenidos con los electrodos CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP con el fin de seleccionar el método de modificación más reproducible para ser utilizado en los análisis que se presentan a continuación.

Los estudios con ADN se realizan comúnmente en tampones acetato a pH 5, citrato a pH 5 y fosfato a pH 7,4. De acuerdo a esta información, se evaluó la estabilidad de los electrodos CV/Nf/MTRP's en los tampones antes mencionados en función del decaimiento del par redox asociado al Ru (III)/(II), luego de realizar ciclados continuos de potencial. En todos los casos la estabilidad del EM se ve disminuida en comparación a NaClO_4 0,1M, sin embargo, de los tres tampones evaluados el tampón fosfato 0,05 M pH 7,4 presentó los mejores resultados por lo que se prosiguió el estudio bajo estas condiciones.

3.5.1.2.2 Estudio de la electrooxidación de ADN en tampón fosfato pH 7,4

Mediante la evaluación de la señal asociada al proceso redox Ru(III)/(II) obtenida por voltametría de pulso diferencial (VPD) se evaluó el efecto de:

- i) El protocolo y tiempo de acumulación con ADN
- ii) La concentración de ADN
- iii) El blanco (aplicación de protocolo y tiempo de acumulación pero en ausencia de ADN).

De los experimentos realizados se desprende en primera instancia que la señal asociada al proceso redox Ru(III)/(II) disminuye en presencia de ADN. Además, sin importar el protocolo, tiempo de acumulación y concentración de ADN, la pérdida de corriente siempre fluctuó entre los 20 y 30% de la corriente inicialmente obtenida por VPD, es decir, bajo estas condiciones no es posible generar un método de cuantificación de ADN, ya que, el electrodo modificado no responde a la concentración de ADN acumulado en su superficie.

3.5.1.2.3 Estudio de la electrooxidación de ADN en NaClO₄ pH 6

Con el fin de comparar la respuesta obtenida en tampón fosfato pH 7,4 se repite el estudio planteado en el punto 3.1.5.2 en NaClO₄ a pH 6. La Tabla 26 resume los resultados obtenidos para un tiempo de acumulación de 10 minutos.

Tabla 26: Efecto de la concentración de ADN sobre la señal voltamétrica del EM en NaClO₄ 0,1M.

Tiempo de acumulación/ min	Agitación	Concentración ADN/ppm	Perdida de I _p / %
10	No	0	1,5 ± 1,1
10	Si	0	3,0 ± 1,4
10	Si	25	3,0 ± 1,2
10	Si	50	3,4 ± 1,0
10	Si	75	3,4 ± 1,0

Nuevamente se encontró que independiente del protocolo, el tiempo de acumulación y la concentración de ADN, la pérdida de corriente de la señal asociada con el proceso redox del Ru(III)/(II) siempre se mantenía constante.

Hay que recordar que si bien la modificación CV/Nf/MTRP es la más estable y reproducible en comparación con CV/PVC/MTRP, también es la más compacta y menos porosa. De acuerdo a la caracterización morfológica sólo una pequeña porción de las porfirinas tetra-rutenadas presentes en la modificación queda expuesta directamente con la solución que contiene al analito, mientras que las otras sólo forman parte del apilamiento molecular permitiendo la comunicación con la superficie electródica. Entonces, considerando estos hechos, la pérdida de corriente obtenida por VPD puede ser debida a la saturación de la capa más externa de la superficie electródica por adsorción de ADN o simplemente al desprendimiento de la capa más externa de complejo por efecto de la agitación. Como consecuencia bajo estas condiciones tampoco es posible generar un método de cuantificación de ADN, ya que, el electrodo modificado no responde a la concentración de ADN acumulado en su superficie.

3.5.2 Oxidación electrocatalítica de peróxido de hidrógeno

3.5.2.1 Estudio hidrodinámico mediante CV/Nf/MTRP

La Figura 53 exhibe el comportamiento de las curvas corriente-potencial generadas a partir de voltamogramas hidrodinámicos para los electrodos CV, CV/Nf/CoTRP, CV/Nf/NiTRP y CV/Nf/ZnTRP en presencia de H_2O_2 0,02M y NaClO_4 0,1M como electrólito soporte.

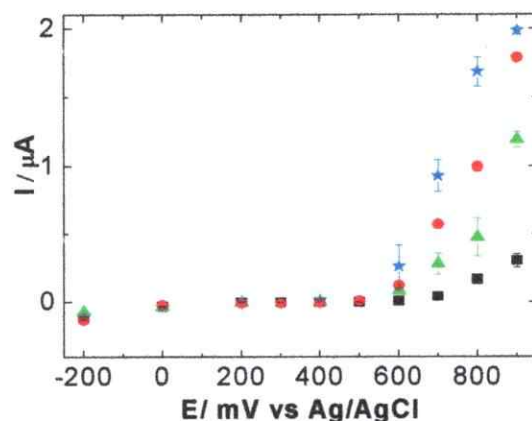


Figura 52: Gráficas de I vs E aplicado para CV (cuadrado), CV/Nf/CoTRP (estrella), CV/Nf/NiTRP (triángulo) y CV/Nf/ZnTRP (círculo) obtenidos para la oxidación de H_2O_2 0,02M en NaClO_4 0,1M. Radio electrodo 1,5 mm.

De la Figura 52 se desprende que los electrodos modificados disminuyen el sobrepotencial requerido para la oxidación de peróxido de hidrógeno en alrededor de 100 mV en comparación con carbón vítreo en las mismas condiciones experimentales. Además, el incremento en la corriente es notable comparando los sistemas a un potencial fijo, hecho que sugiere un aumento significativo en la sensibilidad de la determinación.

Por otra parte, los tres macrociclos utilizados en la modificación de carbón vítreo presentan una actividad catalítica diferente, sin embargo, como era de esperar los mejores resultados se obtuvieron con CoTRP.

Se han reportado los posibles mecanismos de transporte de carga para complejos redox confinados en una matriz polimérica [Zhang y col., 2009]. En general, la transferencia de carga toma lugar por difusión y/o por saltos, dependiendo de la interacción del complejo con la matriz. Cuando las especies redox interactúan con el polímero mediante enlaces químicos o interacciones físicas fuertes, la difusión de éstas apenas contribuye al transporte de la carga, puesto que es insignificamente lenta en comparación con los saltos de carga, que son considerados como el mecanismo dominante. Por ejemplo, en la oxidación de $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ (soportada electrostáticamente en Nafion) el producto $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+3}$, induce a un entrecruzamiento electroestático aun más fuerte con el Nafion aniónico que el que presenta el reactante, como consecuencia de esto el producto no se puede mover libremente a través de la matriz y la propagación de carga se realiza por un mecanismo de saltos. Por otra parte, los posibles mecanismos de transferencia de carga en los apilamientos moleculares son producidos por cualquiera de los siguientes mecanismos [Da Rocha y col., 2002]:

- a) mediante la generación de huecos desde el electrodo a los complejos de rutenio más cercanos a la superficie electródica y su propagación a través del sistema π -porfirínico,
- b) mediante la generación de huecos por saltos de electrones involucrando solamente a los complejos de rutenio periféricos,
- c) mediante la generación de huecos por saltos de electrones involucrando al ión del metal de transición coordinado al anillo de porfirina y,

d) mediante la conducción electrónica pura a través del apilamiento de sistema π -porfirinico.

Entonces, según la información disponible y considerando que se producen los cuatro mecanismos de transferencia de carga, es posible suponer que la diferencia en la oxidación electro-catalítica de peróxido de hidrógeno exhibida por CoTRP, NiTRP y ZnTRP estaría directamente relacionada con la formación del apilamiento molecular de las porfirinas tetra-rutenadas sobre la superficie de la matriz polimérica de Nafion y/o del electrodo.

De esta manera los apilamientos dependerán de la capacidad de empaquetamiento que presente cada macrociclo, habilidad que esta directamente relacionada con el número de electrones en los orbitales d del metal coordinado en la cavidad central del anillo de porfirina promoviendo o impidiendo la transferencia de carga de acuerdo al mecanismo c. De los tres metales Ni (II) es el único que se dispone en el plano de la porfirina, hecho que coincide con la menor actividad electro-catalítica exhibida por el complejo en todos los casos estudiados. Por su parte, tanto Co (II) como Zn (II) presentan radios iónicos superiores permaneciendo levemente fuera del plano de la porfirina. Entonces, el metal coordinado fuera del plano mejoraría el empaquetamiento entre los macrociclos favoreciendo la transferencia electrónica.

Como CoTRP es el macrociclo que presenta la mejor actividad electro-catalítica, sólo este complejo será usado para continuar con los estudios.

3.5.2.2 Estudio voltamétrico mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP

El comportamiento voltamétrico de CV, CV/NTC, CV/Nf/CoTRP y

CV/Nf/NTC/CoTRP hacia la oxidación de H_2O_2 es representado en la Figura 53.

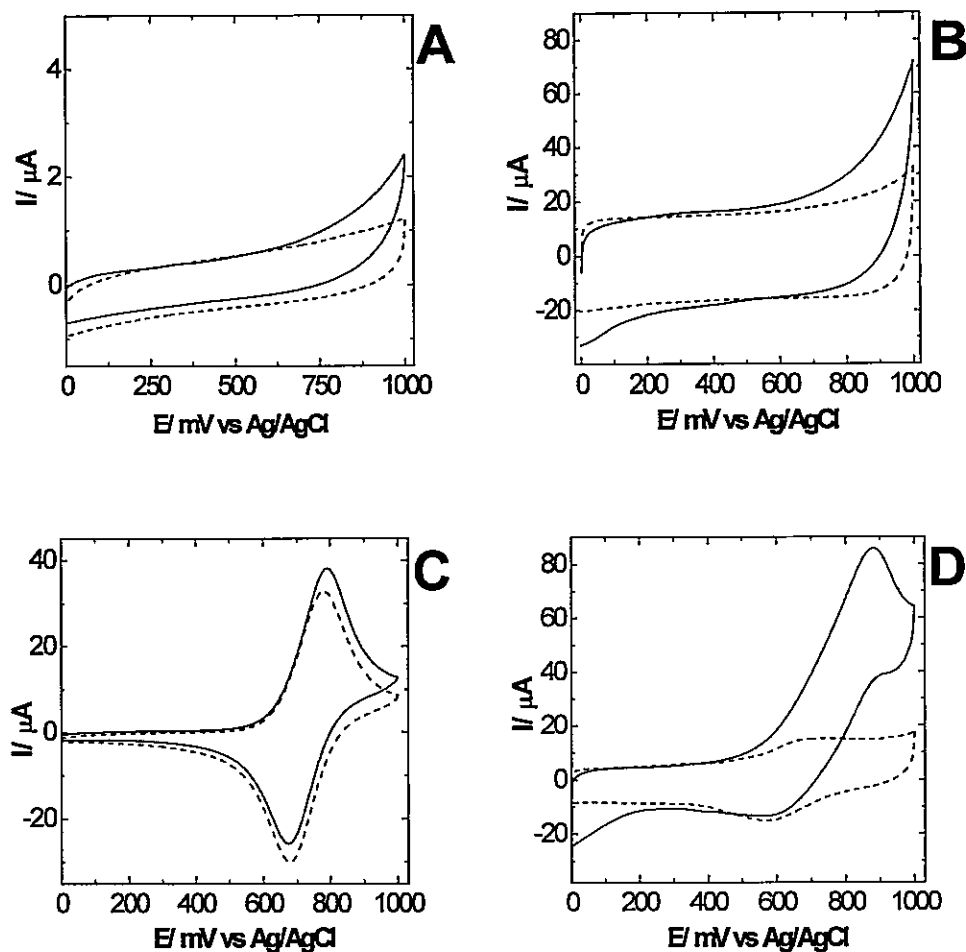


Figura 53: Respuesta voltamétrica de A) CV, B) CV/NTC, C) CV/Nf/CoTRP y D) CV/Nf/NTC/CoTRP en ausencia (línea punteada) y presencia (línea sólida) de H_2O_2 0,02M en $NaClO_4$ 0,1M. Velocidad de barrido 100mV/s. Radio electrodo 1,5 mm.

Como se muestra en la Figura 53, la corriente de oxidación de H_2O_2 obtenida con los electrodos modificados es varias veces mayor que la obtenida con CV (Figura 53A), hecho que confirma el carácter electro-catalítico de éstos. Además, tanto en

CV/Nf/CoTRP como en CV/Nf/NTC/CoTRP (Figuras 53C-D) la señal asociada con el proceso redox Ru(III)/(II) permanece visible, corroborando así la existencia del complejo en la modificación. Por otra parte, es de amplio conocimiento que la incorporación de NTC incrementa el área activa de la superficie electrodo [Wang y col., 2003; Pumera, 2009]. Entonces, el aumento del área activa otorgada por los nanotubos sumada a la hipótesis de que las propiedades electro-catalíticas del macrociclo se mantendrían intactas, sin duda es un buen precedente para la aplicación de este electrodo modificado en la detección de H_2O_2 .

Se evaluó también el comportamiento voltamétrico de CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP a diferentes velocidades de barrido (10 a 200 mV/s) en presencia de H_2O_2 0,02M (no mostrado). Como era de esperar, en ambos casos el pico de potencial para la oxidación catalítica de H_2O_2 se desplaza a potenciales más positivos con el incremento de la velocidad de barrido. Este resultado sugiere una limitación cinética en la reacción entre los sitios redox de ambos electrodos modificados y el peróxido de hidrógeno [Salimi y col., 2007; Shamsipur y col., 2010].

Con el fin de obtener información sobre el paso determinante de la velocidad, graficas de Tafel (η vs $\log I_{corr}$) fueron realizadas utilizando los datos procedentes de la parte ascendente de la curva corriente-sobrepotencial (región de baja polarización) registradas con electrodo de disco rotatorio a 1600 rpm y 5 mV/s como velocidad de barrido para una solución de H_2O_2 1 mM. Estas gráficas presentan pendientes de 121 y 132 mV/década para CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP respectivamente (Figuras 54 A y B). Estos valores revelan que la transferencia del primer electrón es el paso determinante de la velocidad en la reacción de oxidación de H_2O_2 [Fletcher, 2009].

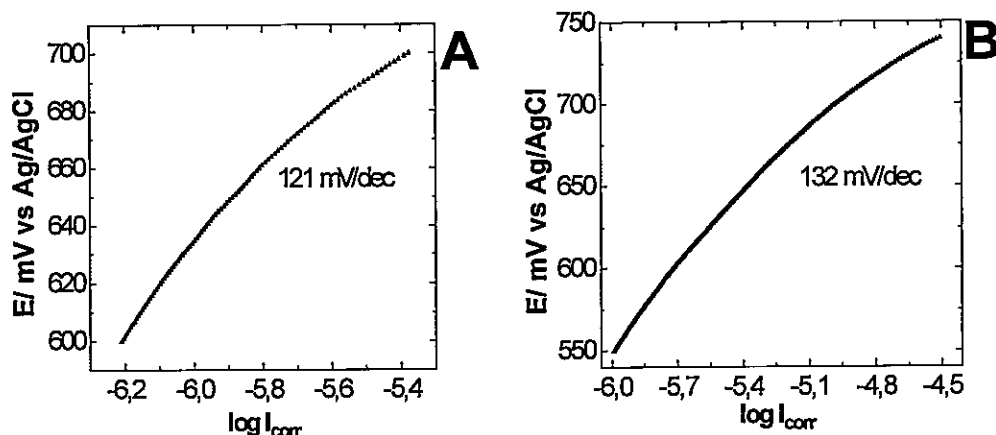
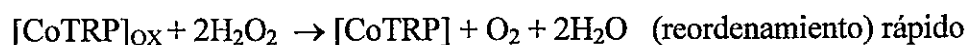
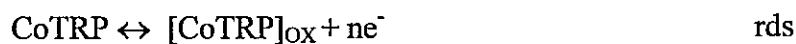


Figura 54: Pendientes de Tafel de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en H_2O_2 1 mM. Radio electrodo 1,96 mm.

Además, gráficas de $Iv^{-1/2}$ versus v (I : corriente normalizada y v : velocidad de barrido) para ambos electrodos exhiben la forma característica de un proceso catalítico EC' (no mostrado) [Salimi y col., 2007; Shamsipur y col., 2010].

Considerando este resultado y sumando la información otorgada por las pendientes de Tafel, es posible suponer que tanto CV/Nf/CoTRP como CV/Nf/NTC/CoTRP electrocatalizan la oxidación del peróxido de hidrógeno a oxígeno, de acuerdo al Esquema 3:

Esquema 3 (ECÉ)



El primer paso es el determinante de la velocidad y corresponde a la oxidación del macrociclo, específicamente a los ligandos que contienen Ru (II). Posteriormente, el

paso químico rápido puede ser interpretado como una reorganización del apilamiento de los macrociclos que conllevan posteriormente a la oxidación del peróxido de hidrógeno.

3.5.2.3 Estudios en electrodo de disco rotatorio mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP

Con el fin de determinar los factores cinéticos que controlan la oxidación electroquímica de H_2O_2 , se llevaron a cabo experimentos de electrodo de disco rotatorio. La Figura 55 representa las curvas de polarización I-E de la oxidación electro-catalítica de H_2O_2 en CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP registradas a diferentes velocidades de rotación (200-2000 rpm) a 5 mV/s.

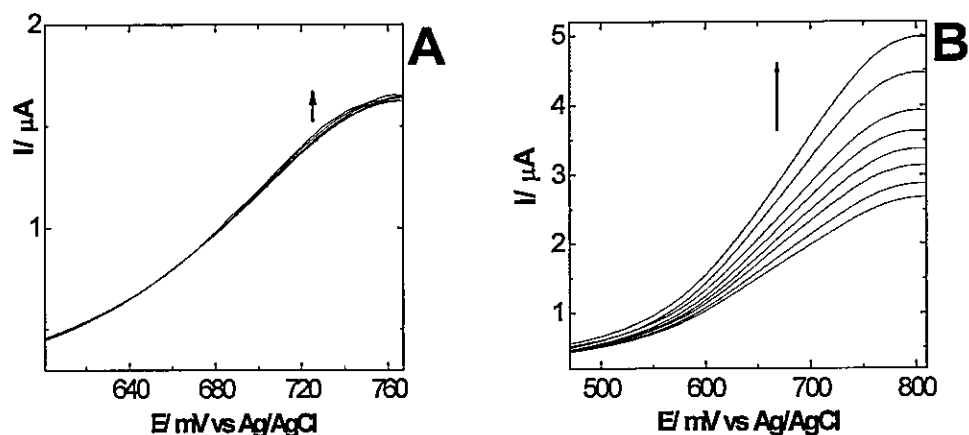


Figura 55: Respuesta voltamétrica sobre electrodo de disco rotatorio para A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en presencia de H_2O_2 1mM. Velocidad de barrido: 5 mV/s. Radio electrodo 1,96 mm.

En ambos casos se observa la tendencia sigmoideal típica para las curvas I-E, sin embargo el comportamiento de I_{lim} en función de la velocidad de rotación es completamente diferente entre ellas. A partir de la realización de graficas de Levich

(Figura 56), esto es, I_{lim} vs $\omega^{1/2}$, se puede obtener mayor cantidad de información sobre los sistemas en estudio.

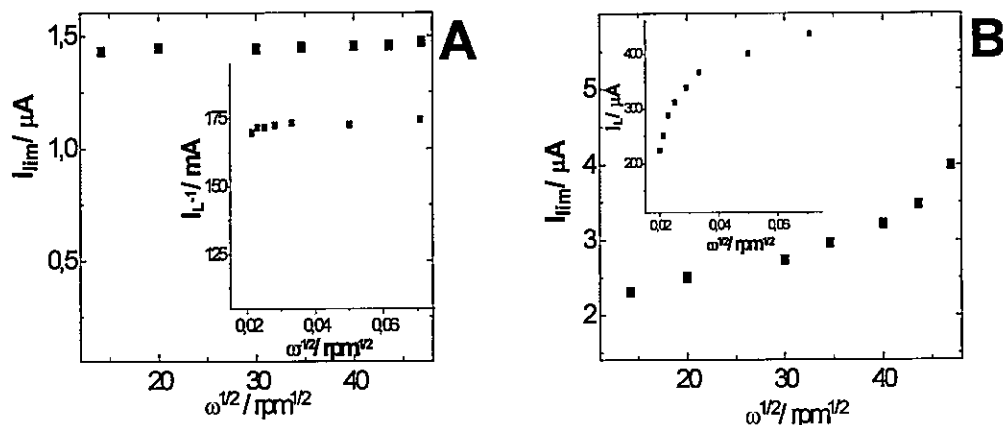


Figura 56: Gráficas de Levich de A) CV/Nf/CoTRP y B) CV/Nf/NTC/CoTRP en presencia de H_2O_2 1mM. Inseto: Grafica de Koutecky – Levich.

Como se observa en la Figura 56 en ninguno de los dos casos la grafica de Levich pasa por el origen, de hecho para el sistema CV/Nf/NTC/CoTRP esta relación ni siquiera sigue una tendencia lineal. Este comportamiento (intercepto $\neq 0$) implica que existe un factor cinético limitante más importante que la difusión de H_2O_2 a la superficie electrónica para ambos sistemas. Las gráficas de Koutecky-Levich (I_{lim}^{-1} vs $\omega^{-1/2}$) de CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP se exhiben en el inserto de la Figura 56. CV/Nf/CoTRP muestra claramente que la corriente límite es independiente de la velocidad de rotación con una pendiente aproximada a cero, mientras que para CV/Nf/NTC/CoTRP la relación entre estas variables sigue una tendencia logarítmica. En electrodos modificados con películas poliméricas electroactivas son varios los procesos que pueden contribuir a la corriente límite [Bard, 2001; Leddy y col., 1985].

Sin embargo, en la mayoría de los sistemas experimentales sólo dos o tres de éstos contribuyen de manera efectiva a definir el factor limitante de la velocidad. A partir de la teoría Andrieux-Saveant se han desarrollado algunos criterios de diagnóstico para determinar el proceso con mayor contribución cinética en la reacción electroquímica, las graficas de Koutecky-Levich han sido las más utilizadas para este propósito.

Para el electrodo modificado CV/Nf/CoTRP la grafica de Koutecky-Levich con pendiente igual a cero, esto es, I_{lim} independiente de la velocidad de rotación implicaría que el factor que rige la cinética del proceso es la propagación de carga a través de la película (caso E). Mientras que, la no linealidad de la gráfica de Koutecky-Levich exhibida por CV/Nf/NTC/CoTRP hace imposible descartar cualquiera de los tres casos límite que controlan la cinética de la reacción; por lo tanto, la propagación de carga a través de la película (caso E), la reacción de intercambio (caso R) y la transferencia de masa del sustrato a través de la película (caso S) son los factores cinéticos que gobiernan el proceso [Randriamahazaka y col, 2002; Kumar y Pillai, 2009].

Finalmente, como experimento complementario se realizaron gráficas de I_L versus E a diferentes concentraciones de H_2O_2 y con una velocidad de rotación del electrodo de 1600 rpm (no mostrado). Para el electrodo modificado CV/Nf/CoTRP, la corriente límite es proporcional con la concentración de H_2O_2 , sin embargo, la recta no pasa por el origen. Mientras que para CV/Nf/NTC/CoTRP el comportamiento es similar, salvo que a partir de una concentración dada la superficie del electrodo se satura. Ambos comportamientos confirman una propagación de carga lenta en la película [Ma y col, 1993].

3.5.2.4 Determinación amperométrica de H_2O_2 mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP

Debido a que la amperometría bajo condiciones dinámicas es mucho más sensible en corriente que la voltametría cíclica, este método fue empleado para estimar los límites de detección del método.

La Figura 57, muestra la respuesta típica de las curvas de corriente catalítica versus tiempo en estado estacionario para CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP con la inyección sucesiva de H_2O_2 (0,5 a 4mM) y la aplicación de 700 (Figura 57A) y 800 mV (Figura 57B).

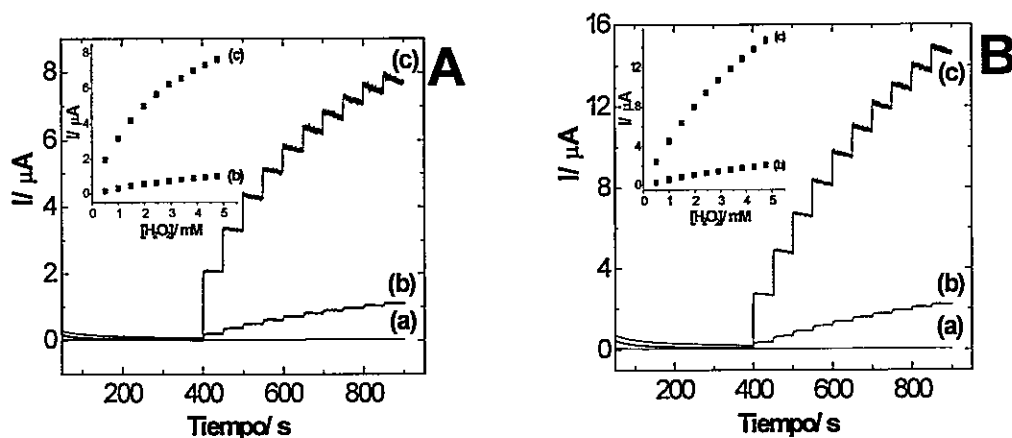


Figura 57: Respuesta amperométrica de (a) CV, (b) CV/Nf/CoTRP y (c) CV/Nf/NTC/CoTRP obtenidas a A) 700 y B) 800 mV para adiciones sucesivas de H_2O_2 . Inseto: Gráfica de corriente observada vs concentración de H_2O_2 . Radio electrodo 1,5 mm.

Se observa una respuesta en corriente bien definida para ambos electrodos tras la adición sucesiva de H_2O_2 a la matriz de $NaClO_4$.

Cabe señalar que las mediciones fueron realizadas por triplicado utilizando diferentes electrodos, además se evaluó la respuesta de un mismo electrodo modificado frente a

amperometrías sucesivas previo lavado con abundante agua nanopura, observándose una pérdida de respuesta casi imperceptible tras la primera medición. Por lo que es posible inferir que CoTRP inmovilizado en la película de Nf tanto en presencia como en ausencia de NTC genera una película modificadora catalítica, estable y de modificación y respuesta reproducible.

Por otra parte, existe una relación lineal entre la respuesta en corriente y la concentración de H_2O_2 en el intervalo 0,5 a 5mM, la que se desvía de su linealidad a concentraciones más elevadas (inserto de la Figura 57). Todas las gráficas presentan un coeficiente de regresión superior a 0,99. Además, la sensibilidad del método (obtenida desde la pendiente de la zona lineal de la gráfica) se mantuvo en el intervalo comprendido entre 0,2 y 3,1 nA/ μ M (ver Tabla 28). De acuerdo es esto, el electrodo modificado CV/Nf/NTC/CoTRP presentó mejor sensibilidad que CV/Nf/CoTRP.

Finalmente, los límites de detección (LD) determinados como el valor de la respuesta en corriente dividido por tres veces el la señal del ruido están en el orden de los 10^{-6} M como lo presenta la Tabla 27.

Tabla 27. Parámetros electroanalíticos para la determinación de H_2O_2 mediante CV/Nf/CoTRP y CV/Nf/NTC/CoTRP en $NaClO_4$ 0,1.

Electrodo	$E_{APLICADO}$ / mV	LD/ 10^{-6} M	Sensibilidad/ nA μ M ⁻¹
CV/Nf/CoTRP	700	580	0,21
	800	210	0,44
CV/Nf/NTC/CoTRP	700	29	1,5
	800	16	3,1

Como era de esperar, los valores mas bajos de LD fueron obtenidos con CV/Nf/NTC/CoTRP. Estos resultados nos hacen presumir la posible utilización de este dispositivo en el seguimiento y determinación de H_2O_2 , ya que, además de generar una película estable y reproducible exhibe también excelentes propiedades electro-catalíticas disminuyendo considerablemente los sobrepotenciales requeridos para la oxidación amperométrica de este analito.

Si bien todos los electrodos modificados investigados presentaron LD similares a los valores previamente reportados para electrodos modificados con ftalocianinas de cobalto [Ozoemena y col., 2005; Ozoemena y Nyokong, 2006; Mashazi y col., 2010], porfirinas [Shao y col., 2010], nanotubos de carbono [guzmán y col., 2009] y perovskitas [Luque y col., 2009], estos presentan también características ampliamente deseables en cualquier potencial sensor como son buena resolución, precisión y linealidad, además de alta sensibilidad, velocidad de respuesta y estabilidad que no todos sus pares exhiben.

CAPÍTULO 4

4. DISCUSIÓN GENERAL

ELECTRODOS MODIFICADOS

CV/Nf/MTRP's

De acuerdo a los resultados experimentales el Nafion se dispondría sobre la superficie electródica generando principalmente dos zonas: una hidrofóbica correspondiente a la cadena fluorocarbonada y otra hidrofílica asociada a la presencia de grupos sulfónicos en la estructura del polielectrolito. Por otra parte, el ligando de bipyridina puede ser considerado como un sistema π -extendido y lo suficientemente planar para facilitar las interacciones por apilamiento entre moléculas adyacentes, como por ejemplo: i) bipi-bipi, ii) bipi-sistema π porfirínico y iii) sistema π porfirínico- sistema π porfirínico.

De esta manera MTRP interactuaría con Nafion mediante interacciones: hidrofóbicas entre el sistema π extendido del anillo aromático con la cadena fluorocarbonada y electrostáticas entre el macrociclo cargado positivamente y la zonas hidrofílicas del polielectrolito. Como consecuencia las MTRP's se dispondrían tanto en las zonas hidrofílicas como hidrofóbicas del Nafion formando un apilamiento molecular sobre la superficie, esta película de MTRP sería lo suficientemente gruesa (~150 nm) como para impedir la exposición directa del Nafion a la solución electrolítica. Además, se encontró que el espesor total de la película modificadora está en el orden de los 190 nm.

CV/PVC/MTRP's

La modificación con PVC genera nódulos de diámetro irregular sobre la superficie electródica. La formación de tales nódulos podría explicarse si consideramos que al generar la mezcla las cadenas de polímero tienen mayor movilidad y se distribuyen homogénea y azarosamente. Sin embargo, cuando parte de ésta es depositada en la superficie electródica y después que el solvente ha sido totalmente evaporado, las cadenas de polímero tienden a enmarañarse formando un ovillo macromolecular sobre la superficie.

Por otra parte, cuando las MTRP's forman parte de la mezcla, estas también se distribuyen de manera homogénea y azarosa en la solución. Como resultado, al modificar el electrodo estas quedarían atrapadas entre las cadenas de polímero, dando lugar a nódulos regulares y homogéneamente dispuestos en la superficie electródica. Las MTRP's en este caso actuarían como una especie de "dispersante", hecho que origina la formación de nódulos bastante más regulares que los formados en su ausencia.

Las interacciones más probables entre PVC y MTRP serán de naturaleza hidrofóbica entre la cadena clorocarbonada del PVC y el sistema π de las MTRP's y el espesor de la película generada bordearía los 60 μm .

ESTUDIOS ELECTRO-CATALÍTICOS

Electro-reducción de NO_2^-

Mediante electrólisis a potencial controlado se evaluó la actividad catalítica de CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP frente a la reducción de NO_2^- , así como también los principales productos de reacción obtenidos bajo las condiciones experimentales utilizadas.

De acuerdo a los valores de TOF los electrodos CV/Nf/MTRP son más activos a la producción de NH_2OH (~ 66%), seguidos por NH_3 (~ 33%) y una cantidad insignificante de N_2H_4 . Mientras que los electrodos CV/PVC/MTRP son igualmente activos tanto para la producción de NH_2OH como a la de NH_3 y nuevamente la obtención de N_2H_4 es la menos significativa. La mayor producción de NH_2OH y NH_3 en comparación con N_2H_4 puede explicarse considerando que la reducción de NO_2^- vendría mediada por la especie NO^+ la cual tras una serie de transferencias de cargas se transformaría en NH_2OH , especie que puede seguir reduciéndose hasta la obtención de NH_3 .

Hay que señalar además que en los electrodos modificados el complejo de Co es el que exhibe la mayor actividad catalítica, mientras que Zn y Ni presentan una actividad catalítica similar. Este resultado nos puede orientar sobre cuál es el sitio activo en el catalizador, es muy probable que en los electrodos modificados con ZnTRP y NiTRP la reducción de NO_2^- sea activada por una transferencia electrónica resultante desde el anillo macrocíclico sin la intervención del ión metálico central. Mientras que en CoTRP la transferencia electrónica ocurra desde centro metálico en su estado reducido.

Electroreducción de CO₂

Mediante electrólisis a potencial controlado se evaluó la actividad catalítica de CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP frente a la reducción de CO₂, así como también los principales productos de reacción obtenidos bajo las condiciones experimentales utilizadas.

Todos los electrodos modificados, con excepción de CV/Nf/ZnTRP, producen formaldehído.

La tendencia electro-catalítica en términos de TOF es exactamente la misma que la exhibida frente a la reducción de NO₂⁻, es decir, los mejores resultados se presentan con CoTRP mientras que ZnTRP y NiTRP presentan una actividad electrocatalítica similar. Estos hechos confirman la hipótesis planteada anteriormente de que tanto la reducción de CO₂ como la de NO₂⁻ sea activada por una transferencia electrónica resultante desde el anillo macrocíclico sin la intervención del ión metálico central tanto en presencia de ZnTRP y NiTRP, mientras que en CoTRP la transferencia electrónica es activada por Co (I).

Además, la presencia de alta densidad electrónica en el anillo porfirínico hace posible su desempeño como base en una reacción ácido-base. De este modo el macrociclo reducido será capaz de reaccionar con especies de carácter ácido tales como CO₂ para formar un complejo M-CO₂, así la subsiguiente protonación promueve la formación de un ácido metalocarboxílico y la reacción posterior puede producir CO y, si la transferencia electrónica continúa, el producto será HCOH.

Electro-reducción de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$

Mediante electrólisis a potencial controlado se evaluaron los principales productos de la reducción electro-catalítica de $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$ por medio de los electrodos CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP bajo las condiciones experimentales utilizadas.

De acuerdo a los TOF obtenidos es posible afirmar que todos los electrodos modificados son activos frente a la producción de urea. La selectividad en la obtención de este compuesto se relaciona estrechamente con el tipo de catalizador metálico utilizado, el cual debe tener la capacidad de formar CO y NH_3 de manera *in situ* y simultáneamente en la interfase electródica. Considerando este hecho fue posible avalar de manera indirecta la generación de CO como producto de reducción, ya que, además el CO es una especie intermediaria que puede seguir reduciéndose para generar formaldehído. Además, en todos los casos los valores de TOF's para la formación de NH_3 en la reducción simultánea $\text{NO}_2^-/\text{CO}_2$ decrecen considerablemente en comparación con los determinados para la reducción solo de NO_2^- . Este hecho no es sorprendente, ya que, el NH_3 producido en la interfaz debe ser consumido para formar urea.

En general, las diferencias electro-catalíticas entre los electrodos CV/Nf/MTRP y CV/PVC/MTRP son atribuidas a las diferencias morfológicas entre las películas. Por una parte, las películas de Nafion generan un apilamiento molecular muy compacto y regular sobre la superficie electródica que impide la libre difusión de las moléculas en solución, mientras que las de PVC generan nódulos de tamaños variables y bastante porosos en comparación con el Nafion.

Por otra parte, las reducciones serían activadas por una transferencia electrónica resultante desde el anillo macrocíclico en ZnTRP y NiTRP, mientras que en CoTRP, ésta sería activada por Co (I).

ESTUDIOS ELECTRO-ANALÍTICOS

Oxidación electro-catalítica de las bases guanina presentes en el ADN

Los resultados muestran que existe una clara diferencia entre las interacciones de MTRP y $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ con ADN. El desplazamiento batocrómico de la banda Soret en MTRP con el incremento de la concentración de ADN sugiere la existencia de una alta afinidad que está de acuerdo con la capacidad de aceptar electrones del macrociclo porfirínico en comparación con los ligandos bipyridina. Además, se encontró que la señal voltamétrica del proceso $\text{Ru}(\text{III})/(\text{II})$ en MTRP exhibe un decrecimiento gradual con el incremento de la concentración de ADN, mientras que, en el $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$, la señal aumenta en forma directamente proporcional con la concentración de la biomolécula, es decir, mejora el comportamiento electro-catalítico.

Entonces el $\text{Ru}(\text{bipi})_3^{+2}$ actuaría como un intercalador en el ADN dopándolo de carga y en MTRP esta interacción sería lo suficientemente intensa (de acuerdo al alto valor de K_b y a los resultados electroquímicos) como para deformar la doble hélice e impedir la transferencia electrónica a través de ella. Además se desprende que no existe una interacción diferenciada por el metal coordinado a la cavidad central del anillo porfirínico.

Al utilizar la película modificadora más estable (CV/Nf/MTRP) en la oxidación electrocatalítica de ADN, la pérdida de corriente de la señal asociada con el proceso redox del Ru(III)/(II) siempre se mantenía constante, independiente de la concentración de la biomolécula. Hay que recordar que si bien la modificación CV/Nf/MTRP es la más estable y reproducible en comparación con CV/PVC/MTRP, también es la más compacta y menos porosa. De acuerdo a la caracterización morfológica sólo una pequeña porción de las porfirinas tetra-rutenadas presentes en la modificación queda expuesta directamente con la solución que contiene al analito, mientras las otras sólo forman parte del apilamiento molecular permitiendo la comunicación con la superficie electródica. Entonces, considerando estos hechos la pérdida de corriente obtenida puede ser debida a la saturación de la capa más externa de la superficie electródica por adsorción de ADN o simplemente al desprendimiento de la capa más externa de complejo por efecto de la agitación. En consecuencia bajo estas condiciones, es imposible generar un método de cuantificación de ADN, ya que, el electrodo modificado no responde a la concentración de ADN acumulado en su superficie.

Oxidación electro-catalítica de peróxido de hidrógeno

Los tres macrociclos utilizados en la modificación de carbón vítreo presentan una actividad catalítica diferente, obteniéndose los mejores resultados con CoTRP. Según la información disponible es posible suponer que la diferencia en la oxidación electrocatalítica de peróxido de hidrógeno exhibida por CoTRP, NiTRP y ZnTRP estaría directamente relacionada con la formación del apilamiento molecular de las porfirinas tetrarutenadas sobre la superficie de la matriz polimérica de Nafion y/o del electrodo. De

esta manera los apilamientos dependerán de la capacidad de empaquetamiento que presente cada macrociclo, habilidad que esta directamente relacionada con el número de electrones en los orbitales d del metal coordinado en la cavidad central del anillo de porfirina promoviendo o impidiendo la transferencia de carga a través de este apilamiento.

CAPÍTULO 5

n

5. CONCLUSIONES

Se diseñaron, construyeron y caracterizaron películas basadas en MTRP- PVC y Nafion. Estas películas fueron capaces de modificar fácilmente superficies electrónicas, manteniendo las excelentes propiedades electro-catalíticas del macrociclo, además de una resistencia mecánica y química mejorada por la presencia de las matrices poliméricas.

Los electrodos modificados fueron aplicados en electro-catálisis mediante el estudio de la reducción simultánea de CO_2 y NO_2^- y en electro-análisis mediante la detección de ADN y H_2O_2 .

CAPÍTULO 6

6. REFERENCIAS

A

Airoldi L., Galli A., Vago F., Fanelli R., Negri E., La Vecchia C. y Vierucci S. 1997. Salivary nitrate, nitrite and N-nitroso compounds in patients with cancer of the upper aerodigestive tract. *Eur. J. Cancer Prev.* 6 :351-356.

Afkhami A., Madrakian T., Maleki A. 2006. Indirect kinetic spectrophotometric determination of hydroxylamine based on its reaction with iodate. *Anal. Sci.* 22:329-331.

Aga H., Aramata A. y Hisaeda Y. 1997. The electroreduction of carbon dioxide by macrocyclic cobalt complexes chemically modified on a glassy carbon electrode. *J. Electroanal. Chem.* 437:111-118.

Anson F., Shi C. y Steiger B. 1997. Novel multinuclear catalysts for the electroreduction of dioxigen directly to water. *Acc. Chem. Res.* 30:437-444.

Arakawa H., Aresta M., Armor J.N., Barteau M.A., Beckman E.J., Bell A.T., Bercaw J.E., Creutz C., Dinjus E., Dixon D.A., Domen K., Dubois D.L., Eckert J., Fujita E., Gibson D.H., Goddard W.A., Goodman D.W., Keller J., Kubas G.J., Kung H.H., Lyons J.E., Manzer L.E., Marks T.J., Morokuma K., Nicholas K.M., Periana R., Que L., Rostrup-Nielson J., Sachtler W.M.H., Schmidt L.D., Sen A., Somorjai G.A., Stair P.C., Stults B.R. y Tumas W. 2001. Catalysis research of relevance to carbon management: Progress, challenges, and opportunities. *Chem. Rev.* 101: 953-996.

Araki. K., Agnes L., Azevedo C.M.N. y Toma H.E. 1995. Electrochemistry of a tetra-ruthenated cobalt porphyrin and its use in modified electrodes as sensors of reducing analytes. *J. Electroanal. Chem.* 397:205-210.

Araki K., Santos P., Oliveira L. y Toma H. 1995. Resonance Raman spectra of a supramolecular species containing four ruthenium(II)-bipyridine complexes attached to Zinc-Tetrapyrrolyl Porphinate. *spectroscopy letters* 28:119-126.

Araki K., Silva C.A, Toma H.E., Catalani L.H., Medeiros M.H.G. y Di Mascio P. 2000. Zinc tetra-ruthenated porphyrin binding and photoinduced oxidation of calf-thymus DNA. *J. Inorg. Biochem.* 78:269-273.

Araki K., Wagner M. y Wrighton M. 1996. Layer by layer growth of electrostatically assembled multilayer porphyrin films. *Langmuir* 12:5393-5398.

Araki K., Toma H.E. 1999.

Electrochemistry of a tetraruthenated iron porphyrin and its electrostatically assembled bilayered films. *Electrochimica Acta* 44: 1577-1583.

Ariga K. y Kunitake T. 2006

Supramolecular Chemistry: Fundamentals and Applications. Editorial Springer.

Araminaitè R., Garjonytè R., Malinauskas A. 2010.

Electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide at Prussian blue modified electrodes: a RDE study. *J. Solid State Electrochem.* 14:149-155.

Arias P., Ferreyra N.F., Rivas G. y Bollo S. 2009.

Glassy carbon electrodes modified with CNT dispersed in chitosan: Analytical applications for sensing DNA–methylene blue interaction. *J. Electroanal. Chem.* 634:123-126.

Armistead P. y Thorp H. 2000.

Modification of indium tin oxide electrodes with nucleic acids: Detection of attomole quantities of immobilized DNA by Electrocatalysis. *Anal. Chem.* 72:3764-3770.

Atoguchi T., Aramata A., Kazusaka A. y Enyo M. 1991.

Cobalt(II)–tetraphenylporphyrin–pyridine complex fixed on a glassy carbon electrode and its prominent catalytic activity for reduction of carbon dioxide. *Chem. Commun.* 3: 156-157.

Azevedo C.M.N., Araki. K., Toma H.E. y Agnes L. 1999.

Determination of sulfur dioxide in wines by gas-diffusion flow injection analysis utilizing modified electrodes with electrostatically assembled films of tetraruthenated porphyrins. *Anal. Chimica Acta* 387:175-180.

B

Banks C.E., Crossley A., Salter C., Wilkins S.J. y Compton R.G. 2006.

Carbon nanotubes contain metal impurities which are responsible for the “electrocatalysis” seen at some nanotube-modified electrodes. *Angew. Chem.* 45: 2533-2537.

Banks C.E., Moore R.R., Davis T.J. y Compton R.G. 2004.

Investigation of modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: definitive evidence for the electrocatalytic properties of the ends of carbon nanotubes. *Chem. Commun.* 16:1804-1805.

Banks C.E., Moore R.R., Wildgoose G.G. y Compton R.G. 2005.

Electrocatalysis at graphite and carbon nanotube modified electrodes: edge-plane sites and tube ends are the reactive sites. *Chem. Commun.* 7:829-841.

Bard A.J. y Faulkner L. 2001.

Electrochemical methods: fundamentals and applications. Editorial Wiley, USA.

- Bard A.J. y Mirkin M.V. 2001
Scanning Electrochemical Microscopy. Editorial Marcel Dekker, New York.
- Barley M.H., Takeuchi K.J. y Meyer T.J. 1986.
Electrocatalytic reduction of nitrite to ammonia based on a water-soluble iron porphyrin. *J. Am. Chem. Soc.* 108: 5876-5885.
- Batchelor-McAuley C., Wildgoose G.G., Compton R.G., Shao L. y Green M.L.H. 2008.
Copper oxide nanoparticle impurities are responsible for the electroanalytical detection of glucose seen using multiwalled carbon nanotubes. *Sens. Actuators B* 132:356-360.
- Blair E, Sulc F. y Farmer P.J. 2006.
N-4 Macrocyclic metal complexes, en: Zagal J.H, Bedioui F. y Dodelet J.P. (Eds.), *Biomimetic NO_x reductions by heme models and proteins*. Editorial Springer, New York.
- Beletskaya I., Tyurin V.S., Tsivadze A.Y., Roger G. y Stern C. 2009.
Supramolecular chemistry of metalloporphyrins. *Chem. Rev.* 109:1659-1713.
- Beley M., Collin J.P., Ruppert R. y Sauvage J.P. 1986.
Electrocatalytic reduction of CO₂ by Ni cyclam⁺² in water: Study of the factors affecting the efficiency and the selectivity of the process. *J. Am. Chem. Soc.* 108: 7461-7467.
- Belhaneche-Bensemra N., Bedda A. y Belaabed B. 2003.
Study of the properties of rigid and plasticized PVC/PMMA blends. *Macromol. Sym.* 202:151-166.
- Bhugun I., Lexa D. y Savéant J.M. 1996.
Homogeneous catalysis of electrochemical hydrogen evolution by iron (0) porphyrins. *J. Am. Chem. Soc.* 118: 3982-3983.
- Billmeyer F.W. 1979.
Ciencia De Los Polímeros, Reverte, España.
- Bo X., Bai J., Wang L. y Guo L. 2010.
In situ growth of copper sulfide nanoparticles on ordered mesoporous carbon and their application as nonenzymatic amperometric sensor of hydrogen peroxide. *Talanta* 81:339-345.
- Braida W. y Ong S.K. 2000.
Decomposition of nitrite under various pH and aeration conditions. *Water, air and soil pollution* 118: 13-26.
- Bricker C.E. y Johnson H.R. 1945.
Spectrophotometric method for determining formaldehyde. *Ind. Eng. Chem.* 17:399-402.

C

Cai X. y Zhao Z. 1988.

Determination of trace nitrite by catalytic polarography in ferrous iron thiocyanate medium. *J. Electroanal. Chem.* 252 :361-370.

Calfumán K., Aguirre M.J., Villagra D., Yañez C., Arévalo C., Matsuhira B., Mendoza L. e Isaacs M. 2010.

Nafion/tetraruthenated porphyrin glassy carbon-modified electrode: characterization and voltammetric studies of sulfite oxidation in water-ethanol solutions. *J Solid State Electrochem.* 14:1065-1072.

Calfumán K., García M., Aguirre M.J., Matsuhira B., Mensoza L. e Isaacs M. 2010.

Electrochemical reduction of S(IV) compounds in water-ethanol solutions at nafion/tetraruthenated porphyrins glassy carbon modified electrodes. *Electroanalysis* 22:338-344.

Cañete P., Ríos H., Vargas V., Ronco S., Isaacs M. y Urzúa M. 2008.

Detection of hydrophobic microdomains in anionic polyelectrolytes with tris-(4,7-diphenyl 1,10-phenanthroline)₃Cr(III). *J Colloid Interface Sci* 318:183-187.

Caro C.A., Bedioui F., Páez M.A., Cárdenas-Jiron G.I., Zagal J.H. 2004.

Experimental and theoretical study of the activity of substituted metallophthalocyanines for nitrite electro-oxidation. *J. Electrochem. Soc.* 151:332-339.

Casella I., Guasito M., Salvi A. y Desimoni E. 1997.

Catalytic oxidation and flor detection of hydrazine compounds at a Nafion/ruthenium (III) chemically modified electrode. *Anal. Chimica. Acta* 354:333-341.

Chan T.Y., 1966.

Food-borne nitrates and nitrites as a cause of methemoglobinemia. *Southeast. Asian J. Trop. Med. Public Health* 27:189-192.

Chen S.M., Su Y.O. 1990.

Electrocatalytic reduction of nitric oxide to ammonia by water-soluble iron porphyrin. *J. Electroanal. Chem.* 280:189-194.

Cheng S.H., Su Y.O. 1994.

Electrocatalysis of nitric oxide reduction by water-soluble cobalt porphyrin. Spectral and electrochemical studies. *Inorg. Chem.* 33:5847-5854.

Climent V., Markovic N.M. y Ross P.N. 2000.

Kinetics of oxygen reduction on an epitaxial film of palladium on Pt(111). *J. Phys. Chem. B.* 104: 3116-3120.

Cook R.L., MacDuff R.C. y Sammells A.F. 1990.

Perovskite solid electrolytes for intermediate temperature solid oxide fuel cells. *J. Electrochem. Soc.* 137: 3309-3310.

Costamagna J., Isaacs M., Aguirre M.J., Ramírez G., Azócar I. 2006.
N-4 Macrocyclic metal complexes, en: Zagal J.H, Bedioui F. y Dodelet J.P. (Eds.),
Electroreduction of CO₂ Catalyzed by Metallomacrocycles. Editorial Springer, New York.

Christensen P.A. y Higgins S.J. 1995.
The electrochemical reduction of CO₂ to oxalate at a Pt electrode immersed in acetonitrile
and coated with polyvinylalcohol/[Ni(dppm)₂Cl₂]. J. Electroanal. Chem. 387: 127-132.

D

Da Cruz Vieira I. 1998.
Flow injection spectrophotometric determination of hydrogen peroxide using a crude
extract of zucchini (*Cucurbita pepo*) as a source of peroxidase. Analyst 123:1809-1812.

Da Rocha J.C., Dements G., Bertotti M., Araki K. y Toma H. 2002.
Charge transfer at electrostatically assembled tetra-ruthenated porphyrin modified
electrodes. J. Electroanal. Chem. 526:69-76.

Davies T.J., Hyde M.E. y Compton R.G. 2005.
Nanotrench arrays reveal insight into graphite electrochemistry. Angew. Chem. 117:5251-
5256.

De Groot M.T. y Koper M.T.M. 2004.
The influence of nitrate concentration and acidity on the electrocatalytic reduction of nitrate
on platinum. J. Electroanal. Chem. 562: 81-94.

Didenko Y.T. y Pugach S.P. 1994.
Spectra of water sonoluminescence. J. Phys. Chem. A 98:9742-9749.

Dreyse P.A., Isaacs M.A., Iturriaga P.E., Villagra D.A., Aguirre M.J., Kubiak C.P., Glover
S.D. y Goeltz J.C. 2010.
Electrochemical preparation of conductive films of tetrapyrrolylporphyrins coordinated to
four [Ru(5-NO₂-phen)₂Cl]⁺ groups. J. Electroanal. Chem. 648: 98-104.

Duca M., Van der Klugt B., Hasnat M.A., Machida M., Koper M.T.M. 2010.
Electrocatalytic reduction of nitrite on a polycrystalline rhodium electrode. Journal of
Catalysis 275: 61-69.

E

Eaton A.D, Chesceri L.S, Rice E.W. y Greenberg. A.E. 2002.
Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Editorial APHA, AWWA,
WEF.

Eisenberg A. 1971.
Glass Transitions in Ionic Polymers. Macromolecules 4:125-128.

Eisenberg A. y Yeager H. 1982.
Perfluorinated ionomer membranes. ACS Symposium Series. 180:1-6.

F

Fawcett J.K. y Scott J.E. 1960.

A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Path.* 13:156-159.

Fedorko P., Djurado D., Trznadel M., Dufour B., Rannou P. y Travers J.P. 2003.

Insulator-metal transition in polyaniline induced by plasticizers. *Synth. Metals* 135:327-328.

Fletcher S. 2009.

Tafel slopes from first principles. *J. Solid State Electrochem.* 13:537-549.

Fletcher S. 2010.

The theory of electron transfer. *J. Solid State Electrochem.* 14: 705- 739.

Frackowiak E., Lota G., Cacciaguerra T. y Beguin F. 2005.

Carbon nanotubes with Pt-Ru catalyst for methanol fuel cell. *Electrochem. Commun.* (2005) 8:129-132.

Franz R.A. y Applegath F. 1961.

A new urea synthesis. I. The reaction of ammonia, carbon monoxide and sulfur. *J. Org. Chem.* 26: 3304-3305.

Furuya N. y Koide S. 1991.

Electroreduction of carbon-dioxide by metal phthalocyanines. *Electrochim. Acta.* 36:1309-1313.

Furuya N. y Matsui K. 1989.

Electroreduction of carbon dioxide on gas-diffusion electrodes modified by metal phthalocyanines. *J. Electroanal. Chem.* 271:181-191.

Furuya N., Yamazaki T. y Shibata M. 1997.

High performance Ru-Pd catalysts for CO₂ reduction at gas-diffusion electrodes. *J. Electroanal. Chem.* 431: 39-41.

G

García-Fresnadillo D., Marazuela M., Moreno-Bondi M. y Orellana G. 1999.

Luminescent Nafion membranes dyed with ruthenium(II) complexes as sensing materials for dissolved oxygen. *Langmuir* 15:6451-6459.

Gattrell M. y Gupta N. 2006.

A review of the aqueous electrochemical reduction of CO₂ to hydrocarbons at copper. *J. Electroanal. Chem.* 594: 1-19.

Gebel G. 2000.

Structural evolution of water swollen perfluorosulfonated ionomers from dry membrane to solution. *Polymer* 41:5829-5838.

- Gebel G. y Lambard J. 1997.
Small-angle scattering study of water-swollen perfluorinated ionomer membranes. *Macromolecules* 30:7914-7920.
- Greenway G.M., Haswell S.J. y Petsul P.H. 1999.
Characterisation of a micro-total analytical system for the determination of nitrite with spectrophotometric detection. *Anal. Chim. Acta*, 387:1-10.
- Gupta V., Jain A., Ishtaiwi Z., Lang H. y Maheshwari G. 2007.
Ni²⁺ selective sensor based on meso-tetrakis-{4-[tris-(4-allyldimethylsilyl-phenyl)-silyl]-phenyl}porphyrin and (sal)₂trien in poly(vinyl chloride) matrix. *Talanta* 73:803-811.
- Guschlbauer W. 1976.
Nucleic Acid Structure. Editorial Springer-Verlag New York Inc.
- Guzmán C., Orozco G., Verde Y., Jiménez S., Godínez L.A., Juaristi E. y Bustos E. 2009.
Hydrogen peroxide sensor based on modified vitreous carbon with multiwall carbon nanotubes and composites of Pt nanoparticles-dopamine. *Electrochimica Acta* 54:1728-1732.
- H**
- Ha B., Shin D.H., Park J., Lee C.J. 2008.
Electronic structure and field emission properties of double-walled carbon nanotubes synthesized by hydrogen arc discharge. *J. Phys. Chem. C*, 112: 430-435.
- Hall S.B., Khudaish E. y Hart A. 1997.
Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part 1. An adsorption-controlled mechanism. *Electrochimica Acta* 43:579-588.
- Hammouche M., Lexa D., Saveant J.M. y Mometeau M. 1988.
Catalysis of the electrochemical reduction of carbon dioxide by iron porphyrins. *J. Electroanal. Chem.* 249: 347-351.
- Hammouche M., Lexa D., Mometeau M. y Saveant J.M. 1991.
Chemical catalysis of electrochemical reactions. Homogeneous catalysis of the electrochemical reduction of carbon dioxide by iron ("0") porphyrins. Role of the addition of magnesium cations. *J. Am. Chem. Soc.* 113: 8455-8466
- Hara K. y Sakata T. 1997.
Electrocatalytic formation of CH₄ from CO₂ on a Pt gas diffusion electrode. *J. Electrochem. Soc.* 144: 539-545.
- Hasnat M.A., Islam M.A., Borhanuddin S.M., Chowdhury M.R.U. y Machida M. 2010.
Influence of Rh on electrocatalytic reduction of NO₃⁻ and NO₂⁻ over Pt and Pd films. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 317: 61-67.

Helaleh M.I.H. y Korenaga T. 2000.
Ion chromatographic method for simultaneous determination of nitrate and nitrite in human saliva. *J. Chromatogr. B.* 744 :433-437.

Hodge I.M., Eisenberg A. 1978.
Dielectric and mechanical relaxations in a Nafion precursor. *Macromolecules* 11:289-293.

Hong J., Maguhn J., Freitag D. y Kettrup A. 1998.
Determination of H₂O₂ and organic peroxides by high-performance liquid chromatography with post-column UV irradiation, derivatization and fluorescence detection. *J. Anal. Chem.* 361:124-128.

Holloway A.F., Wildgoose G.G., Compton R.G., Shao L. y Green M.L.H. 2008.
The influence of edge-plane defects and oxygen-containing surface groups on the voltammetry of acid-treated, annealed and "super-annealed" multiwalled carbon nanotubes. *J. Solid. State Electrochem.* 12:1337-1348.

Holm T.R., George G.K., Barcelona M.J. 1987.
Fluorometric determination of hydrogen peroxide in groundwater. *Anal. Chem.* 59:582-586.

I

Innocent B., Liaigre D., Pasquier D., Ropital F. Leger J.M. y Kokoh K.B. 2009.
Electro-reduction of carbon dioxide to formate on lead electrode in aqueous medium. *J. Appl. Electrochem.* 39: 227-232.

Isaacs M., Canales J.C., Aguirre M.J., Estiú G., Caruso F., Ferraudi G. y Costamagna J. 2002.
Electrocatalytic reduction of CO₂ by aza-macrocyclic complexes of Ni (II), Co (II) and Cu(II). Theoretical contribution to probable mechanisms. *Inorg. Chim. Acta.* 339:224-232.

Isaacs M., Canales J.C., Riquelme A., Lucero M., Aguirre M.J. y Costamagna J. 2003.
Contribution of the ligand to the electroreduction of CO₂ catalyzed by a cobalt(II) macrocyclic complex. *J. Coord. Chem.* 56:1193-1201.

Isaacs M., Armijo F., Ramirez R., Trollund E., Biaggio S.R., Costamagna J. y Aguirre M.J. 2005.
Electrochemical reduction of CO₂ mediated by poly-M-aminophthalocyanines (M = Co, Ni, Fe): poly-Co-tetraaminophthalocyanine, a selective catalyst. *J. Mol. Catal.* 229: 249-257.

Isaacs M., Sykes A.G. y Ronco S. 2006.
Synthesis, characterization and photophysical properties of mixed ligand tris(polypyridyl)chromium(III) complexes, [Cr(phen)₂L]³⁺. *Inorg. Chim. Acta.* 359:3847-3854.

Isoda N., Yokoyama H., Nojiri M., Suzuki S., Yamaguchi K. 2010.
Electroreduction of nitrite to nitrogen oxide by a copper-containing nitrite reductase model complex incorporated into collagen film. *Bioelectrochem.* 77:82-88.

J

Jeong K., Miesse C.M., Choi J., Lee J., Han J., Yoon S.P. Nam S.W., Lim T. y Lee T.G. 2007.

Fuel crossover in direct formic acid fuel cells. *J. Power Sources* 168: 119-125.

Johnston D., Glasgow K. y Thorp H. 1995.

Electrochemical measurement of the solvent accessibility of nucleobases using electron transfer between DNA and metal complexes. *J. Am. Chem Soc.* 117:8933-8938.

Juris A., Balzani V., Barigelletti F., Campagna S., Belser P. y Von zelewsky A. 1988.

Ru(II) polypyridine complexes: photophysics, photochemistry, electrochemistry and chemiluminescence. *Coord. Chem. Rev.* 84: 85-277.

K

Kadish K.M., Smith K.M. y Guilard R. 2000.

Biochemistry and Binding: Activation of Small Molecules. *The Porphyrin Handbook*. Editorial Academic Press.

Kadish K.M., Smith K.M. y Guilard R. 2003.

Bioinorganic and Bioorganic Chemistry: *The Porphyrin Handbook*. Editorial Academic Press.

Kaneco S., Hiei N., Xing Y., Katsumata H., Ohnishi H., Suzuki T. 2002.

Electrochemical conversion of carbon dioxide to methane in aqueous NaHCO₃ solution at less than 273 K. *Electrochim. Acta* 48: 51-55.

Kashevskii A., Safronov A. y Ikeda O. 2001.

Behaviors of H₂TPP and CoTPP/Cl in Nafion film and the catalytic activity for nitric oxide oxidation. *J Electroanal. Chem.* 510:86-95.

Keen F.R. 1993.

Electrochemical and Electrocatalytic Reactions of Carbon Dioxide. Guard B.P., Sullivan H.E., Krist K. (eds). Elsevier Sci Pub.

Kiba N., Tokizawa T., Kato S., Tachibana M. Tani K., Koizumi H., Edo M. y Yonezawa E. 2003.

Flow-through micro sensor using immobilized peroxidase with chemiluminometric FIA system for determining hydrogen peroxide. *Anal. Sci.* 19:823-827.

Klassen N.V., Marchington D., McGovan H.C.E. 1994.

H₂O₂ determination by the I₃⁻ method and by KMnO₄ titration. *Anal. Chem.* 66:2921-2925.

- Kozub B., Rees N. y Compton R. 2010.
Electrochemical determination of nitrite at a bare glassy carbon electrode; why chemically modify electrodes? *Sens. Actuators B*, 143:539-546.
- Kudrik E.V., Markarov S.V., Zahl A. y Van Eldik R. 2003
Kinetics and mechanism of the cobalt phthalocyanine catalyzed reduction of nitrite and nitrate by dithionite in aqueous solution. *Inorg. Chem.* 42: 618-624.
- Kumar S.M.S. y Pillai K.C. 2009.
A kinetic study of the electrocatalytic oxidation of reduced glutathione at prussian blue film-modified electrode using rotating-disc electrode voltammetry. *Electrochimica Acta* 54: 7374-7381.
- L**
- Leddy J., Bard A.J., Maloy J.T., Saveant J.M. 1985.
Kinetics of film-coated electrodes. Effect of a finite mass transfer rate of substrate across the film-solution interface at steady state. *J. Electroanal. Chem.* 187: 205-227.
- Leroux Y., Schaming D., Ruhlmann L. y Hapiot P. 2010.
SECM investigations of immobilized porphyrins films. *Langmuir* 26:14983-14989.
- Li H.L., Chambers J.Q, Hobbs D.T. 1988.
Electroreduction of nitrate ions in concentrated sodium hydroxide solutions at lead, zinc, nickel and phthalocyanine-modified electrodes. *J. Electroanal. Chem.* 256:447-458.
- Li Z., Cui X., Zheng J., Wang Q. y Lind Y., 2007.
Effects of microstructure of carbon nanofibers for amperometric detection of hydrogen peroxide. *Anal. Chim. Acta* 597:238-244.
- Li H., Mei W.J., Xu Z., Pang D.W., Ji L.N., Lin Z.H. 2007.
Electrochemistry of a novel monoruthenated porphyrin and its interaction with DNA. *J. Electroanal. Chem.* 600:243-250.
- Lijita S. 1991.
Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354:56-58.
- Lin M.S. y Jan B.I. 1997.
Determination of hydrogen peroxide by utilizing a cobalt(II)hexacyanoferrate-modified glassy carbon electrode as a chemical sensor. *Electroanalysis* 9:340-344.
- Lisowski J., Ripoli S. y Di Bari L. 2004.
Axial ligand exchange in chiral macrocyclic ytterbium (III) complexes. *Inorg. Chem.* 43: 1388- 1394.
- Lu X., Zhang L., Li M., Wang X., Zhang Y., Liu X. y Zuo G. 2006.
Electrochemical characterization of self-assembled thiol-porphyrin monolayers on gold electrodes by SECM. *Chem. Phys. Chem.* 7:854-862.

Lu X., Zhi F., Shang H., Wang H. y Xue Z. 2010.
Investigation of the electrochemical behavior of multilayers film assembled porphyrin/gold nanoparticles on gold electrode. *Electrochimica Acta* 55:3634-3642.

Luque G., Ferreyra N.F., Leyva A.G. y Rivas G.A. 2009.
Characterization of carbon paste electrodes modified with manganese based perovskites-type oxides from the amperometric determination of hydrogen peroxide. *Sens. And Actuators B: Chemical* 142: 331-336.

M

Ma L., Zhang B.Y., Li H.L. y Chambers J.Q., 1993.
Kinetics of nitrate reduction by cobalt-cyclam incorporated Nafion redox polymer. *J. Electroanal. Chem.* 362: 201-205.

Mahmood M.N., Masheded D. y Harty C.J. 1987.
Use of gas-diffusion electrodes for high-rate electrochemical reduction of carbon dioxide. I. Reduction at lead, indium- and tin-impregnated electrodes. *J. Appl. Electrochem.* 17: 1159-1170.

Mashazi P., Togo C., Limson J. y Nyokong T. 2010.
Applications of polymerized metal tetra-amino phthalocyanines towards hydrogen peroxide detection. *J. Porphyrins Phtalocyanines* 14:252-263.

Mayer I., Toma H. y Araki K. 2006.
Electrocatalysis on tetraruthenated nickel and cobalt porphyrins electrostatic assembled films. *J. Electroanal. Chem.* 590: 111-119.

Matthews G. 1996.
PVC: production, properties and uses. Editorial Institute of Metals.

Merkoçi A., Pumera M., Llopis X., Pérez B., Del Valle M. y Alegret S. 2005.
New materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes. *Trends in Anal. Chem.* 24:826-838.

Microsoft® Encarta®, 2006.
Ciclo del carbono (ecología). Microsoft Corporation, 2005.

Mimica D., Zagal J.H., Bedioui F. 2001.
Electroreduction of nitrite by hemin, myoglobin and hemoglobin in surfactant films. *J. Electroanal. Chem.* 497:106-113.

Moore R.R., Banks C.E. y Compton R.G. 2004.
Basal plane pyrolytic graphite modified electrodes: Comparison of carbon nanotubes and graphite powder as electrocatalysts. *Anal. Chem.* 76: 2677-2682.

Moses P.R., Wier P., Murray R.W. 1975.

Chemically modified tin oxide electrode. *Anal. Chem.* 47:1882-1886.

Mugweru A. y Rusling J. 2001.

Catalytic square-wave voltammetric detection of DNA with reversible metallopolymer-coated electrodes. *Electrochem. Commun.* 3:406-409.

Mugweru A. y Rusling F. 2002.

Square wave voltammetric detection of chemical DNA damage with catalytic poly(4-vinylpyridine)-Ru(bpy)₂²⁺ Films. *Anal. Chem.* 74:4044-4049.

Murphy J. 2001.

Additives for plastics handbook. Editorial Elsevier.

N

Nakamoto K. 1997.

Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Editorial Wiley.

Naue J., Toma S., Bonacin J., Araki K. y Toma H. 2009.

Probing the binding of tetraplatinum(pyridil)porphyrin complexes to DNA by means of surface plasmon resonance. *J. Inorg. Biochem.* 103: 182-189.

Narra M., Elliott P. y Swavey S. 2006.

Synthesis, characterization and DNA interactions of 5,15-(4-pyridyl)-10,20-(pentafluorophenyl)porphyrin coordinated to two [Ru(bipy)₂Cl]⁺ groups. *Inorg. Chim. acta.* 359: 2256-2262.

Neidle S. 1994.

DNA Structure and Recognition. Editorial OUP, Oxford.

Nunes G.S., Mayer I., Toma H.E. y Araki K. 2005.

Kinetics and mechanism of cyclohexane oxidation catalyzed by supramolecular manganese(III) porphyrins. *J. Catal.* 236:55-61.

O

Ohkawa K., Hashimoto K., Fujishima A., Noguchi Y. y Nakayama S. 1993.

Electrochemical reduction of carbon dioxide on hydrogenstoring materials: Part 1. The effect of hydrogen absorption on the electrochemical behavior on palladium electrodes. *J. Electroanal. Chem.* 345: 445- 456.

Ohkawa K., Noguchi Y., Nakayama S., Hashimoto K. y Fujishima A. 1994.

Electrochemical reduction of carbon dioxide on hydrogen-storing materials: Part 3. The effect of the absorption of hydrogen on the palladium electrodes modified with copper. *J. Electroanal. Chem.* 367: 165-173.

Ogura K. y Yoshida I. 1988.
Electrocatalytic reduction of CO₂ to methanol : Part 9: Mediation with metal porphyrins. *J. Mol. Catal.* 47 : 51- 57.

Okunola A.O, Nagaiah T.C., Chen X., Eckhard K., Schuhmann W. y Bron M. 2009.
Visualization of local electrocatalytic activity of metalloporphyrins towards oxygen reduction by means of redox competition scanning electrochemical microscopy (RC-SECM). *Electrochim. Acta* 54:4971-4978.

Ozoemena K.I. y Nyokong T. 2006.
Novel amperometric glucose biosensor based on an ether-linked cobalt(II) phthalocyanine-cobalt(II) tetraphenylporphyrin pentamer as a redox mediator. *Electrochimica Acta* 51: 5131-5136.

Ozoemena K.I., Zhao Z. y Nyokong T. 2005.
Immobilized cobalt(II) phthalocyanine-cobalt(II) porphyrin pentamer at a glassy carbon electrode: Applications to efficient amperometric sensing of hydrogen peroxide in neutral and basic media. *Electrochem. Commun.* 7:679-684.

Ozoemena K., Zhao Z. y Nyokong T. 2006.
Electropolymerizable iron (III) and cobalt (II) dicyanophenoxy tetraphenylporphyrin complexes: Potential electrocatalysts. *Inorg. Chem. Commun.* 9: 223-227.

P

Palchetti I. y Mascini M. 2008
Nucleic acid biosensors for environmental pollution monitoring. *Analyst* 133:846-854.

Pang D. y Wang Z. 1993.
Electrocatalysis of metalloporphyrins: Part 13. Electrocatalysis of several water-soluble porphyrins for the oxidation of some small molecules. *J. Electroanal. Chem.* 358:235-246.

Pappas A.C., Stalikas C.D., Fiamegos Y.C. y Karayannis M.I. 2002.
Determination of hydrogen peroxide by using a flow injection system with immobilized peroxidase and long pathlength capillary spectrophotometry. *Anal. Chim. Acta* 455:305-313.

Park J.Y., Lee Y.N. 1988.
Solubility and decomposition kinetics of nitrous acid in aqueous solution. *J. Phys. Chem.* 92:6294-6302.

Pinkernell U., Effkemann S. y Karst U. 1997.
Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and hydrogen peroxide. *Anal. Chem.* 69:3623-3627.

Pournaghi-Azar M.H. y Ahour F. 2010.

Electrochemical reduction and kinetics of hydrogen peroxide on the rotating disk palladium-plated aluminum electrode modified by prussian blue film as an improved electrocatalyst. *J. Solid State Electrochem.* 14:823-828.

Pumera M. 2009.

The electrochemistry of carbon nanotubes: fundamentals and applications. *Chem Eur. J.* 15: 4970-4978.

Pumera M., Sasaki T. e Iwai H. 2008.

Relationship between Carbon Nanotube Structure and Electrochemical Behavior: Heterogeneous Electron Transfer at Electrochemically Activated Carbon Nanotubes. *Chem. Asian J.* 3:2046-2055.

Q

Qin W., Zhang Z., Li B. y Liu S. 1998.

Chemiluminescence flow-sensing system for hydrogen peroxide with immobilized reagents. *Anal. Chim. Acta* 372:357-363.

Quintino M.S.M., Winnischofer H., Araki K., Toma H.E. y Agnes L. 2005.

Cobalt oxide/tetraruthenated cobalt-porphyrin composite for hydrogen peroxide amperometric sensors. *Analyst* 130:221-226.

R

Rahman M. y Brazel C. 2004.

The plasticizer market: an assessment of tradicional plasticizers and research trenes to meet new chalenges. *Prog. Polym. Sci.* 29:1223-1248.

Randriamahazaka H., Noël V. y Chevrot C. 2002.

Fractal dimension of the active zone for a p-doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified electrode towards a ferrocene probe. *J. Electroanal. Chem.* 521: 107-116.

Ramos Sende J.A., Arana C.R., Hernández L., Potts K.T., Keshevarz-K M. y Abruña H.D. 1995.

Electrocatalysis of CO₂ reduction in aqueous media at electrodes modified with electropolymerized films of vinylterpyridine complexes of transition metals. *Inorg. Chem.* 34:3339-3348.

Raof J.B., Ojani R. y Ramine M. 2009.

Voltammetric sensor for nitrite determination based on its electrocatalytic reduction at the surface of *p*-duroquinone modified carbon paste electrode. *J. Solid State Electrochem.* 13:1311-1319.

Rea N., Loock B. y Lexa D. 2001.

Porphyrins bound to Ru(bpy)₂ clusters: electrocatalysis of sulfite. *Inorg. Chim. Acta.* 312:53-56.

Reyes-Labarta J., Herrero M., Tiemblo P., Mijangos C., Reinecke H. 2003.
Wetchemical surface modification of plasticized PVC. Characterization by FTIR-ATR and Raman microscopy. *Polymer* 44:2263-2269.

Richards A.D. y Rodger A., 2007.
Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure. *Chem. Soc. Rev.* 36: 471-483.

Rollet A.L., Diat O., Gebel G. 2002.
A new insight into Nafion structure. *J. Phys. Chem. B.* 106:3033-3036.

Rosca V., Duca M., De Groot M.T., Koper M.T.M. 2009.
Nitrogen Cycle Electrocatalysis. *Chem. Rev.* 109:2209-2244.

Rosen S.L. 1993.
Fundamental principles of polymeric materials. Editorial Wiley.

S

Sabatani E., Nikol H.D., Gray H.B. y Anson F.C. 1996.
Emission spectroscopy of Ru(bpy)₂dppz²⁺ in Nafion. Probing the chemical environment in cast films. *J. Am. Chem. Soc.* 118:1158-1163.

Sakuragawa A., Taniai T. y Okutani T. 1998.
Fluorometric determination of microamounts of hydrogen peroxide with an immobilized enzyme prepared by coupling horseradish peroxidase to chitosan beads. *Anal. Chim. Acta* 374:191-200.

Salimi A., Hallaj R., Soltanian S. y Mamkhezri H. 2007.
Nanomolar detection of hydrogen peroxide on glassy carbon electrode modified with electrodeposited cobalt oxide nanoparticles. *Anal. Chimica Acta* 594: 24-31.

Salimi A., Mamkhezri H., Hallaj R. y Zandi S. 2007.
Modification of glassy carbon electrode with multi-walled carbon nanotubes and iron(III)-porphyrin film: Application to chlorate, bromate and iodate detection. *Electrochimica Acta* 52:6097-6105.

Sanchez S., Fabregas E. y Pumera M. 2009.
Electrochemical activation of carbon nanotube/polymer composites. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11:182-186.

Sánchez-Sánchez C., Montiel V., Tryk D., Aldaz A. y Fujishima A. 2001.
Electrochemical approaches to alleviation of the problem of carbon dioxide accumulation. *Pure Appl. Chem.* 20: 1917- 1927.

San Martín C., Dreyse P., García C., Calfumán K., Villagra D. e Isaacs M. 2007.
Electrochemical reduction of nitrite at polymeric Co (II)-tetra-3-amino-phenyl-porphyrin modified electrode. *J.Chil. Chem. Soc.* 52:1305-1308.

Schmidt-Rohr K. y Chen Q. 2008. Parallel cylindrical water nanochannels in Nafion fuel-cell membranes. *Nature*. 7:75-83.

Shamsipur M., Najafi N., Milani M.R. 2010.

Highly improved electrooxidation of glucose at a nickel(II) oxide/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Bioelectrochem.* 77:120-124.

Shao M., Han J., Shi W., Wei M. y Duan X. 2010.

Layer-by-layer assembly of porphyrin/layered double hydroxide ultrathin film and its electrocatalytic behavior for H₂O₂. *Electrochem. Commun.* 12:1077-1080.

Chen S.M. y Su Y.O. 1990.

Electrocatalytic reduction of nitric oxide to ammonia by water-soluble iron porphyrin. *J. Electroanal. Chem.*, 280: 189-194.

Shibata M. y Furuya N. 2001.

Electrochemical synthesis of urea at gas-diffusion electrodes Part VI. Simultaneous reduction of carbon dioxide and nitrite ions with various metallophthalocyanine catalysts. *J. Electroanal. Chem.* 507:177-184.

Shibata M. y Furuya N. 2003.

Simultaneous reduction of carbon dioxide and nitrate ions at gas-diffusion electrodes with various metallophthalocyanine catalysts. *Electrochimica Acta.* 48: 3953-3958.

Shibata M., Yoshida K. y Furuya N. 1995.

Electrochemical synthesis of urea on reduction of carbon dioxide with nitrate and nitrite ions using Cu-loaded gas-diffusion electrode. *J. Electroanal Chem.* 387:143-145.

Shibata M., Yoshida K. y Furuya N. 1998.

Electrochemical synthesis of urea at gas-diffusion electrodes Part IV. Simultaneous reduction of carbon dioxide and nitrate ions with various metal catalysts. *J. Electrochem. Soc.* 145:2348-2353

Shibata M., Yoshida K. y Furuya N. 1998.

Electrochemical synthesis of urea at gas-diffusion electrodes Part II. Simultaneous reduction of carbon dioxide and nitrite ions at Cu, Ag and Au catalysts. *J. Electroanal. Chem.* 442:67-72.

Singh V., Mohan S., Singh G., Pandey P.C. y Prakash R. 2008.

Synthesis and Characterization of Polyaniline-Carboxylated PVC Composites: Application in Development of Ammonia Sensor. *Sens. Actuators B.* 132: 99-106.

Stolzenberg A., Strauss S.H. y Holm R.H. 1981.

Iron(II, III)-chlorin and -isobacteriochlorin complexes. Models of the heme prosthetic groups in nitrite and sulfite reductases: means of formation and spectroscopic and redox properties. *J. Am. Chem. Soc.* 103:4763-4778.

Sullivan B., Salmon D. y Meyer T. 1978.

Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. *Inorg. Chem* 17:3334-3341.

T

Tanabe H. y Ohno K. 1987.

Electrocatalysis of metal phthalocyanine thin film prepared by the plasma-assisted deposition on a glassy carbon in the reduction of carbon dioxide. *Electrochim. Acta* 32:1121-1124.

Taniguchi I., Nakashima N., Matsushita K., Yasukouchi K. 1987.

Electrocatalytic reduction of nitrate and nitrite to hydroxylamine and ammonia using metal cyclams. *J. Electroanal. Chem.* 224:199-209.

Tant M.R., Mauritz K.A. y Wilkes G.L. 1997.

Ionomers: Synthesis, Structure, Properties and Applications. Editorial Chapman & Hall.

Thamae M., Nyokong T. 1999.

Cobalt(II) porphyrine catalysed reduction of nitrite. *J. Electroanal. Chem.* 470:126-135.

Thomas L.C y Chamberlain G.J. 1974.

Colorimetric Chemical Analytical Methods. Editorial J. Wiley and Sons, England.

Toma H. y Araki K. 1993.

Synthesis and characterization of a multibridged porphyrin complex containing peripheral bis(bipyridine)ruthenium (II) groups. *J.Coord.Chem.* 30:9-17.

Toma H. y Araki K. 2000.

Supramolecular assemblies of ruthenium complexes and porphyrins. *Coord. Chem. Rev.* 196:307-329.

Toma H. y Araki K. 2006.

N-4 Macrocyclic metal complexes, en: Zagal J.H, Bedioui F. y Dodelet J.P. (Eds.), *Metal Complexes:Supramolecular Porphyrins as Electrocatalysts*. Editorial Springer, New York.

Toth J.E., Anson F.C. 1989.

Electrocatalytic reduction of nitrite and nitric oxide to ammonia with iron-substituted polyoxotungstates. *J. Am. Chem. Soc.* 111:2444-2451.

Treadway C., Hill M. y Berton J. 2002.

Charge transport through a molecular π -stack: double helical DNA. *Chem. Phys.* 281:409-428.

Turdean G., Popescu I.C., Curulli A. y Palleschi G. 2006.

Iron(III) protoporphyrin IX—single-wall carbon nanotubes modified electrodes for hydrogen peroxide and nitrite detection. *Electrochimica Acta* 51: 6435-6441.

V

Voyiatzis G.A., Andrikopoulos K.S., Papatheodorou G.N., Kamitsos E.I., Chryssikos G.D., Kapoutsis J.A., Anastasiadis S.H. y Fytas G. 2000.

Polarizes resonance Raman and FTIR reflectance spectroscopic investigation of the molecular orientation in industrial poly(vinylchloride) specimens. *Macromolecules* 33:5613-5623.

W

Wang B. y Rusling J. 2003.

Voltammetric sensor for chemical toxicity using $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{poly}(4\text{-vinylpyridine})_{10}\text{Cl}]^+$ as catalyst in ultrathin films. DNA damage from methylating agents and an enzyme-generated epoxide. *Anal. Chem.* 75:4229-4235.

Wang L. y Meyerhoff M. 2008.

Polymethacrylate polymers with appended aluminum(III)-tetraphenylporphyrins: Synthesis, characterization and evaluation as macromolecular ionophores for electrochemical and optical fluoride sensors. *Anal. Chim. Acta* 611:97-102.

Wang J., Musameh M. y Lin Y. 2003.

Solubilization of carbon nanotubes by nafion toward the preparation of amperometric biosensor. *J. Am. Chem. Soc.* 125: 2408-2409.

Watson J.D. y Crick F.H.C. 1953.

Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171: 964-967.

Winnischofer H., De Souza S., Araki K. y Toma H. 2003.

Electrocatalytic activity of a new nanostructured polymeric tetra-ruthenated porphyrin film for nitrite detection. *Anal. Chim. Acta* 480: 97-107.

Winnischofer H., Otake V.Y., Dovidauskas S., Nakamura S., Toma H.E. y Araki K. 2004.

Supramolecular tetracluster-cobalt porphyrin: a four-electron transfer catalyst for dioxygen reduction. *Electrochim. Acta* 49:3711-3718.

Y

Yuan R., Chai Y-Q., Liu D., Gao D., Li J-Z., Yu R-Q. 1993.

Schiff base complexes of cobalt(II) as neutral carriers for highly selective iodide electrodes. *Anal. Chem.* 65:2572-2575.

Z

Zhang H.L., Lai G.S., Han D.Y. y Yu A.M. 2008.

An amperometric hydrogen peroxide biosensor based on immobilization of horseradish peroxidase on an electrode modified with magnetic dextran microspheres. *Anal. Bioanal. Chem.* 390:971-977.

Zhang J., Lever A.B.P., Pietro W.J. 1994.

Electrochemical reduction of nitrite and nitric oxide catalyzed by an iron-alizarin complexone adsorbed on a graphite electrode. *Inorg. Chem.* 33:1392-1398.

Zhang J., Abe T. y Kaneko M. 1998.

Charge transfer of tetraphenylporphyrin zinc complexes incorporated in a poly(2-vinylpyridine) matrix. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2: 93-99.

Zhang J., Zhao F. y Kaneko M. 2000.

Mechanism of charge transport by redox metal complexes confined in polymer matrices. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 4: 65-80.

Zhang Y., Luo L., Yaping D. y Li L. 2009.

Electrochemical determination of nitrite in water samples using a glassy carbon electrode modified with didodecyldimethylammonium bromide. *Microchim. Acta* 167:123-128.

Zhao F., Zhang J., Abe T. y Kaneko M. 1999.

Electron transfer in the reduction of cobalt porphyrin incorporated into Nafion and poly(4-vinylpyridine-costyrene) films. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 3: 238-246.

Zhuang R.R., Jian F.F. y Wang K. 2009.

An electrochemical sensing platform based on a new copper complex for the determination of hydrogen peroxide and nitrite. *Sci. Technol. Adv. Mater* 10: 45001.

ANEXOS

ANEXO I: PRESENTACIONES A CONGRESOS NACIONALES

1. "Estudios preliminares en la electrocatálisis de reducción simultánea de CO_2 y NO_2^- mediante el uso de electrodos modificados con películas de metaloporfirinas ensambladas electrostáticamente".

IX Encuentro de Química Analítica y Ambiental, Concepción, Chile. 14 al 17 de octubre de 2008.

2. "Estudios preliminares hacia la obtención de películas porfirina tetrarutenada/ PVC: Evaluación de su potencial uso como electrocatalizador frente a analitos de interés ambiental".

IV Coloquio de Macromoléculas, Termas de Catillo, Parral, Chile. 7 al 9 de enero de 2009.

3. "Electroreducción de nitrito mediante electrodos modificados con mezclas PVC-porfirinas tetrarutenadas".

XXVIII Jornadas Chilenas de Química, Termas de Chillán, Chile. 3 al 6 de noviembre de 2009.

4. "Electrodos modificados con porfirinas tetrarutenadas soportadas en matrices poliméricas: Aplicaciones en la reducción de NO_2^- y determinación de H_2O_2 ".

III Simposio Chileno de Electroquímica, Villa Alemana, Chile. 17 al 19 de noviembre de 2010

5. "Estudio de la interacción entre metaloporfirinas tetrarutenadas- ADN y su evaluación como eventual sensor electroquímico".

XIII Encuentro de Química Inorgánica, Temuco, Chile. 14 al 17 de enero de 2011.

ANEXO II: PRESENTACIONES A CONGRESOS INTERNACIONALES

1. "Reduction of environmental contaminants using modified with mixture Nf/M-TRP and PVC/M-TRP: Electrocatalitic and spectroelectrochemistry studies".

13th IUPAC International Symposium on MacroMolecular Complexes (MMC-13),
Concepción, Chile. 15 al 18 de Noviembre de 2009.

2. "Glassy carbon electrodes modified with tetraruthenated macrocycles for the amperometric determination of H₂O₂".

61st annual meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE), Nice, Francia.
26 de septiembre al 01 de octubre de 2010

3. "Determinación amperométrica de H₂O₂ mediante electrodos de carbón vítreo modificados con macrociclos tetrarutenados".

IV CIAQA, X ENQAA, Viña del Mar, Chile. 14 al 17 de noviembre de 2010

ANEXO III: PUBLICACIONES

1. K. Calfumán, P. Dreyse, C. García, M. J. Aguirre, T. Beltrán, E. Guillamón, I. Sorribes, C. Vicent, R. Llusar, M. Isaacs.

“Characterization of PVC-Tetraruthenated metalloporphyrins modified electrodes: Application as electrocatalyst in the nitrite reduction”.

Referencia: Macromolecular Symposia, manuscrito aceptado.

2. K. Calfumán, M.J. Aguirre, P. Cañete, S. Bollo, R. Llusar, M. Isaacs.

“Nitrite electrocatalytic reduction by tetraruthenated metalloporphyrins/ nafion modified glassy carbon electrode”.

Referencia: Electrochimica Acta, manuscrito enviado.

3. K. Calfumán, S. Bollo, M. Isaacs.

“Glassy carbon electrodes modified with tetraruthenated metalloporphyrins and multi-walled carbon nanotubes for the amperometric determination of H_2O_2 ”.

Referencia: Manuscrito en preparación.