



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
LABORATORIO DE BIOELECTROQUÍMICA

**“DETERMINACION VOLTAMPEROMETRICA DE
NITROCOMPUESTOS UTILIZANDO ELECTRODOS DE CARBON
VITREO MODIFICADOS CON NANOTUBOS DE CARBONO DE
MULTIPARED”**

Patrocinante: Dr. J. Arturo Squella Serrano
Director: Dra. Paola Jara Ulloa

Memoria para optar al título Profesional de Químico

MARÍA PAULINA MORALES PEREZ

SANTIAGO- CHILE

2012

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor Arturo S. por su apoyo, compromiso y cariño durante estos casi dos años que hemos trabajado juntos. He aprendido mucho de Él y me siento afortunada. A mi directora de tesis Paola J. por ayudarme en cada momento, por preocuparse de mi no sólo en el ámbito profesional sino sobre todo en el personal, por cuidarme y darme de su cariño. Encontré en ella una gran amistad y sentí muy fuerte su apoyo en todo momento.

A cada uno de mis profesores a lo largo de la carrera, cada uno de ellos logró dejar en mí su huella, las que me han formado para empezar con éxito mi vida profesional.

A mis compañeros de la generación de química 2006, quiénes compartieron conmigo sus dones en tantas ocasiones. En especial a mis amigas Anakenna, Pamela y Karina, agradezco a ellas por todos los momentos felices, los de contención y de amistad sincera, mis años de pregrado fueron mejorados por ellas y sus hermosos corazones.

A todos quienes forman parte del laboratorio de Bioelectroquímica, encontré allí a grandes compañeros y amigos, a Paulina C., Karina G. y Paola S., porque gracias a cada uno de ellos hicieron que los momentos felices fueran más felices y los tristes no lo fueran tanto. Y en especial a Valeria, en quién encontré a una verdadera amiga, que espero siga acompañándome en cada una de las siguientes etapas de mi vida.

A mi familia completa, mis tíos, primos y sobrinos, pues todos siempre estuvieron muy orgullosos por mis logros y por este último sé que también lo estarán. Agradezco la preocupación y el cariño que me han entregado durante toda mi vida.

Por último quisiera agradecer al Proyecto Fondecyt 1090120, el cual financió cada etapa de esta tesis.

“He puesto delante de ti una puerta abierta, la cual nadie puede cerrar”

A Elisa mi mamá y a Agustín mi hermano, quienes me han apoyado durante todos estos años y no han dejado que me sienta sola en esto.

A mi abuelo Agustín quien me enseñó acerca del esfuerzo y la perseverancia, sin sus valores nunca podría haber logrado terminar este viaje.

A Cristian, por estar a mi lado, aconsejarme y sobre todo amarme tal y como soy. Por esforzarse en darme un piano sólo de teclas blancas.

I. INDICE GENERAL

Índice general	I
Índice de figuras	IV
Índice de tablas	IX
Abreviaturas	X
Resumen	XI
Summary	XII
1. Introducción	1
2. Objetivos	
2.1. Objetivos generales	8
2.2. Objetivos específicos	8
3. Materiales y métodos	
3.1. Materiales	
3.1.1. Compuestos en estudio	9
3.1.2. Reactivos y solventes	10
3.1.3. Material de vidrio	11
3.1.4. Electrodo	11
3.1.5. Equipos	11
3.2. Métodos	
3.2.1. Medios de trabajo para estudios electroquímicos	
3.2.1.1. Medio acuoso (100% Britton- Robinson)	12
3.2.1.2. Medio mixto (buffer citrato/ DMF 40/60)	13

3.2.1.3. Medio no acuoso (100% DMF + 0,1 M TBAP)	14
3.2.2. Procedimiento lavado del electrodo modificado	14
3.2.3. Estudio de reproducibilidad	15
3.2.4. Estudio de repetibilidad	15
3.3. Técnicas utilizadas	
3.3.1. Voltamperometría de pulso diferencial (VPD)	16
3.3.2. Voltamperometría cíclica (VC)	17
3.3.3. Voltamperometría de onda cuadrada (VOC)	19
3.4. Modificación de GCE con CNTs	20
4. Resultados y discusiones	
4.1. Medio acuoso (100% Britton- Robinson)	
4.1.1. Estudios de reproducibilidad y repetibilidad	21
4.1.2. Estudios de pH	27
4.1.3. Estudio de agentes dispersante por voltamperometría de pulso diferencial (VPD)	29
4.1.4. Curvas de calibración. Determinación del límite de detección de la técnica	
4.1.4.1. Voltamperometría de pulso diferencial (VPD)	35
4.1.4.2. Voltamperometría de onda cuadrada (VOC)	37
4.1.4.3. Modificación del electrodo de carbón vítreo modificado mediante reducción in- situ de compuestos nitro	38
4.2. Medio mixto (buffer citrato/DMF 40/60)	42
4.3. Medio no acuoso (100% DMF + 0,1 M TBAP)	46

5. Conclusiones	48
6. Referencias	50

II. INDICE DE FIGURAS

1. Estructura compuesto 4- nitroimidazol. **9**
2. Estructura compuesto nitrobenzeno. **9**
3. Estructura compuesto nitrendipino. **9**
4. Voltamperograma de pulso diferencial para nitrendipino 0,1 mM, sobre GCE+MWCNT-NH₂, mezcla dispersante diclorobenceno: EtOH (1:1). **16**
5. Voltamperogramas cíclicos de nitrendipino 0,1mM, medio mixto buffer citrato/DMF (40/60), pH 9, GCE+MWCNTs en 1,3 dioxolano. Barridos largo y corto. **18**
6. Voltamperogramas de onda cuadrada de nitrendipino 0,1mM en medio acuoso, obtenidos a diferentes frecuencias. **19**
7. Voltamperogramas cíclicos para nitrendipino 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado. **21**

8. Voltamperogramas cíclicos para nitrobenzeno 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado. **22**
9. Voltamperogramas cíclicos para 4- nitroimidazol 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado. **22**
10. Voltamperogramas para nitrendipino 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno:EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Obtenidos a diferentes valores de pH (A) Estudio 1: cambio pH solución de acumulación, (B) Estudio 2: cambio pH solución medición. **27**
11. i_p vs pH para Pico I. Nitrendipino 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno:EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Obtenidos a diferentes valores de pH. Estudio 1: cambio pH solución de acumulación. **28**
12. E_p vs pH para Pico I. Nitrendipino 0,1 mM, medio acuoso 100% Britton-Robinson, GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno:EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Estudio 2: cambio pH solución de medición. **29**

13. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNTs. **30**
14. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNT-NH₂. **30**
15. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNT-COOH. **31**
16. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con nanotubos de carbono, dispersante: agua. **31**
17. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con CNTs, dispersante: diclorobenceno:EtOH (1:1). **32**
18. Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con nanotubos de carbono, dispersante: 1,3 dioxolano. **32**
19. Curvas de calibración para nitrendipino en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Pico I. B: Pico II_a. **35**
20. Curvas de calibración para nitrobenzeno en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Pico I. B: Pico II_a. **35**

21. Curvas de calibración para el Pico I en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Nitrendipino. B: Nitrobenceno. **37**
22. Voltamperogramas cíclicos de una solución de buffer 0,1 M Britton- Robinson, 0,1mM de nitrobenceno (NTB), a pH 2, realizado sobre GCE modificado con MWCNTs en agua, obtenidos de acuerdo a procedimientos: A y B. **38**
23. Esquema de procedimientos A y B para la modificación del electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbón vía reducción in-situ de compuestos nitro, en este caso 4- nitroimidazol. **39**
24. Voltamperograma cíclico de NTD 1mM en medio mixto buffer citrato/DMF (40/60), pH 9 sobre GCE+MWCNTs, dispersante: 1,3 dioxolano. **42**
25. Voltamperogramas cíclicos para las especies A: Nitrendipino, B: Nitrobenceno y C: 4-nitroimidazol. **44**
26. Voltamperogramas cíclicos obtenidos sobre GCE+MWCNTs en medio 100% DMF + 0,1 M TBAP. **46**
27. Voltamperogramas cíclicos para nitrobenceno en medio 100% DMF + 0,1 M TBAP, sobre GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano. **47**

III. INDICE DE TABLAS

1. Resumen resultados sobre GCE y GCE+MWCNTs.	23
2. Resumen estudios reproducibilidad Pico I.	24
3. Resumen estudios reproducibilidad Pico II _a .	25
4. Resumen estudios repetibilidad Pico I.	25
5. Resumen estudios repetibilidad Pico II _a .	26
6. Resumen resultados estudio agentes dispersantes Pico I.	33
7. Resumen resultados estudio agentes dispersantes Pico II _a .	34
8. Valores de límite de detección, VPD.	36
9. Valores de límite de detección, VOC.	38

IV. ABREVIATURAS

SIGLA	SIGNIFICADO
GCE	Electrodo de carbón vítreo
CNTs	Nanotubos de carbono
SWCNTs	Nanotubos de carbono de pared simple
MWCNTs	Nanotubos de carbono de multipared
MWCNT-NH ₂	Nanotubos de carbono de multipared funcionalizados -NH ₂
MWCNT-COOH	Nanotubos de carbono de multipared funcionalizados -COOH
NTD	Nitrendipino
NTB	Nitrobenceno
NTI	4-nitroimidazol
VC	Voltamperometría cíclica
VPD	Voltamperometría de pulso diferencial
VOC	Voltamperometría de onda cuadrada
DMF	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
TBAP	Peroclorato de tetrabutilamonio

RESUMEN

Los nitrocompuestos aromáticos son compuestos de interés biológico, ampliamente utilizados como fármacos en el tratamiento de diversas enfermedades que van desde problemas arteriales (nitrendipino) hasta enfermedades infecciosas, e incluso cáncer (4-nitromimidazol). Nitrobenceno no posee características de interés farmacológico, sino más bien se trata de un compuesto tóxico y cancerígeno. Por lo tanto la presencia del grupo nitro no es suficiente para proporcionar dicha actividad.

La reducción del grupo nitro es un paso fundamental para la actividad biológica, debido a que se generan intermediarios altamente reactivos. Esta reducción fue estudiada sobre electrodos de carbón vítreo modificados con nanotubos de carbono (MWCNTs), en medio acuoso, mixto y no acuoso.

Se estudió la influencia de la naturaleza de la película de nanotubos de carbono, utilizando MWCNT funcionalizados, MWCNT-NH₂ y MWCNT-COOH, donde los primeros mostraron un comportamiento similar a los MWCNTs al comparar la respuesta electroquímica, es decir, un aumento en la intensidad de corriente, lo que se traduce como una mejora en la sensibilidad. Esta respuesta de los electrodos modificados con CNTs fue evaluada por técnicas electroquímicas.

Finalmente, uno de los resultados más destacados de esta tesis, es que se logró modificar específicamente los electrodos de carbón vítreo con el par redox (RNHOH/ RNO), mediante una modificación electroquímica la cual fue obtenida por un método novedoso, sencillo y reproducible.

SUMMARY

“Voltammetric determination of nitrocompounds using glassy carbon electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes”

Nitroaromatics are compounds of biological interest, widely used as drugs in the treatment of various diseases ranging from arterial problems (Nitrendipine) to infectious diseases and even cancer (4-nitroimidazole). Nitrobenzene does not possess pharmacological characteristics, but rather it is a toxic and carcinogen compound. Therefore, the presence of the nitro group is not sufficient to provide this activity. Reduction of the nitro group is the essential step for biological activity, due to highly reactive intermediates are generated. This reduction was studied on glassy carbon electrodes modified with carbon nanotubes (MWCNTs) in aqueous, mixed and non-aqueous medium. The influence of the nature of the carbon nanotubes film was studied, using functionalized MWCNTs, MWCNT-NH₂ and MWCNT-COOH, where the former showed a similar behavior to CNTs by comparing the electrochemical response, namely, an increase in current intensity, which translates as an improvement in sensitivity. This response of modified electrodes with CNTs was evaluated by electrochemical techniques.

At last, one of the main finding results of the present thesis, it was the specifically modification of glassy carbon electrodes with the redox couple RNHOH/RNO, through electrochemical modification of which was obtained by a novel, simple and reproducible method.

1. INTRODUCCIÓN

La presente tesis comprende los experimentos realizados para el estudio electroquímico de tres nitrocompuestos aromáticos, nitrendipino, nitrobenzeno y 4-nitroimidazol. Este estudio fue realizado sobre electrodos de carbón vítreo modificados con una película de nanotubos de carbono de multi-pared (MWCNTs, siglas en inglés). Aún cuando la electroquímica de estos nitrocompuestos aromáticos ha sido ampliamente estudiada sobre electrodos convencionales, sólo algunas pocas investigaciones han sido dirigidas al estudio de nitrocompuestos sobre MWCNTs.

Al compuesto aromático nitrendipino (NTD), se le conoce por su actividad farmacológica y debido a que es un potente y confiable hipertensivo arterial de la familia de los antagonistas de calcio. Básicamente, inhibe el transporte de calcio en los canales lentos, reduciendo la resistencia periférica y con ello, produciendo una vasodilatación con la consecuente disminución de la presión [1]. Es por esto, que está indicado como tratamiento básico para la hipertensión arterial y es extensamente utilizado en todo el mundo.

Se ha descrito una serie de investigaciones voltamperométricas con el fin de comprender el comportamiento electroquímico de NTD sobre diferentes tipos de electrodos de trabajo, tales como mercurio (Hg) [2], carbón vítreo (GCE) [3] y pasta de carbono (CP) [4] en un medio hidroalcohólico etanol/0,4 M Britton Robinson: 20/80, a pH 6.

Recientes investigaciones han buscado describir su comportamiento sobre GCE modificado con MWCNTs, donde se reporta la efectiva derivatización de los electrodos modificados al sumergirlos en una solución acuosa del compuesto nitrendipino en medio ácido [5].

Nitrobenceno (NTB) es un compuesto nitroaromático tóxico y posible cancerígeno, que ha sido ampliamente utilizado en la industria para la producción de anilina, colorantes de anilina, explosivos, pesticidas y drogas, [6] a su vez se ha utilizado como solvente en productos como pinturas y calzado, por lo que su liberación al medioambiente ha tenido que ser fuertemente regulada con el fin de no afectar a la salud humana. De su estructura podemos comentar que la alta afinidad electrónica del grupo nitro reduce la nube de densidad electrónica del anillo benzoico, haciendo que el compuesto nitrobenceno sea muy estable, lo que lo convierte en uno de los principales contaminantes en una variedad de países alrededor del mundo. Debido a esto, es que se han realizado una serie de investigaciones con el fin de remover el compuesto de las aguas de desecho industrial. Como por ejemplo la reducción por hidrogenación catalítica en la manufactura de anilina y p-aminofenol, la cual ha sido poco implementada debido a sus altos costos [7]. Recientemente, la idea de utilizar CNTs ha ido aumentando debido a su capacidad de mediar las reacciones de transferencia electrónica cuando se les utiliza como electrodo, por ello la reducción electroquímica de nitrobenceno sobre un electrodo de grafito pirolítico modificado con MWCNTs se estudió con el objetivo de construir un reactor de flujo empacado de dos compartimiento que podría remover nitrobenceno de aguas de desecho [8].

Con respecto al compuesto 4-nitroimidazol (NTI), se trata de un heterociclo cuyos derivados son utilizados como antibacterial, antiprotozoico y agente anticancerígeno. Una gran variedad de estudios se han llevado a cabo con el fin de dilucidar el mecanismo de acción de este tipo de compuesto con lo que se ha logrado concluir que es necesario que ocurra la reducción del grupo nitro para que exista actividad citotóxica. Aún cuando estas moléculas presentan buenas características farmacológicas, se ha establecido que estas moléculas también presentan algunos efectos adversos [9].

Los trabajos reportados hasta ahora con respecto al compuesto 4-nitroimidazol, describen estudios electroquímicos sobre el comportamiento voltamperométrico cíclico de 4-nitroimidazol en medio no acuoso [10] y acuoso [11]. Recientemente, se informó acerca de la reducción voltamperométrica de un derivado 4-nitroimidazólico, 1-metil-4-nitro-2-hidroximetilimidazol sobre un electrodo de carbón vítreo (GCE) modificado con MWCNTs [12], la cual fue evaluada utilizando voltametría de barrido lineal (VL), voltametría cíclica (VC) y voltametría de onda cuadrada (VOC).

Por décadas se han elegido electrodos de materiales de carbón para realizar variadas investigaciones, tales como carbón vítreo, fibras de carbón, carbón negro, diferentes formas de grafito, pasta de carbón y electrodos de carbón epóxico. El carbón resulta ser un atractivo material para electrodos ya que no es costoso y es relativamente inerte químicamente en la mayoría de los medios de trabajo, posee una alta superficie de actividad y una amplia ventana de potencial operacional (aprox. -2 a 2 V en solución

acuosa), a diferencia de, por ejemplo, el electrodo de mercurio el cual es sólo útil para el estudio de reducciones.

En 1991 un material adicional de carbón fue descubierto por Iijima [13], los nanotubos de carbono (CNTs, sigla en inglés), desde entonces una gran variedad de trabajos se han realizado gracias a las especiales características que estos materiales presentan, sobre todo en el área de la electroquímica. Algunas de ellas son: resistencia mecánica, estructural y buena conductividad eléctrica. Además sus propiedades químicas son muy específicas, por lo que facilitan que los electrones puedan transferirse entre las especies electroactivas y el electrodo [14], donde se produce un aumento en la intensidad de corriente de pico reductivo al utilizar CNTs en comparación con el electrodo de carbón vítreo por sí solo. Gracias a ello, se ha abierto nuevas rutas para la fabricación de dispositivos químicos.

Los CNTs puede formarse tanto como nanotubos de pared simple (SWCNTs) los que constituyen un solo, tubo de grafito hueco, o como nanotubos de carbono de multipared (MWCNTs), los que consisten en varios tubos de grafito concéntricos uno instalado al interior del otro. Ambos SWCNTs y MWCNTs han sido ampliamente utilizados en diferentes aplicaciones, más para el caso de los SWCNTs su utilización se ha visto restringida debido a la dificultad de obtención como material 100% puro.

La única desventaja de este tipo de material, es que son prácticamente insolubles en todos los solventes, y como resultado de esto, su aplicación está limitada. Sin embargo, al modificar su superficie, podría verse mejorada su actividad electroquímica para sus

aplicaciones analíticas [15,16]. Se ha probado que la utilización de CNTs funcionalizados resulta ser útil para mejorar su solubilidad sin menoscabar sus propiedades físicas, además de que la funcionalización puede conferir a los CNTs propiedades atractivas para su utilización en técnicas para determinaciones analíticas.

Sus áreas de aplicación abarcan desde la detección catalítica y análisis de biomoléculas como dopamina [17], citocromo C [18] y carbohidratos [19] hasta la detección de analitos, como peróxido de hidrógeno [20], hidracina [21] y trinitrotolueno (TNT) [22]

Otra de las múltiples aplicaciones que presentan los nanotubos de carbono es la posibilidad de construir sensores electroquímicos al derivatizar un electrodo de carbón vítreo modificado con MWCNTs vía reducción química de sales de diazonio con ácido hipofosfórico [23], donde se demostró que el método resultaba ser útil y versátil.

Las técnicas voltamétricas utilizadas fueron voltamperometría cíclica (VC), voltamperometría de pulso diferencial (VPD) y voltamperometría de onda cuadrada (VOC).

La voltamperometría cíclica es una técnica ampliamente utilizado por la electroquímica. Ha demostrado ser una efectiva y útil técnica para investigar el comportamiento de la superficie del electrodo modificado con MWCNTs [15] y también con el fin de determinar mecanismos de transferencia electrónica [24].

La técnica de voltamperometría de pulso diferencial, tiene múltiples aplicaciones en el ámbito del análisis debido a que resulta ser un método muy rápido, de alta precisión y sensibilidad. Incluso se han reportado investigaciones donde las características de este método han superado a otras técnicas utilizadas en la determinación de pesticidas organofosforados como cromatografía gaseosa (GC, siglas en inglés) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, siglas en inglés) [25]. Las aplicaciones de esta técnica trascienden los estudios meramente electroquímicos, como la determinación de parámetros cinéticos, sino que se han posicionado en campos de determinación analítica, como en la detección electrocatalítica de la droga Isoprenalina sobre electrodos de pasta con nanotubos de carbono de multipared, modificados con ferroceno [26].

Con respecto a la voltamperometría de onda cuadrada, podemos describirla como una importante herramienta electroanalítica que tiene un amplio rango dinámico y límites de detección menores si se le compara con la voltamperometría cíclica, esto debido a que eficientemente discrimina la corriente capacitiva [27]. Entre sus variadas aplicaciones, se destaca la determinación del componente hormonal Dexametasona sobre electrodos modificados con nanotubos de carbono de multipared [28].

Nuestra elección de realizar estudios electroquímicos radica en que los análisis electroquímicos poseen alta sensibilidad, buena estabilidad e instrumentación de bajo costo, por lo que en las últimas décadas se han ganado una posición importante en su utilización como biosensores, debido a su simplicidad y versatilidad.

El objetivo principal de la presente tesis es el estudio del comportamiento electroquímico de nitrocompuestos sobre electrodos de carbono vítreo modificados con CNTs.

El estudio se llevó a cabo modificando tanto la estructura de la fase electródica con CNTs de diferente naturaleza como el sustrato nitro (nitrobenceno, nitrendipino y nitroimidazol).

2. OBJETIVOS

2.1 *General:* estudiar el comportamiento electroquímico de nitrocompuestos de interés biológico sobre electrodos de carbono vítreo modificados con CNTs.

2.2 *Específicos:*

- Obtener electrodos de carbón vítreo modificados con MWCNTs, MWCNT-NH₂ (nanotubos de carbono de multipared funcionalizados grupo -NH₂) y MWCNT-COOH (nanotubos de carbono de multipared funcionalizados grupo -COOH).
- Realizar estudio electroquímico de nitrocompuestos, nitrendipino (NTD), nitrobenzeno (NTB) y 4-nitroimidazol (NTI) en medio acuoso, mixto y no acuoso, sobre electrodos de carbón vítreo modificados con MWCNTs.
- Estudiar comportamiento electroquímico de nitrocompuestos sobre MWCNTs por medio de tres diferentes técnicas voltamétricas, Voltamperometría Cíclica, Voltamperometría de Pulso Diferencial y Voltamperometría de Onda Cuadrada.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Compuestos en estudio

- 4- nitroimidazol (NTI)

PM= 113,09 g/mol

Formula Molecular: $C_3H_3N_3O_2$

Merck

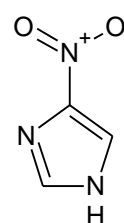


Fig. 1 Estructura compuesto 4- nitroimidazol.

- Nitrobencono (NTB)

PM= 123,11 g/mol

Formula Molecular: $C_6H_5NO_2$

Riedel- De Haen

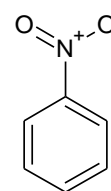


Fig. 2 Estructura compuesto nitrobencono.

- Nitrendipino (NTD)

PM= 360,36 g/mol

Formula Molecular: $C_{18}H_{20}N_2O_6$

USV Limited. India

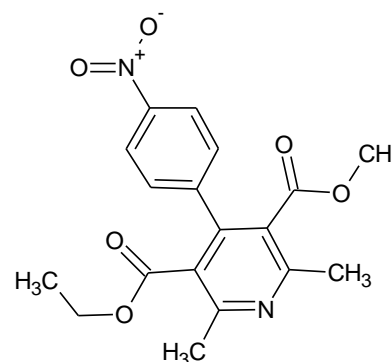


Fig. 3 Estructura compuesto nitrendipino.

3.1.2 Reactivos y solventes

- 1,3 dioxolano, Sigma Aldrich
- Ácido acético glacial p.a. Mallinckrodt
- Ácido bórico (99%) p.a. Fluka Chemica
- Ácido cítrico p.a. Fluka Chemica
- Ácido clorhídrico (36%) p.a. Reutter
- Agua desionizada pureza milli-Q
- Alcohol etílico 95%, Lab-Tec
- Cloruro de potasio p.a. Merck
- Diclorobenceno p.a. Sigma Aldrich
- Etanol absoluto p.a. Merck
- Hidróxido de sodio (pellets) p.a Merck
- Nanotubos de carbono de multipared RP-MWCNT, DRP-MWCNT-NH₂(5% de funcionalización), DRP-MWCNT-COOH(5% de funcionalización), d: 10 nm, L: 1-2 μm, 95 %
- Nitrógeno extra puro, AGA
- N,N dimetilformamida p.a. Merck
- Perclorato de tetrabutil amonio (TBAP), Fluka Chemica.
- Tamiz molecular en forma de perlas 0,3 nm, Merck

3.1.3 Material de vidrio

Material de vidrio utilizado fue clase A.

3.1.4 Electrodos

Trabajo: Carbón vítreo y Carbón vítreo modificado con MWCNTs, MWCNT-NH₂ y MWCNT-COOH

Referencia: Ag/AgCl (BASi MF-2052)

Auxiliar: Alambre de Pt

3.1.5 Equipos

- Analizador voltamperométrico CHI 900 (CH Instruments Inc., USA)
- Agitador magnético Branson 2510E-DTH
- Balanza de precisión Precisa 40SM-200A (sensibilidad 0,01 mg)
- Estufa WTB Binder.
- Medidor de pH WTW modelo pMx 3000.
- Medidor de pH WTW modelo pH 537
- Sistema purificador de agua Milli-Q Ultra- Pure Water System

3.2 Métodos

3.2.1 Medios de trabajo para estudio electroquímicos

3.2.1.1 Medio Acuoso (100% Buffer Britton- Robinson)

Preparación solución Buffer 0,1 M Britton- Robinson

Se preparó 1 L de solución buffer, con 5,72 mL de ácido acético (CH_3COOH) glacial, 6,74 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85 % y 6,18 g de ácido Bórico (H_3BO_3) y se llevó a 1 L en un matraz aforado completando el volumen con agua milliQ.

Para la preparación de las soluciones de trabajo se utilizaron alícuotas de esta solución, y se ajustó al pH específico de trabajo con soluciones de NaOH y HCl concentradas.

Preparación solución Stock

Se preparó una solución de los diferentes compuestos en estudio de concentración 0,01 M en etanol de calidad analítica. Se mantuvo refrigerada y lejos de la luz para que conservara sus propiedades intactas.

Preparación soluciones de trabajo

Se preparan al diluir alícuotas de solución stock en buffer Britton- Robinson 0,1 M hasta completar un volumen de 10 mL y obtener una solución de concentración 0,1 mM. Las soluciones de trabajo fueron preparadas cada vez que se realizó un estudio.

3.2.1.2 Medio mixto (Buffer Citrato/DMF 40/60)

Preparación solución Buffer Citrato

Se preparó 1 L. de solución buffer, con 2,886 g de ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), 22,365 g de cloruro de potasio (KCl) y 0,927 g de ácido bórico (H_3BO_3), todo aforado a 1 L con agua milliQ, obteniendo así la solución Buffer citrato 0,015 M + 0,3 M KCl + 0,03 M ácido bórico. Luego se ajustó su pH con solución de NaOH concentrado a un valor 7,2.

Preparación solución DMF + 0,1 M TBAP

Se prepararon 10 mL de solución, con 0,341 g de perclorato de tetrabutilamonio (TBAP) y aforado con DMF a 10 mL en un matraz, obteniendo así una solución DMF + 0,1 M TBAP. Esta solución fue preparada antes de cada medición, ya que el DMF se debe mantener libre de agua por medio de tamiz molecular de 0,3 μm el cual es agregado en botella de almacenaje.

Preparación Solución stock

Se preparó una solución de los diferentes compuestos en estudio de concentración 0,01 M en solución DMF + 0,1 M TBAP. Se mantuvo refrigerada y protegida de la luz para que conservara sus propiedades intactas.

Preparación solución de trabajo

Se preparan al diluir alícuotas de solución stock, según la concentración deseada, en 4 mL de solución buffer citrato y completando con DMF + 0,1 M TBAP hasta un volumen total de 10 mL en un matraz aforado para obtener una solución de concentración 1 mM.

3.2.1.3 Medio no acuoso (100% DMF + 0,1 M TBAP)

Preparación solución DMF + 0,1 M TBAP

Mismo procedimiento antes mencionado (3.2.1.2)

Preparación Solución stock

Mismo procedimiento antes mencionado (3.2.1.2)

Preparación solución de trabajo

Se preparan al diluir alícuotas de solución stock en DMF + 0,1 M TBAP hasta un volumen total de 10 mL en un matraz aforado para obtener una solución de concentración 1 mM.

3.2.2 Procedimiento de lavado del electrodo modificado

Se implementó un procedimiento de lavado con el fin de poder re-utilizar un GCE+MWCNTs. Este procedimiento consta de tres etapas: 1) sumergir y agitar el GCE+MWCNTs en DMF por 10 segundos, 2) sumergir y agitar el GCE+MWCNTs en etanol por 3 segundos y por último 3) sumergir y agitar el GCE+MWCNTs en agua por

5 segundos. Este procedimiento de lavado se realizó para la medición de todos los compuestos en estudio, en todos los medios de estudio y también con los tres tipos de CNTs.

3.2.3 Estudio de reproducibilidad

Los estudios de reproducibilidad se realizaron para los tres compuestos nitro aromáticos, nitrendipino, nitrobenzono y 4-nitroimidazol, a una concentración de 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton-Robinson. El procedimiento consistió en modificar 10 electrodos de carbón vítreo independientes con una película de nanotubos de carbono, y realizar las mediciones de cada uno de ellos en una solución de la especie electroactiva. Antes de cada medición se realizó una etapa de acumulación de especie electroactiva sobre la superficie del electrodo. Al terminar las 10 mediciones se calculó el promedio, la desviación estándar y %CV, con el fin de determinar cuan reproducible en el proceso de modificación del electrodo de carbón vítreo.

3.2.4 Estudio de repetibilidad

Los estudios de repetibilidad se llevaron a cabo para los tres tipos de compuestos nitroaromáticos. Se realizaron en las mismas condiciones en que se llevaron a cabo los estudios de reproducibilidad. El procedimiento consistió en modificar un electrodo de carbón vítreo con una película de nanotubos de carbono dispersos en un solvente y luego medir sobre este electrodo 10 veces consecutivas. Antes de cada medición tuvo lugar la acumulación de especie electroactiva sobre la superficie del electrodo, la cual se realizó

en una solución de la especie en estudio. Entre cada medición se lleva a cabo una etapa de lavado, la cual es descrita en el punto 3.2.2.

3.3 Técnicas utilizadas

3.3.1 Voltametría de pulso diferencial (VPD)

Se utilizaron soluciones de trabajo de diferentes concentraciones de los compuestos en estudio en medio acuoso 100% Britton- Robinson 0,1 M, con el fin de construir una curva de calibración, con un rango de concentraciones de 10^{-6} a 10^{-4} M.

Se utilizó como electrodo de trabajo, un electrodo sólido de carbón vítreo (GCE) modificado con Nanotubos de carbono (MWCNTs) sin y con funcionalizar.

Se tomó en cuenta el comportamiento que presentaron los parámetros característicos como el potencial de pico (E_p) y corriente de pico (i_p).

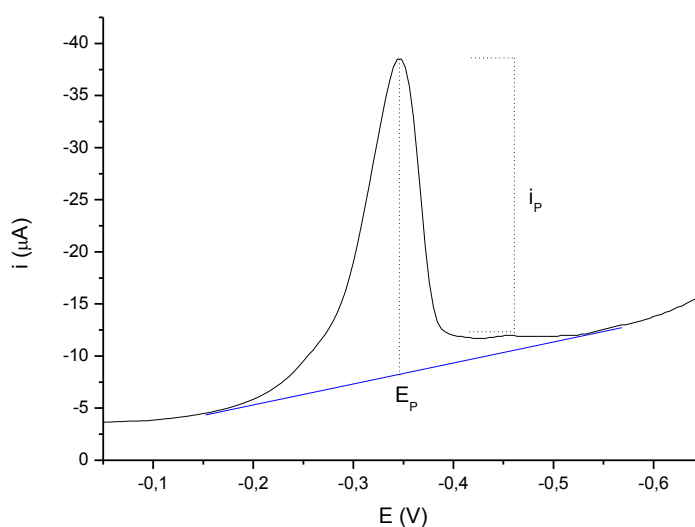


Fig. 4 Voltamperograma de pulso diferencial para nitrendipino 0,1 mM, sobre GCE+MWCNTNH₂, mezcla dispersante diclorobenceno: EtOH (1:1).

Se realizaron a través de esta técnica, curvas de calibración con el fin de determinar el límite de detección de la técnica. Para la construcción de la curva de calibración, sobre un mismo electrodo modificado con MWCNT-NH₂, donde la primera medición fue realizada en una solución de buffer Britton Robinson 0,1 M a pH 2. Luego y para obtener los siguientes puntos de la curva de calibración se añadieron alícuotas de solución stock.

El límite de detección de una técnica se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación, donde LD es el límite de detección, el cual corresponde a la mínima concentración que es capaz de detectar la técnica, Y_B es el promedio de intensidad de corriente del blanco, σ_B es la desviación estándar del blanco y S es la sensibilidad de la técnica, la cual corresponde a la pendiente de la curva de calibración.

$$LD = \frac{Y_B + 3\sigma_B}{S} \quad \text{Ec. 1}$$

3.3.2 Voltamperometría Cíclica (VC)

El estudio se realizó con soluciones de los compuestos en estudio a una concentración del orden de 10⁻⁴ M en medio acuoso y 10⁻³ M en los medios mixto y no acuoso. Se utilizaron como electrodos de trabajo, un electrodo sólido de carbón vítreo (GCE) modificado con nanotubos de carbono (MWCNTs) sin y con funcionalizar.

Los estudios de pH en medio acuoso se llevaron a cabo ajustando el pH de la solución con adiciones de pequeñas alícuotas de una solución concentrada de NaOH, o HCl según correspondiera.

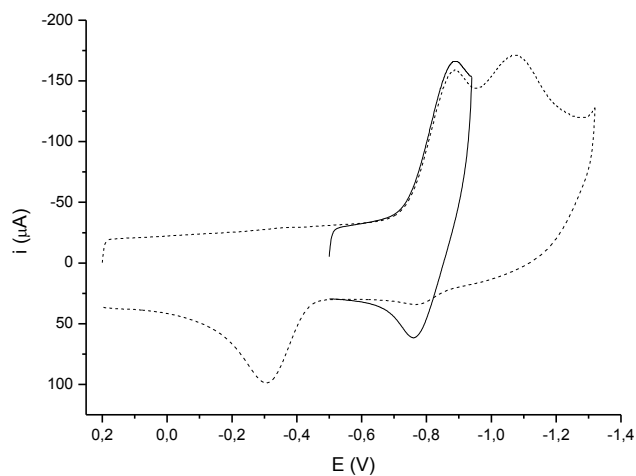


Fig. 5 Voltamperogramas cíclicos de nitrendipino 0,1mM, medio mixto buffer citrato/DMF (40/60), pH 9, GCE+MWCNTs en 1,3 Dioxolano. Barridos largo y corto.

3.3.3 Voltamperometría de Onda Cuadrada (VOC)

El estudio voltamperométrico, se realizó con soluciones de diferente concentración de los compuestos en estudio, en medio 100% buffer Britton-Robinson 0,1 M, con el fin de construir una curva de calibración, en un rango de concentraciones entre 10^{-6} a 10^{-4} M. Se utilizó como electrodo de trabajo, un electrodo de carbono vítreo modificado con nanotubos de carbono (CGE+MWCNTs), un alambre de platino como contra electrodo y los potenciales fueron medidos contra un electrodo de referencia de $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$. Antes de cada medición se burbujeó con nitrógeno. Se optimizaron los parámetros de frecuencia y amplitud.

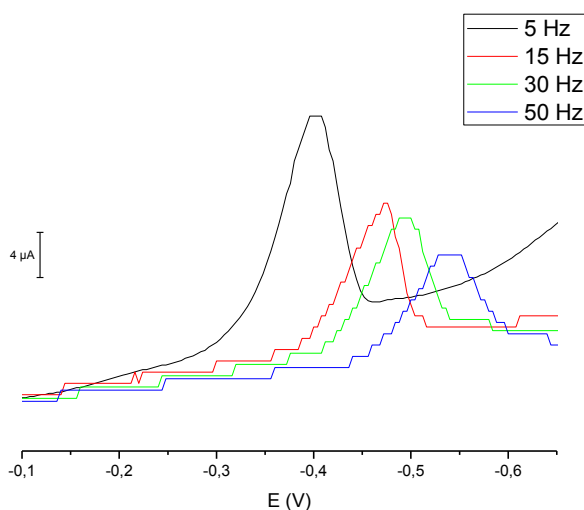


Fig. 6 Voltamperogramas de onda cuadrada de nitrendipino 0,1mM en medio acuoso, obtenidos a diferentes frecuencias.

3.4 Modificación de GCE con CNTs

El electrodo de trabajo GCE + MWCNTs fue preparado de la siguiente forma: Antes de cada modificación, el GCE fue pulido con alúmina al agua de 0,3 y 0,05 μm , y luego lavado con abundante agua. Los MWCNTs (sin y con funcionalizar) fueron dispersados a una concentración de 4 mg/mL en tres dispersantes diferentes: agua, diclorobenceno:EtOH (1:1) y 1,3 dioxolano. Luego, en los tres casos, fueron sonicados por 5 minutos, donde este último procedimiento se repitió 3 veces. La inmovilización de los MWCNTs fue llevada a cabo tomando un volumen de 5 μL de la dispersión de MWCNTs y depositándolo sobre la superficie del GCE. Para secar la dispersión en el caso de los dispersantes agua y diclorobenceno:EtOH (1:1), el GCE fue introducido a una estufa a 50°C por 15 min. Mientras que para la inmovilización de las dispersiones de 1,3 dioxolano, se secaron a temperatura ambiente luego de 2 minutos. Este proceso fue realizado de manera exacta tanto para los MWCNTs como para los MWCNTS funcionalizados, MWCNT-COOH (oxidados) y MWCNT-NH₂ (aminados).

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Medio Acuoso (100% buffer Britton- Robinson)

4.1.1 Estudios de Reproducibilidad y Repetibilidad

Los estudios de reproducibilidad y repetibilidad son conducentes a determinar cuan reproducible o repetible resulta ser el electrodo modificado de acuerdo al procedimiento descrito. Fundamentalmente el grado de reproducibilidad y repetibilidad está dado por el grado de homogeneidad de la dispersión y por ende, del recubrimiento.

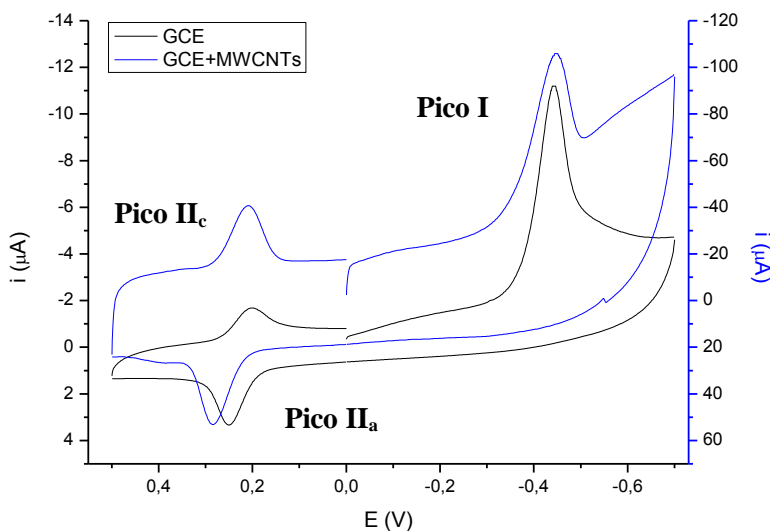
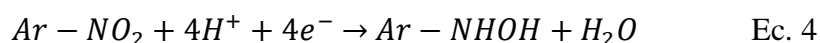


Fig. 7 Voltamperogramas Ciclicos para nitrendipino 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado.

La fig. 7 corresponde al primer ciclo de un voltamperograma cíclico del compuesto nitrendipino, en ella podemos identificar dos sistemas redox y a su vez comparar la diferencia en la intensidad de corriente cuando se modifica el electrodo. Los

sistemas identificados corresponden al comportamiento voltamperométrico característico de los compuestos nitroaromáticos en medio acuoso. El sistema denominado Pico I corresponde al pico irreversible señal característica de la reducción vía 4 electrones/ 4 protones del grupo $-\text{NO}_2$, de acuerdo a la siguiente reacción



El sistema que se compone de los picos II_a y II_c , corresponde a la onda cuasi-reversible atribuida a la oxidación/reducción vía 2 electrones/ 2 protones de la cupla hidroxilamina/nitroso, de acuerdo a la reacción siguiente

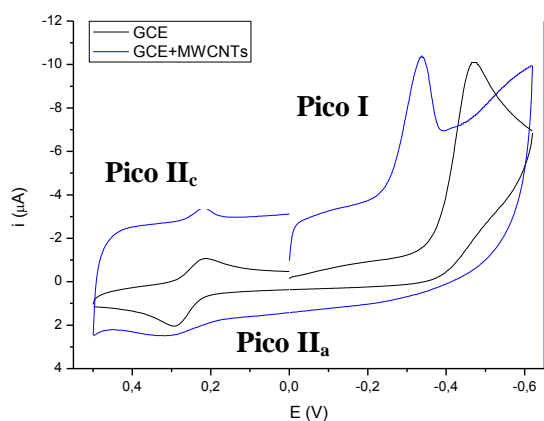


Fig. 8 Voltamperogramas cíclicos para nitrobenzeno 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado.

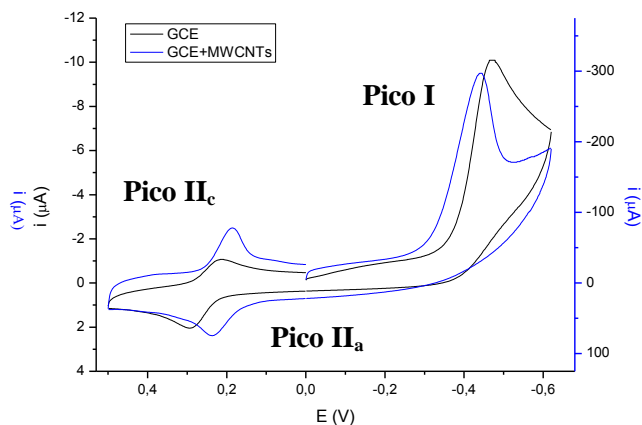


Fig. 9 Voltamperogramas cíclicos para 4-nitroimidazol 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, pH 2, sobre GCE y GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano, para el caso del electrodo modificado.

El comportamiento de los tres compuestos nitroaromáticos, nitrendipino, nitrobenzeno y 4-nitroimidazol, se puede observar en las figuras 7, 8 y 9 respectivamente.

Tabla 1. Resumen resultados sobre GCE y CGE+MWCNTs

Compuesto	CGE				CGE+MWCNTs			
	Pico I		Pico II _a		Pico I		Pico II _a	
	E _p (V)	i _p (μA)	E _p (V)	i _p (μA)	E _p (V)	i _p (μA)	E _p (V)	i _p (μA)
NTD	-0,443	-8,91	0,251	2,368	-0,447	-69,94	0,293	55,6
NTB	-0,470	-8,56	0,294	1,476	-0,448	-241,2	0,240	47,1
NTI	-0,479	-8,328	0,301	1,465	-0,336	-80,17	0,309	6,192

Cabe señalar que aunque su comportamiento en los estudios realizados es similar, donde claramente se verifica un aumento de la intensidad de corriente de pico para todos los picos al modificar el electrodo de carbón vítreo con los nanotubos de carbono de multipared. Se verificó que al modificar el electrodo de carbón vítreo se produce un efecto catalítico al desplazarse el potencial de pico tanto para el pico I como para el pico II_a, comportamiento observado para los tres compuestos en estudio que se resume en la tabla 1. En la siguiente tabla se resumen los resultados obtenidos de los estudios de reproducibilidad y repetibilidad para los tres compuestos. Los estudios fueron realizados para los tres tipos de electrodos de carbón vítreo modificados con MWCNTs, MWCNT-NH₂ y MWCNT-COOH.

Tabla 2. Resumen estudios reproducibilidad Pico I

Compuesto	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
NTD	-69,94	9,6	-100,83	7,8	-102,22	7,7
NTB	-241,2	7,6	-241,77	8,2	-249,19	8,1
NTI	-80,87	8,1	-82,16	10,4	-76,32	3,4

Podemos observar en la tabla 2, que la respuesta electroquímica del compuesto en estudio cambia con respecto al tipo de nanotubo utilizado para la modificación del electrodo de carbón vítreo, esto se ve reflejado en la intensidad de corriente registrada como repuesta electroquímica. Para el caso, tanto del compuesto nitrendipino (NTD) como para nitrobencono (NTB), el mayor valor de intensidad de corriente de pico reductivo se obtuvo al utilizar MWCNT-COOH (nanotubos de carbono de multipared funcionalizados grupo -COOH) para la modificación del electrodo. Mientras que el compuesto 4-nitroimidazol (NTI) no presentó similar comportamiento. Este comportamiento tampoco fue observado para el Pico II_a que se resume en la Tabla 3. De acuerdo con los estudios de repetibilidad también realizados y cuyos resultados están resumidos en las tablas 4 y 5, se confirma este comportamiento, donde la intensidad de corriente de pico se ve afectada por la naturaleza de la película depositada sobre el electrodo de carbón vítreo.

Tabla 3. Resumen estudios reproducibilidad Pico II_a

Compuesto	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
NTD	55,6	17	54,24	8,22	26,99	14,1
NTB	47,1	8,5	78,6	5,3	64,9	4,5
NTI	6,19	6,3	3,45	11,3	7,27	9,1

Tabla 4. Resumen estudios repetibilidad Pico I

Compuesto	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
NTD	-65,46	8,4	-47,66	4,7	-76,16	7,6
NTB	-282,8	1,9	-308,04	8,6	-214,2	2,6
NTI	-94,09	1,5	-72,77	1,9	-85,49	2,9

Tabla 5. Resumen estudios repetibilidad Pico II_a

Compuesto	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
NTD	42,6	6,2	36,8	16,7	28,75	14,1
NTB	74,5	4,5	108,4	5,1	106,6	2,7
NTI	6,49	2,9	4,26	4,3	6,87	8,8

Los valores de % CV obtenidos para los estudios de reproducibilidad tanto para el pico I como para el pico II_a son mayores que los obtenidos para los estudios de repetibilidad para ambos sistemas. Esta diferencia indica que la etapa determinante de los estudios electroquímicos realizados es la inmovilización de la película de nanotubos de carbono sobre el electrodo de carbón vítreo, registrándose los mayores valores para las dispersiones de MWCNTs.

4.1.2 Estudios de pH

De acuerdo a recientes investigaciones con respecto al compuesto NTD, se ha verificado que es posible derivatizar de manera simple la superficie del electrodo modificado con nanotubos de carbono [5]. De acuerdo a esta investigación, las especies permanecen sobre la superficie del electrodo modificado sin importar que la respuesta electroquímica sea medida en una solución sin presencia del compuesto en estudio. La eficiencia del método podría ser afectada por la concentración de protones en las soluciones tanto de acumulación de especies sobre la superficie del electrodo durante un determinado tiempo como de medición de la respuesta electroquímica, por ello es que se llevaron a cabo dos diferentes estudios de pH, el primero cambiando el valor de pH de la solución donde se lleva a cabo la acumulación (Fig. 10 A), y el segundo estudio, se llevó a cabo bajo las mismas condiciones, sólo que esta vez se varió el valor de pH de la solución donde se lleva a cabo la medición (Fig. 10 B).

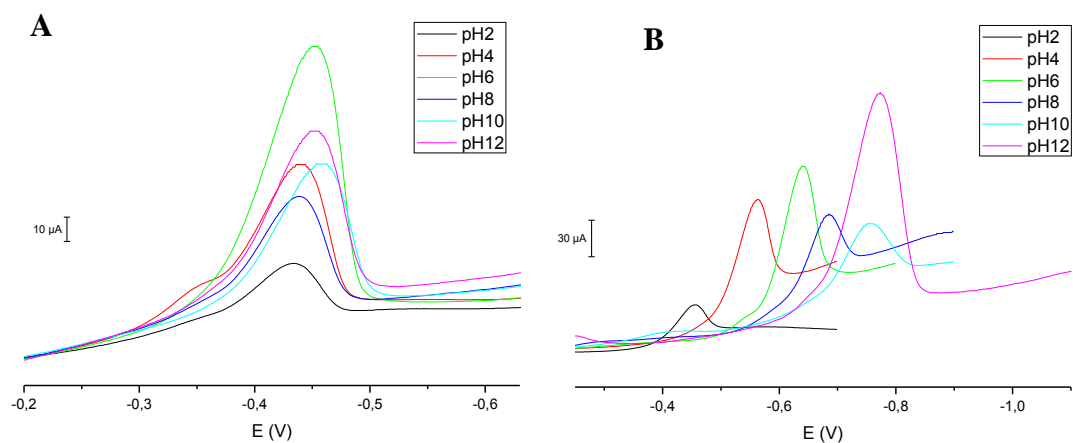


Fig. 10 Voltamperogramas para nitrendipino 0,1 mM en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno:EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Obtenidos a diferentes valores de pH (A) Estudio 1: cambio pH solución de acumulación, (B) Estudio 2: cambio pH solución medición.

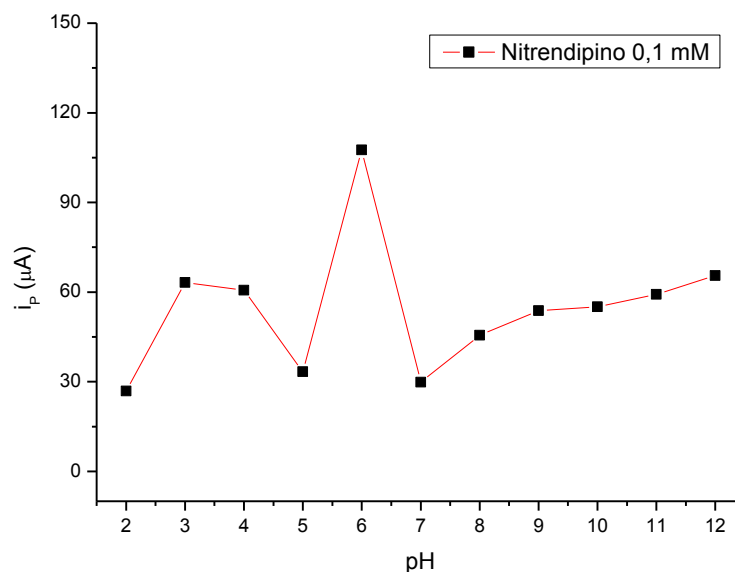


Fig. 11 i_p vs pH para pico I. Nitrendipino 0,1 mM, medio acuoso 100% Britton-Robinson, GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno:EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Estudio 1: cambio pH solución de acumulación.

En las figuras 11 y 12, se observa la dependencia del potencial de pico, E_p , y de la intensidad de corriente de pico, i_p , con respecto al valor de pH. Para el caso del estudio 1, no existe una dependencia entre el valor de pH y el potencial de pico, mientras que para el estudio 2, si se observa una marcada dependencia con la concentración de protones. Con respecto a la relación entre i_p y el pH de la solución tampoco se observa una dependencia, más es posible apreciar que para valores de pH entre 2 y 3 se observa el máximo valor para i_p . Este comportamiento de i_p con respecto a pH fue observado para ambos estudios.

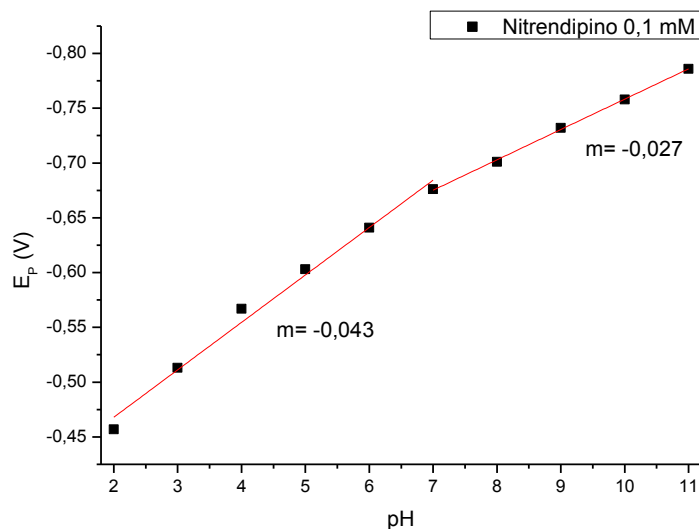


Fig. 12 E_p vs pH para Pico I. Nitrendipino 0,1 mM, medio acuoso 100% Britton-Robinson, GCE+MWCNTs, dispersante diclorobenceno: EtOH (1:1), 4 minutos tiempo de acumulación. Estudio 2: cambio pH solución de medición.

Tanto el comportamiento de E_p e i_p con respecto al pH, se observó para el pico II_a , el cual corresponde a la oxidación del derivado hidroxilamínico a su correspondiente derivado nitroso.

4.1.3 Estudio de agentes dispersantes por voltamperometría de pulso diferencial (VPD)

El siguiente estudio se llevo a cabo con el fin de determinar con cual agente dispersante se obtendría una mejor respuesta electroquímica para la especie nitrendipino (NTD). La mejor respuesta electroquímica corresponde a una onda voltamperométrica bien definida, cuya intensidad de corriente de pico tenga el valor más alto entre los

resultados y por último que presente el menor % CV para el estudio de repetibilidad, es decir, con el agente dispersante con el que se obtenga la mejor homogeneidad de la película de MWCNTs formada sobre el electrodo de carbón vítreo. Las experiencias se llevaron a cabo en una solución acuosa de 100% buffer Britton- Robinson 0,1 M, a pH 2.

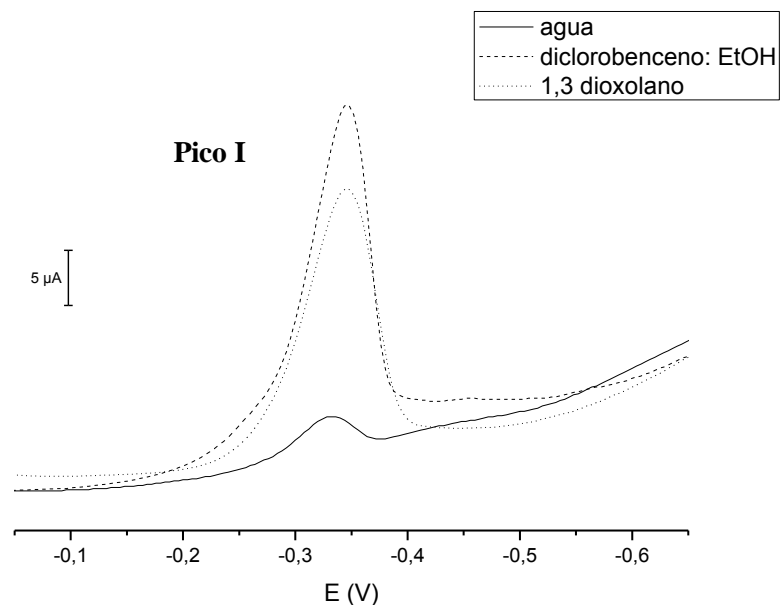


Fig. 13 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNTs.

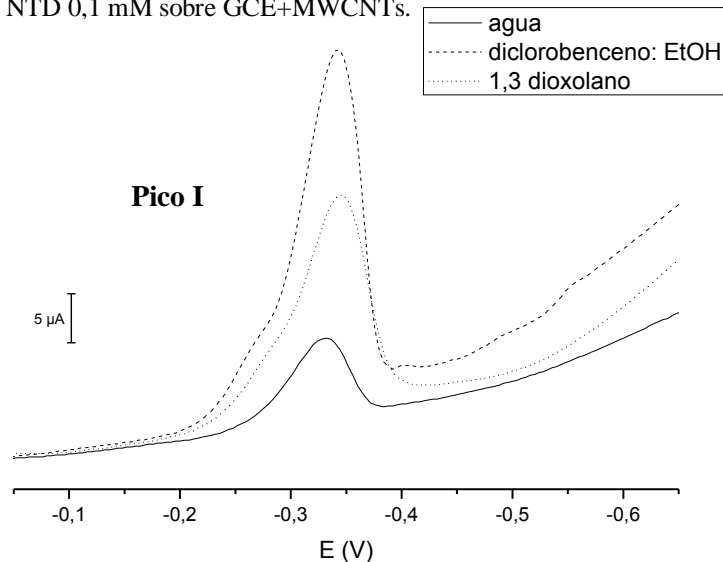


Fig. 14 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNT-NH₂.

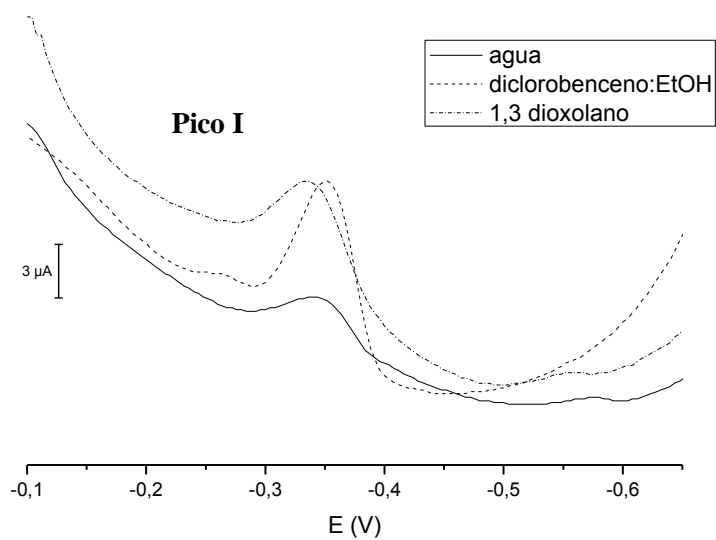


Fig. 15 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE+MWCNT-COOH.

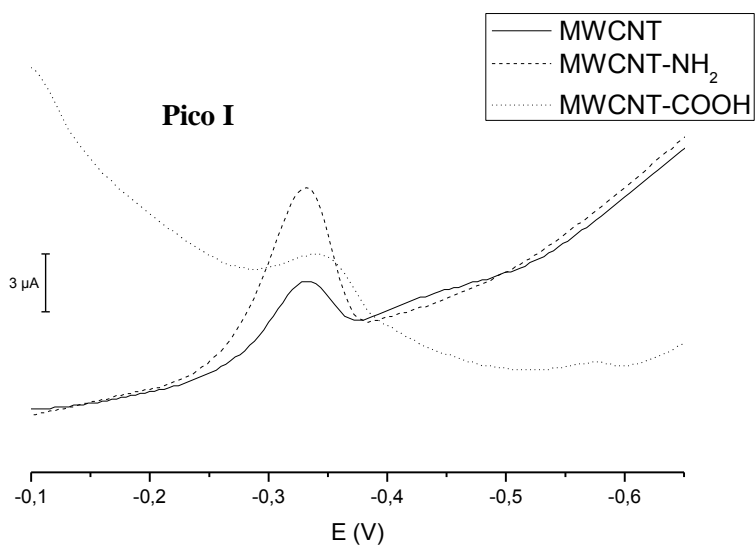


Fig. 16 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con nanotubos de carbono, dispersante: agua.

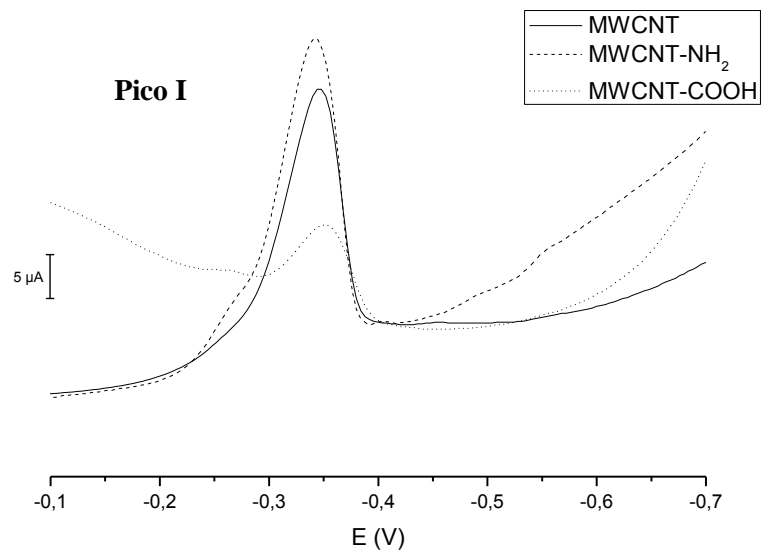


Fig. 17 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con nanotubos de carbono, dispersante: diclorobenceno:EtOH (1:1).

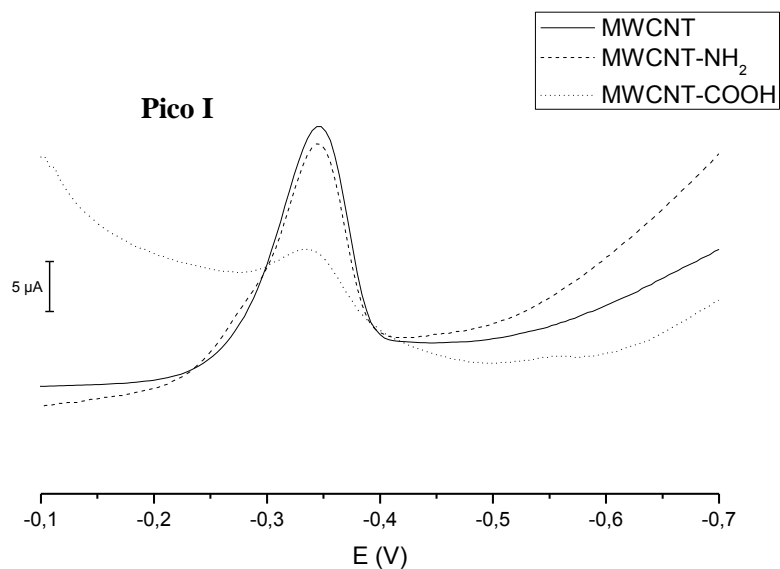


Fig. 18 Comparación voltamperogramas de pulso diferencial NTD 0,1 mM sobre GCE modificado con nanotubos de carbono, dispersante: 1, 3 dioxolano.

Las experiencias no sólo fueron realizadas para el Pico I, el cual corresponde a la reducción del derivado nitro a su correspondiente derivado hidroxilamínico, sino también para el Pico II_a, el cual corresponde a la oxidación del derivado hidroxilamínico a su correspondiente derivado nitroso. Los resultados obtenidos para ambos sistemas, con los tres agentes dispersantes (agua, mezcla diclorobenceno:EtOH y 1,3 dioxolano) para la modificación del electrodo de carbón vítreo con los tres tipos de nanotubos de carbono (MWCNTs, MWCNT-NH₂ y MWCNT-COOH) se resumen en las tablas 6 y 7. Los valores de % CV que se entregan en las siguientes tablas corresponden a estudios de reproducibilidad.

Tabla 6. Resumen resultados Pico I

Dispersante	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
Agua	-2,504	9,34	-7,505	7,06	-2,322	1,3
Diclorobenceno:EtOH (1:1)	-27,79	4,4	-32,945	3,4	-7,623	12,6
1,3 dioxolano	-22,16	4,7	-26,79	8,9	-5,744	7,5

Tabla 7. Resumen resultados Pico II_a

Dispersante	MWCNTs		MWCNT-NH ₂		MWCNT-COOH	
	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV	i _p (μA)	% CV
Agua	15,995	8,5	14,63	12,7	33,4	0,2
Diclorobenceno:EtOH (1:1)	45,185	4,9	59,195	1,7	57,63	0,7
1,3 dioxolano	34,967	0,8	59,57	4,2	40,645	7,9

De acuerdo a los resultados obtenidos, el dispersante que presentó una mejor respuesta electroquímica, es decir, el que alcanzó la mayor intensidad de corriente de pico, i_p, de entre todas las mediciones, tanto para el pico I como para el pico II_a, fue el dispersante 1,3 dioxolano. Debido a este resultado, se eligió el dispersante 1,3 dioxolano para determinar el límite de detección de la técnica VPD (voltamperometría de pulso diferencial) a través de una curva de calibración. Adicionalmente, se determinó el límite de detección de otra técnica, voltamperometría de onda cuadrada, VOC, con el fin de comparar ambas técnicas.

4.1.4 Curvas de calibración. Determinación del límite de detección de la técnica

4.1.4.1 Voltamperometría de Pulso Diferencial (VPD)

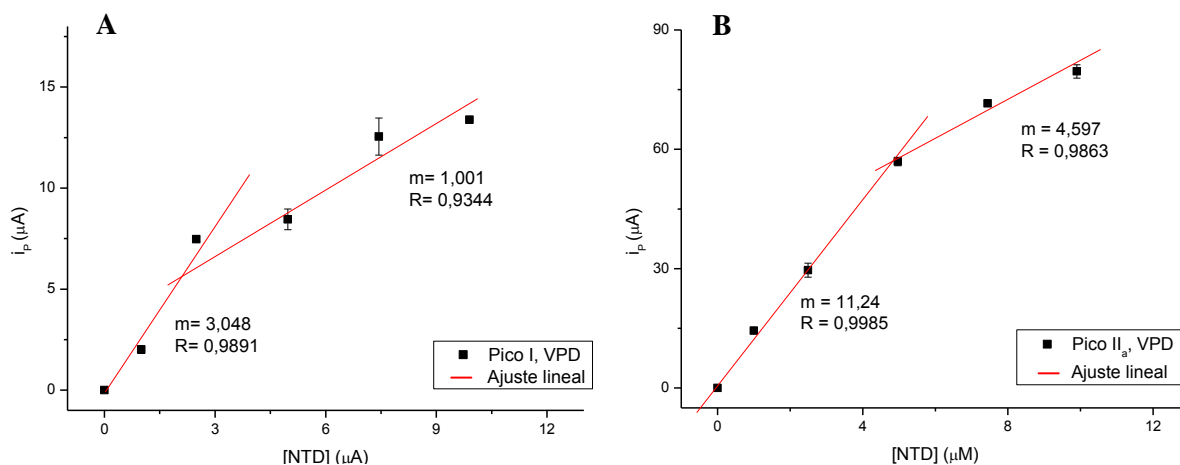


Fig. 19 Curvas de calibración para nitrendipino en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Pico I. B: Pico II_a.

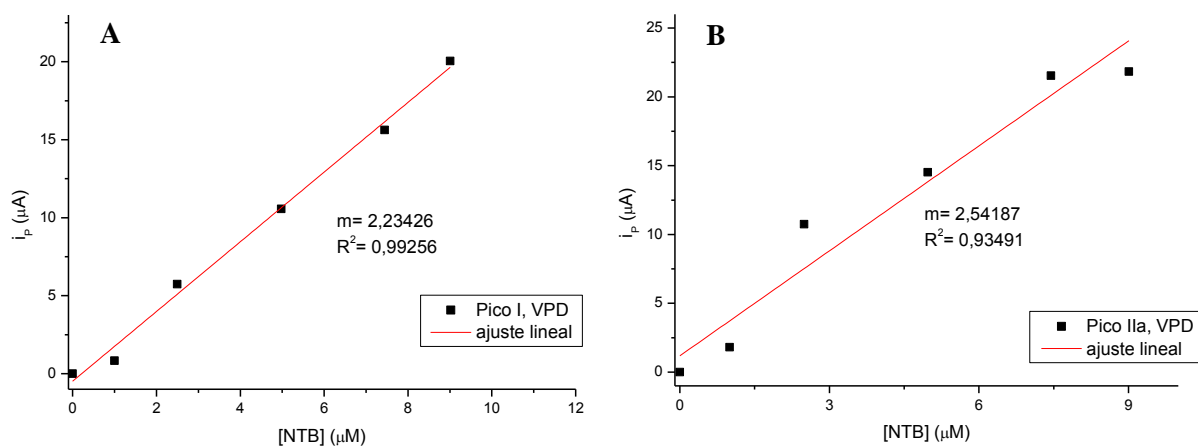


Fig. 20 Curvas de calibración para nitrobenzene en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Pico I. B: Pico II_a.

Estas experiencias se realizaron con el fin de comparar los valores de límite de detección (LD) y la sensibilidad de la técnica para diferentes tipos de nitrocompuestos. Por lo que las condiciones experimentales se mantuvieron fijas y únicas para los tres

diferentes compuestos. Para el caso de la especie 4- nitroimidazol no se observaban cambios en la intensidad de corriente a medida que se agregaban alícuotas de la misma especie. Los cambios en la intensidad de corriente con respecto al aumento de la concentración de especie electroactiva se observan en un rango de concentraciones que no pueden compararse con los otros dos compuestos nitroaromáticos, nitrendipino y nitrobenzeno.

A continuación, en la tabla 8, se resumen los valores de LD, obtenidos para la técnica de voltamperometría de pulso diferencial. Se puede concluir que la técnica VPD, en las condiciones de trabajo seleccionadas, es más sensible para NTD en comparación a NTB.

Tabla 8. Valores de límite de detección, VPD

Compuesto	LD (M)	
	Pico I	Pico II _a
NTD	$9,9 \times 10^{-8}$	$4,0651 \times 10^{-7}$
NTB	$1,3513 \times 10^{-7}$	$1,7975 \times 10^{-6}$

4.1.4.2 Voltamperometría de Onda Cuadrada (VOC)

Antes de poder realizar la curva de calibrado, fue necesario determinar las condiciones óptimas para la medición voltamperométrica. Los parámetros a determinar fueron frecuencia y amplitud. Tanto para el caso del compuesto nitrendipino como nitrobenzeno, la frecuencia óptima de medición fue de 5 Hz. Mientras que con respecto a la amplitud óptima, se obtuvo un valor de 75 mV para nitrendipino y 100mV para nitrobenzeno. La siguiente figura (Fig.21) muestra las curvas de calibraciones construidas para los compuestos nitrendipino (A) y nitrobenzeno (B), ambas curvas corresponden a las mediciones realizadas para el pico I.

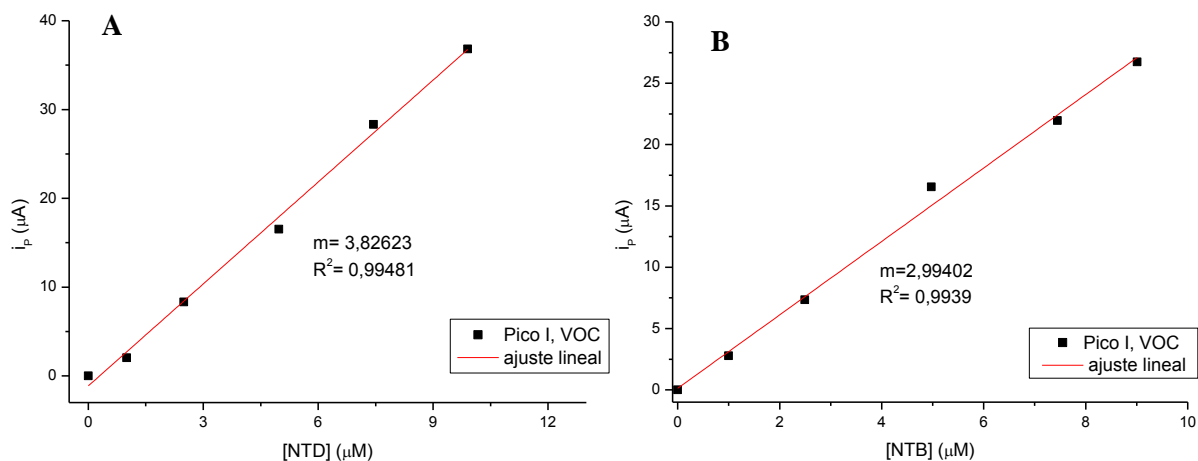


Fig. 21 Curvas de calibración para el Pico I en medio acuoso 100% Britton Robinson, sobre CGE+MWCNT-NH₂, dispersante 1,3 dioxolano. A: Nitrendipino. B: Nitrobenzeno.

En la siguiente tabla (Tabla 9), se resumen los valores de límites de detección obtenidos por la técnica de voltametría de onda cuadrada, sólo se informan los obtenidos

para el Pico I, ya que todos los valores de límite de detección obtenidos están en el orden de 10^{-6} M. Es posible distinguir que entre ambas técnicas no sólo se presentan diferencias con respecto al LD calculado, sino también al rango de concentraciones en el que se determinó, siendo sólo para NTB posible determinarlo en un único rango lineal.

Tabla 9. Valores de límite de detección, VOC

Compuesto	LD (M)
	Pico I
NTD	$9,9578 \times 10^{-7}$
NTB	$7,7968 \times 10^{-7}$

4.1.6. Modificación del electrodo de carbón vítreo modificado con MWCNTs mediante reducción in-situ de compuestos nitro

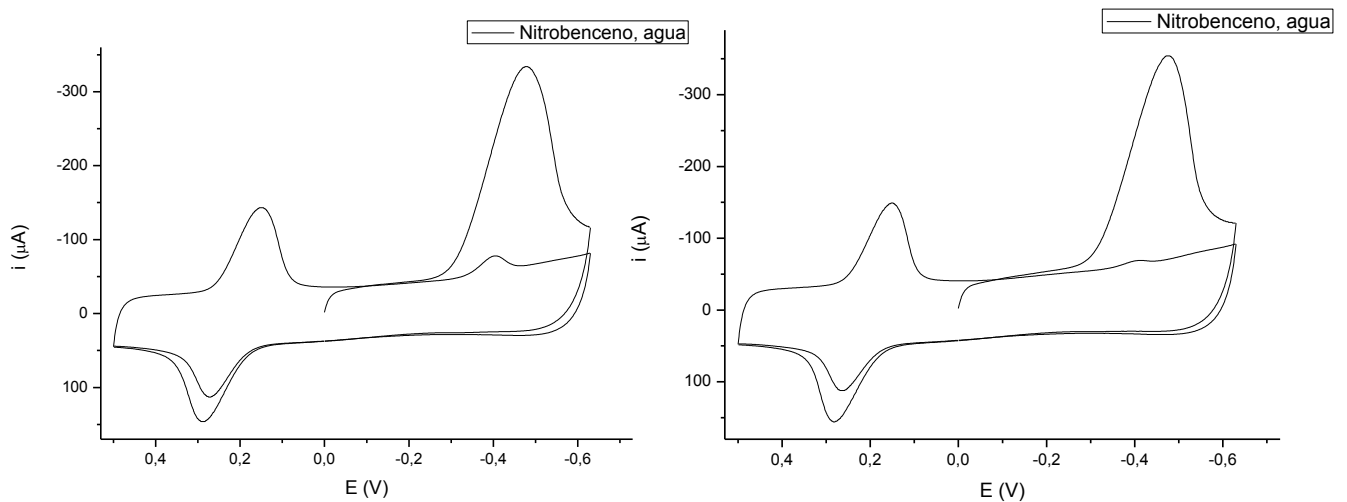


Fig. 22 Voltamperogramas cíclicos de una solución de buffer 0,1 M Britton- Robinson, 0,1mM de nitrobenceno (NTB), a pH 2, realizado sobre GCE modificado con MWCNTs en agua, obtenidos de acuerdo a procedimientos: A y B.

La derivatización de superficies ha sido ampliamente estudiada sobre todo con la utilización de sales de arildiazonio [17]. Recientemente el grupo de trabajo de Bioelectroquímica ha desarrollado una simple derivatización de la superficie del electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de multipared [5]. La modificación se lleva a cabo con los derivados hidroxilamina/nitroso del nitro inicial. Los resultados en el trabajo mencionado fueron obtenidos para la especie nitrendipino en medio acuoso.

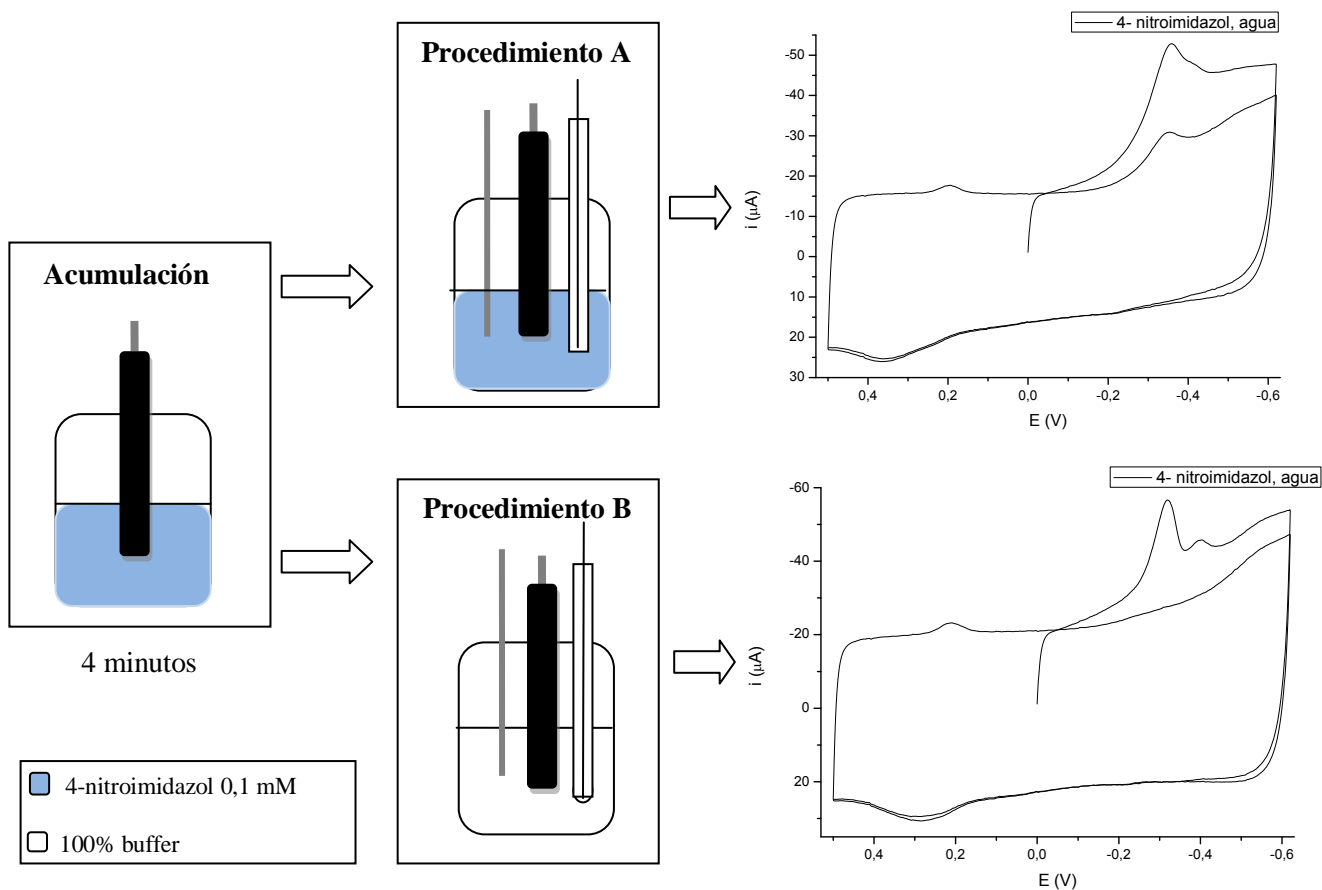


Fig. 23 Esquema de procedimientos A y B para la modificación del electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbón vía reducción in-situ de compuestos nitro, en este caso 4- nitroimidazol.

De los procedimientos mencionados en el trabajo, dos han sido seleccionados con el fin de verificar que el comportamiento observado para la especie nitrendipino pueda ser extendido a otros nitrocompuestos aromáticos, como nitrobenzeno y 4-nitroimidazol, los cuáles son objeto de la presente investigación, y se resumen en la Fig. 23.

El procedimiento A, corresponde a un experimento convencional de voltametría cíclica, donde se realiza un barrido con los parámetros $E_i = 0$ V, $(E_l) = -0,6$ V y $(E_h) = 0,5$ V en una solución de nitrendipino 0,1 mM en buffer Britton-Robinson 0,1 M pH 2. El Procedimiento B, corresponde al mismo experimento anterior, con los mismos parámetros de medición, sólo que esta vez se lleva a cabo en una solución de buffer Britton-Robinson 0,1 M pH 2. Anterior a ambos procedimientos se lleva a cabo una etapa de acumulación de especie electroactiva, por 4 minutos en una solución de especie electroactiva de concentración 0,1 mM en buffer Britton-Robinson 0,1 M, a pH 2.

El comportamiento descrito para nitrendipino por R. Moscoso [5] ha podido ser observado para los compuestos nitrobenzeno y 4-nitroimidazol y se observa en las figuras 22 y 23. En el primer barrido es posible observar un pico agudo correspondiente a la reducción irreversible de 4 electrones 4 protones (Ec. 4) del grupo nitro presente en ambas moléculas al correspondiente derivado hidroxilamínico. La cupla redox correspondiente a la cuasi reversible oxidación/ reducción de 2 electrones 2 protones (Ec. 5) de los derivados hidroxilamina/nitroso pueden observarse en el primer barrido en el sentido de la oxidación.

Cuando el segundo barrido tiene lugar el pico agudo debido a la reducción del grupo nitro desaparece completamente aún cuando las mediciones se lleven a cabo en un medio homogéneo de la especie electroactiva.

Los resultados obtenidos confirman que toda la especie electroactiva adsorbida fue reducida en el primer barrido y que los sitios activos en la superficie modificada del electrodo han sido ocupados por otras especies adsorbidas, como derivados hidroxilamínicos, impidiendo la reducción de las especies en solución.

Los resultados obtenidos para la especie electroactiva nitrobenzeno se muestran en la fig. 22, donde se verifica el resultado descrito en la bibliografía para el compuesto nitrendipino. Las experiencias fueron realizadas también para el nitrocompuesto 4-nitroimidazol, obteniéndose los mismos resultados en forma cualitativa pero con picos sustancialmente más disminuidos.

4.2 Medio mixto (Buffer Citrato/DMF 40/60)

Ha sido ampliamente demostrado el comportamiento de nitro compuestos como nitrendipino en medio básico, donde es posible observar en el tiempo de la voltamperometría cíclica la reducción del grupo nitro hacia la obtención del anión radical nitro correspondiente.

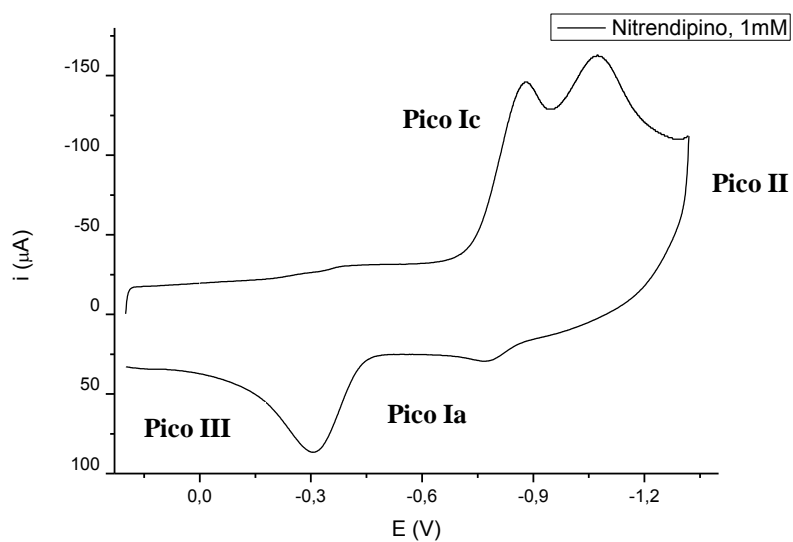
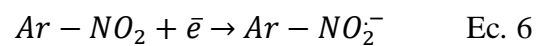


Fig. 24 Voltamperograma cíclico de nitrendipino 1mM en medio mixto buffer citrato/DMF (40/60), pH 9 sobre GCE+MWCNTs, dispersante: 1,3 dioxolano.

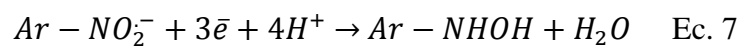
Podemos observar en la fig. 24 los cuatro procesos de transferencia electrónica de nitrendipino en medio mixto.

Las reacciones que describen cada proceso se presentan a continuación:

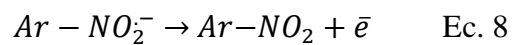
Pico I_c



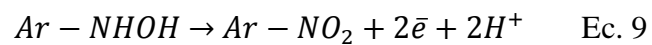
Pico II



Pico I_a



Pico III



Se llevó a cabo para los tres compuestos en estudio, modificando el electrodo de carbón vítreo con los tres tipos de nanotubos de carbono disponibles, MWCNTs, MWCNT-NH₂ y MWCNT-COOH. Todas las experiencias se realizaron en un medio mixto buffer citrato/DMF (40/60), pH 9, sobre electrodos de carbón vítreo modificados con nanotubos de carbono dispersos en 1,3 dioxolano.

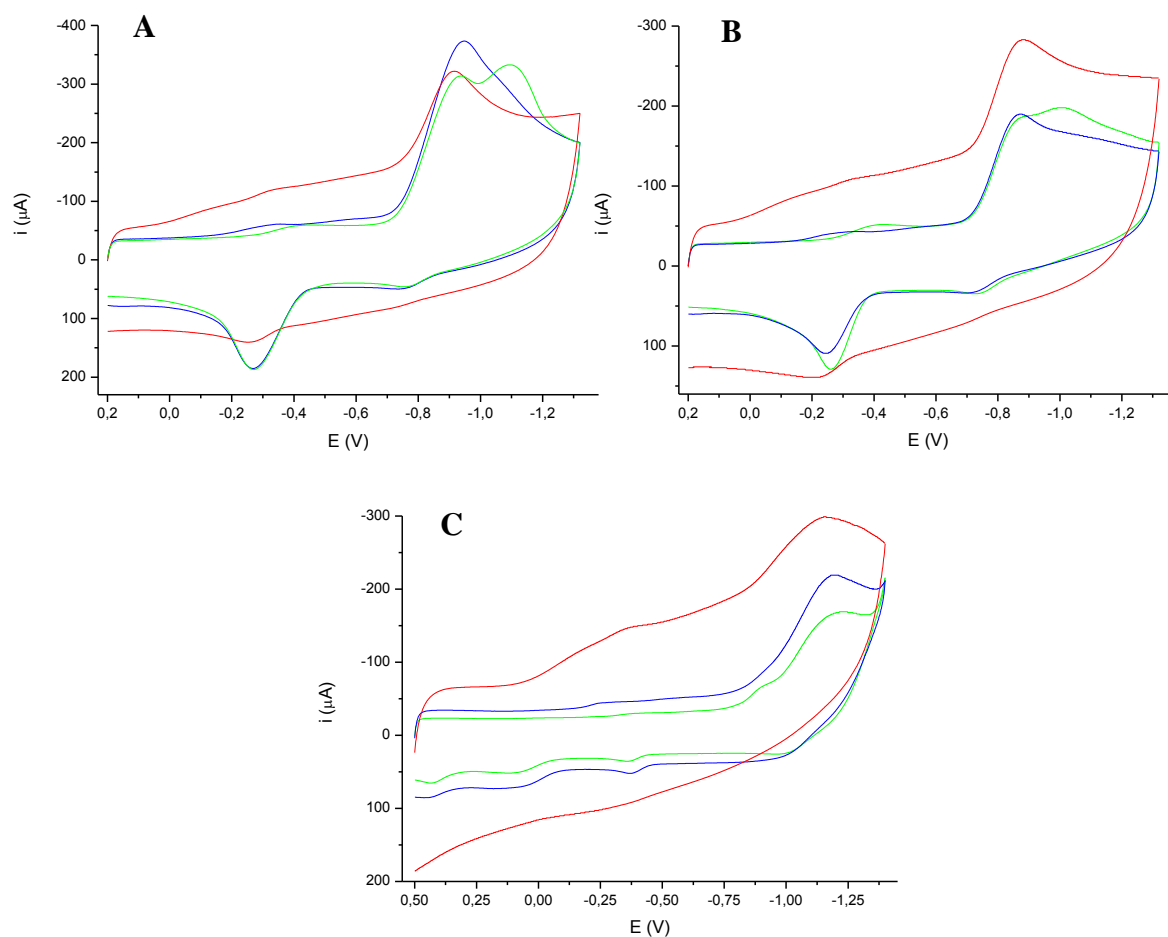


Fig. 25 Voltamperogramas cíclicos para las especies A: Nitrendipino, B: Nitrobenzeno y C: 4-nitroimidazol. — MWCNTs, — MWCNT-NH₂, — MWCNT-COOH.

De acuerdo a los resultados obtenidos (fig. 25), sólo fue posible detectar al anión radical nitro para las especies nitrendipino y nitrobenzeno. A su vez, la señal voltamperométrica correspondiente a la reducción del grupo nitro a su correspondiente derivado anión radical nitro sólo fue observada cuando se utilizó MWCNTs para la modificación del electrodo de carbón vítreo.

Por otra parte se verificó para los tres compuestos en estudio que existe un evidente aumento de la corriente capacitiva al realizar los barridos de voltamperometría cíclica sobre electrodos modificados con MWCNT-COOH, con respecto a las experiencias realizadas sobre electrodos modificados con los otros dos tipos de nanotubos, cuyas corrientes capacitivas son similares.

4.3 Medio no acuoso (100% DMF + 0,1 M TBAP)

Los resultados obtenidos para las experiencias realizadas en medio no acuoso (fig. 26 y 27), presentan múltiples señales voltamétricas, las cuales no es posible identificar. Esto puede atribuirse a la naturaleza de la modificación del electrodo con MWCNTs, ya que anteriormente en el grupo de trabajo de Bioelectroquímica, si fue posible detectar al par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}^-$, aislarlo y estudiarlo.

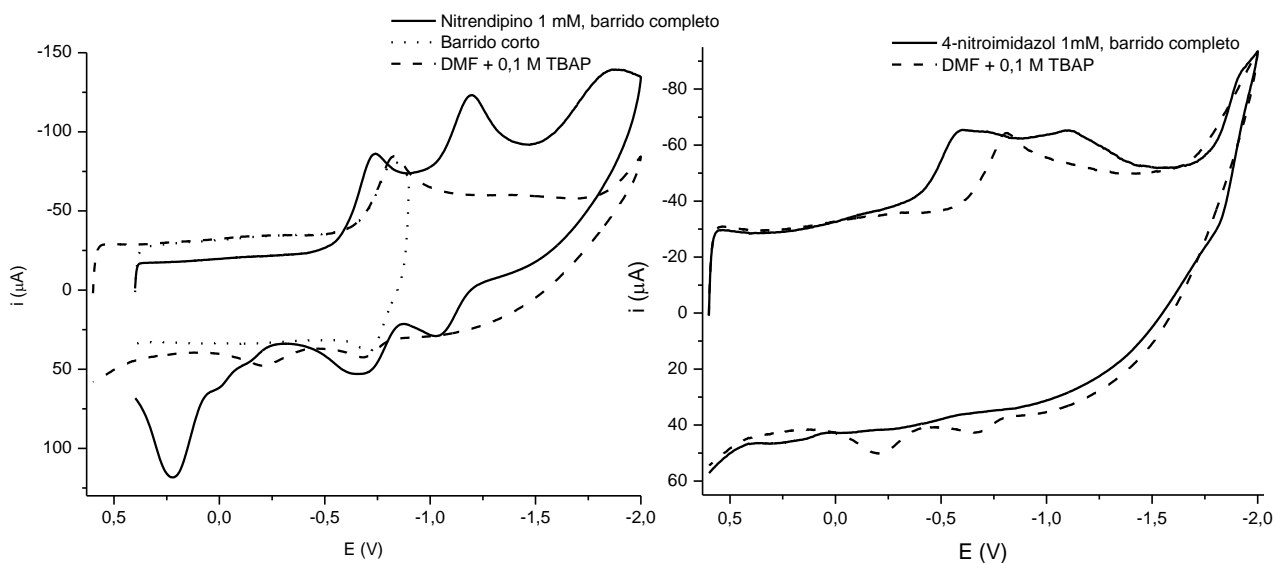


Fig. 26 Voltamperogramas cíclicos obtenidos sobre GCE+MWCNTs en medio 100% DMF+ 0,1 M TBAP.

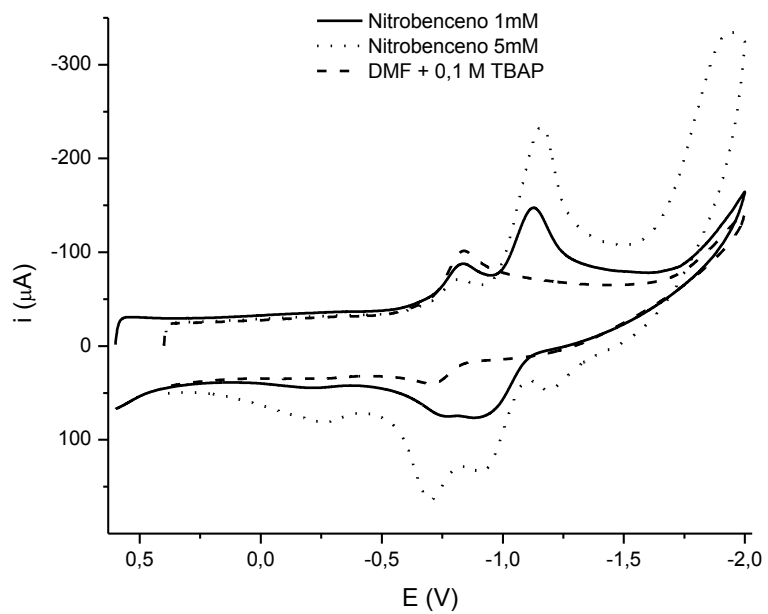


Fig. 27 Voltamperogramas cíclicos para nitrobenzeno en medio 100% DMF+ 0,1 M TBAP, sobre GCE+MWCNTs, dispersante 1,3 dioxolano.

5. CONCLUSIONES

- La modificación al electrodo de carbón vítreo con nanotubos de carbono se traduce en un importante aumento de la intensidad de corriente de pico en comparación con las mediciones obtenidas sobre el electrodo de carbón vítreo sin modificar.
- La concentración de protones presentes en solución afecta el valor de potencial de pico (E_p) al cual ocurren las reacciones en medio acuoso. Mientras que para el caso de i_p esta dependencia no fue observada.
- Al comparar diferentes tipos de agentes dispersantes se concluyó que es más difícil el reproducir una alícuota de MWCNT-NH₂ dispersos en la mezcla diclorobenceno:EtOH (1:1) que una de alícuota de MWCNT-NH₂ dispersos en 1,3 dioxolano al modificar el GCE. Además de que el dispersante 1,3 dioxolano se considera como un disolvente de la llamada “química verde”.
- Se logró optimizar las condiciones de modificación del electrodo de carbón vítreo con respecto a la etapa de inmovilización de la película de nanotubos de carbono sobre su superficie. Las ventajas de las dispersiones preparadas con 1,3 dioxolano son que presentan bajos % CV para los tres tipos de nanotubos y las condiciones de secado permiten disminuir el tiempo de modificación del electrodo de carbón vítreo.

- Se logró derivatizar la superficie del electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono con los derivados hidroxilamínico/nitroso de los tres compuestos en estudio.

6. REFERENCIAS

1. K. L. Goa, E. M. Sorkin, *Drugs* 33 (1987) 123.
2. J.A. Squella, I. Lemus, S. Perna, L.J. Núñez-Vergara, *Anal. Lett.* 21 (1988) 2293.
3. A. El Jammal, J.C. Vire, G.J. Patriarcho, O. Nieto, *Electroanalysis* 4 (1992) 57.
4. C. Yáñez, L.J. Núñez-Vergara, J.A. Squella, *Electroanalysis* 14 (2002) 559.
5. R. Moscoso, J. Carbajo, M. Lopez , L.J. Núñez-Vergara, J.A. Squella, *Electrochem. Comm.* 13 (2011) 217.
6. M. Latifoglu, M.D. Gurol, *Water Res.* 37 (2003) 1879.
7. C.V. Rode, M.J. Vaidya, R. Jaganathan, R.V. Chaudhari, *Chem. Eng. Sci.* 56 (2001) 1299.
8. Y-P. Li, H-B. Cao, C-M. Liu, Y. Zhang, *J. Hazard. Mater.* 148 (2007) 158.
9. Hanna-Kirsti S. Leiros, S. Kozielski-Stuhrmann, U. Kapp, L. Terradot, G. A. Leonard, and S. M. McSweeney, *J. Biol. Chem.*, 279 (2004) 55840.
10. S. Roffia, C. Gottardi, E. Vianello, *J. Electroanal. Chem.* 142 (1982) 263.
11. J. Carbajo, S. Bollo, L. J. Nuñez-Vergara, A. Campero, J. A. Squella, *J. Electroanal. Chem.* 531 (2002) 187.
12. P. Jara-Ulloa, S. Bollo, L.J. Niñez-Vergara, J.A. Squella, *Electroanalysis* 20 (2008) 1470.

13. S. Iijima, *Nature* 354 (1991) 56.
14. H. Xiong, Y. Zhao, P. Liu, X. Zhang, S. Wang, *Microchim. Acta* 168 (2010) 31.
15. J. Li, D. Kuang, Y. Feng, F. Zhang, M. Liu, *Microchim. Acta* 172 (2011) 379.
16. S. Murugesan, K. Myers, V. Subramanian, *Appl. Catal. B: Environ.* 103 (2011) 266.
17. P. J. Britto, K. S. Santhanam, P. M. Ajayan, *Bioelectrochem. Bioenerg.* 41 (1996) 121.
18. J. Wang, M. Li, Z. Shi, N. Li, Z. Gu, *Anal. Chem.* 74 (2002) 1993.
19. R. P. Deo, J. Wang, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 284.
20. J. Wang, M. Musameh, Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 2408.
21. Y. Zhao, W. D. Zheng, H. Chen, Q. M. Luo, *Talanta* 58 (2002) 529.
22. J. Wang, S. B. Hocevar, B. Ogorevc, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 176.
23. C.G.R. Heald, G.G. Wildgoose, L. Jiang, T. Jones, R. Compton, *J. Chem. Phys. & Phys. Chem.* 5 (2004) 1794.
24. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd edition, John Wiley & Sons, 2000.
25. B. Huang, W. Zhang, C. Chen, Y. Yu, *Microchim. Acta* 171 (2010) 57.

26. A. A. Ensafi, E. Khoddami, H. Karimi-Maleh, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6 (2011) 2596.
27. J.C. Helfrick, L. A. Bottomley, *Anal. Chem.* 81 (2009) 9041.
28. B. Rezaei, S. Z. Mirahmadi Zare, A. A. Ensafi, *J. Braz. Chem. Soc* 22 (2011) 897.
29. R. S. Nicholson, I. Shain, *Anal. Chem* 36 (1964) 706.