

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
MADRID**

FACULTAD DE CIENCIAS

DPTO. QUÍMICA ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL



**Generación y caracterización de
nanoestructuras electroactivas.
Aplicación al diseño de sensores.**

Emiliano Martínez Periñán

Tesis Doctoral

Madrid, Enero de 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

DPTO. QUÍMICA ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL



Generación y caracterización de nanoestructuras electroactivas. Aplicación al diseño de sensores.

Memoria que presenta el licenciado

Emiliano Martínez Periñán

Para optar al grado de Doctor.

Dña. María Encarnación Lorenzo Abad, Doctora en Ciencias Químicas y Catedrática del Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid, y D. Félix Pariente Alonso, Doctor en Ciencias Químicas y Profesor Titular del mismo departamento.

Informan que la presente memoria, titulada: “Generación y caracterización de nanoestructuras electroactivas. Aplicación al diseño de sensores.” ha sido desarrollada por D. Emiliano Martínez Perriñán en el Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid, bajo nuestra dirección.

Asimismo, hacemos constar que el trabajo descrito en dicha memoria reúne, en su opinión, todos los requisitos para su defensa y aprobación, por lo que, como directores del trabajo de investigación, autorizamos su presentación para que pueda ser defendida por el doctorando como Tesis Doctoral en acto público en el Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad

Autónoma de Madrid.

Y para que conste firmamos el presente documento en Madrid, a 30 de Noviembre de 2015.

Fdo. M^a Encarnación Lorenzo Abad

Fdo. Félix Pariente Alonso

Índice

Introducción.....	1
1. La electroquímica como herramienta de la nanociencia.....	3
2. Importancia de los electrodos modificados con nanoestructuras.	9
3. Electrodos modificados con nanoestructuras en el desarrollo de sensores y biosensores electroquímicos.	14
3.1. Modificación mediante distribución de nanoestructuras sobre la superficie.....	17
3.2. Modificación mediante electrodeposición de nanoestructuras.....	19
3.3. Modificación por generación de nanoestructuras mediante moldes.	21
3.4. Modificación mediante la formación de monocapas.	25
4. Electrodos modificados con nanoestructuras aplicados a dispositivos de obtención y almacenamiento de energías. El problema energético mundial.	28
 Objetivos	 39
 Materiales y Métodos.....	 43
1. Reactivos, disoluciones y dispersiones.	45
1.1. Reactivos Comerciales.	45
1.2. Reactivos de síntesis.	46
1.2.1. Síntesis de diplatino tetrakis (ditioacetato) [Pt(II)Pt(II)(MeCS ₂) ₄] y diyodo diplatino tetrakis (ditioacetato) [Pt(III)Pt(III)(MeCS ₂) ₄ I ₂].	46
1.2.2. Síntesis de diníquel tetrakis (monotioacetato) [Ni ₂ (MeCOS) ₄].	46
1.2.3. Síntesis de tetratiofulvaleno π extendido (exTTF) modificado con 1 (exTTF-1-Pi) y 3 (exTTF-3-Pi) fracciones de pireno	49
1.2.4. Síntesis del macrociclo (derivado exTTF) y de los nanotubos de carbono entrecruzados mecánicamente con el macrociclo (MINTs).....	49
1.3. Disoluciones.	50
1.4. Dispersiones.....	52

1.4.1. Dispersión de nanotubos de carbono carboxilados de pared múltiple (MWCNT-COOH).	52
1.4.2. Dispersión de grafeno oxidado (GO).....	52
1.4.3. Dispersión de grafeno pristino.....	53
1.4.4. Dispersión de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) modificados con macrociclo.....	53
2. Instrumentación.....	54
2.1.Equipos.....	54
2.2.Celdas electroquímicas y electrodos.	56
3. Procedimientos experimentales.	59
3.1.Pretratamiento de los electrodos.	59
3.2.Modificación de electrodos.	60
3.2.1. Generación electroquímica de nanopartículas yodo diplatino tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4]_n$	60
3.2.2. Generación electroquímica de microestructuras de diníquel tetrakis (diacetato) $[Ni_2(MeCO_2)_4]$	60
3.2.3. Generación electroquímica de diníquel tetrakis (diacetato) $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ sobre superficies electródicas.	61
3.2.4. Generación electroquímica de nanopartículas de hidróxido de níquel a partir de superficies electródicas modificadas con $[Ni_2(MeCO_2)_4]$	61
3.2.5. Modificación de electrodos de carbón vítreo con nanotubos de carbono, Nafion y nanopartículas de hidróxido de níquel.....	62
3.2.6. Modificación de electrodos de nanotubos de carbono con nanopartículas de $Ni(OH)_2$	63
3.2.7. Modificación de electrodos con nanopartículas de níquel hexacianoferrato (NiHCF).....	63
3.2.8. Modificación de electrodos con grafeno.	64
3.2.9. Modificación de electrodos de grafeno con tetratiofulvaleno π -extendido.....	64
3.2.10.Preparación de un biosensor de peróxido de hidrógeno.	64

3.2.11. Modificación de electrodos con nanotubos de carbono y rotaxanos.	65
3.3. Pretratamiento de muestras.	65
3.3.1. Muestras de plasma sanguíneo humano y de preparados farmacéuticos comerciales para el análisis de insulina.	65
3.3.2. Muestras de suero sanguíneo humano y orina para la determinación de aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea por HPLC.	66
4. Cálculo de parámetros y constantes de interés.	67
4.1. Coeficiente de transferencia de carga. Especies en disolución.	67
4.2. Coeficiente de difusión mediante electrodo rotatorio de disco-anilla (RRDE).	67
4.3. Número de electrones implicados en los procesos electroquímicos.	69
4.4. Recubrimiento superficial del material depositado sobre la superficie electródica.	69
4.5. Constante heterogénea de transferencia de carga. Especies inmovilizadas sobre la superficie del electrodo.	69
4.6. Constante catalítica mediante el método de Galus.	70
4.7. Constante catalítica mediante el método de Koutecky-Levich.	71
4.8. Masa depositada sobre la superficie electródica mediante la microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo.	71
4.9. Capacitancia específica de un supercapacitador a partir de voltamperometría cíclica.	72
4.10. Ajustes de las isothermas a los modelos de Langmuir, Freundlich y Sips.	72
Resultados y discusión.	77
Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.	79
1. Caracterización electroquímica del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$	85
1.1. Estudios de voltamperometría cíclica.	85

1.2. Estudio del proceso de reducción del monómero [Pt(III)Pt(III)(MeCS ₂) ₄ I ₂]. Determinación del coeficiente de transferencia de carga, coeficiente de difusión y número de electrones involucrados en el proceso.....	91
2. Electrosíntesis del polímero de coordinación [Pt(II)Pt(III)(MeCS ₂) ₄ I] _n	97
2.1. Estudio del proceso mediante la microbalanza de cristal de cuarzo.....	98
2.2. Caracterización del nanomaterial electrodepositado sobre la superficie del electrodo.....	101
2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM). Análisis de nanoestructuras por energía dispersiva de rayos X (EDX).....	101
2.2.2. Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS).....	106
3. Mecanismo electroquímico propuesto.....	111
Capítulo II- Electrodo modificado con compuestos de níquel.....	129
1. Generación electroquímica de diníquel tetrakis (diacetato) [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄].....	134
1.1. Caracterización electroquímica del [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄].....	134
1.1.1. Estudios por voltamperometría cíclica.....	134
1.1.2. Estudio del proceso de oxidación del [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄]. Determinación del coeficiente de transferencia de carga y número de electrones involucrados en el proceso.....	138
1.2. Electrosíntesis del diníquel tetrakis (diacetato) [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄].....	141
1.2.1. Estudio mediante la microbalanza de cristal de cuarzo.....	141
1.2.2. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados obtenidos en el proceso de electrosíntesis.....	143
1.2.2.1. Microscopía electrónica de Barrido (SEM). Análisis de microestructuras por EDX.....	144
1.2.2.2. Espectroscopía de fotoelectrones inducidos por Rayos X (XPS).....	147
1.2.3. Estudios mediante espectroscopía de absorción UV-Vis.....	148
1.2.4. Análisis por espectrometría de masas-electrospray.....	150
1.3. Mecanismo electroquímico del proceso de electrosíntesis del [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄].....	152

1.3.1. Influencia de la presencia de H ₂ O en el medio.	154
1.3.2. Estudios por microscopía RAMAN acoplada a medidas electroquímicas.	156
2. Generación de Nanopartículas de Ni(OH) ₂	162
2.1. Transformación electroquímica de las microestructuras de [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄] en nanopartículas Ni(OH) ₂	162
2.2. Caracterización electroquímica de electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH) ₂	165
2.3. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados con Ni(OH) ₂	169
2.3.1. Microscopía electrónica de Barrido (SEM). Análisis de nanoestructuras por EDX.	170
2.3.2. Espectroscopía de fotoelectrones generados por rayos X. (XPS).	171
2.3.3. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).	173
3. Electrooxidación catalítica de azúcares y alcoholes.	176
3.1. Electrooxidación catalítica de azúcares.	176
3.2. Electrooxidación catalítica de alcoholes.	187
Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.	197
1. Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH) ₂ sobre nanotubos de carbono.	201
1.1. Análisis de superficies modificadas con Ni(OH) ₂ /Nafion-MWCNTs/GC mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM).	201
2. Comportamiento electroquímico de los electrodos Ni(OH) ₂ /Nafion-MWCNTs/GC en NaOH 0.1M.	203
3. Electrooxidación catalítica de insulina en electrodos Ni(OH) ₂ /Nafion-MWCNTs/GC.	207
4. Sensor electroquímico de insulina.	216
4.1. Estudio de interferentes.	219

4.2. Aplicación a muestras reales. Determinación de insulina en preparados farmacéuticos y en plasma humano.....	221
--	-----

Capítulo IV: Electrodo modificado con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC. 227

1. Modificación de electrodos serigrafiados con nanopartículas de Ni(OH) ₂	236
1.1. Electrosíntesis de [Ni ₂ (MeCO ₂) ₄] y modificación de los electrodos.....	236
1.2. Activación de los electrodos en NaOH 0.1 M.	236
2. Caracterización de los electrodos Ni(OH) ₂ /SP SWCNT.	238
2.1. Caracterización morfológica.....	238
2.2. Caracterización electroquímica.	239
3. Electrooxidación catalítica de urea, arginina, ornitina y citrulina.	242
4. Análisis mediante un sistema de inyección en flujo (FIA).....	247
5. Análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	251
5.1. Análisis de los aminoácidos en muestras reales.....	256
5.1.1. Muestras de suero sanguíneo humano.	257
5.1.2. Muestras de orina humana.....	259

Capítulo V: Formación de hexacianoferrato de níquel (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores. 263

1. Formación de NiHCF sobre superficies electródicas.....	268
1.1. Formación de nanoestructuras de Ni(0) sobre electrodos a partir de nanopartículas de Ni(OH) ₂	270
1.2. Formación de NiHCF sobre electrodos modificados con nanopartículas de Ni(0).	271
2. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados con Ni metálico y NiHCF.....	273
2.1. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM).....	273
2.2. Microscopía de fuerza atómica (AFM).....	276

3. Comportamiento electroquímico de los electrodos modificados con NiHCF.....	280
3.1. Medio acuoso.	280
3.1.1. Caracterización del proceso mediante espectroscopía RAMAN acoplada a medidas electroquímicas.	288
3.2. Medio orgánico CH ₃ CN/LiClO ₄	292
3.3. Medio orgánico THF/LiClO ₄	296
Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF-π-extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.	303
1. Nanoestructuración de electrodos con grafeno.....	309
2. Comportamiento electroquímico del exTTF-1-Pi y del exTTF-3-Pi en electrodos nanoestructurados con grafeno.	311
3. Comportamiento electroquímico de exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi adsorbido sobre electrodos nanoestructurados con grafeno.	314
4. Procesos de adsorción-desorción del exTTF-1-Pi y el exTTF-3-Pi en electrodos nanoestructurados con grafeno.	318
4.1. Efecto del tiempo de adsorción.....	318
4.2. Isotermas de adsorción.....	320
4.3. Estudio del proceso de desorción.....	324
5. Desarrollo de un biosensor de peróxido de hidrógeno.	326
Capítulo VII: Nanotubos de carbono modificados con rotaxanos (MINTs).	335
1. Caracterización electroquímica de los MINTs en suspensión.....	341
2. Electrodos modificados con MINTs.	345
3. Determinación de los coeficientes de difusión.....	350

Resumen/Abstract.....	355
1. Resumen.	357
2. Abstract.....	361
Conclusiones/Conclusions.....	367
1. Conclusiones.	369
2. Conclusions.	372
Bibliografía.	375
Publicaciones y comunicaciones a congresos.	409
1. Publicaciones.	411
2. Comunicaciones a congresos.	412

Introducción

1. La electroquímica como herramienta de la nanociencia.

La electroquímica moderna representa una herramienta fundamental en el campo de la nanociencia. Desde los años 80 han acaecido una serie de avances que han permitido el desarrollo de la electroquímica de superficie como ciencia, entre los cuales podemos mencionar^[1]:

- Desarrollo y uso de electrodos con superficies perfectamente definidas: se han desarrollado de una manera muy avanzada el control sobre la superficie de los electrodos a escala atómica, desarrollándose electrodos constituidos por monocristales, que están definidos por determinadas caras cristalográficas de un material, etc. Este hecho ha permitido obtener gran cantidad de información de los procesos electroquímicos que ocurren sobre las distintas superficies.
- Acoplamiento de metodologías *in situ*: se han desarrollado multitud de técnicas de caracterización de superficies que pueden llevarse a cabo de forma simultánea a los procesos electroquímicos. Es el caso, por ejemplo, de la microscopía de efecto túnel (STM)^[2, 3], microscopía de fuerzas atómicas (AFM)^[2], microscopía de barrido electroquímico (SECM)^[4]. Estas técnicas ofrecen detalles muy importantes de la morfología de las superficies electródicas a escala atómica y también muestran la reactividad electroquímica en una zona determinada de la superficie electródica. Además se han desarrollado técnicas complementarias que están aportando gran cantidad de información de las superficies electródicas, como la difracción de rayos X superficial (SXS)^[5], espectroscopía de absorción de rayos X (EXAFS)^[5], espectroscopías Raman e infrarroja (FTIR)^[6, 7], etc.
- Teorías modernas y aproximaciones mecano-cuánticas: el desarrollo de los cálculos mecano-cuánticos con las aproximaciones de la teoría del funcional de la densidad (en inglés *Density Functional Theory* o *DFT*) ha permitido el cálculo de geometrías de adsorción así como de energías moleculares dinámicas en la doble capa, simulaciones de movimientos de iones y transferencia de carga, simulaciones de cinéticas de reacción con métodos Monte Carlo, etc. En definitiva una serie de cálculos teóricos sobre procesos o pasos que tienen lugar

en los mecanismos electroquímicos, lo que ha dado lugar al avance en las teorías de este campo^[8-10].

Hoy en día la nanociencia se caracteriza por ser un campo esencialmente multidisciplinar, en el que colaboran físicos, químicos, biólogos, ingenieros, etc., que tiene como propósito el estudio de estructuras, dispositivos y sistemas en los que al menos una de sus dimensiones presenta un tamaño que oscila entre los 0.1 y los 100 nm (rango dentro del cual se incluyen las escalas atómica, molecular y macromolecular). Durante las últimas décadas se han producido una serie de avances en electroquímica que han contribuido significativamente a la nanociencia y la nanotecnología. Entre los más importantes se puede considerar los avances en la caracterización de las interfases electroquímicas a nivel de la nanoescala, también avances en la generación de micro- y nano- estructuras usando como motor de síntesis la electroquímica, así como el redescubrimiento, por parte de la comunidad científica dedicada a la nanociencia y la nanotecnología, de determinadas técnicas y conceptos básicos de la electroquímica, desarrollados con anterioridad pero quizás algo olvidados y con poca aplicabilidad hasta los nuevos desarrollos actuales. En particular las técnicas empleadas para la caracterización de nanoestructuras funcionales^[1]. Se puede considerar que en el ámbito de la nanociencia, la electroquímica se ha empleado fundamentalmente con dos propósitos:

- Generación de nanoestructuras mediante reacciones electroquímicas.
- Caracterización de nanomateriales.

Entre las principales ventajas que ofrecen las técnicas electroquímicas, con respecto a otras usadas en la nanociencia, cabe mencionar el bajo coste de los equipos que se emplean, así como la precisión de las medidas. Esta alta precisión viene dada por el exhaustivo control del potencial o la densidad de corriente en la interfase electrodo/disolución, considerándose ésta como una región que se extiende solo unos pocos nanómetros. Además suelen emplearse condiciones de presión y temperaturas cercanas a las ambientales, lo que supone que los equipamientos requeridos son menos costosos y más sencillos en su uso.

La generación de nanoestructuras mediante el empleo de la electroquímica ha sido un área de gran expansión en los últimos 25 años. El principal problema que se puede atribuir a estas metodologías ha sido la naturaleza química de las especies generadas durante el proceso electroquímico que pueden incorporarse durante el crecimiento del material sobre la superficie del electrodo. Sin embargo en la actualidad se puede controlar de forma eficaz el tamaño de grano y su morfología, la estructura cristalina e incluso el estado de oxidación de los iones que constituyen muchos de estos compuestos. Son muchos los grupos de investigación en el ámbito de la electroquímica que se han encargado del desarrollo de esta disciplina como herramienta de la ciencia de los materiales, desarrollando metodologías para la síntesis de materiales semiconductores, óxidos metálicos, nitruros metálicos, silicio poroso, metales y una gran variedad de compuestos que se intercalan entre sí. Por tanto, hoy en día constituye una nueva herramienta para el desarrollo de nuevos materiales, concretamente para el desarrollo de nanomateriales, dado el control sobre la nanoescala que nos ofrecen las distintas técnicas electroquímicas.

Las técnicas electroquímicas también son una herramienta importante para la caracterización de electrodos modificados. Ofrecen una gran cantidad de información tanto de los procesos ocurridos sobre la superficie de estos electrodos como de las propiedades que los agentes modificantes confieren a las superficies electródicas. Del mismo modo, las técnicas electroquímicas pueden utilizarse para caracterizar determinadas nanoestructuras, las cuales pueden formar parte de los electrodos como agentes modificantes o bien se pueden encontrar formando parte del medio líquido (en modo de dispersión) que rodea a los electrodos.

No es el objetivo de esta introducción describir el conjunto de técnicas electroquímicas que se emplean en la actualidad, pero sí mostrar como alguna de ellas ofrecen una gran cantidad de información acerca de las características de las nanoestructuras que actúan como agentes modificantes de los electrodos, así como de aquellas nanoestructuras que se encuentran en el medio que los rodea.

En primer lugar cabría destacar la técnica más versátil, dado la gran cantidad de información que aporta, la voltamperometría cíclica. Esta nos permite determinar el área de la superficie electroactiva, incluso si las nanoestructuras no son electroactivas,

mediante la utilización de una sonda redox como puede ser Ferro/Ferricianuro. También se puede prescindir de las sondas electroactivas, si se mide la corriente capacitiva del electrodo, que cuando el electrodo está modificados con el nanomaterial aumentará al aumentar la superficie electroquímica activa. Por otro lado, cuando las nanoestructuras son electroactivas, esta técnica permite registrar todos los procesos redox que ocurren sobre la superficie del electrodo en función del potencial aplicado, y por consiguiente sobre la nanoestructura que allí se encuentra, bien depositada o bien formando parte de la “dispersión líquida” que rodea al electrodo. Además un estudio en profundidad de los voltamperogramas, tanto a nivel de su morfología como a partir de la obtención de los valores de potenciales de pico de los procesos y las intensidades de corriente, permite la obtención de mucha información acerca de los mecanismos de las reacciones redox que están teniendo lugar, así como de la existencia de posibles reacciones acopladas a dichos procesos o la reversibilidad electroquímica de los mismos. Los trabajos de Nicholson and Shain^[11-14], recogen la teoría matemática que explica las funciones de la intensidad de corriente para la voltamperometría en función del tipo de proceso electroquímico, o el acoplamiento de otras subreacciones al proceso electroquímico que pueden tener lugar en la superficie electródica. Mediante el empleo de la voltamperometría cíclica se puede determinar si los procesos redox estudiados están controlados por difusión o están confinados sobre la superficie, de manera que se puede comprobar si los procesos redox propios de las nanoestructuras estudiadas son dependientes de la difusión de otras especies presentes en el medio. Es también muy útil para el estudio de procesos de adsorción de moléculas electroactivas sobre la superficie del electrodo, o bien sobre nanomateriales depositados en esta superficie. En este sentido y como se mostrará en uno de los capítulos de esta memoria de tesis, el estudio detallado de la voltamperometría cíclica de electrodos modificados con nanomateriales de grafeno, nos ha permitido elucidar la interacción de dichos nanomateriales con moléculas electroactivas capaces de ser adsorbidas sobre su superficie, demostrando diferencias importantes en los voltamperogramas en función del grado de funcionalización de la estructura molecular del modificante así como en función de las características del nanomaterial empleado.

Además de la voltamperometría, las técnicas de aplicación de un potencial constante y el registro tanto de la intensidad de corriente eléctrica como de la carga (cronoamperometría y cronoculombimetría respectivamente) pueden aportar información acerca del número de electrones involucrados en los procesos redox, el área electroquímicamente activa, los coeficientes de difusión de especies electroactivas o elementos que intervienen en la reacción redox, como por ejemplo iones, etc. Como se mostrará en uno de los capítulos de esta tesis, la determinación del coeficiente de difusión de nanotubos de carbono, modificados en distintas configuraciones con moléculas electroactivas, ha permitido establecer los distintos tipos de interacción que se producen en función de las distintas formas de modificación de la nanoestructura.

En general son muchos los ejemplos sobre la utilización de las técnicas electroquímicas como herramientas para la caracterización de nanomateriales. Entre ellas, dado su desarrollo en las últimas décadas, cabe mencionar el microscopio de barrido electroquímico, el cual a raíz del desarrollo de micro- y nano- electrodos ha permitido la caracterización electroquímica de superficies en la nanoescala, y la vez el estudio del comportamiento electroquímico de nanomateriales como por ejemplo la electrocatálisis de nanopartículas metálicas^[15]. También es importante mencionar, la técnica de impedancia electroquímica^[16], dada su aplicación en el estudio de la formación de películas finas, de tamaño incluso nanométrico, sobre superficies electródicas. Mediante ella se ha podido diferenciar la naturaleza química de nanoestructuras, como en el caso de lascas de grafeno oxidado y de grafeno reducido, ya que se modifican las propiedades conductoras del nanomaterial^[17].

Es importante destacar en este apartado que en las últimas décadas se están desarrollando técnicas electroquímicas acopladas a otras técnicas de caracterización, por ejemplo espectroscópicas (UV-Vis^[18], infrarroja^[19], Raman^[20], rayos X^[21, 22]) aunque también de detección de masa (microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo^[23]), o de caracterización de superficies (TEM^[24], AFM electroquímico^[25]). La combinación de diferentes técnicas está permitiendo el conocimiento más detallado de los procesos electroquímicos a nivel de la nanoescala, y por ello constituyen poderosas herramientas para la caracterización de nanomateriales. Concretamente durante la tesis se han empleado la microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo para la caracterización de

procesos electroquímicos que conllevan la electrosíntesis de nanoestructuras, y también se han realizado estudios mediante microscopía Raman acoplada a electroquímica, caracterizando del mismo modo procesos de electrosíntesis que dan lugar a la generación de nanomateriales así, como el comportamiento electroquímico de determinadas nanoestructuras que modifican la superficie electródica.

2. Importancia de los electrodos modificados con nanoestructuras.

Las investigaciones sobre electrodos químicamente modificados comenzaron en los años 70^[26-29]. Hasta el momento el electroanálisis estaba fundamentado en las técnicas de adsorción del analito de interés sobre el electrodo, generalmente de gota de mercurio, y su posterior determinación polarográfica. La idea de modificar los electrodos, aunque muy innovadora, es sencilla, y está basada en la retención de especies químicas sobre la superficie del electrodo, de manera que este adquiera nuevas propiedades químicas, electroquímicas, ópticas, etc. correspondientes a/o derivadas de las especies inmovilizadas. Por tanto, desde ese momento la electroquímica paso de estudiar fundamentalmente procesos que ocurren sobre electrodos inertes, como pueden ser barras de carbono, oro, platino, gotas de mercurio, etc. al estudio de procesos que tienen lugar sobre electrodos modificados químicamente.

La modificación química de electrodos ha tenido mucha aplicación en campos tan diversos como la investigación básica de fenómenos electroquímicos, el electroanálisis, el desarrollo de dispositivos de almacenamiento energético, el desarrollo de dispositivos de captura de energía solar, la electrónica molecular, la protección frente a la corrosión, la síntesis electro-orgánica, etc., ya que proporcionan superficies conductoras con propiedades y características químicas y físicas modelables en función del tipo de modificación aplicada.

Del mismo modo la modificación de electrodos ha abierto todo un campo de estudios fundamentales en cuanto a la caracterización de las diversas metodologías de modificación, obteniéndose mucha información de estos sistemas, en cuanto a sus propiedades y comportamientos.

La modificación de superficies electródicas con el fin de controlar el modo de interacción del electrodo con el medio que lo rodea ha sido una de las áreas más activas de investigación durante los últimos 30 años. La capacidad de actuación o de trabajo de un electrodo depende principalmente de la disolución en la que se encuentra inmerso, del material que está fabricado, así como del potencial aplicado sobre la superficie. La modificación química de electrodos es una poderosa herramienta para modificar esta capacidad de trabajo del electrodo. Mediante su modificación se ha conseguido que los

electrodos respondan selectivamente a ciertos analitos, se les ha dotado de resistencia al envenenamiento por productos de la reacción, de la capacidad de preconcentración de especies, se han mejorado las propiedades electrocatalíticas^[30], lo que ha permitido utilizarse en el análisis de matrices complejas^[31] como fluidos biológicos. Esto ha sido importantísimo en el ámbito del electroanálisis^[32, 33], pero también en aplicaciones energéticas^[34] como baterías^[35], celdas de combustibles^[36] y supercapacitadores^[37]. Otros campos en los que la modificación de superficies tiene una gran importancia son la protección frente a la corrosión^[38], la electrónica molecular^[39, 40] y los estudios de electroquímica fundamental^[41].

Tradicionalmente la división de Química Analítica perteneciente a la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), ha clasificado las metodologías de modificación de electrodos en las siguientes categorías^[42]:

- Quimisorción: adsorción de especies de manera química, es decir mediante la formación de enlaces químicos. Las películas generadas son bastante estables y los procesos son generalmente irreversibles. Esta metodología suele proporcionar recubrimientos en forma de monocapas, y el ejemplo más característico de ella es la formación de monocapas autoensambladas (SAMs).
- Formación de enlaces covalentes: Este tipo de enlace se produce entre determinados grupos funcionales del reactivo modificador y otros presentes en la superficie del electrodo. La generación de grupos funcionales sobre la superficie electródica puede llevarse a cabo mediante un tratamiento físico-químico de esta o bien derivatizándola con moléculas que presenten grupos funcionales adecuados.
- Formación de películas poliméricas: Los polímeros tanto conductores como no conductores generalmente se inmovilizan sobre la superficie del electrodo por quimisorción, su baja solubilidad en el medio de trabajo empleado o anclaje físico. Estos polímeros pueden ser de naturaleza orgánica, organometálica o inorgánica, y pueden contener en su estructura el agente modificante deseado, o bien, este puede adicionarse una vez que el polímero se ha depositado sobre la superficie del electrodo, de modo que se impregne de dicho modificante. Los polímeros aportan la posibilidad de llevar a cabo reacciones tridimensionales en

la superficie del electrodo, lo que conlleva una gran ventaja respecto a la adsorción. Los recubrimientos poliméricos generalmente se pueden obtener a través de las siguientes metodologías:

- Recubrimiento por inmersión (*Dip coating*): este procedimiento consiste en la inmersión del electrodo en una disolución del polímero durante un tiempo suficiente para la formación espontánea de una película por adsorción.
- Evaporación del disolvente: se deposita una gota de la disolución de polímero sobre la superficie del electrodo, y se deja evaporar el disolvente.
- Recubrimiento por centrifugación (*spin coating*): consiste en la deposición de una gota de la disolución que contiene el polímero sobre la superficie del electrodo, el cual está rotando. El exceso de disolución cae de la superficie por la rotación del electrodo y una fina película del polímero queda recubriéndolo. Se puede aplicar varias veces el procedimiento hasta obtener el espesor de material deseado.
- Polimerización electroquímica: consiste en la polimerización de un monómero por oxidación o reducción del mismo sobre la superficie del electrodo a modificar.
- Deposición electroquímica: el polímero se oxida o se reduce generando una especie insoluble del mismo que queda sobre la superficie del electrodo.
- Polimerización por radiofrecuencia: vapores del monómero se exponen a descargas de radiofrecuencia, cuya energía inicia el proceso de polimerización sobre la superficie del electrodo.
- Entrecruzamiento (*cross-linking*): sobre la superficie electródica se añade un agente químico capaz de reaccionar con uno o varios componentes modificantes, generando una estructura a modo de red entre ellos y la matriz del electrodo; de modo que queda inmovilizado sobre la superficie. El inicio de la reacción de entrecruzamiento puede venir dado por estímulos químicos, electroquímicos, fotoquímicos, térmico, etc.

- Electroodos compósitos: El agente modificante se mezcla con la matriz del electrodo. El ejemplo clásico de este tipo de electrodos son los de pasta de carbono, en los que la especie modificante se mezcla con las partículas de carbono que forman la pasta del material. Alternativamente se han usado zeolitas o tamiz molecular para retener el agente modificante.

El progreso continuo en la síntesis y control de materiales a escala nanométrica ha conllevado la creación de materiales funcionales avanzados. Las propiedades de los materiales a escala nanométrica son diferentes a las propiedades que tienen los materiales a escala macroscópicas. Por ello hay una gran expectación en la potencial aplicación de los nanomateriales en diversos campos entre los que destacan la obtención y almacenamiento de energía, sensores, medicina y cuidados de la salud, etc. El desarrollo y la implementación a gran escala de técnicas de nanofabricación permitirán el desarrollo de nuevos dispositivos en un gran número de sectores.

La modificación de electrodos con nanoestructuras puede aportar muchas de sus ventajas a estos y de hecho se ha llevado a cabo mediante el empleo de moldes que guían el crecimiento de los agentes modificantes de forma nanoestructurada, o mediante la formación previa de monocapas de moléculas orgánicas, a partir de la deposición directa de nanoestructuras, del crecimiento “in situ” de nanomateriales o mediante la combinación de una o varias de estas estrategias. Estas diferentes estrategias han permitido el desarrollo de electrodos con propiedades únicas, desde elevadas superficies electroquímicamente activas hasta electrodos con propiedades electrocatalíticas o electrodos selectivos a determinadas moléculas orgánicas de interés. Las propiedades que se buscan a través de la modificación de electrodos con nanoestructuras dependen en gran medida de su aplicación.

Entre las ventajas más significativas que ofrece la modificación de electrodos con nanoestructuras se pueden mencionar:

- Mejora de la rapidez del transporte de las especies móviles: es bien conocido que cuando las dimensiones de los materiales, su tamaño de grano o sus dominios son comparables, o incluso menores, que la escala de tamaños característica en la que ocurren fenómenos como intercambio de fonones,

fotones, electrones, iones y moléculas, se producen fenómenos físicos hasta el momento no conocidos, estableciéndose nuevos modos de transporte de cargas, de masa y energía, así como transformaciones de tipo químico y energético.

- **Mejora de la reactividad superficial:** La relación del número de átomos en la superficie con respecto al número de átomos totales del nanomaterial es mucho mayor que para el caso de un material con tamaños de grano o partículas superiores a 1000 nm. Estos átomos en la superficie tienen un menor número de átomos vecinos, presentando por tanto un menor número de electrones coordinados y un mayor número de posiciones de enlace no ocupadas. Por lo tanto presentan mayor energía libre de superficie, aumentando en gran medida su reactividad. Esta propiedad también se ve afectada por la presencia de defectos en la superficie del nanomaterial^[43].
- **Gran robustez mecánica:** Se conoce que los materiales nanoestructurados presentan una mejor resistencia, estabilidad e integridad con respecto a aquellos no nanoestructurados^[44-47].

3. Electrodo modificados con nanoestructuras en el desarrollo de sensores y biosensores electroquímicos.

La modificación de superficies electródicas especialmente diseñadas para la determinación de diferentes analitos ha ofrecido una amplia diversidad de posibilidades en el campo de la química analítica. En particular, el dotar a estas superficies de la selectividad requerida para poder determinar un analito disuelto en una muestra compleja, sin necesidad de realizar una separación previa del mismo ha revolucionado el concepto del análisis dando paso a los llamados sensores y biosensores electroquímicos. La irrupción de los nanomateriales en el campo de la ciencia, también ha propiciado el desarrollo de nuevos sensores electroquímicos con mejores prestaciones, al incorporar las ventajas de los nanomateriales a la de los electrodos modificados. La utilización de los nanomateriales en este sentido, se puede concretar principalmente en dos opciones:

- La más habitual, la modificación de macroelectrodos con nanomateriales ha sido la opción más explotada y desarrollada, y con mayor número de casos aplicados. Esta opción se tratará con mayor profundidad a lo largo de esta introducción.
- El desarrollo de micro y nano electrodos, que han servido como herramientas de estudio y modelo de los procesos que ocurren en la nanoescala, también se han empleado directamente en el campo del electroanálisis, como sensores^[48]. El uso de estos pequeños dispositivos ha permitido reducir la capacitancia de los electrodos, lo cual se traduce en mejoras en la relación señal/ruido. También ofrecen una alta resolución espacial para poder observar a nivel de la micro- y nano- escala detalles estructurales. Igualmente presentan una elevada resolución temporal, lo cual ha permitido el estudio detallado de reacciones redox muy rápidas. Sin embargo, el electroanálisis empleando dispositivos de la micro- y nano- escala aún ha de superar, en la actualidad, diversos retos, como mejorar las técnicas de micro- y nano-fabricación de estos electrodos, y a la vez, mejorar su modificación para poder alcanzar mejores sensibilidades y selectividades.

La incorporación de nanoestructuras sobre superficies electródicas comenzó a principios de los años 90. En principio, y antes de que se conocieran muchas de sus propiedades, sobre todo electrocatalíticas, se usaron para mejorar las señales electroquímicas de los

electrodos, ya que aumentaban en gran medida la relación superficie/volumen, lo cual se traducía en un aumento de la intensidad de corriente registrada. Esto permitió la mejora de los límites de detección de muchos de los analitos tradicionalmente analizados hasta la fecha, como es el caso del H_2O_2 ^[49, 50]. Al generarse en la modificación de la superficie electródica grandes áreas de películas de nanopartículas, el número de centros redox activos aumenta, proporcionando sensores más sensibles comparados con sensores construidos del mismo material no nanoestructurados.

Además del aumento de la superficie electroactiva, la modificación de superficies con nanoestructuras, dota a estas de nuevas propiedades electrocatalíticas, lo que es muy útil para el desarrollo de celdas de combustible^[51].

Otro hecho que ha permitido un amplio desarrollo del electroanálisis ha sido la ideal combinación de ciertos nanomateriales con diversos elementos de reconocimiento biológico como enzimas, anticuerpos, cadenas de ADN, etc. al presentar ambos tamaños de la misma escala. En la figura 1 se muestra una representación de dicha interacción. La modificación de electrodos con las entidades biológicas mencionadas ha constituido una fuerte área de investigación para el desarrollo de sensores y biosensores. El principal objetivo en estos desarrollos ha sido la inmovilización de los elementos de reconocimiento biológicos de manera que se conserve su actividad biológica al completo^[52] y que además facilite la conexión electrónica entre el centro redox activo de la biomolécula y la superficie del electrodo^[53-55]. Otra de las propiedades deseables es la estabilidad operacional con el tiempo.

Los últimos avances en nanomateriales y nanotecnología han abierto nuevos horizontes en el diseño de sistemas bioelectroquímicos integrados^[56, 57]. Entre los nanomateriales que mejores resultados han dado, en la fabricación de biosensores, se pueden mencionar las nanopartículas de metales^[58] y semiconductores^[59]. Normalmente estas nanopartículas vienen recubiertas por pequeñas moléculas que las estabilizan y evitan su aglomeración, y muchas veces la interacción de los elementos de reconocimientos biológicos con estos agentes estabilizadores son los que favorecen la buena relación entre el nanomaterial y la biomolécula. Otro de los nanomateriales cuya aparición supuso una pequeña revolución en el ámbito de los sensores y biosensores, dado la gran cantidad de ejemplos reportados en la bibliografía, han sido los nanotubos de carbonos (CNT). Estos presentan una elevada relación superficie-volumen, así como nuevos

mecanismos de transporte electrónico. Las pequeñas dimensiones de estos nanomateriales han permitido el emplazamiento sobre su superficie de un gran número de elementos de reconocimiento biológico. Sus propiedades electrónicas y mecánicas han promovido el gran interés por este nanomaterial^[60], existiendo multitud de ejemplos de biosensores enzimáticos^[61], inmunosensores^[62], genosensores^[63], etc. Más recientemente se ha empezado a utilizar el grafeno. Entre los nanomateriales en dos dimensiones, el grafeno ha emergido estos últimos años como un nanomaterial con un gran potencial de aplicación^[64]. Su alta superficie específica y la facilidad con la que puede ser funcionalizado, hacen de él un buen soporte para el emplazamiento e inmovilización de elementos biológicos, lo que ha permitido el desarrollo de nuevas biointerfases para la fabricación de biosensores^[65-67]. Además actualmente se están desarrollando combinaciones con otras nanoestructuras, como las nanopartículas metálicas, lo que propicia efectos sinérgicos de interacción con las distintas biomoléculas^[68].

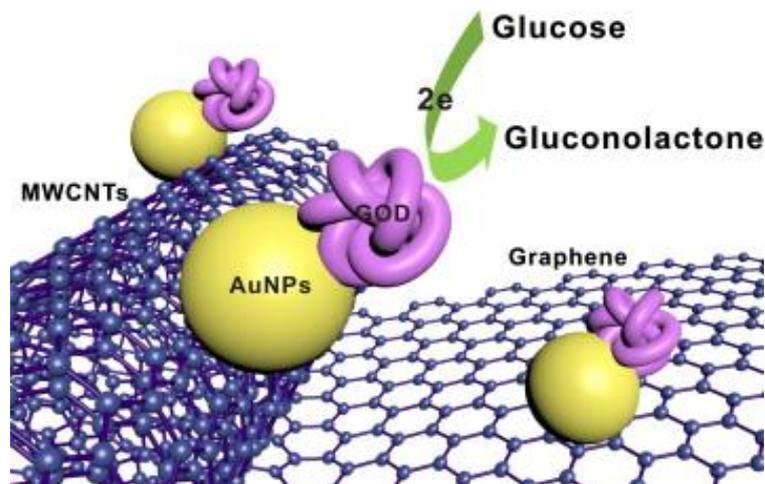


Figura 1-Representación de la interacción de elementos biológicos (enzima Glucosa Oxidasa) con nanopartículas de Au, nanotubos de carbono de pared múltiple y grafeno [Biosensors and Bioelectronics (2014) 52 147-152]^[69].

El principal reto que supone la modificación de superficies electródicas con nanoestructuras es el control del tamaño, la morfología y la distribución de las mismas. Entre las estrategias desarrolladas para la modificación de electrodos con nanoestructuras podemos mencionar las siguientes:

3.1. Modificación mediante distribución de nanoestructuras sobre la superficie.

Mediante esta metodología se consigue el aumento de la superficie electroactiva del área del electrodo. Los pioneros en usar esta aproximación fueron Natan y colaboradores, en cuyo trabajo^[70] depositaron nanopartículas de oro sobre un electrodo macroscópico de platino previamente modificado con (3-mercaptopropil) metildimetoxysilano (MPMDMS). Las nanopartículas de oro (15 nm) quedan adheridas gracias a la interacción con el grupo tiol. En el trabajo se pone de manifiesto que el electrodo de platino modificado con MPMDMS es inactivo electroquímicamente, sin embargo recupera su actividad cuando se modifica con las nanopartículas de Au, las cuales actúan como nanoelectrodos. En la bibliografía se puede encontrar en este sentido muchos trabajos, en los que los electrodos macroscópicos se funcionalizan con reactivos químicos dotados de grupos funcionales con los que puede reaccionar el nanomaterial. Por ejemplo electrodos de Au se han modificado con una monocapa del tiol cistamina, para posteriormente reaccionar el grupo nitro expuesto con N-succinimida, carbodiimida y lascas de grafeno oxidado, de modo que este nanomaterial queda adherido sobre la superficie del electrodo^[71]. También mencionar el uso de superficies modificadas con silanos funcionalizados^[72], o el uso de sales de diazonio sobre nanomateriales como nanotubos de carbono^[73, 74], etc. Esta metodología presenta la ventaja adicional de impedir en gran medida la aglomeración del nanomaterial, quedando anclado al electrodo, como por el ejemplo en el esquema de la figura 2.

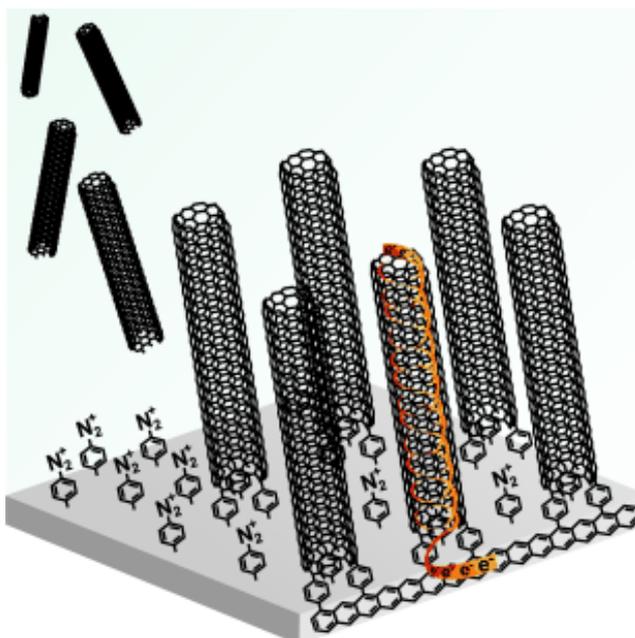


Figura 2-Nanotubos de carbono anclados sobre un electrodo macroscópico de carbono gracias a la unión mediante sales de diazonio entre grupos funcionales de sus extremos y los grupos funcionales de la superficie del electrodo. Imagen obtenida del artículo de Arias de Fuente [Angewante Chemie International 2011, 50, 15, 3457-3461]^[73].

Además de esta, otras estrategias utilizadas y de las que se encuentran muchos ejemplos en la bibliografía son aquellas en las que se modifica la superficie electródica por simple deposición de una gota de una suspensión del nanomaterial, que tras un posterior secado conlleva la adsorción directa del mismo. En estos casos, el control de la cantidad de nanomaterial que se deposita sobre el electrodo juega un papel importante, ya que puede dar lugar a la formación de cúmulos de material, que conlleve la pérdida de sus propiedades y comience a comportarse como un material macroscópico. Son muchos los ejemplos que se pueden encontrar en los que se han depositado directamente nanopartículas^[75], nanohilos^[76], nanotubos de carbono^[77], nanodiamantes^[78], grafeno^[79], etc. y pese a tener menos control sobre la modificación de la superficie que en la metodología anterior, los electrodos presentan mejores propiedades que los mismos electrodos sin modificar con las nanoestructuras, por lo que es obvio las ventajas que supone el uso del nanomaterial.

3.2. Modificación mediante electrodeposición de nanoestructuras.

Otra de las alternativas más importantes para modificar electrodos con nanoestructuras es la electrodeposición. Esta metodología permite controlar la cantidad de material depositado sobre la superficie, gracias a la posibilidad de controlar de forma muy precisa la carga que pasa por el sistema. Del mismo modo, permite controlar la morfología de la nanoestructura^[80]. Hay ejemplos como los descritos en el trabajo de Liu^[81], en los que modificando las condiciones de la electrosíntesis se pueden obtener diferentes tipos de nanoestructuras de Au, en particular modificando la concentración de la sal de Au de partida. También se han aplicado a otras nanoestructuras con diferentes morfologías en función de los parámetros que controlan la electrosíntesis^[82-85] (figura 3).

Además de la electrosíntesis de metales y óxidos metálicos se ha desarrollado la electrosíntesis de otros compuestos que generan nanoestructuras como los polímeros de coordinación. Entre ellos cabe destacar los MOFs (*Metal Organic Frameworks*) como materiales híbridos (orgánicos/inorgánicos), porosos y con multitud de propiedades tanto electrocatalíticas como de almacenamiento de moléculas o en el ámbito de membranas. Entre algunas de sus aplicaciones cabe mencionar el trabajo de Liu^[86], en el que desarrollan un sensor de carbonatos con un compuesto tipo MOF de lantano. Otros ejemplos utilizan compuestos nanoestructurados tipo MOF de cobre^[87] y de zinc^[88]. Además, como se describe a lo largo de la memoria de tesis, la electrosíntesis de determinados materiales de forma nanoestructura, puede utilizarse como punto de partida de otras modificaciones, ya que las nano o micro estructuras formadas pueden actuar como precursores en determinadas reacciones, condicionando, gracias a su morfología, la generación de otros productos en forma de nanoestructuras. Este hecho abre nuevos mecanismos para la generación de nanoestructuras sobre superficies electródicas.

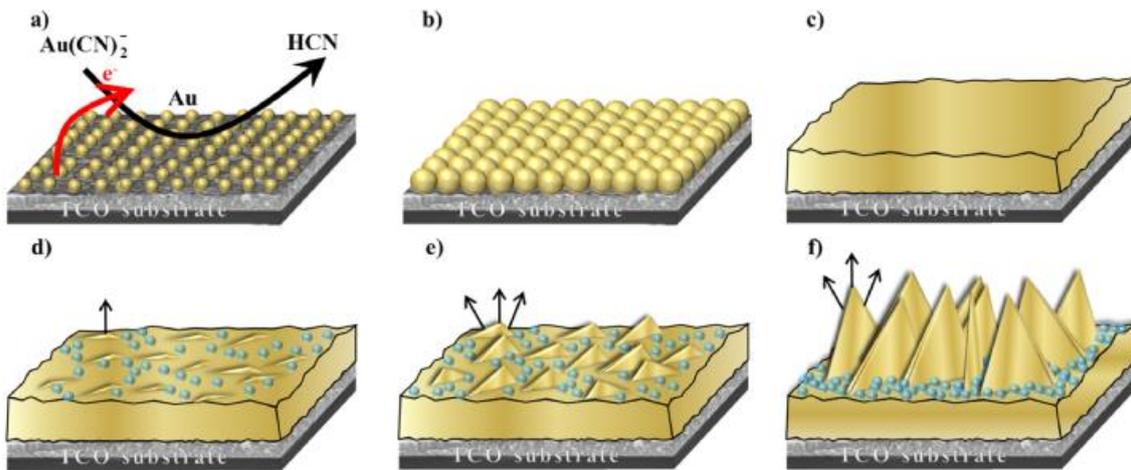


Figura 3-Proceso de electrodeposición de nanoestructuras de Au en distintos tiempos de electrodeposición ("a" a "f"). Control de la nanoestructura final fijando el tiempo de electrodeposición. [Nanotechnology, 2012, 23, 25, 255705]^[89].

Concretamente durante la tesis se han desarrollado dos metodologías para la electrodeposición de forma nanoestructurada de distintos MOFs:

- En primer lugar se llevó a cabo el estudio de polímeros de coordinación formados por cadenas del tipo (Metal-Metal-Halógeno)_n comúnmente denominados MMX.^[90] Estos son polímeros de coordinación basados en la sucesión de monómeros bimetálicos que se mantienen unidos entre sí gracias a enlaces con átomos de halógenos. Estos compuestos pertenecen a la familia de los denominados polímeros de coordinación de valencia mixta, debido a que los metales que constituyen sus monómeros, cuando forman parte del polímero, presentan por lo general valencias intermedias entre las formas reducidas y oxidadas habituales del metal o metales. Concretamente durante el desarrollo de esta tesis se ha puesto a punto un método de electrodeposición del polímero denominado *yodo tetrakis (ditioacetato) diplatino* [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n^[91-93] a partir del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] generando nanoestructuras sobre las superficies electródicas.
- También se ha trabajado con compuestos similares con centros de níquel, con el objetivo de encontrar métodos de electrodeposición de los mismos usando como herramienta la electroquímica. Los materiales que contienen níquel son muy atractivos, ya que suelen ser muy abundantes en la tierra, muy baratos y por su

puesto lleva años conociéndose su gran actividad electrocatalítica^[94], lo que permite su uso en el desarrollo de sensores electroquímicos. Concretamente se ha desarrollado la metodología para la electrosíntesis sobre superficies electródicas del complejo *diníquel tetra (diacetato)* $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ a partir del complejo *diníquel tetra (monotioacetato)* $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ en forma de microestructuras, las cuales han servido como precursor de nuevos nanomateriales de níquel con elevada actividad electrocatalítica.

3.3. Modificación por generación de nanoestructuras mediante moldes.

Las metodologías anteriores, conducen a un aumento de la superficie electroactiva con respecto al electrodo macroscópico, sin embargo la posición de estos elementos nanoestructurados es difícil de controlar, y por tanto su posicionamiento sobre la superficie es de carácter aleatorio. Para solucionar este problema y tener control exacto de la posición de la nanoestructura se han desarrollado moldes, a modo de membranas, sobre los que la nanoestructura crece, posicionándose en el punto espacial deseado y además ofreciendo un mayor control sobre la morfología de la nanoestructura. El primer ejemplo de este tipo de modificación fue desarrollado por Martin en el año 1994^[95]. En este trabajo se describe la obtención de nanoestructuras de polipirrol gracias a la utilización de membranas porosas de alúmina y también de policarbonatos como moldes. Tal y como se representa en la figura 4, una vez que se han generado las nanoestructuras a través de algún método que permita el crecimiento de dichos materiales, como pueden ser procesos de electrodeposición, crecimiento por deposición de vapores químicos, CVD (*chemical vapour deposition*), etc. los moldes se disuelven en el disolvente apropiado, dependiendo de su naturaleza química, normalmente se suelen emplear medios muy alcalinos o muy ácidos, así como disolventes orgánicos. A partir de los patrones de las membranas, se fijará la posición de la nanoestructura que se genera así como su morfología. De esta forma se ha conseguido crecer distintos polímeros conductores nanoestructurados como en el caso del polipirrol^[96, 97], la polianilina^[98], etc. El empleo de estos moldes no está solamente restringido a polímeros conductores, sino que también se han usado para el crecimiento de metales^[99], óxidos metálicos^[100] y semiconductores^[101].

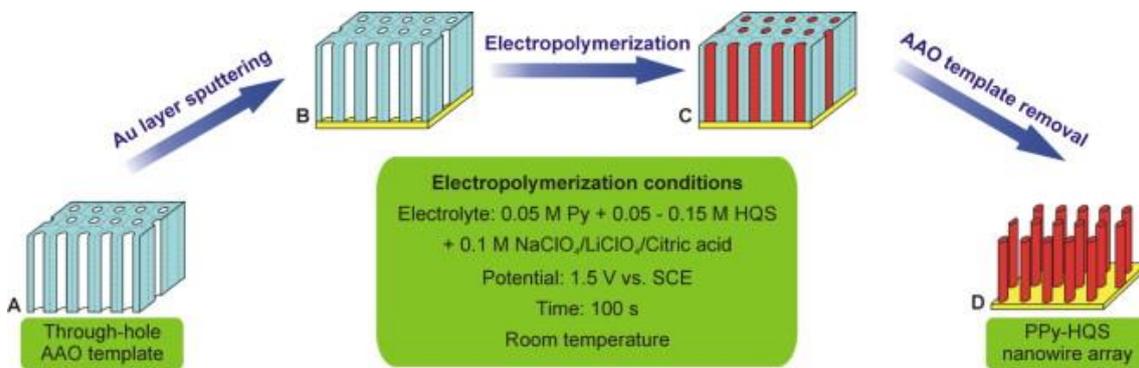


Figura 4-Electrodeposición de polipirrol con molde de óxido de aluminio, formando nanobastones del polímero conductor y la posterior disolución del molde. Imagen obtenida de [Electrochimica Acta, 2013, 104, 536-541]^[97].

Como se ha comentado el proceso de síntesis no tiene por qué estar controlado por la electroquímica del compuesto que se moldea, y así se ha demostrado en un conjunto de trabajos^[102] en los que se generan nanoestructuras de Au bien por electrodeposición^[95], reducción química^[103] y por la técnica de *sputtering*^[104] (pulverización catódica).

Con respecto a las membranas, las más utilizadas han sido las de policarbonatos y de óxidos de aluminio. Sus aplicaciones van desde sensores hasta su aplicación en baterías^[105] y supercapacitadores^[106].

El uso de moldes de policarbonatos así como de óxido de aluminio presenta limitaciones en cuanto al tamaño de las nanoestructuras generadas, debido a limitaciones en la fabricación de los propios moldes. Ante esta limitación han surgido otras formas de moldear nanoestructuras. Por ejemplo, se han utilizado líquidos cristalinos liotrópicos. Los cristales líquidos son materiales que comparten propiedades con el estado líquido y el estado sólido cristalino de la materia, es decir, son fluidos con un cierto ordenamiento cristalino. Los cristales líquidos liotrópicos, son aquellos que se forman a partir de una sustancia disuelta en un medio líquido, que al mezclarse en ciertas proporciones con otro disolvente generan el cristal líquido. Estos presentan grupos de moléculas altamente ordenadas a escala nanométrica, del modo en el que se muestra en la figura 5. Además son capaces de ordenarse, en función de las proporciones de disolventes y de la polaridad de este.

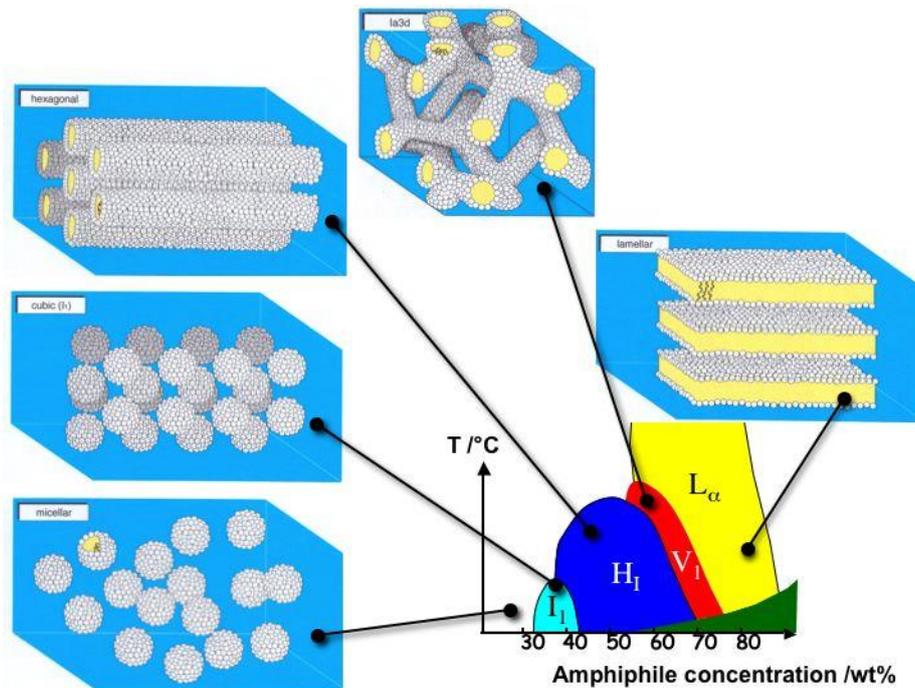


Figura 5-Cristales líquidos liotrópicos con diferentes ordenaciones a nivel de la nanoestructura en función de la proporción de solventes. [Wikipedia].

Estos sistemas por tanto pueden actuar como moldes para la generación de nanoestructuras, ya que se tiene control de la estructura de dicho molde a nivel molecular, alcanzando tamaños mucho más pequeños que los descritos en el apartado anterior^[107]. Mediante esta técnica se llegan a obtener nanoestructuras de muy pocos nanómetros, en algunos casos inferiores a 2 nm, y también de gran variabilidad en cuanto a su morfología. También en algunos trabajos^[107] se ha descrito la posibilidad de modificar los poros de las nanoestructuras, lo cual supone importantes avances en el ámbito de la nanoestructuración de superficies electrónicas. Esta técnica ha sido empleada para electrodeposición de diferentes metales (Pd^[108], Zn^[109], Cd^[109], Ni^[110], Co^[111]) pero también para polímeros conductores^[112]

La elevada superficie electroquímica activa que se genera mediante este tipo de moldeados la convierte en una excelente técnica para la modificación de superficies con aplicaciones en electroanálisis, donde estos aumentos de superficie se traducen por regla general en mejores límites de detección, sensibilidades e intervalos lineales, como es el caso de los electrodos mesoporosos de platino desarrollados por Evans y colaboradores^[113] en la detección de H₂O₂ en comparación con el electrodo original de Pt.

Las propias nanopartículas y otras nanoestructuras (coloides) también han sido usadas como moldes para la nanoestructuración de superficies (figura 6). La gran ventaja con respecto a los dos casos anteriores de moldeado es la amplia gama de materiales, tamaños y morfologías que se pueden crear sobre la superficie del electrodo. La principal desventaja vuelve a ser el ordenamiento del nanomaterial sobre dicha superficie, ya que mediante este método no se tiene el control del posicionamiento espacial de las nanoestructuras sobre la superficie electródica. Hay varios ejemplos importantes en los que se han utilizado nanopartículas de poliestireno, que actúan de molde para el caso de electrodeposiciones de metales, como el Au, según los trabajos de Bartlett^[114] y su aplicación en biosensores enzimáticos^[115], y también para la formación de nanoestructuras de SnO₂ mediante calcinación^[116]. Tras la formación de la nanoestructura del material deseado los coloides que han servido como molde se suelen disolver, en el caso del poliestireno es habitual el uso de disolventes orgánicos como la acetona o el diclorometano, quedando así únicamente la nanoestructura de la composición deseada.

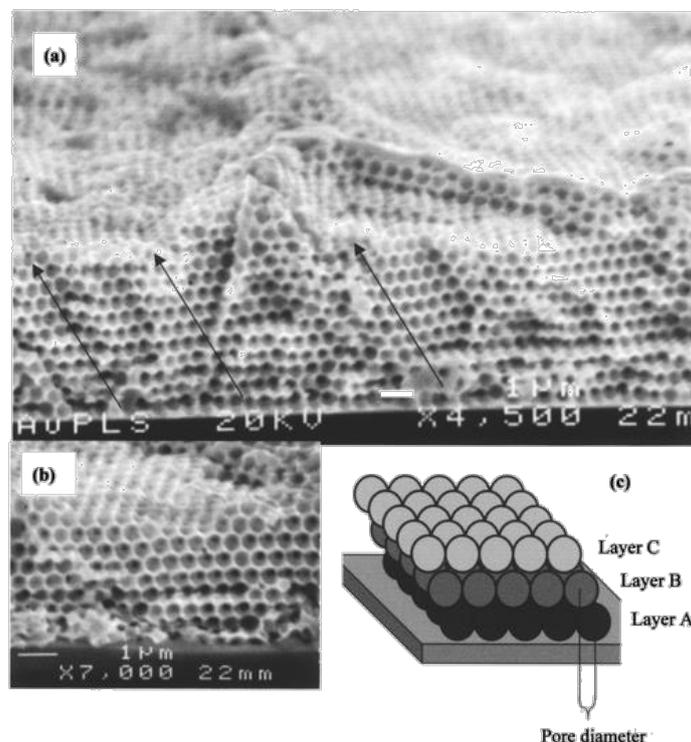


Figura 6-Estructuras mesoporosas de Au sobre superficies electródicas de tamaño de poro nanométrico desarrolladas por Bartlett. [Chemistry of Materials, 2002, 14, 2199-2208]^[114].

Esta metodología permite la obtención de superficies mesoporosas en las que se controla muy bien el tamaño de poro, lográndose materiales con una elevada relación de superficie electroquímica activa frente al volumen del material, lo cual es de gran interés para el ámbito de los sensores electroquímicos.

3.4. Modificación mediante la formación de monocapas.

Aunque la formación de monocapas sobre superficies electródicas da lugar a una superficie continua, se puede considerar, debido a la escala de tamaño nanométrica del espesor de las mismas, que es un método de modificar la superficie a nivel de la nanoescala. Esta metodología aporta interesantes ventajas en el campo del electroanálisis, ya que permite la inmovilización tanto de moléculas con actividad redox sobre la superficie y sobre las nanoestructuras que modifican los electrodos, así como la mejora de sus entornos.

Los ejemplos más conocidos de formación de monocapas son el de tioles sobre superficies metálicas y la formación de derivados del silano con superficie de vidrio y metales. La formación de monocapas autoensambladas (SAMs) consiste en la auto-organización (ensamblaje) de moléculas orgánicas sobre una superficie gracias a la afinidad de ciertos grupos funcionales (grupos cabeza) por la superficie, mientras que el resto de la molécula, generalmente con un grupo funcional terminal (grupo de cola) con alguna característica especial, como puede ser cierta actividad electroquímica, electrocatalizador de alguna reacción, grupos funcionales que permiten la unión de proteínas o nanoestructuras, etc. quedan libres para interactuar con el medio. Son muchos los ejemplos en los que se han usado SAMs en el campo del electroanálisis para inmovilizar sobre el electrodo diversos agentes modificantes como anticuerpos^[117], mediadores electroquímicos^[118], cadenas de ADN ^[119], nanopartículas metálicas^[120], nanoestructuras de carbono^[121], etc. Del mismo modo se han utilizado para funcionalizar nanopartículas metálicas^[122, 123], modificando de este modo su superficie y por tanto sus propiedades, e incluso se han inmovilizado biomoléculas sobre la superficie de la nanoestructura^[124, 125].

En los últimos años, mediante el moldeado por coloides se está logrando la nanoestructuración de las monocapas autoensambladas, lo que se denomina litografía

de partículas (*Particle lithography*)^[126]. Combinando ambas estrategias de modificación se han logrado monocapas de dimensiones nanométricas^[127], como las que se pueden apreciar en la figura 7. Gracias al uso de nanoesferas de sílice de distinto diámetro se va consiguiendo la formación de círculos concéntricos de los distintos tioles sobre la superficie de oro en pasos sucesivos. Se trata de una estrategia novedosa con un gran potencial de aplicación en el campo de la química analítica.

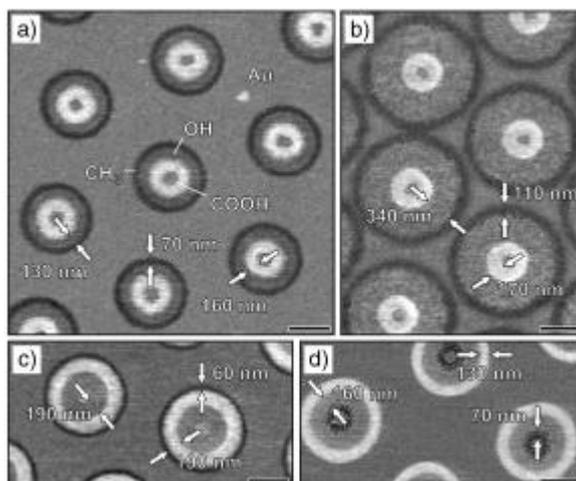


Figura 7-Imágenes por microscopía de fuerzas lateral de superficies de oro modificadas por litografía de partículas y la formación de SAMs de tioles. [Angewandte 2005, 23, 3596-3600]^[127].

También se pueden considerar dentro de este tipo de interacciones con la superficie, las que se establecen entre moléculas aromáticas (gracias al orbital de electrones desapareados) con la banda de conducción de los materiales grafénicos. En este caso no se establecen enlaces covalentes con la superficie, sin embargo la interacción de atracción tipo π - π es suficiente para la formación de películas, generalmente monocapas sobre estas superficies^[128, 129]. Este tipo de interacciones han sido por ejemplo utilizadas para la modificación de electrodos de grafeno con anticuerpos para la fabricación de inmunosensores^[130].

Además de este tipo de monocapas autoensambladas, existen determinadas moléculas que pueden reaccionar formando enlaces covalentes con la superficie y generando también monocapas de moléculas como es el caso de las sales de diazonio. Las sales de diazonio son una familia de compuestos que presentan una característica común y es la presencia de un grupo diazonio (NEN^+) en su estructura. El grupo diazo se genera

mediante reacción de diazotación entre una amina aromática primaria y un agente causante de la diazotación, el nitrito sódico. El electroinjerto de las sales de diazonio sobre superficies electródicas (como se puede observar en la figura 8), es un procedimiento por el cual se establece la transferencia de un electrón entre el material utilizado como electrodo y la correspondiente molécula de sal de diazonio. La transferencia electrónica promueve la reducción electroquímica del grupo diazo, liberándose una molécula de nitrógeno. Concomitante a este proceso reductivo, se genera un radical arilo que se enlaza covalentemente a la superficie electródica. Este procedimiento permite llevar a cabo la modificación de la superficie de un material utilizado como electrodo, bajo condiciones suaves, con cualquier molécula que posea una amina aromática primaria y por tanto sea susceptible de sufrir reacción de diazotación.

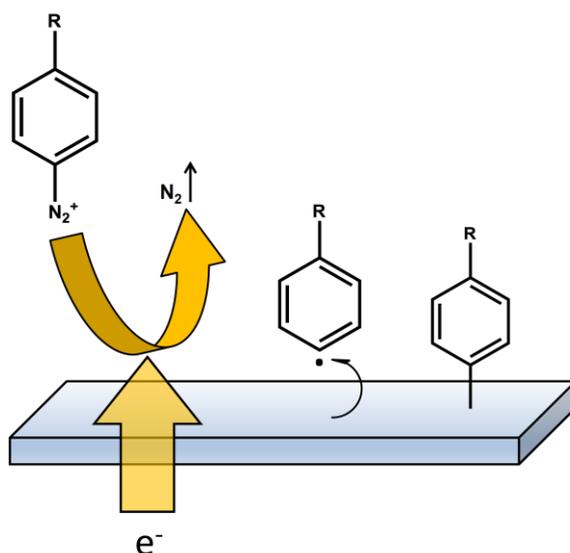


Figura 8- Electroinjerto de una sal de diazonio sobre una superficie electródica.

Entre las aplicaciones electroanalíticas se encuentran la inmovilización de mediadores^[131], desarrollo de sensores^[132], biosensores^[133], inmunosensores^[134, 135], y la funcionalización de nanoestructuras de carbono^[136].

4. Electrodos modificados con nanoestructuras aplicados a dispositivos de obtención y almacenamiento de energías. El problema energético mundial.

En la actualidad, el 85 % de la energía empleada en el mundo se obtiene de combustibles fósiles, en torno a un 6-7 % proviene de la energía nuclear, el resto proviene en mayor medida de la obtención de fuentes de energías renovables, mayoritariamente el aprovechamiento de biomasa y la obtenida de estaciones hidroeléctricas y en menor medida de la energía solar y eólica. Se estima que para el año 2050, las necesidades energéticas del mundo sean el doble que las actuales. El uso de los combustibles fósiles ha provocado el aumento de las emisiones de carbono, y si no se toman medidas se cree que se acelerará la producción anual con el avance de la sociedad. Este aumento tendrá, y comienza a observarse en la actualidad, consecuencias medioambientales, económicas, políticas y para la salud humana a niveles catastróficos. Además del problema, sobre todo medioambiental, que provoca el uso de energías fósiles, se estima que en un corto periodo de tiempo comiencen a escasear. Por ejemplo se cree que el petróleo se agotara en el periodo de 40-80 años, el gas natural de 200-600 años y el carbón entre 1000 y 2000 años. Por ello se han de buscar alternativas a las fuentes de energías actuales, e identificar, desarrollar y extender el uso de nuevas estrategias energéticas, capaces de proporcionar los niveles de energías requeridos para que continúe el desarrollo de la humanidad de una manera sostenible.^[137]

Entre los principales cambios que se deben acometer se encuentran la utilización de dispositivos energéticos más eficientes que los actuales, por ejemplo, la típica bombilla incandescente solamente transforma en luz el 2% de la energía que consume, los coches de gasolina o diésel suelen llegar a rendimientos del 25 % de la energía total del combustible. Con este objetivo se está ya trabajando y obteniendo nuevos desarrollos. Un claro ejemplo es la aparición en el mercado de las bombillas LED, muchos más eficientes que las convencionales. En el caso de los motores de automoción se están desarrollando vehículos híbridos. Además, se están realizando grandes avances en el desarrollo de celdas de combustible con la intención de utilizarlas en automoción. Así se

están consiguiendo celdas de combustible con eficiencias energéticas del 90% o superiores, y se presume cercano el momento en el que se apliquen a los vehículos.

Además del desarrollo de máquinas más eficientes, uno de los retos es el uso de energías renovables. Entre ellas la más prometedora es la energía solar, pues se sabe que la cantidad de energía que llega a la tierra en un solo día proveniente del sol es suficiente para las necesidades energéticas del mundo en todo un año. El uso de la energía solar requiere de dos conceptos básicos, la capacidad de capturar y convertir esta energía y por otro lado la capacidad de almacenarla. La captura de la energía solar se realiza con dispositivos fotovoltaicos. En este ámbito son necesarios avances en los materiales de modo que se reduzca el coste por kilovatio producido, para llegar a ser competitivo con otras fuentes energéticas. Como todos sabemos la energía solar no está disponible a todas horas, hay variaciones en la radiación de ellas tanto a nivel estacional como a nivel de horario, por ello en paralelo con el uso de dispositivos fotovoltaicos más eficientes está el desarrollo de dispositivos de almacenamiento energéticos eficaces. Aunque se está obteniendo importantes avances en este campo, actualmente aún no se comercializan dispositivos con tales características de eficacia, bajo coste y accesibilidad.

Entre los dispositivos para el almacenamiento de energía, los denominados electroquímicos (baterías recargables y supercapacitores) suponen una gran alternativa para su uso en dispositivos electrónicos portátiles, vehículos eléctricos y dispositivos de almacenamiento de exceso energéticos en la red.

Según los requerimientos energéticos y la potencia (energía requerida en función del tiempo) podemos contemplar en el gráfico de Ragone (figura 9) qué dispositivo de almacenamiento energético debemos usar. En un extremo se encuentran los condensadores, que son capaces de proporcionar unas altas densidades energéticas, pero durante muy poco tiempo, ya que sus ciclos de cargas y descargas son muy rápidos. En el otro extremo se encuentran las denominadas celdas de combustibles, que ofrecen una larga autonomía de funcionamiento, pero pequeñas densidades de corriente. Entre ambos extremos se encuentran soluciones intermedias como los supercapacitores, o capacitores electroquímicos y las baterías.

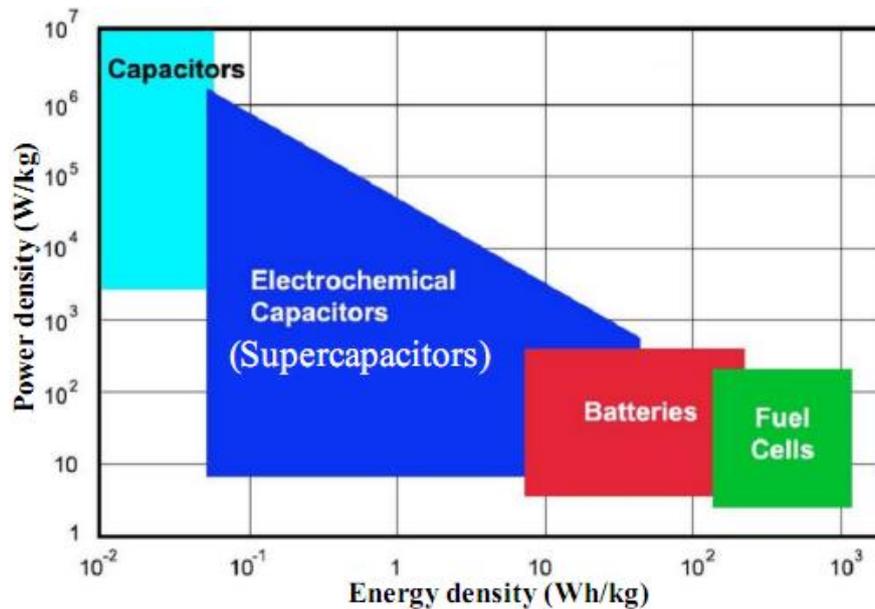


Figura 9-Gráfico de Ragone.

La diferencia fundamental entre baterías recargables y supercapacitores (capacitores electroquímicos) es el mecanismo por el que almacenan la energía. Las baterías almacenan energía gracias al desplazamiento de equilibrios químicos controlados por reacciones redox que ocurren en dos polos opuestos, mientras que los capacitadores funcionan separando las cargas sobre la superficie de los electrodos.

En las dos últimas décadas, el desarrollo de la nanotecnología y la nanociencia, ha permitido controlar los materiales a escala nanométrica, lo cual ha generado nuevas oportunidades a la hora de diseñarlos con determinadas propiedades específicas en cuanto a su comportamiento electrónico, fotónico y mecánico. Este desarrollo ha contribuido también al avance de los materiales utilizados para el almacenamiento energético, lo cual es de vital importancia para el desarrollo tecnológico futuro^[138].

La batería es un dispositivo que transforma la energía química de sus materiales en energía eléctrica mediante reacciones de oxidación y reducción. Los supercapacitores son dispositivos que tienen un principio de operación similar a un condensador tradicional. Sin embargo, su capacidad y corriente de descarga es mucho más alta y por ello, los supercapacitores se utilizan como unidades de almacenamiento en sistemas de potencia, vehículos, etc. La diferencia principal con respecto a los condensadores convencionales reside, por una parte, en que almacenan la energía en la interfase entre un electrodo conductor poroso y un electrolito iónico conductor y, por otra parte, que

la superficie aumenta mucho debido a la elevada porosidad del electrodo.

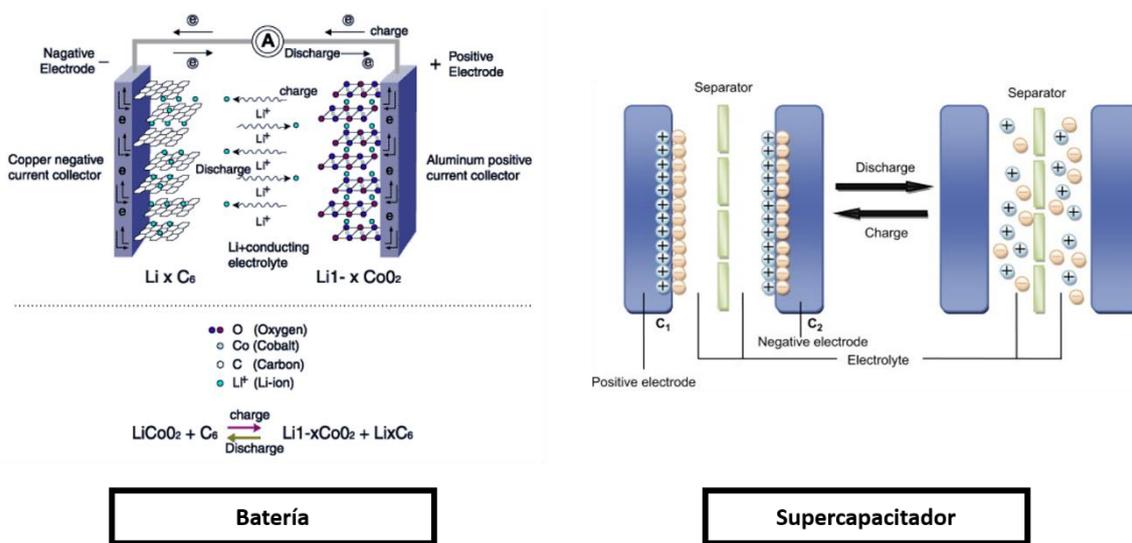


Figura 10-Comparación entre el mecanismo de funcionamiento de baterías (izquierda) y de supercapacitores (derecha).

Las ventajas que ofrece la nanoestructuración de materiales en el desarrollo de baterías se pueden resumir en los siguientes puntos^[35]:

- Un aumento del área superficial, o lo que es lo mismo, aumento de la relación superficie/volumen. Este hecho incrementa el área de contacto entre el electrodo y el electrolito, aumentando el número de sitios activos para la reacción de carga/descarga, lo cual reduce las pérdidas de energía por polarización del electrodo y mejora la densidad de corriente (o índice de capacidad), la eficiencia energética y la densidad de energía aprovechable. Además aumenta las posibilidades de modificación superficial logrando no solo una multifuncionalidad, es decir una mayor actividad catalítica de la superficie, sino también una mejora en el transporte de las especies electroactivas sobre la superficie, y el pasivado del electrodo frente a reacciones no deseadas entre el mismo y el electrolito gracias a la formación de la interfase deseada.
- Se establecen distancias cortas de difusión, debidas a las dimensiones nanométricas del electrodo nanoestructurado, que sobre todo en el caso de las baterías de Li^+ , reducen la distancia recorrida por dichos iones y por los electrones durante los ciclos de carga y descarga. Los materiales no nanoestructurados por el contrario limitan la conductividad iónica y eléctrica, lo

que limita la potencia de la energía utilizable generada por el dispositivo. El uso de nanomateriales, permite un transporte de masas más rápido y mayores densidades energéticas.

- Incremento de la conductividad iónica y electrónica si se utilizan películas de espesor nanométrico de un material de naturaleza conductora, tanto iónica como eléctrica. También existe la posibilidad de formación de materiales compuestos de tamaño nanométrico, con distintos dominios, en cuyas interfases presenten un transporte iónico y de transferencia de electrones muy rápidos. Muchos de estos mecanismos de mejora aún se están estudiando, y no se tienen explicaciones claras de por qué la nanoestructuras ayudan a tal efecto^[139].
- La mejora de la resistencia mecánica e integridad estructural. Los nanomateriales de 0 o 1 dimensión (nanohilos, nanotubos, nanopartículas, etc.) presentan una alta resistencia mecánica y mejor resistencia a daños mecánicos, además se están diseñando nanoestructuras que sufran cambios en su volumen en ciertas direcciones o dimensiones^[140, 141].
- El utilizar arquitecturas jerárquicas de estructuras nanoporosas mejoran la actividad electrocatalítica y la estabilidad al mejorar el transporte de reactivos y productos hacia y desde la superficie del electrodo. Dada la gran relación superficie electroactiva/volumen de estos sistemas aumentan no solo la eficacia electrocatalítica sino también la robustez de la estructura.
- La nanoestructuración ofrece nuevos mecanismos para el almacenamiento del catión litio, tanto en superficie^[142], como en interfases^[143] y en nanoporos^[144] sin causar el desmoronamiento del material. También se ha demostrado que determinados materiales inertes a la inserción de litio a nivel macroscópico sí que interaccionan con el cuando se encuentran nanoestructurados^[34]

Uno de los objetivos de la tesis ha sido el desarrollo de un material para la fabricación de supercapacitores, por tanto en esta memoria se hará una introducción más detallada de los tipos existentes.

Los supercapacitores o capacitores electroquímicos son un tipo de dispositivos de almacenamiento energético que se está desarrollando y empleando en gran medida^[145]. Estos ofrecen una densidad de corriente 1 o 2 órdenes de magnitud superiores a las

baterías. Además los ciclos de carga y descarga aumentan entre miles y millones de ciclos con respecto a las mismas^[146]. Estas características hacen que los supercapacitores electroquímicos sean útiles para situaciones en las que se ha de aportar gran cantidad de corriente en poco tiempo y también para almacenar grandes cantidades de corriente generadas en periodos de tiempos muy cortos. Por ejemplo, el arranque de vehículos, el uso en ascensores, sistemas de producción de corriente eléctrica en casos de caída de la red, etc.^[147]

Los supercapacitores electroquímicos pueden clasificarse en^[148] (figura 11):

- Supercapacitores electroquímicos de doble capa: son aquellos que usan materiales con alta capacitancia, de modo que la separación de las cargas ocurre a nivel de la superficie a través de la interfase del material electródico y la disolución. Las cargas separadas son los iones que conforman el electrolito. En cualquier capacitor (condensador) la capacidad del mismo depende de manera inversamente proporcional a la distancia de separación de sus placas (es decir a la separación de sus cargas), por tanto en estos tipos de condensadores la distancia de separación es el espesor de la doble capa de Helmholtz, siendo esta separación del orden de 3 a 8 angstroms, distancia muchísimo más pequeña que las alcanzadas con un condensador convencional. Por lo general utilizan nanomateriales de carbono con una gran superficie específica como electrodos.
- Pseudocapacitores o capacitores electroquímicos: Son dispositivos que separan las diferentes cargas (positivas, negativas y neutras) que adquiere el material electródico como consecuencia de la intercalación o electroadsorción de los iones presentes en la disolución tras un proceso faradaico por el que el electrodo adquiere carga positiva, negativa o neutra. La reacción faradaica que se produce sobre el electrodo ha de ser rápida y reversible. Por lo que en general se emplean óxidos metálicos como RuO_2 o MnO_2 ^[149, 150], o polímeros conductores como la polianilina o polipirroles y sus derivados^[151].
- Los supercapacitores híbridos son aquellos que usan los dos principios anteriores para sus procesos de carga y descarga.

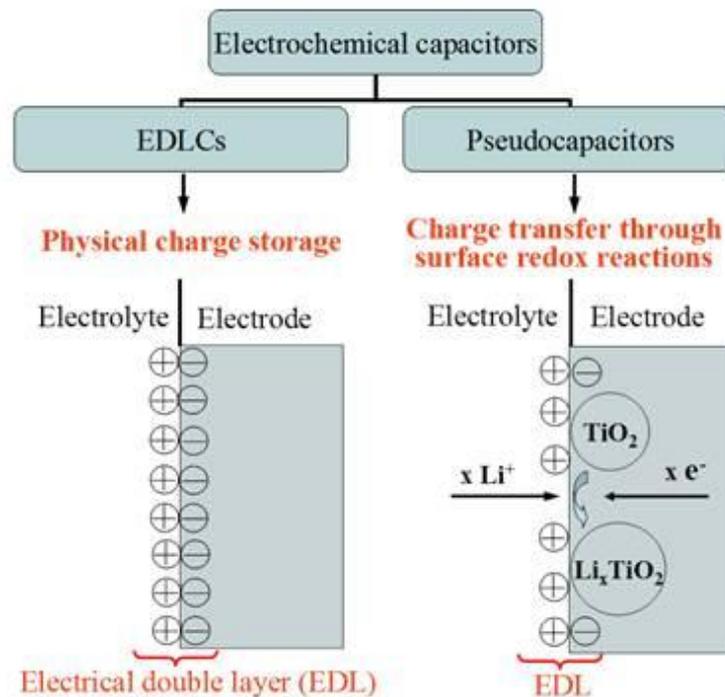


Figura 11- Clasificación de los tipos de supercapacitores en función de su mecanismo de funcionamiento para separar las cargas.

Los pseudocapacitores por lo general presentan mayor capacidad específica (300-1000 F/g) que los supercapacitores de doble capa (100-250 F/g), ofreciendo más densidad de corriente y más ciclos de vida útil.

Los materiales nanoestructurados aportan importantes ventajas a los pseudocapacitores, entre ellas destacar el transporte corto y rápido de electrones y de iones, una gran área superficial entre el electrodo y el electrolito, y nuevas reacciones redox que no se dan en el caso del material no nanoestructurado. Por el contrario presentan la desventaja de tener síntesis más complejas y mayores costes de fabricación.

Los electrodos más adecuados para actuar como supercapacitores de alto rendimiento son aquellos que presentan:

- Una gran capacitancia específica (energía por unidad de masa, volumen o área del material activo).
- Mantienen una alta capacitancia a altas velocidades de ciclado y altas densidades de corriente.

- c) Muestran una buena estabilidad con respecto a los ciclos de carga y descarga.
- d) Emplean materiales de baja toxicidad.
- e) Emplean materiales con el menor coste posible para abaratar gastos de fabricación.

Para conseguir estas cualidades hay que tener en cuenta ciertos factores que afectan de manera directa, entre ellos destacar^[152]:

- El área superficial: dado que las cargas se almacenan en la superficie del electrodo, un electrodo con una gran área electroquímica va a mejorar su capacitancia específica. La nanoestructuración de la superficie electródica es un método efectivo de aumentar dicha área electroactiva.
- La conductividad eléctrica e iónica: Tanto la capacitancia específica como la retención de capacitancia a altas velocidades de barrido dependen de la conductividad eléctrica e iónica, de manera que si ambas son elevadas se mantiene la forma rectangular del voltamperograma cíclico y la simetría de los procesos de carga-descarga galvanostáticos. Del mismo modo la pérdida de la capacitancia específica se reduce al aumentar la velocidad de barrido, así como la densidad de corriente. La nanoestructuración permite la puesta en juego de nuevos mecanismos para el transporte de electrones entre especies, de modo que mejora la conducción electrónica con respecto al material no nanoestructurado. Para mejorar la conductividad iónica es preciso el control del tamaño de poro del material, por lo que la nanoestructuración, en este caso de las cavidades del material, va a jugar un papel importante en la conductividad iónica.
- La estabilidad mecánica y química: La estabilidad de los ciclos durante los procesos de carga-descarga está altamente influenciada por la estabilidad mecánica del electrodo. Del mismo modo la estabilidad química es fundamental, ya que los cambios de fase del material, su disolución, así como reacciones en los bordes y defectos del material activo son una fuente importante de inestabilidad durante estos ciclos de carga-descarga. La solución por regla general a este problema conlleva la protección de la superficie electródica. Además del desarrollo de nuevos materiales, el estudio de nuevas arquitecturas

para los ya existentes puede aportar grandes avances en el campo de la estabilidad de los electrodos. Por tanto el desarrollo de nuevas nanoestructuras, con morfologías novedosas, o distribuciones de nanoelementos no conocidas pueden ser de gran aplicación en desarrollos futuros.

En general, los hexacianoferratos de metales de transición son materiales muy interesantes para el almacenamiento de carga debido a su estructura tridimensional característica, generalmente plagada de túneles (similar a las zeolitas). El hexacianoferrato de níquel (NiHCF) está considerado uno de los materiales electródicos más prometedores para la fabricación de capacitadores electroquímicos ya que puede cambiar de manera fácil y rápida de su forma oxidada a su forma reducida en electrolitos neutros que contengan cationes de metales alcalinos (Li^+ , Na^+ y K^+)^[153-157]. Su utilización en electrodos modificados ha sido, en general, en forma de películas. El poder utilizar nanoestructuras de este material supondría el aumentar las ventajas que esto presenta junto con las ventajas propias del hexacianoferrato de níquel para el desarrollo de capacitadores electroquímicos con muy buenas prestaciones.

Objetivos

En el desarrollo de la tesis se han perseguido dos objetivos principales distintos, pero relacionados entre sí. Concretamente se ha tratado de:

1. Generar nanoestructuras sobre superficies electródicas mediante técnicas electroquímicas a partir de polímeros de coordinación de valencia mixta. En particular se ha trabajado con los complejos yodo tetraquis (ditioacetato) diplatino $[Pt_2(MeCS_2)_4I]_n$ y níquel tetraquis (diacetato) $[Ni(MeCOS)_4]$ formados a partir de sus correspondientes electro-síntesis. Se presenta como una nueva vía para la síntesis de estos polímeros sobre superficies metálicas, que no requiere de un control exhaustivo de la superficie sobre las que se generan ni del consumo de muchos reactivos químicos, y que da lugar a nanoestructuras. Esta aproximación supone un avance respecto a la síntesis química convencional al evitar el utilizar reactivos químicos en exceso e ir hacia una química verde. Además, las superficies electródicas modificadas, con estas nanoestructuras se emplearán en el desarrollo de plataformas sensoras electroquímicas para la determinación de analitos de interés clínico y agroalimentario, como insulina y azúcares. Estas plataformas sensoras se acoplarán, como detectores electroquímicos, a sistemas de flujo y de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación en continuo en matrices complejas de los analitos mencionados. Además se evaluará su aplicación en un campo totalmente diferente al de los sensores, pero de gran actualidad e interés, el de la energía, al estudiar su potencial aplicación como dispositivos para el almacenamiento de energía.

2. La caracterización electroquímica de nanoestructuras de carbono modificadas con un mediador redox, el tetratiofulvaleno π extendido (ex-TTF). Estas nanoestructuras modificadas se han inmovilizado sobre electrodos convencionales para estudiar tanto el tipo de unión con el nanomaterial, como sus propiedades electroquímicas y en base a éstas su aplicación al desarrollo de biosensores sin adición de reactivo, en los que el mediador utilizado para mejorar la transferencia de carga entre la biomolécula y el electrodo, es la nanoestructura modificada con el ex-TTF.

Para alcanzar ambos objetivos se han diseñado los experimentos necesarios, se ha utilizado la metodología más adecuada en cada caso, se ha realizado una caracterización exhaustiva, mediante diversas técnicas, de las distintas etapas y todos los procesos producidos con el fin de validar las conclusiones alcanzadas.

Materiales y Métodos.

1. Reactivos, disoluciones y dispersiones.

1.1. Reactivos Comerciales.

Los reactivos comerciales utilizados en el presente trabajo fueron todos, al menos, de calidad reactivo para-análisis. Se utilizaron tal como se recibieron, sin ser sometidos a proceso de purificación o refinado alguno:

SIGMA-ALDRICH: diclorometano (CH_2Cl_2), cloroformo (CHCl_3), acetonitrilo (CH_3CN), tetrahidrofurano (THF), ciclopentanol, ciclohexanol, hidróxido potásico (KOH), hidróxido sódico (NaOH), nitrato potásico (KNO_3), nitrato de litio (LiNO_3), nitrato sódico (NaNO_3), cloruro sódico (NaCl), fosfato sódico dibásico, fosfato sódico monobásico, acetato de sodio, peróxido de hidrógeno (H_2O_2), yodo (I_2), perclorato de tetrabutil amonio (TBAP) (grado electroquímico), yoduro de tetrabutil amonio (TBAI), bromuro de tetrabutil amonio (TBABr), cloruro de tetrabutil amonio (TBACl), d-glucosa, d-fructosa, d-lactosa, d-galactosa, d-maltosa, insulina bovina, peroxidasa de rábano (*Horse Radish Peroxidase*) tipo II, Nafion 5%, glutaraldehído, l-arginina, l-citrulina, l-ornitina hidrociorada, urea, ácido clorhídrico, ácido perclórico, ferricianuro de potasio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), suero humano (usado como muestra para análisis mediante HPLC).

FLUKA: metanol, etanol, 1-butanol, perclorato potásico (KClO_4), perclorato de litio (LiClO_4), perclorato sódico (NaClO_4), hexafluorofosfato de tetrabutil amonio.

MERK: ácido sulfúrico, ácido acético.

FISHER: dimetilformamida (DMF).

RIEDEL-DE HÄEN: 1-Propanol, 2-Propanol.

El agua utilizada para llevar a cabo todas las preparaciones ha sido purificada a través de un sistema de agua ultrapura Direct Q-3 UV de Millipore, que proporciona valores de resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega/\text{cm}^2$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

1.2. Reactivos de síntesis.

1.2.1. Síntesis de diplatino tetrakis (ditioacetato) $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ y diyodo diplatino tetrakis (ditioacetato) $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.

La síntesis de estos complejos de coordinación ha sido descrita previamente^[158, 159]. En este estudio la síntesis fue llevada a cabo por el grupo de investigación del profesor Félix Zamora (Universidad Autónoma de Madrid) con el cual se colaboró durante el desarrollo de todo el trabajo.

A modo de resumen se describe los principales pasos llevados a cabo para la síntesis del complejo. Se añadieron 6 mmol de K_2PtCl_4 a 12 mmol de ácido ditioacético en 50 mL de dietil éter en atmósfera de aire. Se agitó la mezcla durante 48 h a temperatura ambiente y se filtró la mezcla de reacción. El sólido rojo retenido en el filtro fue lavado con 2 porciones de 100 mL de benceno hirviendo. La disolución roja resultante se filtró para eliminar impurezas y se enfrió a temperatura ambiente, precipitando un sólido rojo de composición $[Pt(MeCS_2)_2]$. Finalmente este precipitado rojo se disolvió en disulfuro de carbono a temperatura ambiente, obteniéndose una disolución roja que rápidamente apareció un polvo en suspensión, y a los pocos minutos un sólido marrón con la composición $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$.

Para la síntesis del complejo $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ se disolvieron 0.5 mmol de $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ en 200 mL de tolueno caliente y se añadieron gota a gota 0.5 mmol de I_2 disueltos en 20 mL de tolueno, formándose el complejo de color violeta.

1.2.2. Síntesis de diníquel tetrakis (monotioacetato) $[Ni_2(MeCOS)_4]$.

La síntesis de este complejo de coordinación no había sido descrita hasta la fecha, por lo que se detalla en esta memoria, aunque esta síntesis no ha sido objeto de estudio en la tesis. El desarrollo del método de síntesis fue realizado por el grupo de investigación del profesor Félix Zamora (Universidad Autónoma de Madrid) con el cual se ha colaborado para el desarrollo de esta parte del trabajo. La síntesis se realizó mediante una modificación del método previamente descrito en la bibliografía^[160]. Una disolución de ácido tioacético (2.866 g, 0.037 mol) en etanol caliente se trató con $[NiCO_3 \cdot 2 \cdot Ni(OH)_2 \cdot 4H_2O]$ (3.979 g, 0.018 mol) en proporciones adecuadas. El color cambia de un naranja pálido a rojo oscuro en aproximadamente 30 min, y la mezcla es agitada durante 4 h. La

suspensión formada se filtra, el precipitado es descartado, y el filtrado se deja toda la noche a -10°C hasta obtener unos cristales en forma de agujas de color rojo oscuro. El rendimiento de la reacción es de un 43%. Para caracterizar el material y comprobar que la composición era la adecuada, se analizó el material por RMN- H^1 y a través de un analizador elemental en el que se determinó las cantidades estequiométricas. Además se comprueba por UV-Vis que el espectro es el característico para este compuesto.

Los estudios de difracción de rayos X del nuevo material sintetizado confirmaron su estructura en forma de complejo de coordinación tipo Paddle-Wheel. En la tabla I se muestran los datos cristalográficos.

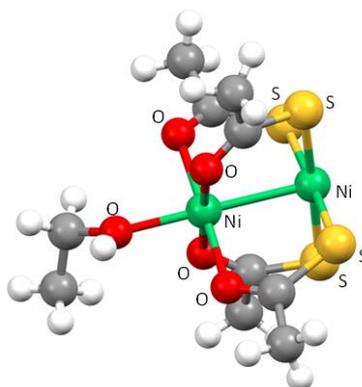


Figura 12- Estructura tridimensional del compuesto $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ obtenida por rayos X.

Tabla I- Parámetros cristalinos más relevantes del material sintetizado $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$.

Compuesto	$[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$.
Fórmula	$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{Ni}_4\text{O}_{10}\text{S}_8$
Peso molecular [g/mol]	927.81
Sistema cristalino	triclínico
Grupo espacial	P -1
a [Å]	9.2075(7)
b [Å]	12.9743(12)
c [Å]	17.252(2)
α [°]	106.886(5)
β [°]	98.733(5)
γ [°]	107.286(4)
V [Å ³]	1817.9(3)
Z	2
ρ_{calcd} (g/cm ³)	1.695
μ (mm ⁻¹)	2.543
Reflexiones recogidas	26322
Datos únicos/Parámetros	22836/378
R_{int}	0.0718
Bondad del ajuste (S) ^a	1.051
R_1^b/wR_2^c [$I > 2\sigma(I)$]	0.0631/0.1593
R_1^b/wR_2^c [all data]	0.1237/0.2249

1.2.3 Síntesis de tetratiofulvaleno π extendido (exTTF) modificado con 1 (exTTF-1-Pi) y 3 (exTTF-3-Pi) fracciones de pireno.

Las metodologías de síntesis de los compuestos de exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi, cuyas estructuras se describirán en detalle en el capítulo VI, han sido desarrolladas por el grupo de investigación del Profesor Nazario Martín (Universidad Complutense de Madrid). En esta memoria no se van a especificar detalles de su síntesis, ya que las mismas están siendo objeto de estudios en una tesis doctoral aún no defendida.

1.2.4. Síntesis del macrociclo (derivado exTTF) y de los nanotubos de carbono entrecruzados mecánicamente con el macrociclo (MINTs).

La molécula de macrociclo así como la estructura supramolecular a la que hemos llamado MINTs, estructuras que se describirán en detalle en el capítulo VII de la tesis, han sido sintetizadas por el grupo del investigador Emilio Pérez, (Instituto Madrileño de Estudios Avanzados, Nanociencia) con los que se ha colaborado para la realización de esta parte del trabajo. El método de síntesis del macrociclo está descrito en la bibliografía^[161]. A modo de resumen se incluye el esquema de la síntesis (figura 13). Para la formación de los MINTs, el último de los pasos del esquema (figura 13), se llevó a cabo en presencia de las cantidades apropiadas de nanotubos de carbono de pared simple de quiralidad (6,5), generándose los denominados MINTs tal y como se describe en la bibliografía^[162].

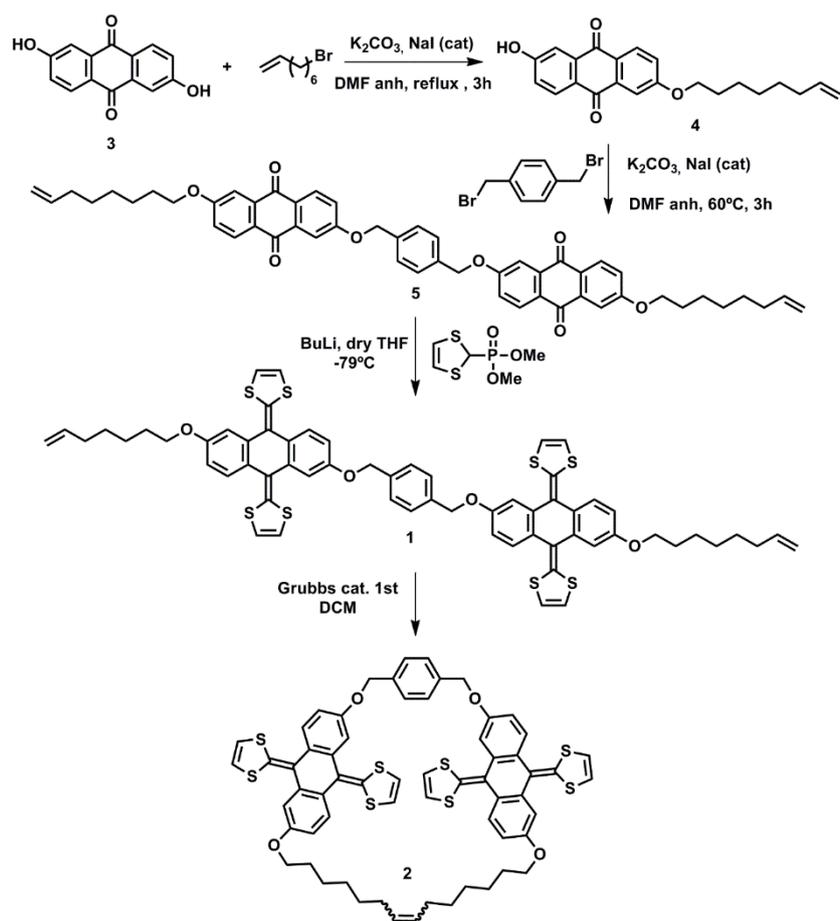


Figura 13- Esquema de síntesis del macrociclo.

1.3. Disoluciones.

- En el estudio electroquímico de los complejos derivados de diplatino tetrakis (ditioacetato) (Capítulo I) se utilizaron disoluciones de estos compuestos en diferentes concentraciones usando como electrolito soporte/disolvente tanto $\text{TBAP } 0.1 \text{ M} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$ como $\text{TBAP } 0.1 \text{ M} / \text{CH}_3\text{CN}$.
- En el estudio electroquímico de los complejos de diníquel tetrakis monotioacetato (Capítulo II) se usaron disoluciones de estos compuestos en diferentes concentraciones preparadas con $\text{TBAP } 0.1 \text{ M} / \text{CHCl}_3$.
- En el estudio de la electrooxidación catalítica de azúcares, alcoholes, insulina e intermediarios y derivados del ciclo de la urea (Capítulos II, III y IV) se prepararon estos compuestos en $\text{NaOH } 0.1 \text{ M}$.
- Las disoluciones empleadas como eluyentes en el sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) fueron:
 - Disolución de $\text{NaOH } 60 \text{ mM}$ en agua Milli Q.

- Disolución de NaOH 60 mM en agua Milli Q con un 3% de acetonitrilo como agente modificante.

En ambas disoluciones se filtró el agua Milli Q o la mezcla de agua Milli Q y acetonitrilo al 3% con filtros de celulosa y posteriormente se desgasificó aplicando vacío en el recipiente y agitando. De este modo se evita la presencia de CO₂ en el disolvente y por tanto de carbonatos, que son perjudiciales en el proceso de separación por cromatografía líquida con columnas de intercambio aniónico.

- Para la precipitación de proteínas de las muestras de suero sanguíneo analizadas por HPLC (capítulo IV) se emplearon disoluciones al 5% de ácido perclórico y agua Milli-Q.
- Para la reducción de nanopartículas de Ni(OH)₂ a níquel metálico (Capítulo V) se usaron disoluciones de LiClO₄ 0.1M/ CH₃CN.
- En la formación del complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) a partir de nanopartículas de níquel (Capítulo V) se usaron disoluciones de K₃[Fe(CN)₆] 1mM en KClO₄ 0.1 M/agua Milli Q.
- En la caracterización electroquímica de electrodos modificados con NiHCF como supercapacitadores (Capítulo V) se usaron disoluciones 0.1 M de las diferentes sales en agua Milli Q.
 - SALES: KClO₄, NaClO₄, LiClO₄, KNO₃, NaNO₃, LiNO₃, LiClO₄, LiClO₄.
- La reducción electroquímica de grafeno oxidado (capítulo VI) se llevó a cabo en disoluciones tamponadas de Acético/Acetato 0.1 M a pH 5.
- La caracterización de los procesos de adsorción de las moléculas de TTF π -extendidas (ExTTF) sobre distintos tipos de grafeno (Capítulo VI) se llevó a cabo en disoluciones de estos compuestos en diferentes concentraciones, usando como disolvente THF.
- Para las medidas electroquímicas con electrodos modificados con nanomateriales de carbono en los que se adsorbieron los compuestos de exTTF o sus derivados (capítulo VI) se usaron disoluciones TBAP 0.1 M/DMF.
- Las medidas electroquímicas con el biosensor de peróxido de hidrógeno (capítulo VI) se realizaron en disoluciones tamponadas de fosfato 0.1 M pH 6.5.

El ajuste del pH en las disoluciones tamponadas se realizó con disoluciones de HCl 0.1M y de NaOH 0.1 M.

- Para las medidas electroquímicas con electrodos modificados con nanotubos de carbono (SWCNT) y rotaxanos en diferentes configuraciones (Capítulo VII) se usaron disoluciones TBAP 0.1 M/DMF.
- Para el estudio del comportamiento electroquímico de rotaxanos en sus distintas configuraciones espaciales (macrociclo lineal y macrociclo cerrado) (capítulo VII) se disolvieron estos compuestos en TBAP 0.1 M/DMF obteniendo una concentración 0.16 mg/mL.

1.4. Dispersiones.

1.4.1. Dispersión de nanotubos de carbono carboxilados de pared múltiple (MWCNT-COOH).

Se utilizaron nanotubos de carbono carboxilados de pared múltiple (MWCNT-COOH), (>95% pureza de carbón) comercializados por Nanocyl S.A. con un diámetro medio de 9.5 nm y una longitud media de 1.5 μm . Se pesaron 10 mg de MWCNT-COOH y se dispersaron en 10 mL de agua Milli Q a los que previamente se había añadido 10 μL de Nafion 5% (disolución comercial), siendo la proporción de Nafion en la dispersión de MWCNT-COOH de 0.005%. La dispersión se sonicó 60 min en el baño de ultrasonidos para conseguir una total homogeneidad de los nanotubos. Se usó la misma dispersión para todo el estudio de electrooxidación catalítica de insulina, sonicándose la dispersión unos 30 min antes de su utilización.

1.4.2. Dispersión de grafeno oxidado (GO).

El grafeno empleado se sintetizó en nuestro grupo de investigación mediante una modificación del método de Hummers^[17, 163, 164] y se caracterizó mediante diversas técnicas (AFM, XPS, RAMAN, entre otras), datos que se recogen en la bibliografía citada en esta memoria al ser trabajos previos del grupo. Se determina inequívocamente que el material de partida utilizado es grafeno oxidado. La concentración de la disolución de partida ha sido de 1.0 mg/mL en tampón fosfato 0.1 M ajustado a pH 7.0. Previa a su utilización, la disolución de partida, se sonica durante al menos 60 minutos. De este

modo se consiguen separar los agregados formados por la interacción entre láminas de grafeno oxidado obteniendo una disolución homogénea de color marrón oscuro.

1.4.3. Dispersión de grafeno pristino.

La síntesis del grafeno pristino fue realizada por el grupo del profesor Nazario Martín. Para la obtención de suspensiones del nanomaterial se utilizó el método descrito por Coleman para la formación de grafeno a partir de la exfoliación de grafito en fase líquida^[165]. El método consistió en dispersar 200 mg de grafito en 100 mL de DMF y aplicar un sonicado suave mediante baño de ultrasonidos durante 150 min. La dispersión generada fue centrifugada a 500 rpm durante 45 min recogiendo el sobrenadante que es la dispersión usada para la modificación posterior de los electrodos.

1.4.4. Dispersión de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) modificados con macrociclo.

Para el estudio de la interacción entre nanotubos de carbono y rotaxanos se utilizaron nanotubos de pared simple (6,5-SWCNT) de la casa comercial SIGMA-ALDRICH. Se prepararon dispersiones de 6,5-SWCNT que contenían 0.34 mg/mL en TBAP 0.1 M/DMF. En estas dispersiones se disolvieron, según el caso 0.16 mg/mL de los rotaxanos (precursor lineal o macrociclo cerrado). En el caso del 6,5-SWCNT modificado con el rotaxano (*mechanical interlock nanotubes o MINTs*) se dispersaron 0.34 mg/mL del mismo en TBAP 0.1 M/DMF.

Para la modificación, por deposición de gota, de electrodos de carbón vítreo, se prepararon dispersiones de las mismas cantidades descritas en el párrafo anterior de MINTs y 6,5-SWCNT junto con la disolución de rotaxanos en DMF, pero en este caso sin electrolito soporte (TBAP).

2. Instrumentación.

2.1. Equipos.

Las operaciones básicas de laboratorio tales como homogenizaciones y separaciones de muestra se llevaron a cabo en un baño de ultrasonidos Sonicador Ultrasonic Cleaner y mediante una Centrifuga Hettich 320R provista de un rotor angular, respectivamente.

El pulido de los electrodos se realizó con una pulidora automática Metaserv de Buehler.

Para llevar a cabo las medidas electroquímicas se utilizó un analizador electroquímico Autolab PGSTAT302N de EcoChemie con los softwares GPES 4.9 y Nova 1.11.

Los estudios mediante microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo (EQCM) se realizaron con una microbalanza de cristal de cuarzo modelo SRS QCM 200 Instruments y un potenciostato Autolab PGSTAT302N.

Para los estudios con electrodos rotatorios disco-anilla se utilizó un bipotenciostato CHI 900b de la compañía CH Instruments

Las medidas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro PharmaSpec UV-1700 de SHIMADZU con cubetas de cuarzo de 1 cm de recorrido óptico.

La microscopía electrónica de barrido se realizó en el Instituto de Ciencias Materiales de la Comunidad de Madrid (CSIC-ICMM) con un Microscopio de barrido electrónico de Emisión de Campo (FE-SEM) NOVA NANOSEM 230 (FEI-SEM) usando un detector tipo VCD (bajo voltaje, alto contraste) y potenciales de emisión tan bajos como 300 V para mejorar la resolución y detalles en el sistema de UHV (ultra alto vacío) en el que se introducen las muestras. El microscopio está equipado con un detector de energía dispersa de rayos X (EDX) de la marca Ametek que permite el análisis semi-cuantitativo de elementos químicos.

Las medidas de espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) se llevaron a cabo en colaboración con el Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial (INTA-CSIC). Se utilizó una cámara de ultra alto vacío equipada con un detector de electrones hemisférico. Como fuente de rayos X se usó Al Ka (1486.6 eV) con una apertura de 7 mm X 20 mm. La presión de la cámara durante las medidas fue de $3 \cdot 10^{-10}$ mbar, y se llevaron a cabo a temperatura ambiente. En el caso de las medidas del polímero de coordinación

yodo tetrakis (monotioacetato) de diplatino $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}]_n$ (capítulo I), se analizaron los niveles atómicos O(1s), C(1s), S(2p), I(3d), Pt(4f), y Au(4f). Para el espectro global se usó una energía de 30 eV y para el análisis detallado de los niveles atómicos fue de 20 eV. Las energías para este último análisis se calibraron con respecto al pico Au(4f_{7/2}) fijado a 84.0 eV. En el caso de las medidas del compuesto diníquel tetrakis (diacetato) $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ (Capítulo II), se analizaron los niveles atómicos O (1s), C (1s), S (2p), Ni (2p), y Au (4f). Para el espectro global se usó una energía de 30 eV y para el análisis detallado de los niveles atómicos fue de 20 eV. Las energías para este último análisis se calibraron con respecto al pico Au (4f_{7/2}) fijado a 84.0 eV.

La espectrometría de masas se realizó en los servicios de apoyo a la investigación de la universidad Autónoma de Madrid (SIDI), en un espectrómetro de masas AB Sciex con un analizador QTOF híbrido modelo QSTAR pulsar. Como técnica de ionización se usó electrospray y como medio de ionización acetonitrilo.

Los estudios de microscopía atómica de fuerza (AFM) se realizaron en modo dinámico usando un microscopio de fuerzas atómica modelo Nanotec Electronica y operando a temperatura ambiente. Se utilizó un cantiléver de la marca Olympus con una fuerza nominal constante de 75 N/m. Las imágenes se procesaron con el software WSxM.

Las medidas de microscopia electrónica de transmisión (TEM), se realizaron en el Instituto Nacional de Microscopía Electrónica (Universidad Complutense de Madrid) con un microscopio TEM/STEM JEOL 2100F, que opera a 200 kV con un cañón de electrones termiónico de LaB₆ y utiliza una cámara CCD ORIUS SC1000 (Modelo 832). El equipo lleva acoplado un detector XEDS (INCA x-sight de Oxford Instruments), lo que le permite la posibilidad de análisis químico semi-cuantitativo.

Los espectros de RAMAN confocal se obtuvieron en un equipo Renishaw InVia Confocal Raman microscope y un láser de 785 nm en la Universidad de Cornell. Se realizaron medidas de Raman y electroquímica “*in situ*”.

Las medidas mediante análisis de inyección de flujo (FIA) se llevaron a cabo utilizando un sistema de tuberías acoplado a una bomba peristáltica de la marca Ismatec® y a un inyector de dos posiciones con 2 entradas y 3 salidas.

Para los análisis mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) se ha utilizado un equipo Jasco modelo Pu-2080 plus, conectado a un desgasificador en línea de la misma marca modelo DG-2080-54. Se utilizó una columna de separación de intercambio aniónico Dionex AminoPac PA10 (4X250 mm) de la marca Thermo. A la salida de la columna se conectó una tubería de modo que las sustancias eran conducidas para su determinación electroquímica a una celda electroquímica de flujo.

2.2. Celdas electroquímicas y electrodos.

Las medidas electroquímicas con electrodos cilíndricos (Disco) se realizaron en celdas fabricadas en el laboratorio de la configuración que se muestra en la Figura 14. Dependiendo del estudio, se utilizaron electrodos de trabajo comerciales de oro (Au) y carbón vítreo (GC) de la casa comercial CH Instruments. Como electrodo auxiliar siempre se usó un hilo de platino (99.99% de pureza; $\varphi=0.5\text{mm}$ de Goodfellow) enrollado sobre sí mismo de gran superficie. Como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de calomelanos específico para disolventes orgánicos (1M de LiCl) comercializado por Radiometer Analytical junto con un puente salino para introducirlo en la celda de medida. Para medidas en medio acuoso se empleó un electrodo calomelanos fabricado en el laboratorio.



Figura 14-Celda electroquímica de tres electrodos.

Con los electrodos de trabajo planos se utilizó una celda electroquímica diseñada en el laboratorio (Figura 15). Los electrodos de trabajo utilizados fueron placas de Au sobre

soporte de vidrio de 12mm X 12 mm especiales para AFM comercializadas por la casa Arandee, así como placas de HOPG de 10mm X 10 mm comercializadas por NTI Europe Company. Estos electrodos planos se acoplan a la celda en contacto con una junta tórica fabricada en Kalrez®, material que presenta gran resistencia a un gran número de disolventes orgánicos. Los electrodos de referencia y auxiliar fueron los mismos que en el caso anterior.



Figura 15- Celda electroquímica utilizada con electrodos de trabajo planos.

En los estudios con microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo (EQCM) se emplearon como electrodos de trabajo, cristales de cuarzo recubiertos de una lámina de oro proporcionados por SRS Instruments cuya frecuencia de oscilación es de 5 MHz, corte AT y diámetro de 2.54 cm.

Las medidas con electrodos rotatorios se han llevado a cabo con electrodos rotatorios de disco (RDE) y de disco-anilla (RRDE), fabricados de carbón vítreo el disco y de platino la anilla, de la casa PAIN. Este se conectó a un vástago para el control de la velocidad de rotación de la misma casa comercial.

Se realizaron medidas de RAMAN y electroquímica “in situ” usando la celda desarrollada en el grupo del profesor Héctor Abruña (Figura 16).

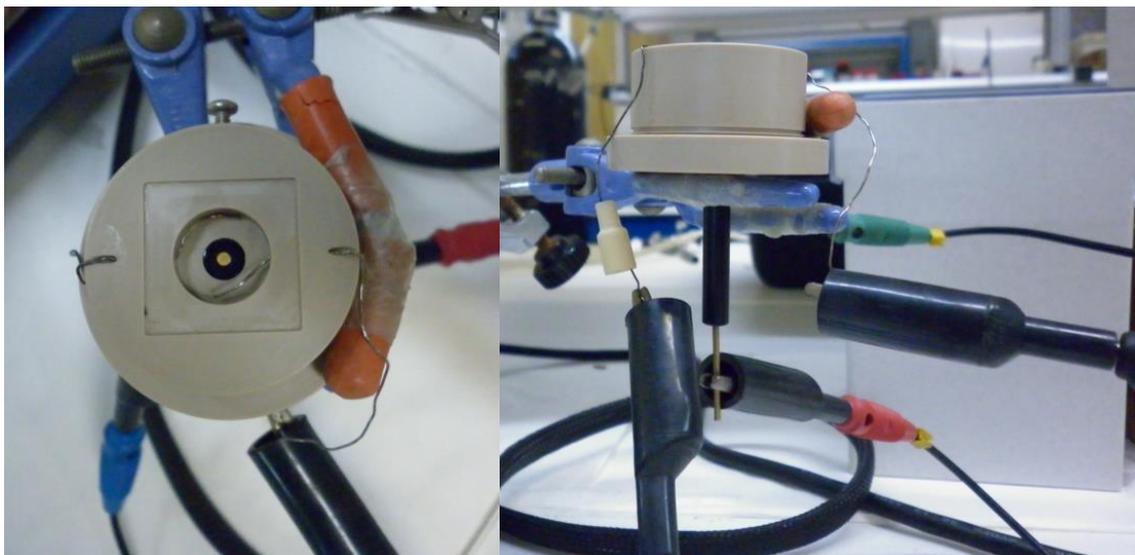


Figura 16- Celda electroquímica empleada para los estudios de Raman y electroquímica simultáneos.

Para las medidas en FIA y HPLC, se usaron como detector los electrodos serigrafados DRP-110SWCNT de la casa comercial Drop-Sens, modificados con la metodología que se describirá en el apartado 3.2.6 de Materiales y Métodos. Estos se introdujeron en una celda electroquímica de flujo acoplada al sistema de tuberías de la casa comercial Drop-Sens, diseñada para el uso de los electrodos serigrafados empleados. La detección tanto en el uso del sistema FIA como del sistema HPLC se realizó con el potenciostato Autolab PGSTAT302N de EcoChemie con los softwares GPES 4.9.

3. Procedimientos experimentales.

3.1. Pretratamiento de los electrodos.

Antes de su utilización, los electrodos de carbón vítreo o de oro se pulieron de modo exhaustivo usando la pulidora con pasta de diamante de 1 μm suministrada por Buehler. Una vez pulido, el electrodo se aclaró con agua y acetona. Posteriormente, se sonicó en agua destilada durante 1 minuto para eliminar cualquier resto que pudiese quedar de la pasta de diamante sobre la superficie del electrodo.

Los electrodos de carbón vítreo se utilizaron directamente tras el pulido sin ningún proceso de activación previa. Sin embargo, los electrodos de Au se activaron, en ausencia de oxígeno, en H_2SO_4 0.1 M mediante la aplicación de un potencial de +2.0 V durante 5 segundos, seguido de barridos de potencial cíclicos sucesivos a 4 V/s entre -0.35 V y +1.50 V durante 1 minuto. Finalmente se somete el electrodo a barridos de potencial cíclicos entre -0.35 V y +1.5 V a 100 mV/s para obtener una superficie de oro lo menos rugosa posible hasta obtener el voltamperograma característico del oro policristalino.^[166]

Las placas de Au/vidrio utilizadas como electrodos planos se sumergieron en disolución piraña (1 H_2O_2 : 3 H_2SO_4) durante 15 min previamente a su uso. Posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se secaron aplicándoles una corriente de nitrógeno. Una vez secas se calentaron con un mechero, llevándolas al rojo 3 veces con objeto de generar sobre la superficie de oro policristalino amplios dominios de Au que formen terrazas planas para facilitar el análisis de la superficie mediante la técnica de AFM.

Las placas de grafito pirolítico altamente orientado (*highly oriented pyrolytic graphite* o HOPG) se utilizaron tras renovar la superficie, pegando la superficie usada a una cinta adhesiva de Scotch® y tirando de ella, quedando una nueva capa de HOPG en la superficie.

Los cristales de microbalanza de cuarzo QCM se usaron sin ningún tratamiento previo tal y como son comercializados.

Para los estudios de RAMAN acoplado a electroquímica, los electrodos de oro se sometieron a un tratamiento previo con el fin de generar sobre su superficie

nanopartículas de oro, las cuales propicien el efecto SERS^[167] que favorece la detección de bandas menos intensas en microscopía RAMAN. Los electrodos se pulieron usando alúminas de tamaño de grano de 1, 0.3 y 0.05 μm , sucesivamente. A continuación se sumergieron en disolución piraña durante 15 min, y se enjuagaron con agua destilada. Seguidamente se realizó una limpieza electroquímica, aplicando 30 barridos cíclicos de potencial a 500 mV/s entre 0 V y -2.3 V en NaOH 0.5 M. Tras este paso se aplicaron otros 30 barridos cíclicos de potencial a 100 mV/s entre -0.2 V y 1.5 V en H_2SO_4 0.1 M. Finalmente se aplican 30 barridos cíclicos de potencial cíclico a 100 mV/s entre -0.2 V y 1.3 V en KCl 0.1 M.

3.2. Modificación de electrodos.

3.2.1. Generación electroquímica de nanopartículas yodo diplatino tetrakis (monotioacetato) $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}]_n$.

La generación electroquímica de nanoestructuras de $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}]_n$ se realizó en placas de Au/vidrio, placas de HOPG y cristales de cuarzo con recubrimiento de oro usados como electrodos de trabajo en EQCM. Para ello los electrodos se ponen en contacto con una disolución del monómero de partida diyodo diplatino tetrakis (monotioacetato) $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$ 0.25 mM preparada en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 , la cual había sido centrifuga a 7000 RPM durante 5 min para evitar partículas en suspensión que puedan depositarse durante el proceso de electrosíntesis interfiriendo en el resultado final. Tras borbotear con N_2 durante 5 min, para evitar la presencia de O_2 del medio se aplican 5 barridos cíclicos de potencial entre 1 y -0.75 V a una velocidad de barrido de 10 mV/s.

3.2.2. Generación electroquímica de microestructuras de níquel tetrakis (diacetato) $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$.

Se electrogeneraron microestructuras del compuesto $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ sobre placas de Au/vidrio, placas de HOPG, cristales de cuarzo con recubrimiento de oro de EQCM, electrodos de carbón vítreo y Au de disco, y electrodos carbón vítreo modificados con MWCNT carboxilados. Para ello se usaron disoluciones del complejo de níquel de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 las cuales había sido centrifugadas 7000 RPM durante 5 min para evitar materiales en suspensión y posteriormente borboteada

con N_2 para eliminar el oxígeno. Finalmente se aplicó sobre las superficies electródicas un potencial constante de oxidación de 1.15 V durante 150 s.

3.2.3. Generación electroquímica de diníquel tetrakis (diacetato) $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ sobre superficies electródicas.

Con el objetivo de obtener mayores cantidades del compuesto electrosintetizado para proceder a su caracterización y posterior utilización se realizó una variante del proceso descrito en el apartado anterior. Como electrodo de trabajo, en lugar de los electrodos comerciales o placas, se usó un hilo de oro enrollado sobre sí mismo. Este se sumergió en 20 mL de una disolución del complejo de partida $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ 0.25 mM, y se aplicó un potencial constante de 1.15 V durante 10000 s, lo cual es tiempo suficiente para que todo el compuesto de partida se transforme en $[Ni_2(MeCO_2)_4]$, como puede observarse dada la falta de coloración que presenta la disolución tras el proceso. El material se ha electrodepositado sobre la superficie del hilo de oro, sobre el que permanece al ser insoluble en $CHCl_3$. Para extraer el compuesto electrosintetizado de la superficie del hilo de Au, en primer lugar se limpia con cloroformo (para eliminar posibles restos de material que no ha reaccionado, así como para disolver el electrolito soporte del medio de reacción), y en segundo lugar se sumerge en acetonitrilo, medio en el que sí es soluble el tetrakis (diacetato) de diníquel electrosintetizado. Para que la extracción sea efectiva se sónica aproximadamente 1 h el hilo de oro sumergido en 1 mL de acetonitrilo.

3.2.4. Generación electroquímica de nanopartículas de hidróxido de níquel a partir de superficies electródicas modificadas con $[Ni_2(MeCO_2)_4]$.

Para la modificación de los distintos electrodos empleados durante el desarrollo de la tesis con nanopartículas de hidróxido de níquel, tanto en los que el diníquel tetrakis (diacetato) es electrogenerado directamente sobre su superficie, como en los que se deposita a partir de la disolución $[Ni_2(MeCO_2)_4]/CH_3CN$ mediante deposición de gota, los electrodos se sumergieron en NaOH 0.1 M y se aplicaron 50 barridos cíclicos de potencial entre 0 y 0.7 V a 100 mV/s. Mediante este sencillo paso las microestructuras de $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ se transforman en nanopartículas de $Ni(OH)_2$.

3.2.5. Modificación de electrodos de carbón vítreo con nanotubos de carbono, Nafion y nanopartículas de hidróxido de níquel.

Sobre un electrodo de carbón vítreo (GC) bien limpio y pulido, se depositaron 5 μL de una dispersión de nanotubos (MWCNT-COOH) de concentración 1 mg/mL en una disolución al 0.005 % de Nafion en agua Milli Q. Tras dejar secar los electrodos, se sumergieron en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 . Se aplicó un potencial constante de 1.15 V durante 150 s con el fin de electrodepositar el complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$. Tras este paso los electrodos modificados se sumergieron en NaOH 0.1 M, y se aplicaron 50 barridos cíclicos de potencial entre 0 y 0.7 V a 100 mV/s, obteniéndose nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ sobre la suspensión de MWCNT-COOH (figura 17).

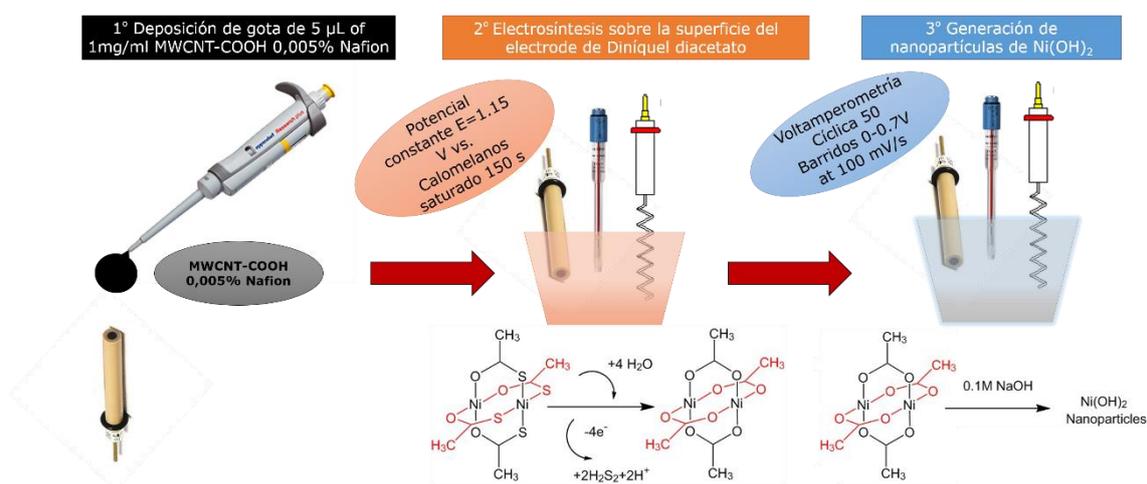


Figura 17- Representación esquemática de la fabricación de electrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion}/\text{MWCNT-COOH}/\text{GC}$.

Para caracterizar los MWCNT-COOH modificados con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$, por la técnica de microscopía electrónica de transmisión (TEM), los nanotubos modificados según se ha descrito en este apartado, se rasparon cuidadosamente con una espátula de plástico, recogiendo los de la superficie eléctrica en un pequeño eppendorf y se añadieron unos 100 μL de acetona, con objeto de resuspenderlos en un disolvente volátil. 10 μL de esta suspensión se depositaron sobre las rejillas de Cu de TEM (ALFA AESAR) y se observaron en el microscopio.

3.2.6. Modificación de electrodos de nanotubos de carbono con nanopartículas de Ni(OH)₂.

Electrodos serigrafiados comerciales de Drop-Sens fabricados con nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) se modificaron con 5 μ L de la disolución de tetrakis (diacetato) de níquel/acetonitrilo, previamente sintetizada por electrooxidación del precursor tetrakis (monotioacetato) de níquel sobre un hilo de oro (tal como se ha descrito en el apartado 3.2.3) y dejando evaporar el disolvente. Una vez secos los electrodos se activaron en NaOH 0.1 M, aplicando 50 ciclos de barrido de potencial entre 0 V y 0.7V a 100 mV/s con el fin de transformar el complejo de tetrakis (diacetato) de níquel en nanopartículas de hidróxido de níquel. Para analizar por TEM las nanopartículas formadas se siguió una aproximación, la cual consistió en depositar sobre un electrodo de carbón vítreo 5 μ L de una dispersión de nanotubos (6,5-SWCNT) de 1 mg de SWCNT/mL en dimetilformamida (DMF). Tras dejar secar se depositaron 5 μ L de la disolución de [Ni₂(MeCO₂)₄]/CH₃CN habitualmente usada, y se dejó secar. A continuación se activó el electrodo en NaOH 0.1 M para formar el Ni(OH)₂ y se recogieron en un eppendorf los nanotubos modificados con Ni(OH)₂ de la superficie del electrodo raspando con una pequeña espátula de plástico. Finalmente, se adicionaron 100 μ L de acetona, y se resuspendieron los SWCNT. De esta nueva suspensión se tomaron 5 μ L y se depositaron sobre las rejillas de TEM de cobre, dejándolas secar.

3.2.7. Modificación de electrodos con nanopartículas de níquel hexacianoferrato (NiHCF).

En primer lugar se llevó a cabo la modificación de electrodos de Au y GC con [Ni₂(MeCO₂)₄] por electrooxidación del precursor [Ni₂(MeCOS)₄] 0.25 mM mediante cronoamperometría a 1.15 V durante 150 s.

Los electrodos modificados con [Ni₂(MeCO₂)₄] se sometieron a barridos cíclicos de potencial (50) entre 0 y 0.7 V a 100 mV/s en NaOH 0.1 M para generar las nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre el electrodo. Estas nanopartículas se redujeron a Ni metálico mediante barridos cíclicos de potencial (3) de 0 a -2.3 V a 10 mV/s en LiClO₄ 0.1 M/CH₃CN. Finalmente los electrodos se enjuagaron en CH₃CN, se sumergieron en una disolución

de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1 mM en 0.1 M KNO_3 , previamente purgada con Ar, y se aplicaron 30 barridos cíclicos de potencial entre 0 y 0.8 V.

3.2.8. Modificación de electrodos con grafeno.

Electrodos de carbón vítreo se modificaron con diferentes nanomateriales de carbono. Se usaron 3 nanomateriales gráfiticos, grafeno oxidado (GO), grafeno oxidado electroquímicamente reducido (GO_ER) y grafeno pristino.

- 5 μ L de GO (1mg/mL PBS pH 7.0) se depositaron sobre la superficie del electrodo que se dejó secar a temperatura ambiente.
- En el caso de GO_ER, tras depositar 5 μ L de GO (1mg/mL PBS pH 7.0) sobre la superficie del electrodo, se dejó secar y se llevó a cabo la reducción electroquímica del grafeno, en tampón acético/acetato 0.1 M pH 5 aplicando al electrodo 15 barridos cíclicos de potencial entre 0 y -2 V a una velocidad de 50 mV/s.
- En el caso del grafeno pristino, con el fin de depositar una cantidad similar a la de los dos casos anteriores, 50 μ L de la dispersión de este material (apartado 1.4.3) se depositaron sobre la superficie del electrodo y se dejó secar el electrodo en un desecador a vacío.

3.2.9. Modificación de electrodos de grafeno con tetratiofulvaleno π -extendido.

Una vez modificados los electrodos con los distintos nanomateriales, se modificaron con las moléculas electroactivas (exTTF, exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi) sumergiéndolos durante el tiempo apropiado (en función del estudio que se realizó) en disoluciones de estas moléculas en THF.

3.2.10. Preparación de un biosensor de peróxido de hidrógeno.

Un electrodo de carbón vítreo modificado con grafeno oxidado electroquímicamente reducido (GO_ER) tal y como se describen en el apartado (3.2.8) de Materiales y Métodos, se sumergió en una disolución de exTTF-1-Pi 0.36 mM en THF durante 15 horas. Transcurrido este tiempo, se enjuagó el electrodo varias veces con THF limpio, para desprender aquellas moléculas que no han sido directamente adsorbidas sobre el electrodo y se dejó secar al aire. Finalmente se depositaron 2.5 μ L de una disolución de

12.1 Unidades de HRP/mL en PBS pH 6.5, y sobre ésta para provocar el entrecruzamiento de la enzima, de modo que quede inmovilizada sobre la superficie del electrodo, 2.5 μ L de una disolución 2.5% glutaraldehído. El electrodo se dejó secar, almacenado a 4°C para su posterior utilización.

3.2.11. Modificación de electrodos con nanotubos de carbono y rotaxanos.

Los electrodos de carbón vítreo se modificaron con nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) junto con las distintas configuraciones del rotaxanos (macrociclo lineal o macrociclo cerrado) en disolución o bien con estos mismo nanotubos previamente modificados con rotaxanos (MINTs), mediante deposición de 5 μ L de sus respectivas dispersiones en DMF. Tras la deposición se dejaron secar en un desecador a vacío.

3.3. Pretratamiento de muestras.

3.3.1. Muestras de plasma sanguíneo humano y de preparados farmacéuticos comerciales para el análisis de insulina.

Las muestras de plasma sanguíneo fueron centrifugadas con un filtros Amicon® Ultra 3K. Este filtro tiene el tamaño de poro adecuado para que pasen las moléculas pequeñas como glucosa, así como otras moléculas pequeñas que contengan grupos hidroxilos, aminos o tioles, que son interferentes para el método de detección empleado. Por el contrario el filtro impide el paso de proteínas o cualquier componente con un peso molecular superior en torno 3000 Da. Por tanto la insulina queda retenida en el filtro. Las condiciones empleadas fueron: filtrar las muestras con centrifugación durante 2 horas a 7000 RPM. A continuación se resuspendió el contenido retenido en el filtro en NaOH 0.1 M, y se introdujo en la celda de medida.

La determinación de insulina en preparados farmacéuticos de la casa comercial NovoRapid® y Lantus® se procedió de la misma manera. Habitualmente estos preparados contienen glicerol, con el objeto de solubilizar y mantener estables las proteínas. El glicerol contiene 3 grupos hidroxilos, los cuales interfieren con el detector empleado y por ello, al igual que se procedió con el plasma para eliminar la glucosa, se pretrató la muestra con centrifugación durante 2 horas a 7000 RPM, y se resuspendió el contenido retenido en el filtro en NaOH 0.1 M, y se introdujo en la celda de medida.

3.3.2. Muestras de suero sanguíneo humano y orina para la determinación de aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea por HPLC.

Muestras de suero humano de Sigma-Aldrich se trataron con 1 mL de ácido perclórico al 5% por cada mL de suero que se analizaba y se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 min manteniendo la temperatura a 4°C. Se recogió el sobrenadante y se añadió NaOH 1 M, comprobando el pH mediante el empleo de papel de pH indicador hasta pH aproximado de 5-6. Una vez alcanzado dicho pH 2 mL de la muestra se pasaron por un cartucho de extracción en fase sólida de la marca Agilent Technologies, cuyo adsorbente era una resina de intercambio catiónico modelo Plexa PCX 6CC con 200 mg de sólido adsorbente. A continuación se pasaron 15 mL de agua Milli-Q, en fracciones de 5 mL por el cartucho de extracción. Para la elución de los aminoácidos se utilizaron 2 mL de 120 mM NaOH. Las disoluciones obtenidas se analizaron mediante HPLC.

Las muestras de orina se diluyeron en un factor de 1:20 con agua Milli-Q. 4 mL de la misma se pasaron directamente por el cartucho de extracción en fase sólida. A continuación se pasaron 15 mL de agua Milli-Q, en fracciones de 5 mL por el cartucho de extracción. Para la elución se utilizaron 4 mL de NaOH 120 mM, analizándose la disolución eluída con los aminoácidos.

4. Cálculo de parámetros y constantes de interés.

4.1. Coeficiente de transferencia de carga. Especies en disolución.

El cálculo del coeficiente de transferencia de carga (α) de especies electroactivas en disolución se realizó mediante voltamperometría cíclica, haciendo un estudio de velocidades de barrido, y obteniendo de los distintos voltamperogramas los valores de potencial de pico anódico y catódico, de los sistemas bajo estudio. El potencial de pico está relacionado con la velocidad de barrido a través de las ecuaciones (1) (para picos catódicos) y (2) (para picos anódicos).^[168]

$$E_p = E^0 - \frac{2.3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot n \cdot \alpha \cdot F} \cdot \log \frac{\alpha \cdot F}{R \cdot T \cdot K_s} - \frac{2.3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot n \cdot \alpha \cdot F} \cdot \log v \quad (1)$$

$$E_p = E^0 - \frac{2.3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot n \cdot (1 - \alpha) \cdot F} \cdot \log \frac{(1 - \alpha) \cdot F}{R \cdot T \cdot K_s} - \frac{2.3 \cdot R \cdot T}{2 \cdot n \cdot (1 - \alpha) \cdot F} \cdot \log v \quad (2)$$

donde E^0 es el potencial formal del sistema (V), R es la constante de los gases perfectos (8.31 J/ K·mol), T es la temperatura en Kelvin, K_s es la constante de transferencia de carga, y F la constante de Faraday (96485 A·s/mol).

Estas ecuaciones son aplicables a sistemas electroquímicos irreversibles^[168]. Representando el valor del potencial de pico (E_p) frente al logaritmo de la velocidad de barrido ($\log v$) se obtiene una línea recta, de cuya pendiente se puede calcular el producto de parámetros desconocidos $n \cdot \alpha$. Una vez obtenido el número de electrones involucrados en el proceso electroquímico de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4.3, se pueden calcular el coeficiente de transferencia de carga α y la constante de transferencia de carga K_s .

4.2. Coeficiente de difusión mediante electrodo rotatorio de disco-anilla (RRDE).

El coeficiente de difusión de las distintas moléculas electroactivas estudiadas, tanto en disolución como en dispersiones interaccionando con SWCNT, se ha calculado mediante el método descrito por Chatenet. M.^[169, 170] Este método emplea un electrodo rotatorio de disco anilla (RRDE) y consiste en aplicar un potencial constante en la anilla, en el cual se produce la electrooxidación o la electroreducción de la especie a estudiar, mientras que en el disco se aplica un potencial constante, al que no se oxida ni se reduce ninguna

especie. Una vez estabilizada la corriente de la anilla (estando el proceso controlado por difusión, sin impedimento cinético) se continúa aplicando el mismo potencial sobre la anilla, y se aplica el mismo potencial sobre el disco, de tal modo que el mismo proceso, bien electrooxidación o bien electroreducción, que está ocurriendo en la anilla comienza a ocurrir en el disco. De esta forma se produce una competición por la oxidación o reducción de la molécula de interés entre el disco y la anilla. Debido al movimiento rotatorio del electrodo la especie electroactiva en disolución difunde primero al disco, y comienza a oxidarse o reducirse mientras que a la anilla llega menor cantidad de especie electroactiva sin reaccionar, y por tanto la corriente registrada disminuye en valor absoluto. El tiempo en el que sucede esta disminución depende de la velocidad de difusión de la molécula de interés, que a su vez está relacionado con su coeficiente de difusión intrínseco y con la velocidad de rotación que se aplica al electrodo rotatorio. Los autores del método han desarrollado una ecuación (3) que relaciona el tiempo que tarda en disminuir la corriente de la anilla (t_s) (*transit time* o tiempo de transito) desde que se empieza a aplicar el mismo potencial en el disco y en la anilla, con la velocidad de rotación del electrodo (ω) y con el coeficiente de difusión (D) de la especie de interés. De este modo, de la pendiente de la representación de t_s vs ω^{-1} se puede calcular el coeficiente de difusión (D) sin necesidad de conocer el número de electrones del proceso electroquímico. Este método es de gran utilidad, ya que se puede determinar primero el coeficiente de difusión y con éste mediante la ecuación de Cottrell calcular el número de electrones del proceso electroquímico bajo estudio.

$$t_s = [K \left(\frac{\nu}{D}\right)^{1/3}] / \omega \quad (3)$$

donde ν representa la viscosidad cinemática en cm^2/s (parámetro que depende del disolvente usado y del electrolito soporte que contiene), K es un factor que depende única y exclusivamente de las dimensiones del electrodo, y de la separación del disco y la anilla. Para calcular el valor de este factor, que tiene unidades de tiempo/velocidad de rotación (s/rpm) se usa la siguiente expresión:

$$K = 43.1 (\log(r_{\text{interno anilla}}/r_{\text{externo disco}}))^{2/3} \quad (4)$$

$r_{\text{interno anilla}}$ representa el radio interno del electrodo de anilla y $r_{\text{externo disco}}$ representa el radio externo del electrodo de disco. Para el electrodo usado en todas nuestras medidas el valor de K fue de 4.428, siendo $r_{\text{interno anilla}}$ 5.0 mm y $r_{\text{externo disco}}$ 4.6 mm.

4.3. Número de electrones implicados en los procesos electroquímicos.

Una vez determinado el coeficiente de difusión D por el método descrito en el apartado anterior se usó la ecuación de Cottrell^[168] (ecuación (5)) o su integrada para $t=0$ (ecuación (6)) para obtener el número de electrones mediante cronoamperometría y cronocoulombimetría respectivamente.

$$i(t) = \frac{n \cdot F \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C_0}{\pi^{1/2} \cdot t^{1/2}} \quad (5)$$

$$Q_d = \frac{2 \cdot n \cdot F \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C_0 \cdot t^{1/2}}{\pi^{1/2}} \quad (6)$$

4.4. Recubrimiento superficial del material depositado sobre la superficie electródica.

El recubrimiento superficial de los materiales electrodepositados o adsorbidos sobre las diferentes superficies electródicas se ha estimado a partir de la integración del área de pico, tanto anódico como catódico, de los correspondientes voltamperogramas cíclicos de los electrodos modificados, medidos en cada uno de los disolventes y electrolito soporte correspondientes. Dicho recubrimiento se calculó a partir de la siguiente expresión.

$$\Gamma = \frac{Q}{n \cdot F \cdot A} \quad (7)$$

siendo Q la carga obtenida por integración del pico anódico o catódico, n el número de electrones implicados en el proceso, F la constante de Faraday (C/mol) y A el área geométrica del electrodo de trabajo (cm²).

4.5. Constante heterogénea de transferencia de carga. Especies inmovilizadas sobre la superficie del electrodo.

La constante heterogénea de transferencia de carga (k_s) entre los mediadores redox inmovilizados y la superficie electródica se ha calculado mediante voltamperometría

cíclica utilizando el método descrito por Laviron.^[171] Este establece que cuando la diferencia de potencial de pico anódico y catódico supera el valor correspondiente a $200/n$ mV, es posible calcular el coeficiente de transferencia de carga (α) mediante las ecuaciones (8) y (9), así como la constante heterogénea de transferencia de carga (k_s) para el sistema sometido a estudio, utilizando para ello la ecuación (10).

$$E_{pa} = E^{0'} + \frac{2.3 RT}{(1-\alpha)nF} \cdot \log v \quad (8)$$

$$E_{pc} = E^{0'} - \frac{2.3 RT}{\alpha nF} \cdot \log v \quad (9)$$

$$\log k_s = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log \frac{RT}{nFv} - \frac{nF\Delta E_p \alpha(1-\alpha)}{2.3RT} \quad (10)$$

El coeficiente de transferencia de carga (α) puede calcularse gráficamente. Para ello, en primer lugar se representan los potenciales de pico anódico y catódico frente al logaritmo de la velocidad de barrido, obteniéndose dos curvas asintóticas respecto al potencial formal del sistema. Cuando se supera el valor propuesto por Laviron de $200/n$, de la intersección de las pendientes de las rectas con el potencial formal se obtiene el coeficiente α mediante las ecuaciones (8) y (9).

4.6. Constante catalítica mediante el método de Galus.

La constante catalítica de transferencia de carga en procesos electrocatalíticos con electrodos modificados se ha estimado mediante cronoamperometría de un solo pulso en función de la concentración de sustrato, según el método descrito por Galus^[172]; utilizando para ello la siguiente expresión.

$$I_{cat}/I_{med} = \gamma^{1/2} [\pi^{1/2} \operatorname{erf}(\gamma^{1/2}) + \exp(-\gamma)/\gamma^{1/2}] \quad (11)$$

donde el parámetro I_{cat}/I_{med} , se define como la eficiencia catalítica del electrodo modificado, expresada como la respuesta del mismo en presencia (I_{cat}) y en ausencia (I_{med}) de la sustancia electrocatalizada, γ es el argumento de la función error (ó erf) y toma el valor del producto $k \cdot C_0 \cdot t$, donde C_0 es la concentración de la sustancia electrocatalizada (mol/L) en el seno de la disolución, t el tiempo de muestreo (s) y k la constante catalítica del proceso, en $M^{-1} \cdot s^{-1}$. En aquellos casos donde γ es superior a 2, la

función error toma el valor de 1. Por tanto, la ecuación anterior se puede reescribir como.

$$I_{cat}/I_{med} = \pi^{1/2}\gamma^{1/2} = \pi^{1/2}(kC_0t)^{1/2} \quad (12)$$

La representación de la eficiencia catalítica (I_{cat}/I_{med}) respecto a la raíz cuadrada del tiempo de muestreo ($t^{1/2}$) para las distintas concentraciones de la especie electroactiva es una línea recta. De la representación de las pendientes de esta recta frente a $C^{1/2}$ se obtienen una recta, cuya pendiente permite estimar la constante catalítica de transferencia de carga (k) de acuerdo con la ecuación (12).

4.7. Constante catalítica mediante el método de Koutecky-Levich.

La constante catalítica de transferencia de carga se calculó mediante el método de Koutecky-Levich utilizando el electrodo de disco rotatorio (RDE). Se obtuvieron los voltamperogramas lineales a velocidades de barrido bajas (20 mV/s), a distintas velocidades de rotación y se midió la intensidad límite de corriente (I_{lim}) pasado el pico catalítico, en lo que se considera la región difusional del voltamperograma. La inversa de la intensidad de corriente está relacionada linealmente con la inversa de la raíz cuadrada de la velocidad de rotación (ω) a través de la conocida ecuación de Koutecky-Levich (13).^[168, 173, 174]

$$\frac{1}{I_{lim}} = \frac{1}{n \cdot F \cdot A \cdot k' \cdot c} + \frac{1}{0.62 \cdot n \cdot F \cdot A \cdot \nu^{-1/6} \cdot D^{2/3} \cdot \omega^{1/2} \cdot c} \quad (13)$$

donde I_{lim} es la intensidad de corriente en la zona difusional del proceso en amperios (A), n es el número de electrones involucrados en el proceso electroquímico, F es la constante de Faraday (96485 C/mol), A es el área del electrodo (cm^2), k' es la constante catalítica del proceso (cm/s), c y D son la concentración (mol/cm^3) y el coeficiente de difusión (cm^2/s) de la especie bajo estudio, ν es la viscosidad cinemática (cm^2/s), y ω es la velocidad de rotación del RDE (rad/s).

4.8. Masa depositada sobre la superficie electródica mediante la microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo.

La microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo es una técnica muy útil para estudiar "in situ" procesos que ocurren en la interfase electrodo-disolución como por ejemplo

procesos de electrodeposición, adsorción de especies o la formación de películas electrogeneradas. La variación en la frecuencia de resonancia del cristal debida a fenómenos de deposición/adsorción, permite obtener información cuantitativa de los cambios de masa que tienen lugar en la superficie del electrodo del oscilador de cuarzo cuando estamos variando el potencial del mismo, mediante la aplicación de la ecuación de Sauerbrey (14) [175]

$$\Delta F = -C_f \cdot \Delta m \quad (14)$$

donde ΔF es la variación de frecuencia de oscilación del cristal en hercios (Hz) asociada a la variación en la masa depositada Δm , y C_f es el la constante que engloba las características del cristal, en este caso $17.7 \text{ ng}/(\text{Hz}\cdot\text{cm}^2)$.

4.9. Capacitancia específica de un supercapacitador a partir de voltamperometría cíclica.

Para el cálculo de la capacitancia específica de un material depositado sobre un electrodo a partir de voltamperogramas cíclicos se usó la expresión:

$$C = \frac{\int_{E_1}^{E_2} I(V)dV}{2 \cdot \Delta E \cdot v \cdot m} \quad (15)$$

donde C es la capacitancia específica en Faradios/gramos (F/g), $\int I(V)dV$ es la integral entre los potenciales E_2 y E_1 , de la intensidad de corriente registrada con respecto al potencial, viene dada en culombios (C), ΔE es la diferencia de potenciales E_2-E_1 en voltios (V), v es la velocidad de barrido de potencial del voltamperograma cíclico en voltios/segundos (V/s) y m es la masa del material supercapacitador en gramos.

4.10. Ajustes de las isothermas a los modelos de Langmuir, Freundlich y Sips.

Los procesos de adsorción de las especies electroactivas estudiadas (exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi) sobre electrodos de GC modificados con nanomateriales de carbono (grafeno oxidado (GO), grafeno oxidado electroquímicamente reducido (GO_ER) y grafeno pristino) se ajustaron a los modelos matemáticos usados habitualmente para el estudio de estos fenómenos de adsorción. En particular los datos de recubrimiento obtenidos por voltamperometría cíclica a partir de la ecuación (7) de los electrodos modificados

con las especies electroactivas se ajustaron, a los modelos de Langmuir, Freundlich y Sips.

El modelo de Langmuir^[176] es el más usado para ajustes de isothermas de adsorción. Este modelo asume la formación de una monocapa de adsorbato sobre la superficie del adsorbente, la cual se considera homogénea, es decir que todas las posiciones están igualmente favorecidas a la adsorción del adsorbato. El modelo no considera la posibilidad de formación de otras capas de adsorbato sobre la primera monocapa generada. El modelo viene representado matemáticamente por la siguiente ecuación (16):

$$\Gamma = \frac{\Gamma_s \cdot K \cdot C}{K C + 1} \quad (16)$$

donde Γ (mol/cm²) representa el recubrimiento superficial de material electroactivo adsorbido sobre el electrodo, Γ_s (mol/cm²) es el máximo recubrimiento superficial de material electroactivo adsorbido, C (M) es la concentración del adsorbato en disolución y K (M⁻¹) es la constante de equilibrio de asociación.

Otro de los modelos más ampliamente utilizados en el estudio de fenómenos de adsorción es el modelo de Freundlich^[177], el cual se aplica en situaciones en las que se considera la superficie del adsorbente energéticamente heterogénea para el proceso de adsorción, es decir, que determinadas posiciones del adsorbente van a estar más o menos favorecidas para dar lugar al proceso de adsorción del adsorbato sobre ellas. También considera la adsorción en capas sucesivas, teniendo en cuenta por tanto la interacción entre las moléculas de adsorbato entre sí, además de con el material adsorbente. La ecuación matemática a la cual se ajusta este modelo es la siguiente:

$$\Gamma = K_f C^{1/n} \quad (17)$$

donde Γ y C tienen el mismo significado que en el modelo anterior. El parámetro n da idea de la afinidad adsorbato/adsorbente considerándose una buena adsorción si toma valores entre 1 y 10, y muy buena si es por encima de 10.^[178] K_f es la constante de equilibrio de asociación.

El tercero de los modelos utilizados ha sido el modelo de Freundlich-Langmuir^[179], más conocido como el modelo de Sips. Este modelo resulta un híbrido de combinar las

expresiones matemáticas que definen los modelos anteriores, obteniéndose una expresión con más parámetros a los que ajustar el sistema y que por tanto suele ser más versátil y ajusta mejor los procesos de adsorción que sigan modelos intermedios entre los dos ideales mencionados. La expresión matemática a la que se ajustan la isoterma de adsorción es la siguiente:

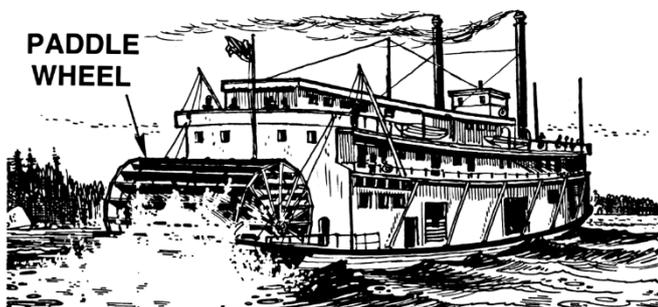
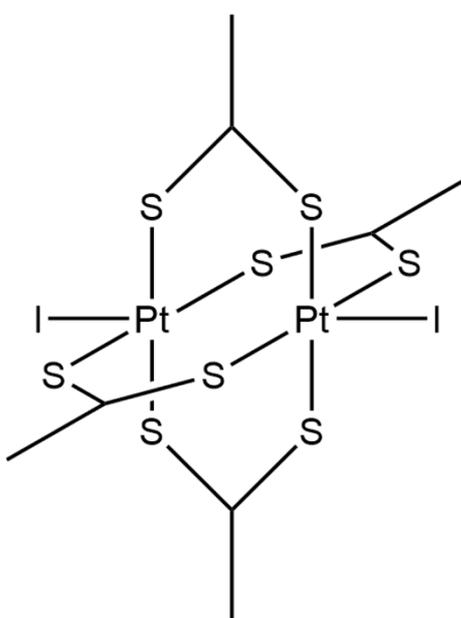
$$\Gamma = \frac{\Gamma_s \cdot K \cdot C^{1/n}}{1 + K \cdot C^{1/n}} \quad (18)$$

donde Γ (mol/cm²), al igual que en el modelo de Langmuir, representa el recubrimiento superficial de material electroactivo adsorbido sobre el electrodo, Γ_s (mol/cm²) es el máximo recubrimiento superficial de material electroactivo adsorbido, C (M) es la concentración del adsorbato en disolución, K (M⁻¹) es la constante de equilibrio de asociación y n es un parámetro de ajuste del propio modelo similar al del modelo de Freundlich.

Los datos se ajustaron a estos 3 modelos matemáticos usando el programa de tratamiento de datos OriginPro 8.0.

Resultados y discusión.

**Capítulo I- Generación
electroquímica y caracterización de
nanoestructuras de diplatino yodo
tetrakis (monotioacetato)
[Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.**



Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

Los polímeros de coordinación (CPs) son compuestos organometálicos formados por la asociación de dos tipos diferentes de bloques de unión, la entidad metálica (iones metálicos) y el ligando de unión (generalmente de naturaleza orgánica), que se repiten sucesivamente en el espacio. Estos se caracterizan por presentar una gran variedad de estructuras de 1, 2 y 3 dimensiones, dependiendo de la habilidad de los iones metálicos para coordinarse o de los ligandos orgánicos que los conforman. Durante los últimos años la mayor parte de los trabajos sobre polímeros de coordinación han estado centrados en el estudio de sus propiedades catalíticas, quirales, luminiscentes, magnéticas, sus transiciones de spin, óptica no lineal y porosidad. Se ha profundizado en gran medida en los estudios de un tipo de CPs denominados MOFs, de sus siglas en inglés *Metal Organic Frameworks*. Estos en general constituyen materiales muy porosos y además presentan propiedades catalíticas, de ahí el gran número de aplicaciones en los que se están usando. En particular en catálisis^[180], almacenamiento de gases^[181], separación de gases y moléculas^[182].

La gran versatilidad de los CPs ha propiciado su uso en la formación de nanopartículas^[183], nanoestructuras bidimensionales^[184, 185] y fibras monodimensionales^[186]. En particular en este último caso Mirkin^[187] ha demostrado la síntesis química de un CP formado por fibras monodimensionales, las cuales se enrollan entre si generando nanopartículas esféricas. Estas nanopartículas presentan propiedades físicas interesantes^[188] y la posibilidad de encapsular moléculas y materiales^[189].

Entre los casos más novedosos de polímeros de coordinación, podemos destacar en los últimos años los constituidos por cadenas (Metal-Metal-Halógeno)_n comúnmente denominados MMX.^[90] Son polímeros de coordinación basados en la sucesión de monómeros bimetálicos que se mantienen unidos entre sí gracias a enlaces con átomos de halógenos. Estos compuestos pertenecen a la familia de los denominados polímeros de coordinación de valencia mixta, debido a que los metales que constituyen sus monómeros, cuando forman parte del polímero, presentan por lo general valencias intermedias entre las formas reducidas u oxidadas habituales del metal o metales. En determinados casos, dada la separación de cargas, se puede considerar que uno de los

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

centros metálicos posee una valencia determinada y el otro centro otra, quedando por ello uno de ellos oxidado o reducido con respecto a su valencia habitual, aunque en la mayoría de los casos, múltiples estudios indican que ambos centros metálicos presentan valencias intermedias entre las dos más estables, debido a la deslocalización de la carga a lo largo del polímero.^[190, 191] El interés sobre este tipo de compuestos se debe a sus propiedades electrónicas un tanto especiales.

Uno de los polímeros de coordinación del tipo MMX que presenta una excelente conductividad eléctrica, muy similar a los metales a temperatura y presión ambiente, es el formado por el complejo dinuclear de platino coordinado por 4 ligandos de ditioacetato y unidos entre sí a través de átomos de yodo denominado *yodo tetrakis (ditioacetato) diplatino* $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ ^[91-93]. Se ha demostrado que la elevada conductividad observada para este compuesto se debe a la deslocalización de la carga que otorgan los enlaces a través de los halógenos. Además se ha estudiado su potencial uso como cables moleculares y su comportamiento eléctrico ^[192-195]

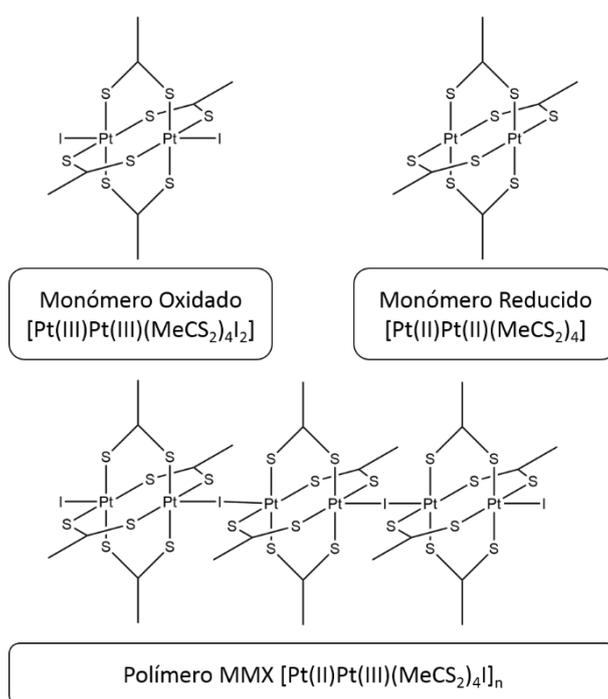


Figura 18- Estructuras de los monómeros y polímeros estudiados.

La figura 18 muestra la estructura de los monómeros que al unirse conforman el polímero de coordinación $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$. La estructura de estos monómeros es

conocida en el ámbito de la química de la coordinación como estructuras tipo *Paddle-Wheel*, dado el parecido de su estructura tridimensional con la ruedas de paletas que movían los antiguos barcos de vapor.

La síntesis química de este polímero de coordinación está limitada a dos opciones:

- La combinación directa y posterior recristalización de cantidades equimolares del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ y oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.^[93, 194]
- La oxidación parcial del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ ajustando la proporción de yodo molecular (I_2) en la reacción.^[159]

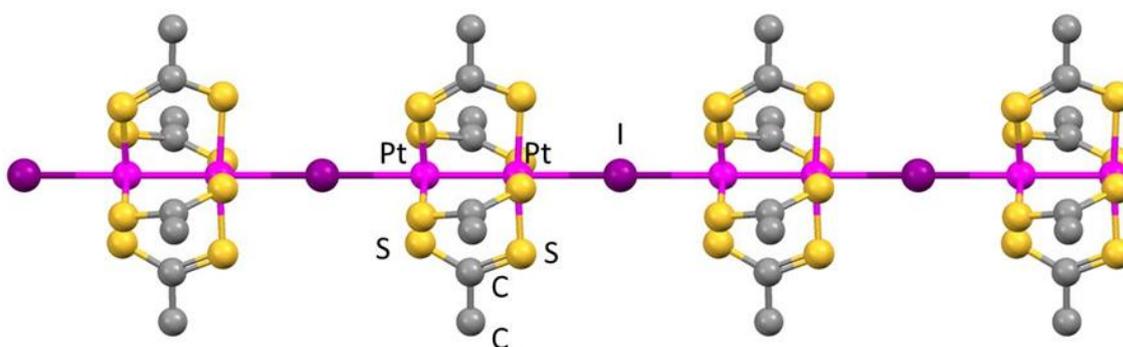


Figura 19-Representación esquemática de una cadena de $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

Además se ha descrito la síntesis de fibras monodimensionales de este compuesto sobre determinadas superficies mediante deposición de vapores químicos (CVD).^[196] Estos métodos son muy exigentes en cuanto a las condiciones experimentales, requiriendo superficies muy planas y cuidadas, así como una instrumentación muy costosa y que opera en condiciones extremas de presión y temperatura.

Teniendo en cuenta que la estructura del polímero se diferencia de la del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ únicamente en la valencia de sus centros metálicos, la electroquímica podría constituir una nueva vía de síntesis sencilla y económica, que no requiere de los controles tan estrictos de la superficie sobre la que generar fibras del polímero $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$. Controlando el potencial aplicado a la superficie electródica se controlarían los estados de oxidación de los centros metálicos. Por ello, en el presente trabajo de tesis se ha estudiado la generación de estructuras derivadas

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

del monómero [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] sobre superficies electródicas, así como el comportamiento electroquímico de estos compuestos.

Dado que la síntesis electroquímica constituiría una forma sencilla y económica de síntesis del polímero [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n, en primer lugar se han estudiado por voltamperometría cíclica los procesos electroquímicos asociados a los monómeros oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] y reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄I] en disolución. También se ha estudiado qué procesos electroquímicos dan como resultados la electrosíntesis de material sobre la superficie electródica, caracterizándose este material por técnicas de análisis superficial y microscópicas para conocer su composición y morfología. Por último se ha desarrollado una serie de experimentos para la determinación del mecanismo de electrosíntesis del polímero [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n mediante el uso de técnicas electroquímicas.

1. Caracterización electroquímica del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.

1.1. Estudios de voltamperometría cíclica.

En primer lugar se estudió el comportamiento electroquímico del monómero $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. Como disolvente para llevar a cabo las medidas se eligió diclorometano (CH_2Cl_2) dada la buena solubilidad y estabilidad del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ en este medio, y se eligió como electrolito soporte el perclorato de tetrabutilamonio (TBAP) debido a su gran compatibilidad con diversos disolventes orgánicos y su amplio uso en estudios electroquímicos de este tipo, gracias a la gran ventana de potencial que ofrece y al ser en general bastante inerte.

En la figura 20 se muestra el voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de carbón vítreo sumergido en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s. Dado que el compuesto que se comenzó a estudiar fue el monómero oxidado, se realizó el barrido de potencial desde 1 V, para asegurar que todo el monómero de partida estaba oxidado. El primer barrido catódico muestra la aparición de un proceso de reducción aproximadamente a -0.20 V, probablemente debido a la reducción total o parcial de los átomos de platino constitutivos del metal. En el barrido de vuelta se detectan dos picos, uno aproximadamente a -0.18 V y otro a +0.27 V. El primero de ellos se puede atribuir a la oxidación de la especie reducida en el barrido de ida sin sufrir ningún tipo de modificación química por reacciones posteriores. El segundo puede ser debido a la oxidación propia del monómero de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ o a la oxidación de un subproducto formado en el barrido catódico. Para obtener más información acerca de este proceso y elucidar si el proceso era inherente al monómero oxidado o consecuencia del proceso de reducción a -0.20 V, se comenzó el barrido de potencial anódico a 0 V y una vez alcanzado el potencial de 1 V se realizó el barrido de vuelta hasta -0.75 V, donde se volvía a invertir el barrido de potencial. El voltamperograma obtenido se muestra en la figura 21. En él se puede observar como en el primer barrido anódico desde 0 a 1.0 V no aparece ningún pico en torno a +0.27 V. Sin embargo, tras realizar el barrido catódico hasta -0.75 V, el barrido de vuelta muestra el

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

primer pico de oxidación observado anteriormente a -0.18 V, asignado a la oxidación de la especie reducida formada y el segundo pico en torno a +0.27 V, indicando que ambos picos anódicos son consecuencia de la oxidación de productos generados durante el barrido catódico inicial.

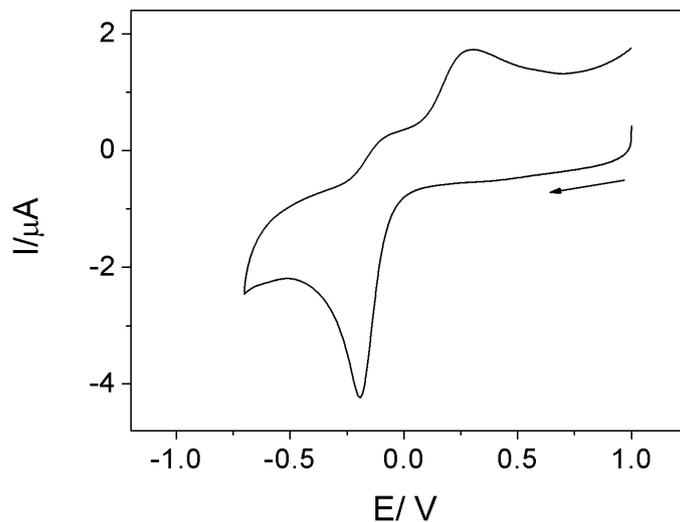


Figura 20- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de GC de una disolución de [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I]₂ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ a 100 mV/s.

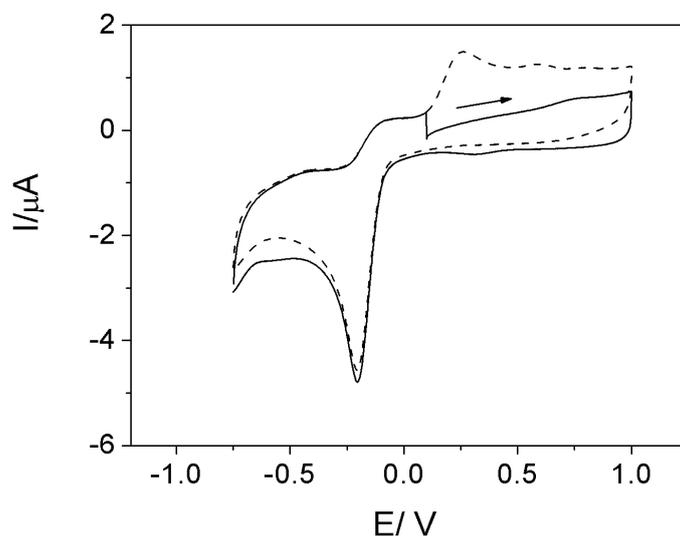


Figura 21- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de GC de una disolución de [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I]₂ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ a 100 mV/s. La línea continua representa el primer ciclo y la línea discontinua el segundo ciclo.

Con objeto de dilucidar el mecanismo de transferencia de carga y de las reacciones químicas probablemente asociadas al mismo, se estudiaron los procesos electroquímicos observados por voltamperometría cíclica y la influencia de determinadas variables electroquímicas sobre los mismos. En primer lugar se determinó la influencia de la velocidad de barrido de potencial sobre la morfología y la magnitud de las diferentes ondas catódicas y anódicas. En la figura 22 se muestra el voltamperograma cíclico del monómero [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] disuelto en TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ a 10 mV/s (A) y a 500 mV/s (B). Como puede verse, la forma tanto de la onda catódica como de la anódica depende en gran medida de la velocidad de barrido. A velocidades de 10 mV/s, o inferiores, los picos de oxidación obtenidos en el barrido anódico tras la reducción son difícilmente detectables en comparación con el pico catódico, el cual presenta, en proporción, mucha más intensidad de pico que a velocidades de barrido superiores. El efecto contrario se aprecia a velocidades altas de 500 mV/s, en este caso la relación de intensidades está más proporcionada entre los picos de reducción y oxidación. Estos resultados sugieren que el pico de reducción (-0.20 V) se debe a un proceso que presenta un mecanismo electroquímico complejo, con reacciones químicas acopladas al proceso de transferencia electrónica entre el electrodo y las moléculas de monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂]. El que se produzcan estas reacciones químicas acopladas a la transferencia electrónica heterogénea, depende en gran medida de la velocidad de barrido de potencial, en definitiva, el tiempo durante el que se lleva a cabo el proceso de reducción.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

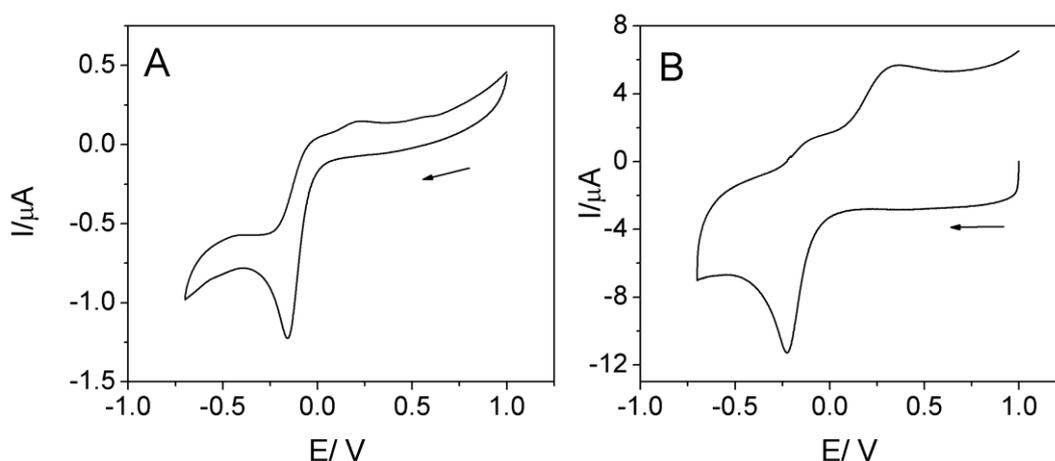


Figura 22- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de GC de una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 10 mV/s (A) y a 500 mV/s (B).

Para comprobar el efecto de la concentración del monómero se ensayaron diferentes concentraciones disueltas en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 . En la figura 23 se muestran los ciclo voltamperogramas obtenidos. Se aprecia un aumento de la intensidad de los picos al aumentar la concentración de monómero en disolución, sin variación en la morfología de los mismos. Por lo que los procesos electroquímicos observados, parecen ser los mismos independientemente de la concentración utilizada de monómero.

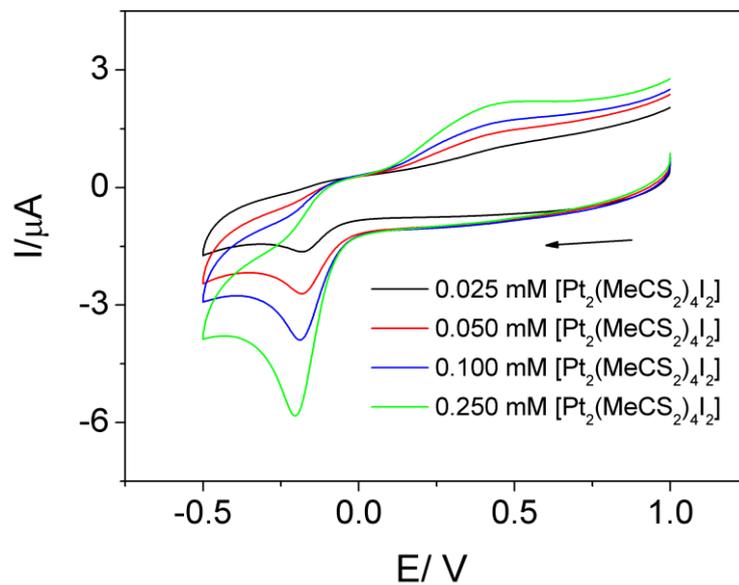


Figura 23- Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo de GC en disoluciones de diferente concentración de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

Se estudió también la influencia del disolvente utilizado, para descartar algún efecto de los átomos de cloro del diclorometano en el proceso electroquímico. Para ello se eligió tetrahidrofurano (THF) y el mismo electrolito soporte (TBAP 0.1 M). Como puede apreciarse en la figura 24, se observan ligeros cambios que pueden considerarse normales al utilizar otro disolvente, por lo cual se puede considerar que el disolvente CH_2Cl_2 no está jugando ningún papel en el mecanismo de los procesos electroquímicos que ocurren.

El efecto del electrolito soporte se estudió utilizando tetrafluoroborato de tetrabutilamonio (TBABF₄) en concentración 0.1 M, la misma usada con el TBAP, pudiéndose comprobar como independientemente del anión usado la respuesta electroquímica del monómero oxidado es la misma, figura 25.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

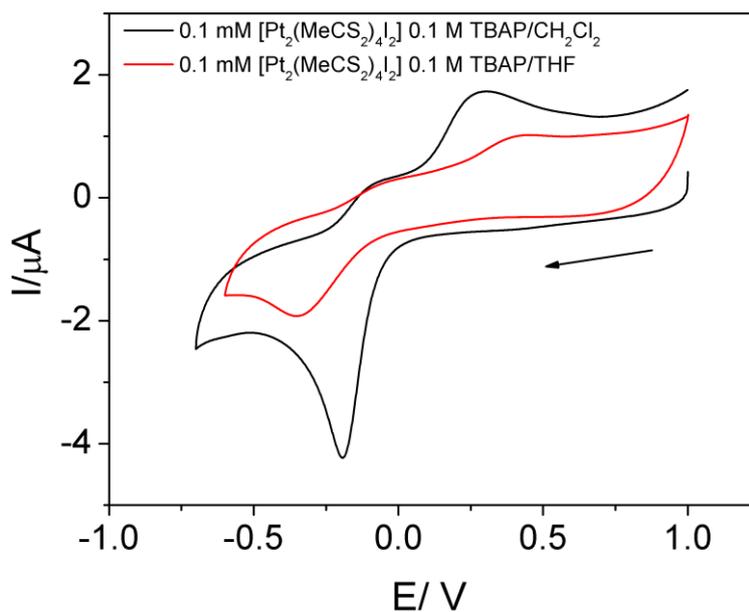


Figura 24- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de GC en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ (Negro) y en TBAP 0.1 M/THF (Rojo) a 100 mV/s.

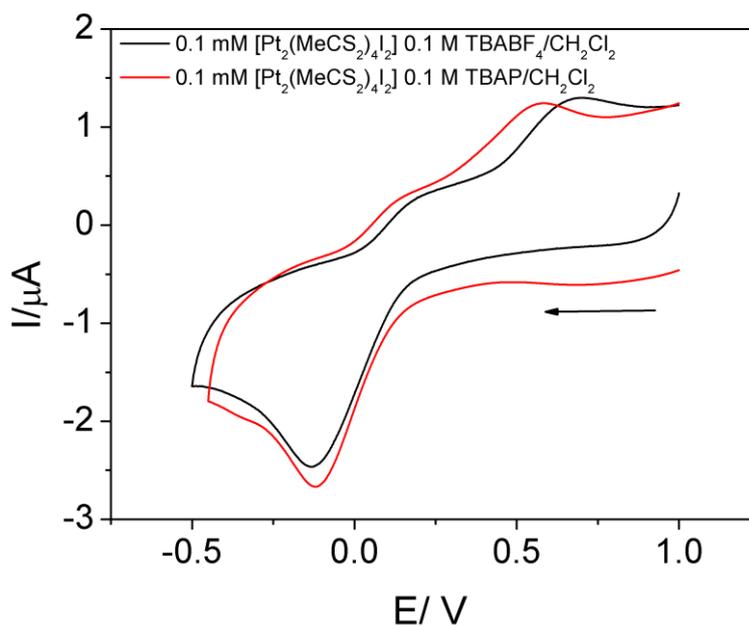


Figura 25- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo de GC en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBABF₄ 0.1 M/CH₂Cl₂ (Negro) y en TBAP 0.1 M /CH₂Cl₂ (Rojo) a 100 mV/s.

1.2. Estudio del proceso de reducción del monómero $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. Determinación del coeficiente de transferencia de carga, coeficiente de difusión y número de electrones involucrados en el proceso.

Siguiendo con el estudio electroquímico del monómero $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ se determinaron diferentes parámetros para la caracterización del proceso de reducción que se observa a -0.20 V.

Como se ha anticipado anteriormente, la variación de las corrientes y de los potenciales de pico con la velocidad de barrido permite obtener información valiosa sobre los procesos de transferencia de carga y las reacciones químicas asociadas a ella en la interfase electrodo-disolución. Por ello se preparó una disolución de monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1M/ CH_2Cl_2 y se aplicaron barridos cíclicos de potencial desde (+1.0 V a -0.7 V) a diferentes velocidades de barrido en el intervalo comprendido entre 5 mV/s y 1000 mV/s. Alguno de estos voltamperogramas puede observarse en la figura 26A. Dado que el proceso de reducción y posterior oxidación de los átomos metálicos del $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ es marcadamente irreversible, se puede aplicar la ecuación (1) de Materiales y Métodos. De acuerdo con esta ecuación el potencial de pico catódico debe presentar una dependencia lineal con el logaritmo decimal de la velocidad de barrido (figura 26B). De la pendiente de dicha representación se puede obtener el termino $n\alpha = 0.77$ para el proceso de reducción descrito. Además en la figura 26C se demuestra la existencia de una relación lineal entre la intensidad de corriente del pico catódico y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, lo que indica el carácter difusional del proceso electroquímico de reducción.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

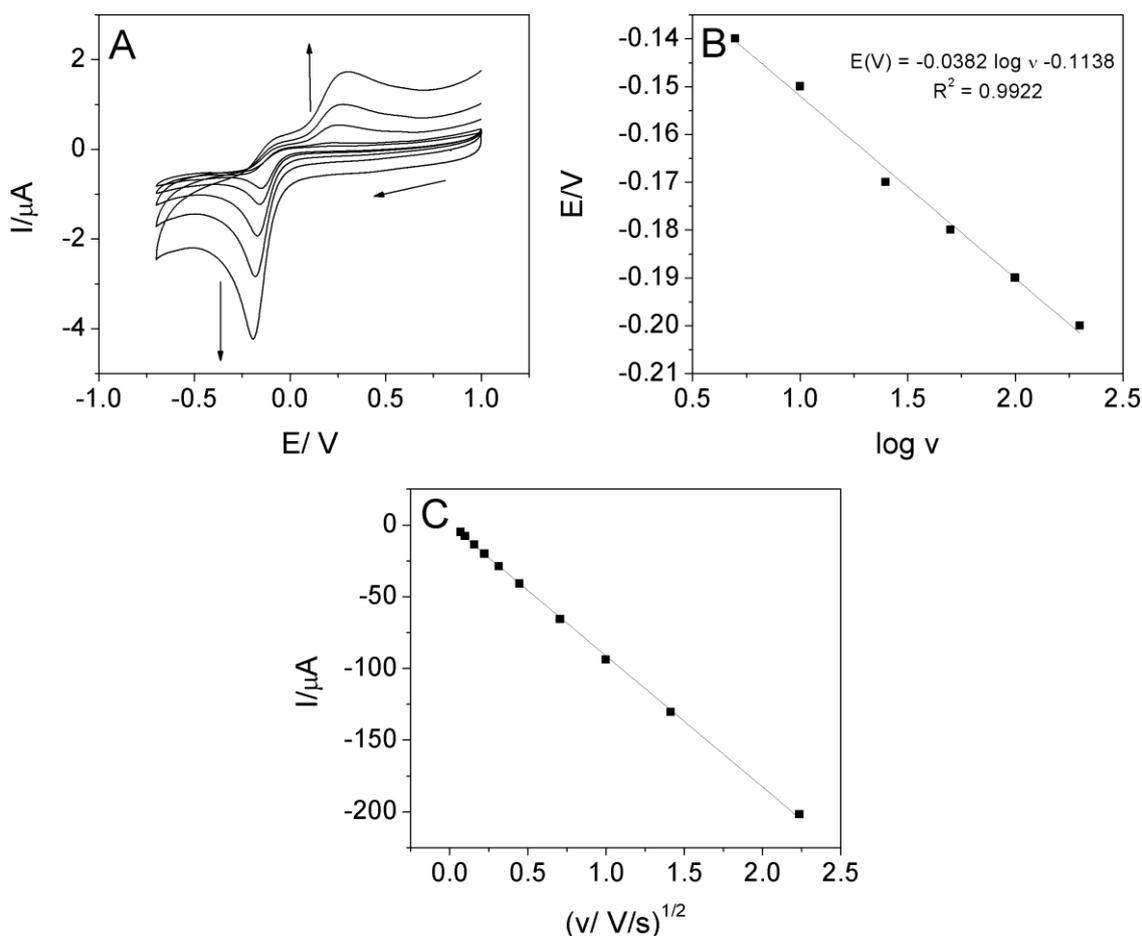


Figura 26-(A) Voltamperogramas cíclicos obtenido con un electrodo de GC en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M / CH_2Cl_2 a velocidades de barrido de potencial de 5 mV/s, 10 mV/s, 25mV/s, 50 mV/s y 100 mV/s. (B) Potencial de pico catódico frente al logaritmo de la velocidad de barrido ($E_{p_{ca}}/\log (v)$). (C) Intensidad de corriente de pico catódico frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($I_{p_{ca}}/v^{1/2}$).

De acuerdo con Nicholson and Shain^[11-14] de la representación de la intensidad de pico catódico normalizada con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($I_{p_{ca}}/v^{1/2}$) frente a la velocidad de barrido (v) se puede obtener información del tipo de proceso electroquímico que está teniendo lugar (figura 27). En estos trabajos se desarrolla la teoría matemática que explica las funciones de la intensidad de corriente para la voltamperometría en función del tipo de proceso electroquímico, o a la presencia de reacciones químicas asociadas de transferencia de carga que pueden tener lugar en la interfase electrodo/disolución. A partir del ajuste de estas funciones y sobre todo de la

relación $I_p/v^{1/2}$ frente a v podemos interpretar si se trata de un proceso electroquímico único, si existen reacciones de naturaleza electroquímicas acopladas a un primer proceso o si por el contrario tras el primer paso electroquímico tienen lugar otras reacciones químicas acopladas, etc. En el caso que se está estudiando, la representación $I_p/v^{1/2}$ vs v sugiere que se trata de un proceso ECE (Proceso Electroquímico-Químico-Electroquímico). De acuerdo con este mecanismo, el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ se reduce electroquímicamente (E), tras este primer paso electroquímico tiene lugar una transformación química (C), la cual tiene al menos como uno de sus productos, el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ del cual partimos y que por tanto vuelve a reoxidarse electroquímicamente (E). En definitiva, la relación $I_p/v^{1/2}$ frente a v , confirma que se trata de un proceso electroquímico complejo con reacciones químicas acopladas al proceso electroquímico. A continuación se describen los diferentes parámetros a determinar y que permiten establecer, desde un punto de vista mecanístico, las propiedades electroquímicas del $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.

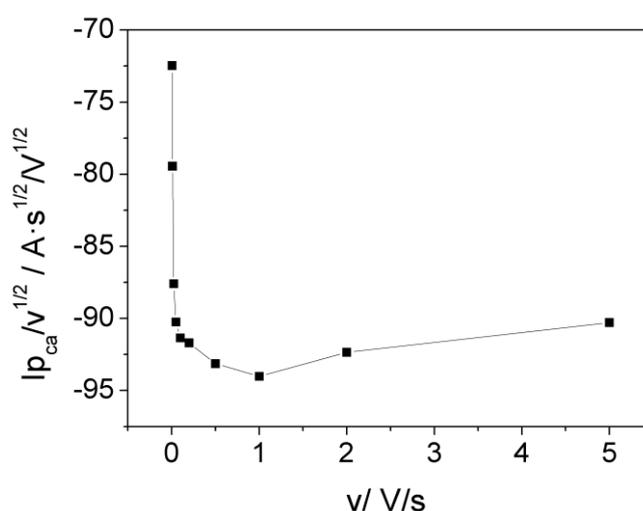


Figura 27-Intensidad de corriente de pico catódico normalizada con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido frente a la velocidad de barrido.

Uno de los parámetros a determinar es el número de electrones implicados en el proceso de reducción de los centros metálicos a -0.20 V. Para especies en disolución, el número de electrones se puede determinar por cronoamperometría de pulso sencillo (Cottrell, ecuación (5) de Materiales y Métodos) o por cronocoulombimetría (ecuación (6)

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

de Materiales y Métodos). Sin embargo, en ambas técnicas es necesario conocer el coeficiente de difusión de la especie electroquímicamente activa en el medio en el que se está haciendo la medida. En el caso del monómero [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂], al ser un sistema que no ha sido estudiado electroquímicamente antes, se desconoce dicho valor, y por ello previamente hay que determinar el coeficiente de difusión. Para ello se eligió el método de Chatenet y colaboradores^[169, 170], que se describe en el apartado 4.2 de Materiales y Métodos.

La figura 28A muestra un ejemplo de las cronoamperometrías registradas utilizando el electrodo de anilla de platino del electrodo rotatorio de disco-anilla (RRDE) usado para las medidas. En ella se puede ver como en un determinado momento la intensidad de corriente registrada decae en valor absoluto, y en ese punto determinamos el tiempo de tránsito (t_s). Este tiempo de tránsito se ha determinado para distintas velocidades de rotación (ω) del electrodo, y se ha representado respecto al inverso de la velocidad de rotación multiplicado por la constante $K = 4.428$ s/rpm, obteniéndose una recta, figura 28B, a partir de cuya pendiente se calculó el coeficiente de difusión de la especie en disolución (ecuación (3) de Materiales y métodos) conociendo el valor de la viscosidad cinemática de TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ $\nu = 0.00321$ cm²/s. El coeficiente de difusión D para el monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] resulta ser igual a $1.25 \cdot 10^{-5}$ cm²/s.

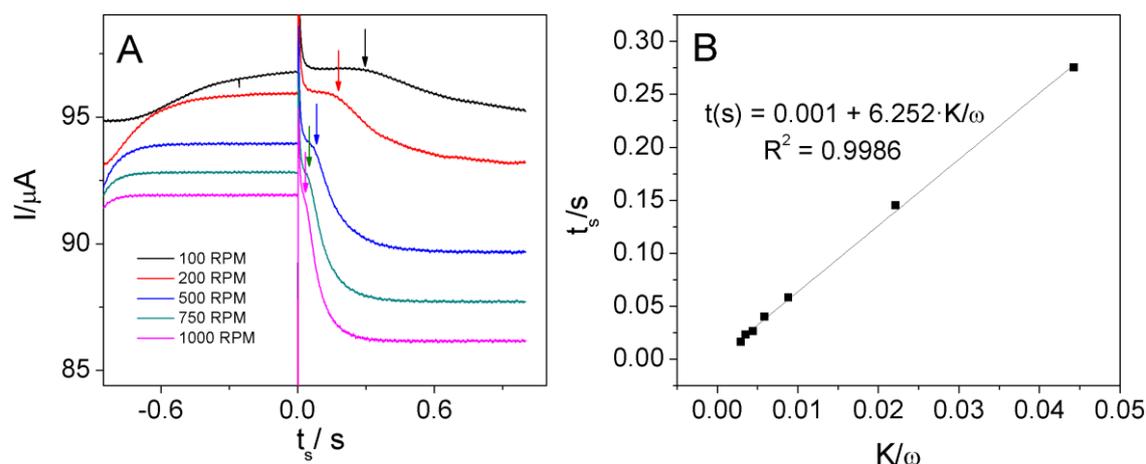


Figura 28-(A) Cronoamperometrías registradas con el RRDE a distintas velocidades de rotación (ω) aplicando un potencial de -0.3 V constante en la anilla y un potencial de $E = 0$ V antes del $t_s = 0$ s y $E = -0.3$ V después del $t_s = 0$ s en el disco. (B) Representación del tiempo de tránsito (t_s) frente a K/ω .

Una vez determinado el coeficiente de difusión del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ en TBAP 0.1M/ CH_2Cl_2 , se puede calcular el número de electrones del proceso tanto mediante cronoamperometría (Ecuación de Cottrell) como cronoculombimetría (Ecuación de Cottrell integrada). Se usaron ambas técnicas para corroborar que el resultado era el mismo y se realizaron un número superior a 10 de repeticiones para asegurar que el valor era correcto. Tanto las cronoamperometrías como las cronoculombimetrías se llevaron a cabo a un potencial suficiente alto para que el proceso de reducción se encuentre controlado por difusión, en concreto se realizaron a -0.30 V. La figura 29A muestra un ejemplo de una cronoamperometría. Su ajuste lineal con la ecuación de Cottrell se muestra en la figura 29B, del cual se determinó el valor del número de electrones (n). Del mismo modo se muestra un ejemplo de una cronoculombimetría (figura 29C), así como de su ajuste lineal con la ecuación de Cottrell integrada (figura 29D). Por ambos métodos se obtuvieron valores muy cercanos a 1, por lo que se determinó que el número de electrones involucrados en el proceso de reducción del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ que se produce a -0.20 V es de 1 electrón. Este proceso puede atribuirse a la reducción de uno de los centros metálicos de platino, pasando de una especie $Pt(III)$ - $Pt(III)$ a una especie $Pt(III)$ - $Pt(II)$.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

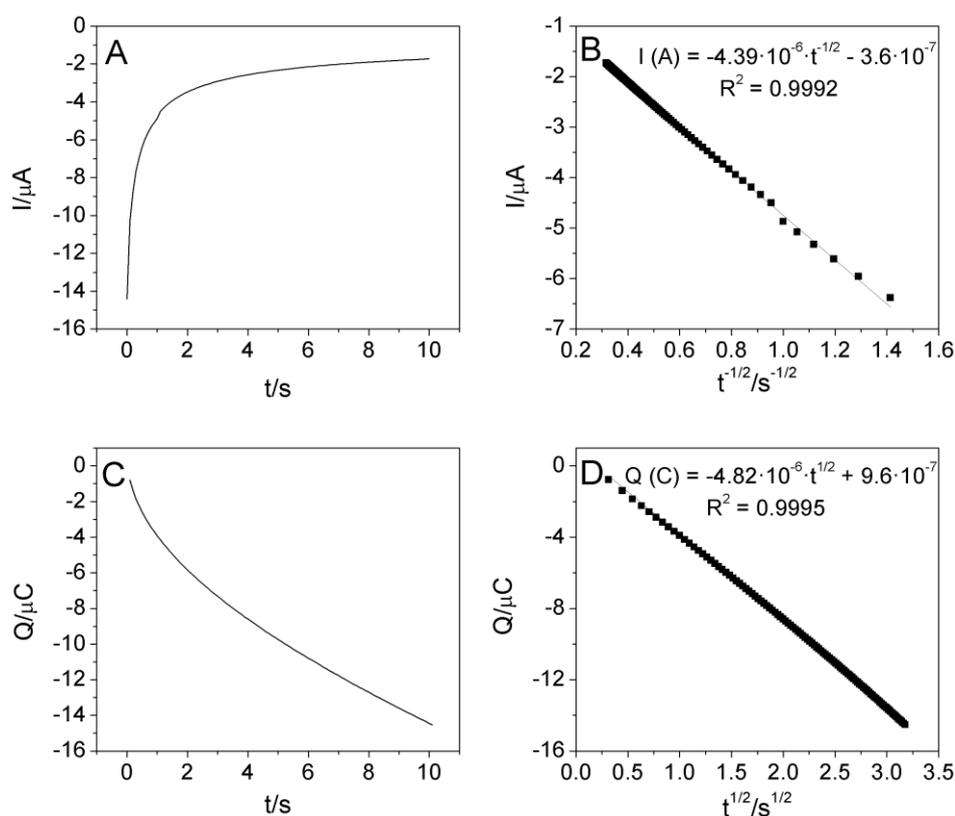


Figura 29- (A) Cronoamperometría obtenida con un electrodo de GC a un potencial - 0.30 V en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 . (B) Representación de Intensidad (I) frente a $t^{-1/2}$ a partir de los valores de la cronoamperometría anterior. (C) Cronocoulombimetría obtenida con un electrodo de GC a un potencial -0.30 V en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM de TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 . (D) Representación de los valores de carga (Q) frente a $t^{1/2}$ a partir de los datos de la cronocoulombimetría anterior.

Por tanto, se estableció que el número de electrones que se intercambia en el proceso electroquímico es igual a 1. Como se había determinado que $n \cdot \alpha = 0.77$, el valor del coeficiente de transferencia electrónica es de $\alpha = 0.77$. Este valor resulta un poco elevado, pero en parte concuerda con el hecho de que el proceso no sea totalmente reversible, estando más favorecida la reducción del monómero oxidado que la oxidación del compuesto generado en el proceso electroquímico.

2. Electrosíntesis del polímero de coordinación $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

Con el objetivo de comprobar si alguno de los procesos electroquímicos descritos para el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ producía la electrosíntesis de algún material, se ensayó en primer lugar la aplicación de barridos sucesivos de voltamperometría cíclica a baja velocidad de barrido, con el fin de observar si los picos de los procesos electroquímicos detectados modificaban su intensidad con el tiempo. En la figura 30 se muestran los voltamperogramas sucesivos a 10 mV/s a los que se sometió a un electrodo de carbón vítreo en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M /CH₂Cl₂. Se comprueba como la intensidad del pico de oxidación del barrido de vuelta a +0.27 V aumenta en los ciclos sucesivos, mientras que la del pico de reducción (-0.20 V) en el barrido directo mantiene su intensidad. Este hecho puede indicar la modificación de la superficie debido a la deposición de material como consecuencia de los procesos electroquímicos que ocurren. Para comprobar si el electrodo mantenía el material sobre la superficie, se pasó el electrodo modificado a una disolución de electrolito soporte (TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂), para ver si aparecía algún proceso electroquímico del material sobre la superficie. No se observó ninguna diferencia con respecto al electrodo de carbón vítreo sin modificar. Este resultado se puede interpretar de dos maneras: (a) El material electrodepositado no es estable y se solubiliza en presencia del electrolito soporte/disolvente o (b) dicho material es estable en la superficie del electrodo pero no es electroactivo y por tanto pasiva la superficie del mismo. Para obtener más detalle sobre cómo tiene lugar la electrodeposición de $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ sobre la superficie del electrodo, se decidió estudiar estos procesos usando otras técnicas como la microbalanza de cristal de cuarzo electroquímica (EQCM).

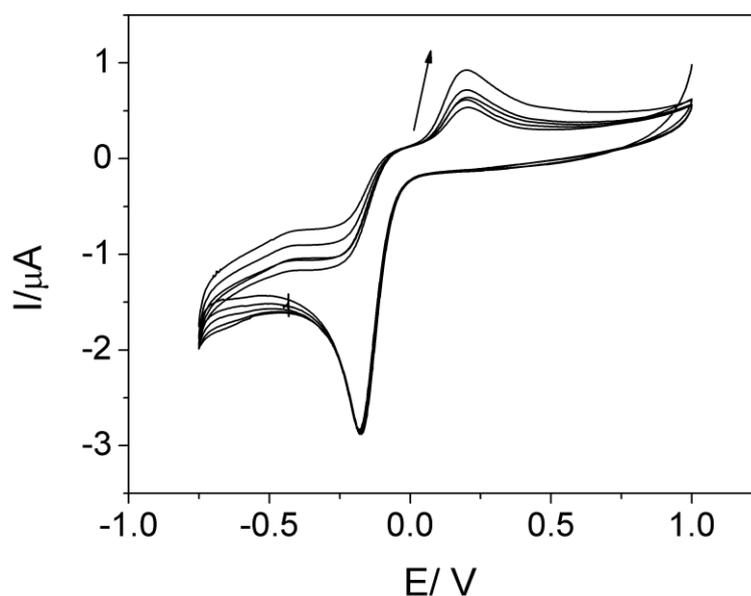


Figura 30- Voltamperogramas cíclicos sucesivos registrados con electrodo de GC en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 10 mV/s.

2.1. Estudio del proceso mediante la microbalanza de cristal de cuarzo.

Para comprobar si en alguno de los procesos electroquímicos detectados mediante voltamperometría cíclica se estaba electrosintetizando algún compuesto, se decidió estudiar la electroquímica del sistema acoplando una microbalanza de cristal de cuarzo (QCM). La microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo (EQCM) es una poderosa herramienta para estudiar procesos en la interfase electrodo/disolución. En este estudio se usaron como electrodos de trabajo, cristales de cuarzo recubiertos por una fina capa de oro. Debido a que no son comerciales estos cristales recubiertos por carbón vítreo, se decidió estudiar la electroquímica del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ en electrodos de oro, comprobándose que los procesos eran los mismos que en el caso de electrodos de carbón vítreo, y además que el número de electrones intercambiados en la reducción era el mismo. Por ello puede considerarse que los procesos que se dan sobre superficies de oro van a ser los mismos estudiados sobre superficies de carbono y se pueden extrapolar los resultados obtenidos con la EQCM usando electrodos de oro a lo ya estudiado sobre superficies de carbón vítreo.

Gracias a esta técnica EQCM podemos monitorizar de manera simultánea los procesos electroquímicos que tienen lugar en el electrodo de trabajo, mediante

voltamperometría cíclica (registro intensidad de corriente con respecto al potencial aplicado) y el cambio de la frecuencia de vibración del cristal de cuarzo (en Hertzios) con el potencial aplicado. Este cambio está relacionado con cambios de masa ocurridos sobre la superficie del electrodo, debidos a la adsorción y desorción de moléculas o iones, así como la deposición o disolución de materiales que se encuentren sobre dicha superficie.

Tras estabilizar la temperatura mediante el empleo de un baño termostático que envuelve la microbalanza de cristal de cuarzo, y la estabilización de la frecuencia de vibración del cristal se aplica al electrodo de trabajo varios ciclos sucesivos de voltamperometría cíclica, y se registra de manera simultánea, como se ha comentado antes, la intensidad de corriente (I) y el cambio de la frecuencia de vibración (Δf) con respecto al potencial aplicado (E). En la figura 31 se muestra la respuesta de estas dos magnitudes para una disolución de [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] 0.25 mM en TBAP 0.1 M/CH₂Cl₂ tras aplicar 5 ciclos de voltamperometría cíclica a 10 mV/s, velocidad suficientemente lenta como para poder diferenciar cambios en la frecuencia asociados a los procesos electroquímicos bajo estudio. Como se puede observar, la aplicación de ciclos sucesivos de potencial no da lugar a una disminución de la corriente de pico anódica y/o catódica, más bien ambos parecen mantener un valor constante. Sin embargo, no ocurre lo mismo con la variación de frecuencia de vibración (Δf). Como se puede observar los mayores descensos de Δf (lo cual indica deposición o adsorción de material sobre la superficie del electrodo) se producen al sobrepasar el potencial del pico anódico de vuelta (+0.27 V) hasta 1 V, y continuando este descenso aunque de forma menos acusada en el siguiente barrido catódico hasta que se sobrepasa de nuevo este potencial en sentido contrario. Por tanto, se puede concluir que se está dando un proceso de electrooxidación (en el barrido anódico de vuelta al primer proceso de reducción) que origina la deposición de un material sobre la superficie del electrodo que proviene por tanto de la oxidación de alguno de los subproductos del primer proceso de reducción en el primer barrido catódico hacia -0.20 V.

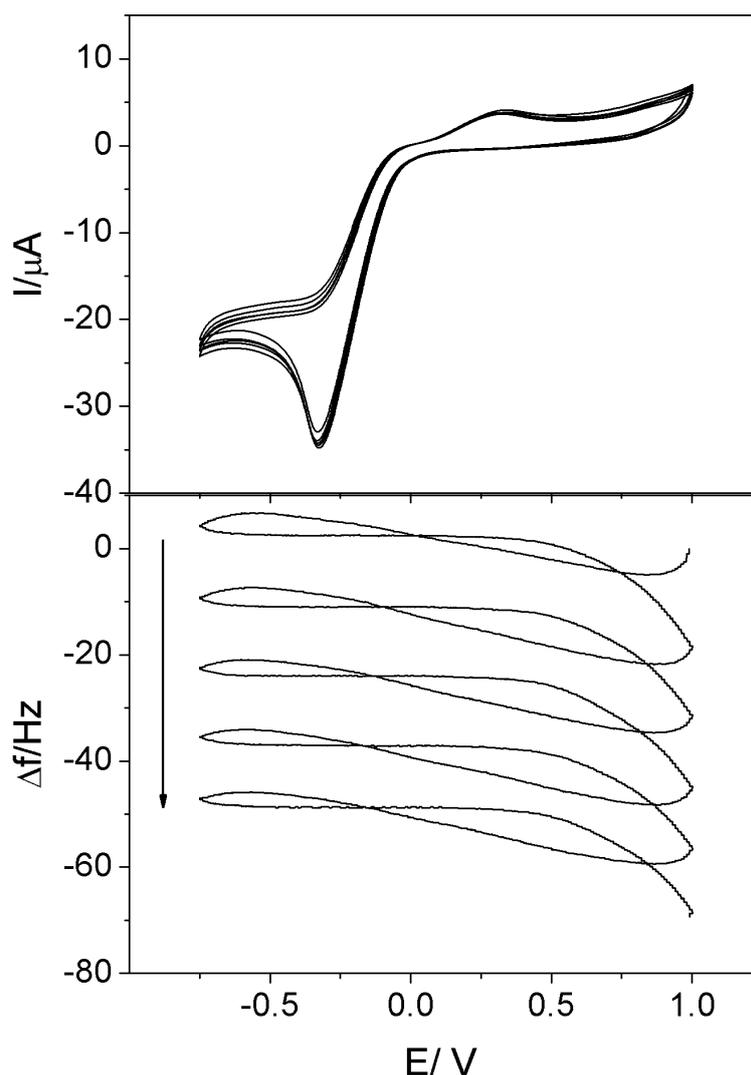


Figura 31- Registro simultaneo de la intensidad de corriente (arriba) y de la variación de la frecuencia de vibración (abajo) mediante EQCM usando un cristal de cuarzo recubierto de oro como electrodo de trabajo sumergido en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 sobre el que se aplicaron ciclos de potencial de 1 V a -0.75 V a 10 mV/s

Analizando el valor de la variación de la frecuencia (Δf) en los sucesivos ciclos (tabla II) y aplicando la ecuación de Sauerbrey^[175] (Ecuación (14) de Materiales y Métodos) se calculó la cantidad (en ng/cm^2) de material que se ha depositado. Aparentemente la deposición de material puede considerarse constante en cada ciclo, aunque en realidad la cantidad que se deposita en cada uno de ellos va decreciendo en valor absoluto. Esto puede ser debido a que la superficie de oro del electrodo se va recubriendo del material

y éste no ofrece una superficie tan activa a la electrodeposición de capas sucesivas del material, de ahí que vaya disminuyendo la cantidad que se deposita en cada uno de los ciclos de potencial sucesivos.

Tabla II- Valores de variación de frecuencia (Δf) determinados para cada uno de los ciclos de voltamperometría a los que se somete el electrodo de EQCM y masa en ng/cm^2 del material electrosintetizado depositado.

Ciclo	Δf (Hz)	$\Delta m(ng/cm^2)$
1	14.2456	252.15
2	13.6170	241.02
3	13.4521	238.10
4	11.4743	203.10

Se aplicaron también potenciales constantes con el tiempo (cronoamperometrías) fijando el potencial a -0.35 V y a +0.35 V (experimentos independientes). En ninguno de los dos casos se producía disminución de la frecuencia de vibración (Δf), lo cual indica que no se estaba electrosintetizando ningún material. Se estableció por tanto que para la electrosíntesis del material que se forma es necesario que se produzca en primer lugar el proceso de reducción a -0.20 V y una vez producido este, el proceso de oxidación a +0.27 V.

2.2. Caracterización del nanomaterial electrodepositado sobre la superficie del electrodo.

Tras la electrodeposición del material sobre la superficie de los electrodos, se caracterizó mediante técnicas de análisis de superficie con el fin de determinar su morfología y composición. Los resultados obtenidos se describen a continuación.

2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM). Análisis de nanoestructuras por energía dispersiva de rayos X (EDX).

La microscopía electrónica de barrido (SEM), nos permiten la caracterización de superficies, proporcionando información acerca de su morfología a nivel nanométrico. En las figuras 32 y 33 se muestran las imágenes obtenidas al analizar mediante FE-SEM (microscopía electrónica de barrido-emisión de campo) las superficies electródicas

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

modificadas Se observa que el material que se electrosintetiza sobre la superficies de oro se distribuye en forma de nanoesferas porosas de 500 nm de diámetro, formando agregados entre estas esferas, y por lo general cubriendo en mayor o menor medida la superficie de forma homogénea, aunque se avistan ciertas regiones no cubiertas. Las imágenes mostradas en la figura 32 se obtuvieron sin la aplicación de ultra alto vacío (UHV) por lo que el detalle que obtenemos de las nanoestructuras es sensiblemente menor.

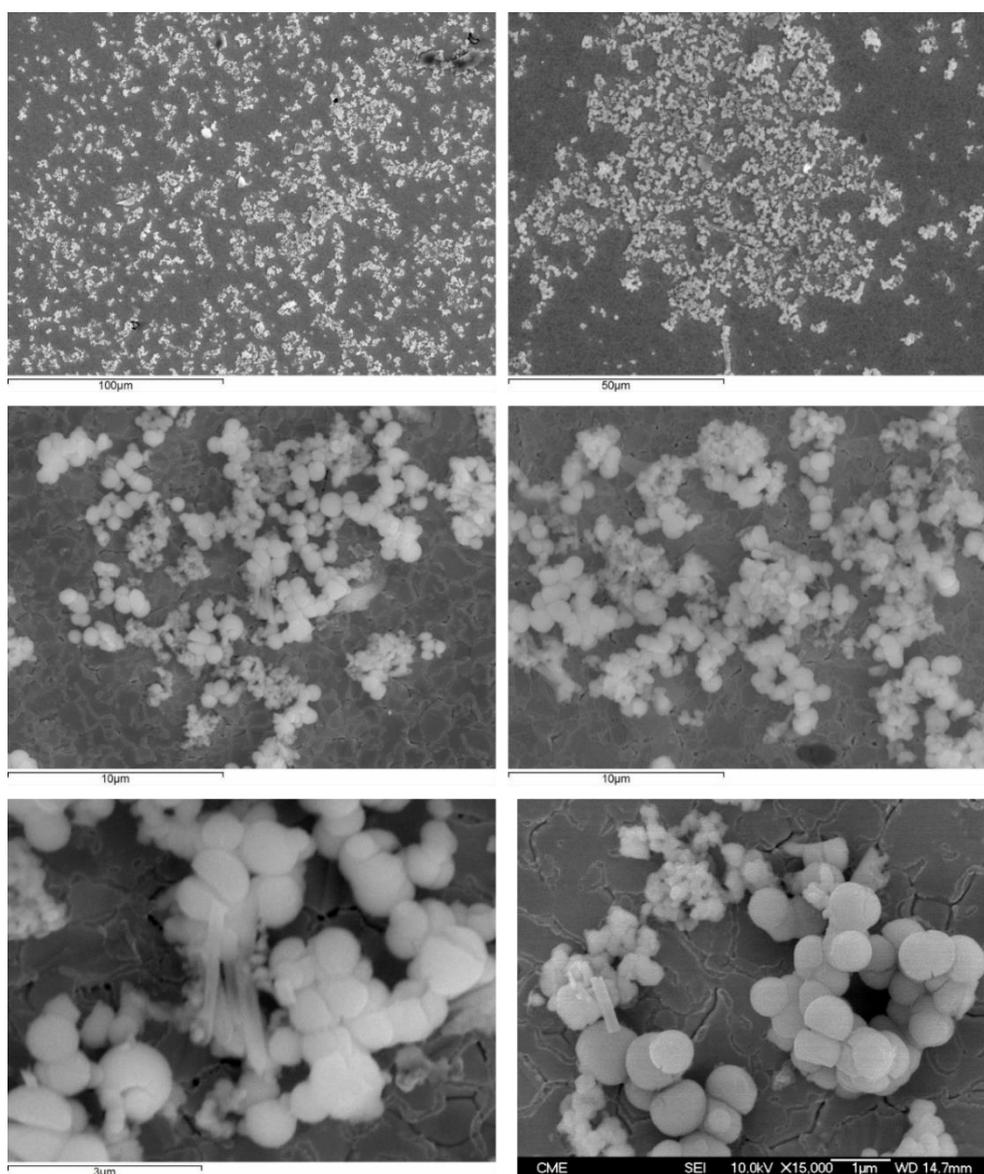


Figura 32- Imágenes FE-SEM obtenidas sin aplicar UHV. Material electrodepositado sobre superficie de Au aplicando 5 ciclos de voltamperometría cíclica entre 1 V y -0.75 V en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 10 mV/s.

En las imágenes de la figura 33 se aplicó ultra alto vacío (UHV) pudiéndose detectar como la superficie de las nanoesferas presenta cierta porosidad.

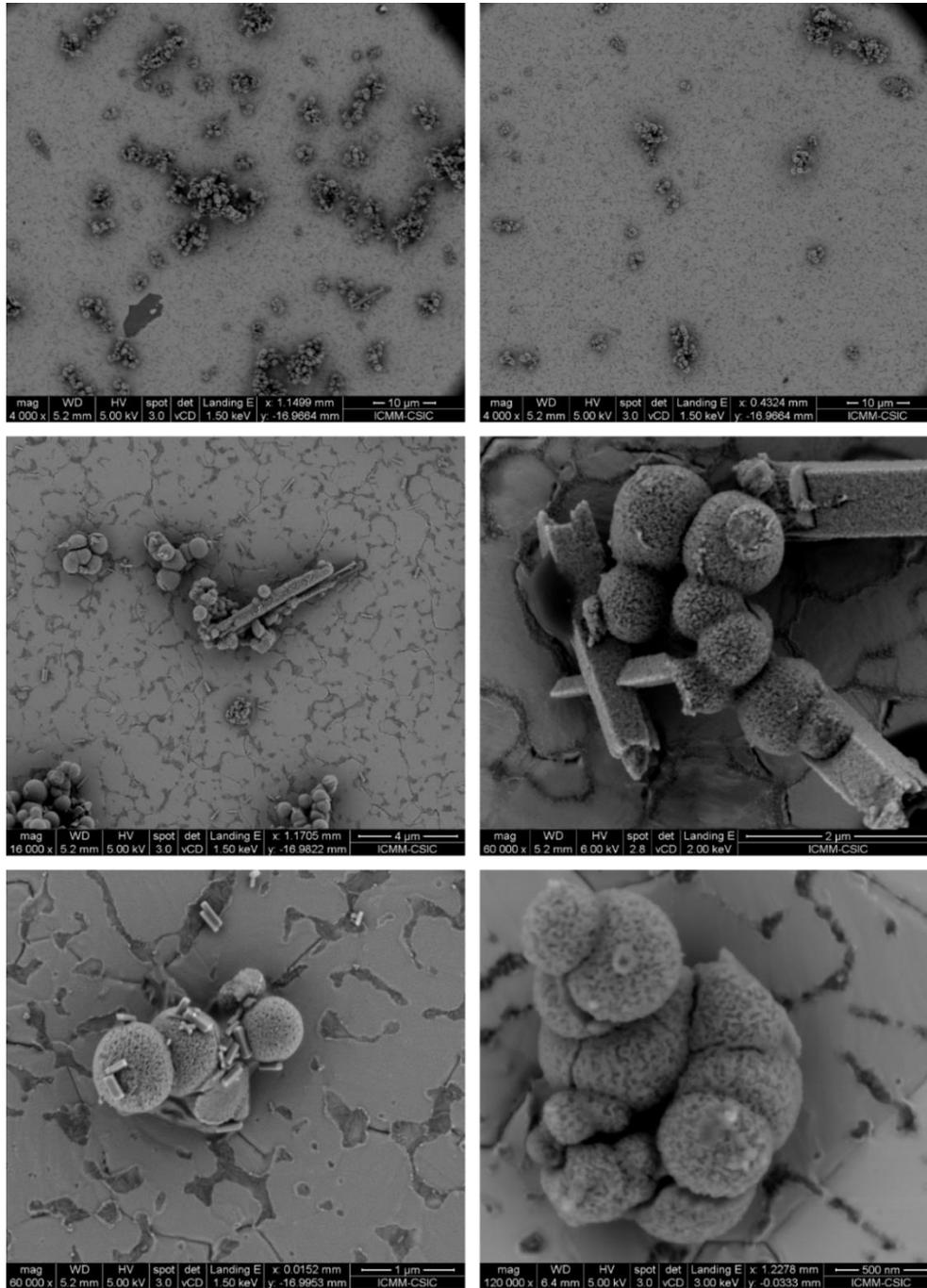


Figura 33- Imágenes FE-SEM obtenidas aplicando UHV. Material electrodepositado sobre superficie de Au aplicando 5 ciclos de voltamperometría cíclica entre 1 V y -0.75 V a en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 10 mV/s.

Las nanoestructuras observadas también fueron analizadas por EDX. Es importante resaltar que se han observado dos tipos de nanoestructuras en las imágenes. Mayoritariamente se aprecian esferas nanométricas porosas, de 500 nm de diámetro, pero también se observan a veces de forma aislada y otras veces en conjunto agregadas con las nanoesferas, una especie de cristales de magnitudes similares, en torno a 1 o 2 micras de longitud y unos 500 nm de grosor sobre la superficie. Para analizar la composición de las microestructuras por EDX, se focalizó el análisis en estas, obteniéndose por tanto distintos espectros energéticos de cada una de las nanoestructuras. Si bien el análisis por EDX no puede considerarse una medida cuantitativa precisa, se han usados los porcentajes atómicos como una buena referencia estequiométrica que permita establecer la proporción de átomos de platino y de yodo presentes en cada estructura. Estos datos nos permitirán diferenciar los monómeros oxidados y/o reducidos de la posible presencia del polímero de coordinación electrosintetizado sobre la superficie del electrodo.

Se realizaron varios análisis de diferentes nanoesferas y de diferentes microcristales, aunque se observó variabilidad en cuanto a los porcentajes atómicos detectados, en general las proporciones estequiométricas observadas eran consistentes en los diferentes análisis. Se realizaron 5 análisis de diferentes nanoesferas y 4 análisis de diferentes nanocristales. En la tabla III se recogen los porcentajes atómicos que se obtuvieron del análisis de las nanoesferas, y en la tabla IV los del análisis de microcristales. Las tablas muestran los resultados obtenidos en cada uno de ellos, considerándose representativo, al tener la gran mayoría la misma proporción estequiométrica. Al analizar las tablas hay que tener en cuenta que el tanto por ciento restante para completar el 100% corresponde al oro, debido a que se utilizó esta superficie para la electrodeposición. Se ha de tener en cuenta que esta técnica es precisa para elementos pesados, pero en el caso de átomos ligeros como el carbono suele dar un valor en exceso con respecto al real.

Tabla III- Porcentajes atómicos y proporciones estequiométricas obtenidos por EDX de las nanoesferas del material electrosintetizado.

Átomo	% atómico	Estequiometria
Pt	7.5	2
I	3.6	1
C	47.1	16
S	31.6	10

Aunque las proporciones estequiométricas de los elementos no corresponden exactamente con las esperadas para el polímero ni para alguno de los monómeros, este análisis nos confirma que las nanoesferas están constituidas por átomos de Pt, I, C y S, y que además la cantidad de I con respecto a Pt es menor, entorno a la mitad, lo que correspondería a la composición del polímero.

Tabla IV- Porcentajes atómicos y proporciones estequiométricas obtenidos por EDX de los microcristales del material electrosintetizado.

Átomo	% atómico	Estequiometria
Pt	8.7	1
I	10.1	1
C	36.6	4
S	29.5	3

En el caso de los microcristales la proporción estequiométrica obtenida puede considerarse próxima al material de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. En este caso también hay presencia de yodo en el material, en una proporción superior a la de las

nanoesferas, y similar a la de platino, lo cual concuerda con que se trate del material de partida del monómero oxidado.

Como se ha comentado anteriormente, estos resultados son semi-cuantitativos, o lo que es lo mismo orientativos sobre la composición aproximada, pudiendo deducir a partir de ellos que las nanoesferas formadas durante el proceso de electrosíntesis estarían constituidas por el polímero [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n, mientras que los microcristales tendrían la composición del monómero de partida [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂].

2.2.2. Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS).

Con el fin de confirmar la composición de las nanoestructuras generadas sobre la superficie de Au, se analizaron por XPS en colaboración con la investigadora Eva Mateo Martín del INTA-CSIC. Además de las placas modificadas se analizaron placas de Au modificadas con el monómero oxidado de partida [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] por deposición de gota. Se analizaron los niveles atómicos O(1s), C(1s), S(2p), I(3d), Pt(4f), y Au(4f). Para el espectro global se usó una energía de 30 eV y para el análisis detallado de los niveles atómicos fue de 20 eV. Las energías para este último análisis fueron calibradas con respecto al pico Au(4f_{7/2}) fijado a 84.0 eV.

En las muestras analizadas se detectaron todos los átomos que conforman tanto el polímero [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n como el monómero oxidado de partida [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂]. En las figuras 34 y 35 se muestran el espectro global y por zonas de cada una de las muestras respectivamente.

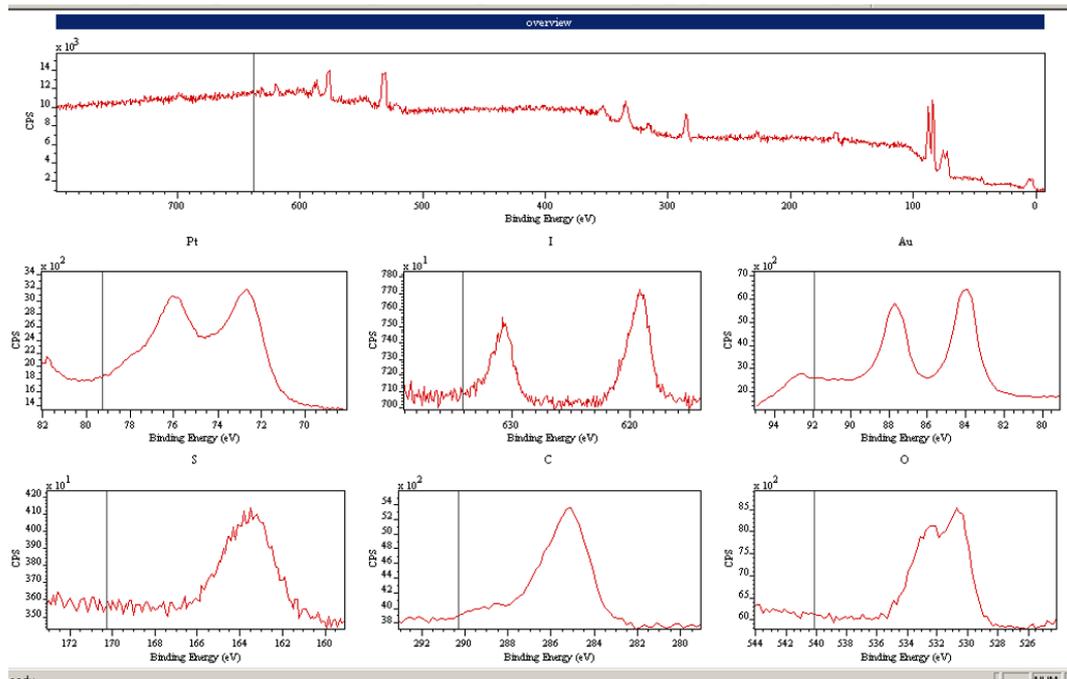


Figura 34- Espectro XPS global y centrado en Pt, I, S, C, O, y Au (material soporte) de una superficie de Au modificada por electrosíntesis de nanoesferas (aplicando 5 ciclos de voltamperometría cíclica entre 1 V y -0.75 V en una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4]_2$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 10 mV/s).

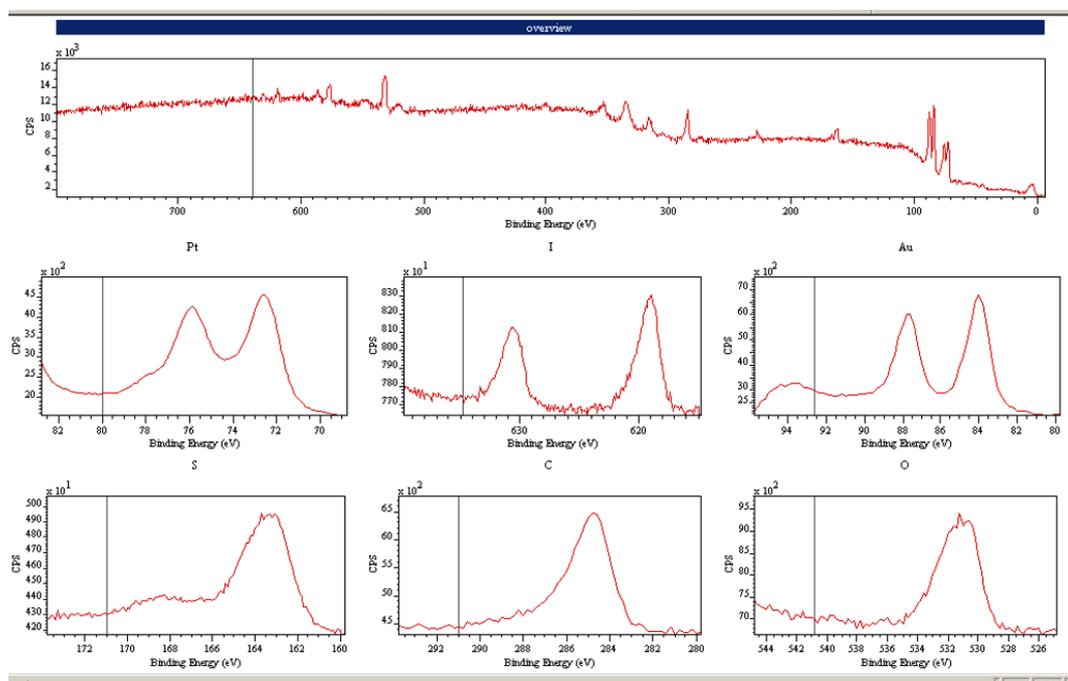


Figura 35- Espectro XPS global y centrado en Pt, I, S, C, O, y Au (material soporte) de una superficie de Au modificada por deposición de 100 μ L de una disolución de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4]_2$ 0.25 mM.

Los espectros mostrados confirman la presencia de todos los elementos que forman parte tanto del polímero como del monómero oxidado. Para diferenciar ambos, se ha elegido la señal del platino. Se han estudiado las diferencias en el entorno químico de este elemento, ya que va a ser lo que marque la diferencia entre la composición de uno y otro. Concretamente se analizó la región energética de Pt(4f) obtenida entre 68 y 80 eV. Los picos con energías de unión de 72.4 y 74.2 eV se asignan a Pt(4f_{7/2}) correspondientes a Pt²⁺ y Pt³⁺, respectivamente. Por otro lado las bandas a 74.8 y 77.9 se asignan a Pt(4f_{5/2}) correspondiendo a Pt²⁺ y Pt³⁺, respectivamente.^[92] En las figuras 36 y 37 se muestra la ampliación de la región energética Pt(4f) para las muestras de material electrosintetizado y para el material de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ respectivamente.

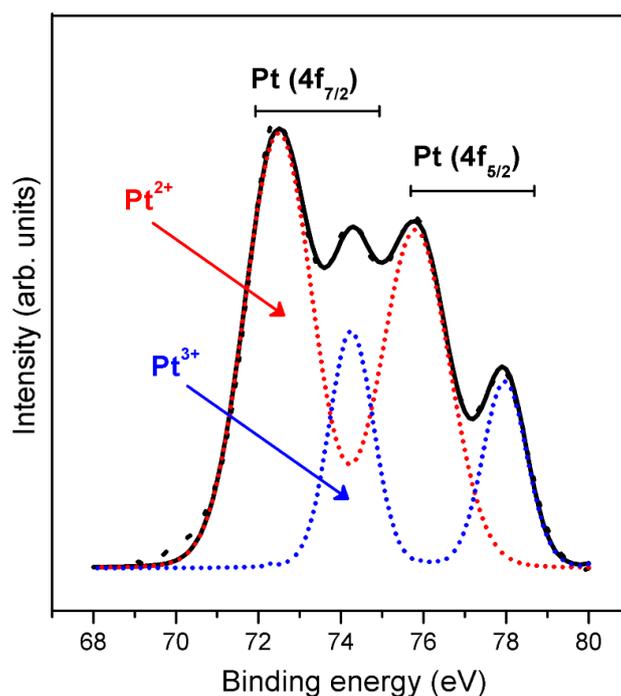


Figura 36- Análisis por XPS de la región energética Pt(4f) del material electrosintetizado.

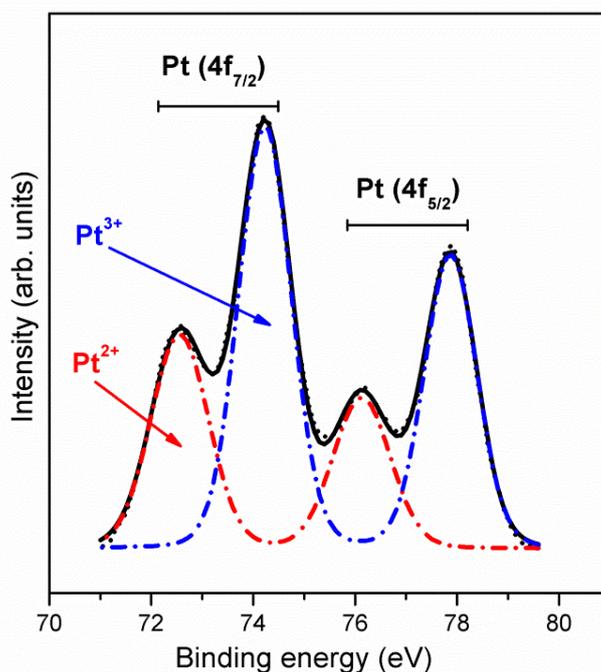


Figura 37- Análisis por XPS de la región energética Pt(4f) del monómero oxidado de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.

A partir de las intensidades medidas de la deconvolución de estos picos se obtiene que la relación de intensidades es Pt^{2+} (75%) y Pt^{3+} (25%) para las nanoesferas electrosintetizadas. Teóricamente si las nanoesferas estuvieran formadas por el polímero de coordinación mencionado $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$, el porcentaje debería ser Pt^{2+} (50%) y Pt^{3+} (50%). Sin embargo y como se reporta en la bibliografía^[92, 194], el exceso de Pt^{2+} se atribuye a la fotoreducción de Pt^{3+} producido por la irradiación de la muestra con rayos X para llevar a cabo el análisis. Respecto al análisis de la muestra del material de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$, el porcentaje debería de ser Pt^{3+} (100%) y Pt^{2+} (0%). Sin embargo, se detecta alrededor de un 35% de Pt^{2+} , el cual sería debido a la fotoreducción del Pt^{3+} por la irradiación de rayos X inherente al análisis de la superficie. Por tanto en el caso del material electrosintetizado, la proporción Pt^{2+} y Pt^{3+} puede considerarse 7:3, que es muy próxima a la encontrada en otros análisis del polímero $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ llevados a cabo por XPS, por lo que se puede afirmar que las

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

nanoesferas electrosintetizadas están constituidas por el polímero [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n. En resumen se ha desarrollado un método electroquímico para la síntesis del polímero de coordinación [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n en forma de nanoestructuras esféricas, que hasta este momento, esta metodología, no había sido descrita antes por la comunidad científica.

3. Mecanismo electroquímico propuesto.

En los apartados anteriores se ha descrito el proceso de electrosíntesis de las nanoesferas del complejo de platino $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$. en este apartado se discutirán los estudios llevados a cabo para elucidar el mecanismo electroquímico de este proceso.

A continuación se resumen los resultados de los que se parte para el estudio del mecanismo:

- En el primer proceso de reducción (-0.20 V) en el barrido catódico se produce el intercambio de 1 electrón.
- La relación de la intensidad del pico de reducción normalizada con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido con respecto a la velocidad de barrido (figura 27) sugiere que durante este proceso hay reacciones químicas homogéneas acopladas a la transferencia de carga, y además estas reacciones acopladas regeneran el monómero oxidado de partida $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.
- El material se electrodeposita a partir del proceso de oxidación (+0.27 V) detectado en el barrido anódico de vuelta. Se produce siempre y cuando previamente se haya dado el proceso de reducción. Si este no ocurre, aunque se lleve al sistema a potenciales superiores a +0.27 V, no se produce la electrosíntesis de ningún material.
- Por microscopía electrónica de barrido se observa que el material se electrosintetiza en forma de nanoesferas al aplicar ciclos de CV desde 1 V hasta -0.75 V y volviendo a 1V. Si se aplica un potencial constante bien de reducción inferior a -0.20 V o bien de oxidación superior a +0.27 V no se genera ningún material.
- Mediante XPS se concluye que la composición de las nanoesferas sintetizadas es la misma que el polímero de coordinación $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

En primer lugar se trató de elucidar el proceso que origina el pico de reducción a -0.20 V. Este parece debido a la reducción de uno de los centros de (Pt) que conforman el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$, y no a los ligandos de yodo. Para confirmar

esta suposición se estudió el comportamiento electroquímico de un complejo similar, donde los ligandos de yodo se sustituyen por ligandos de bromo, $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4Br_2]$. En este caso al cambiar solo el halógeno y mantener el resto de la estructura del complejo, se esperarían desplazamientos muy pequeños o nulos (debido a que los halógenos coordinan los platinos y por ello pueden afectar ligeramente su capacidad de aceptar o donar electrones), si el proceso es debido a la reducción de los centros de platino. En la figura 38 se muestran los voltamperogramas del monómero oxidado de yodo $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ junto con el del monómero oxidado de bromo $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4Br_2]$ obtenidos en las mismas condiciones. Como se puede observar el pico a -0.20 V aparece en ambos compuestos. Sin embargo, el pico de oxidación del barrido de vuelta a $+0.27$ V en el caso del monómero oxidado de yodo, aparece desplazado a $+0.68$ V en el monómero oxidado de bromo. Estos resultados parecen confirmar que el pico de reducción a -0.20 V se debe al Pt, pero el pico de oxidación en el barrido de vuelta se debe a un proceso que implica al halógeno del complejo.

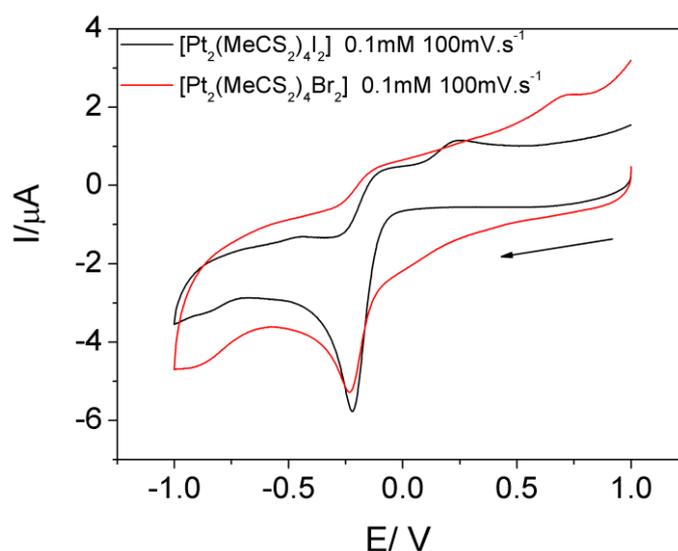


Figura 38- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ (Negro) y de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4Br_2]$ (Rojo) 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

Los voltamperogramas de las figuras 39 y 40 muestran como el potencial del pico de oxidación del barrido anódico de vuelta depende y está relacionado con el halógeno que coordina los centros de platino del monómero oxidado. En ambas figuras también se observan los voltamperogramas cíclicos de disoluciones de yoduro de tetrabutilamonio

(TBAI) y de bromuro de tetrabutil amonio (TBABr) 0.2 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 . Se comprueba que el pico de oxidación obtenido en el barrido anódico de vuelta en cada uno de los monómeros oxidados aparece a potenciales muy cercano a los potenciales de oxidación de yoduros (+0.35 V) y bromuros (+0.80 V).

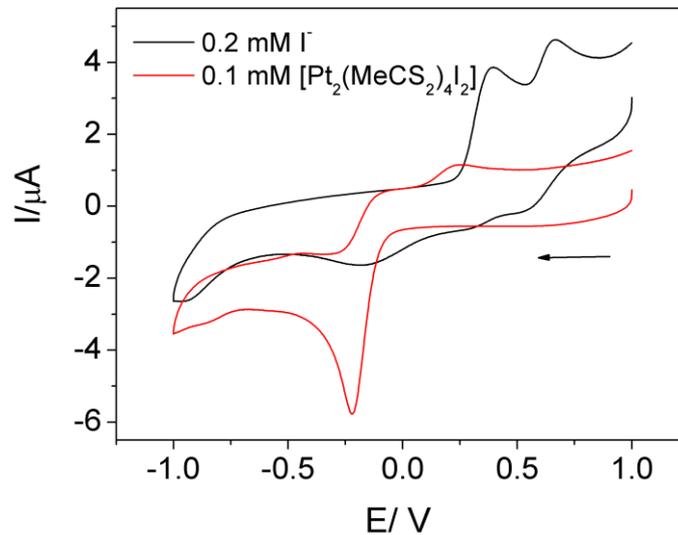


Figura 39- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM (Rojo) y de TBAI 0.2 mM (Negro) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

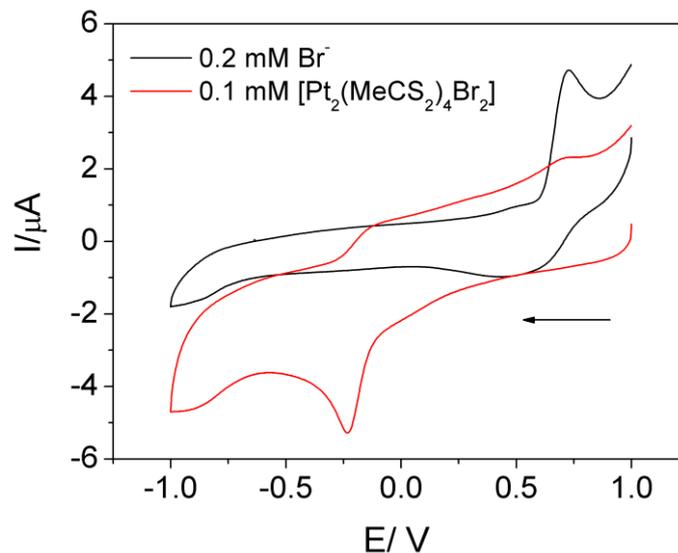


Figura 40- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt_2(MeCS_2)_4Br_2]$ 0.1 mM (Rojo) y de TBABr 0.2 mM (Negro) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4]_n$.

También se ha estudiado la electroquímica del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$. Del mismo modo se preparó una disolución de este monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ 0.1 mM. En este caso se comenzó el barrido de potencial a -0.50 V, ya que se supone que todos los centros de platinos tienen número de oxidación +2. El voltamperograma obtenido se puede observar en la figura 41. Se observa un pico de oxidación en torno a +0.55 V. Además se observó que al aplicar barridos de potencial a velocidades bajas, como 10 mV/s, aparecía un sólido verdoso sobre la superficie y los alrededores del electrodo de trabajo. Este hecho está descrito en la bibliografía, y se atribuye a la formación de cristales parcialmente oxidados del monómero (Pt (III) Pt(II)) que se unen entre sí a través de enlaces Pt-Pt de monómeros sucesivos.^[197] En el barrido catódico de vuelta puede observarse un pico de redisolución (*stripping*) en torno a +0.30 V, que corresponde a la redisolución del sólido verdoso formado en el barrido anódico.

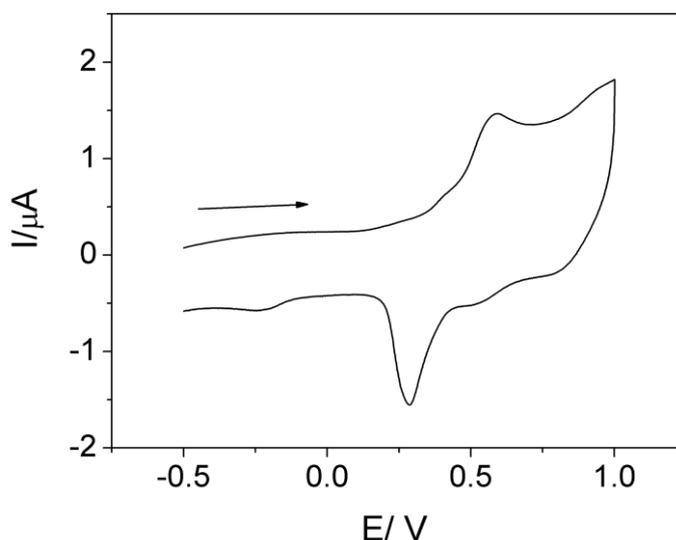


Figura 41- Voltamperograma cíclico con electrodo de GC de una disolución de $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

Estos resultados confirman que el proceso de reducción del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ es debido a la reducción de uno de los centros de Pt^{3+} a Pt^{2+} . Este paso de reducción se da a un potencial mucho más negativo (-0.20 V) cuando los centros de platino están coordinados con halógenos, que cuando no lo están (+0.30 V), siendo

este hecho consecuencia de la estabilización que produce en el complejo la coordinación con halógenos, tanto en el caso de yodo como de bromo.

Con el propósito de elucidar el papel que juegan los átomos de yodo en los distintos procesos observados, así como en la formación de las nanoesferas del polímero de coordinación $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$, se ha llevado a cabo el estudio del comportamiento electroquímico tanto del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ como del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ en presencia de yoduro (I^-) y de yodo molecular (I_2) en disoluciones TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 .

En la figura 42 se muestra el voltamperograma de disoluciones del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ 0.1 mM en presencia de I^- 0.2 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 . Debido a que de inicio los centros de Pt tienen número de oxidación +2, se comenzaron los voltamperogramas en -0.75 V. En la figura se ha incluido también el voltamperograma del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. Como se puede observar, en el voltamperograma del monómero reducido en presencia de yoduros (negro) aparece, en el barrido anódico de ida, un pico al mismo potencial que el pico de oxidación que aparece en el barrido anódico de vuelta tras la reducción del monómero oxidado (Rojo), lo cual indica que está ocurriendo el mismo proceso de oxidación en ambos casos y que por tanto, en el proceso de oxidación que aparece tras la reducción del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ están involucrados los I^- y el monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$. De este resultado se puede deducir que durante la reducción del monómero oxidado (Rojo) se generan iones yoduro (I^-) y el monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$, o bien alguna especie iónica fruto de la interacción de ambos, del tipo $[Pt^{2+}Pt^{2+}-I]^-$ o $[I-Pt^{2+}Pt^{2+}-I]^{-2}$. Teniendo en cuenta que el proceso de reducción intercambia 1 electrón, que está asociado a la reducción de uno de los centros de platino y que se trata de un proceso ECE, es decir en el que se regenera el sustrato de partida, en este caso el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ (figura 27), se puede afirmar que la reducción del monómero oxidado se produce a través de un proceso de dismutación^[12-14] como el que se muestra en el figura 43.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

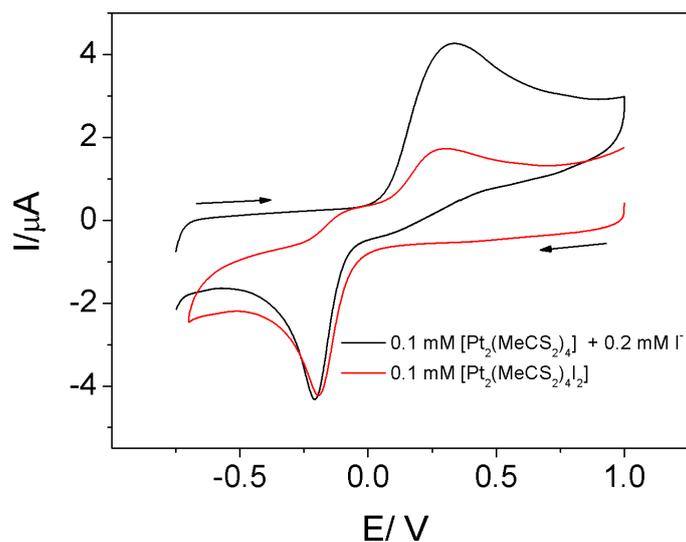


Figura 42- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de 0.1 mM $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4] + TBAI$ 0.2 mM (Negro) y de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

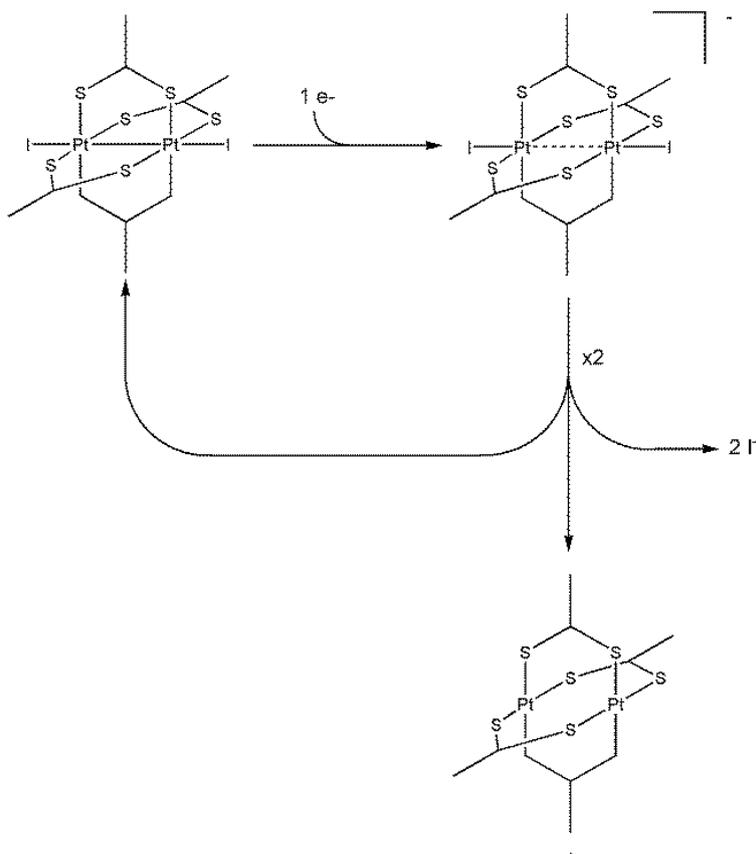


Figura 43- Mecanismo de Dismutación propuesto para el proceso de reducción del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ a -0.20 V.

Tras la oxidación del monómero reducido en presencia de I^- a potenciales de hasta 1 V, en el barrido de vuelta (figura 42 negro) aparece un pico de reducción al potencial de reducción de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$, lo que indica que a potenciales suficientemente positivos se puede formar el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. Esto es debido a que a potenciales altos un exceso de iones yoduro en el medio dará lugar a yodo molecular (I_2) y que el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ se obtiene mediante oxidación química del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ con I_2 . Por tanto si durante el ensayo electroquímico se aplican potenciales de hasta 1 V, el ion yoduro presente en el medio generará el I_2 necesario para obtener el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$. En el voltamperograma de la figura 44, se corrobora esta suposición, ya que muestra cómo afecta el potencial inicial del barrido catódico al proceso de reducción a -0.20 V asignado a la reducción del monómero oxidado electroquímicamente generado. Como se puede observar cuanto más positivo es el potencial de partida, mayor su intensidad debido a que la cantidad de I_2 generado a partir de los I^- es mayor y por tanto mayor la cantidad de monómero oxidado sobre la superficie del electrodo.

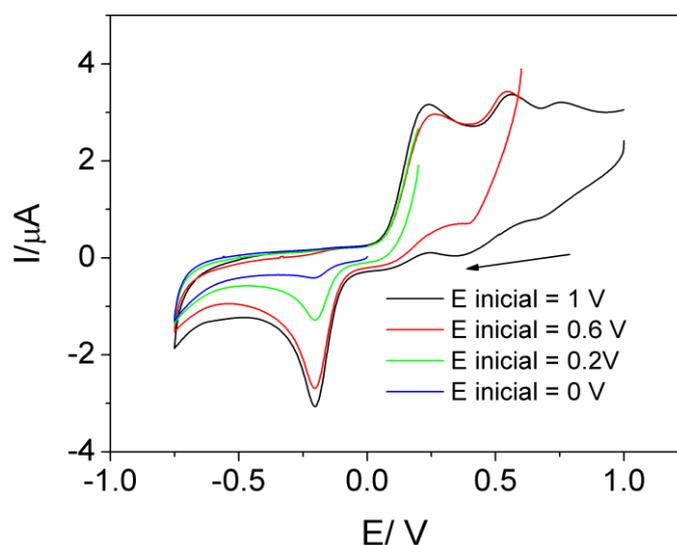


Figura 44- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ 0.1 mM + TBAI 0.3 mM en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 comenzando el barrido de potencial a 1 V (negro), 0.6 V (Rojo), 0.2 V (Verde) y 0 V (Azul) a 100 mV/s.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄]_n.

En la figura 44 también se aprecian los pares redox en torno a +0.5 V y +0.75 V adscritos a la oxidación/reducción del yodo:

- $3 I^- \leftrightarrow I_3^- + 3 e^-$ a +0.5 V.
- $2 I_3^- \leftrightarrow 3 I_2 + 2 e^-$ a +0.75 V.

Los procesos químicos y electroquímicos que ocurren en una disolución de monómero reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] y exceso de ion yoduro se ilustra en la figura 45.

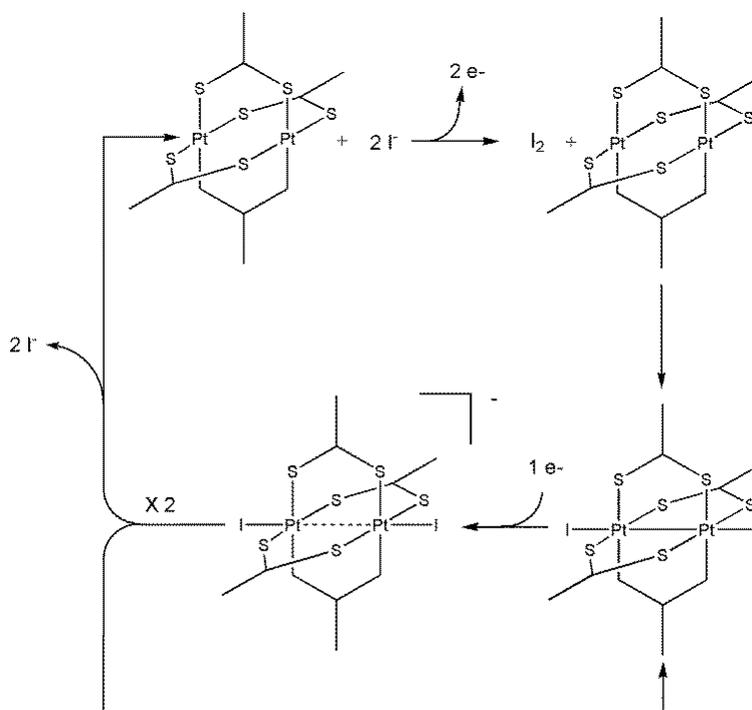


Figura 45- Procesos electroquímicos del monómero reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] en presencia de yoduros (I⁻).

Para corroborar el resultado anterior, y por tanto confirmar los procesos descritos en la figura 45, se realizó una valoración del monómero reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] con distintas cantidades de I⁻ que van desde 0 a 0.9 mM. Se registraron los voltamperogramas empezando todos a -0.75 V en sentido anódico, figura 46. Como se puede observar al ir añadiendo cantidades crecientes de I⁻, se pasa de obtener los procesos de oxidación (+0.55 V) y reducción (+0.30) característicos del monómero reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄], a producirse los fenómenos descritos en la figura 45, apareciendo nuevos picos de oxidación y reducción y bajando la intensidad de los picos propios del monómero reducido. Estos últimos acaban desapareciendo con el exceso de

I^- y siguen creciendo los picos adscritos a los procesos indicados en la figura 45 hasta llegar a un exceso en el que no aumentan más y empiezan a aparecer los propios de la oxidación de I^- a I_3^- en primer lugar y a I_2 en segundo lugar.

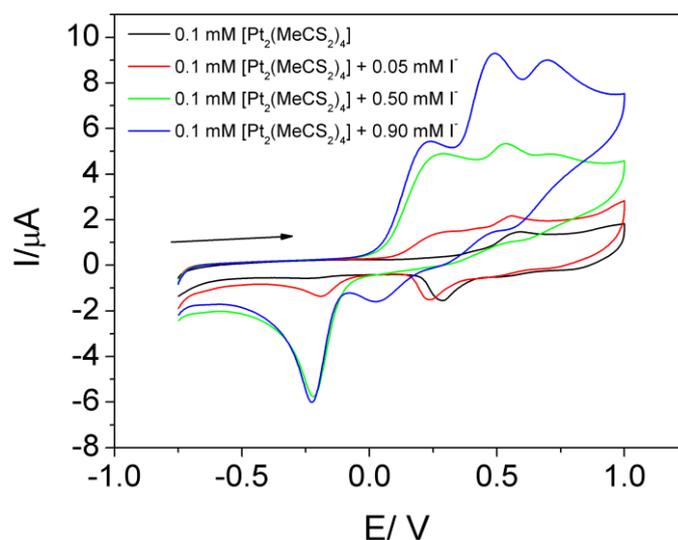


Figura 46- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de una disolución de $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ 0.1 mM + de TBAI 0 mM (Negro), 0.05 mM (Rojo), 0.50 mM (Verde) y 0.90 mM (Azul) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s.

Como ya se ha comentado, el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ se obtiene gracias a la oxidación del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ en presencia de yodo molecular (I_2). Esta reacción queda patente tanto visualmente (la disolución del monómero reducido es amarillo pálido, y al añadir yodo, se transforma en violeta, que es el color del monómero reducido) como al analizar por voltamperometría cíclica el comportamiento de disoluciones que contienen $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ y I_2 . También se ha estudiado la influencia de la concentración de I_2 en el medio (figura 47A) y de la velocidad de barrido (figura 47B)

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

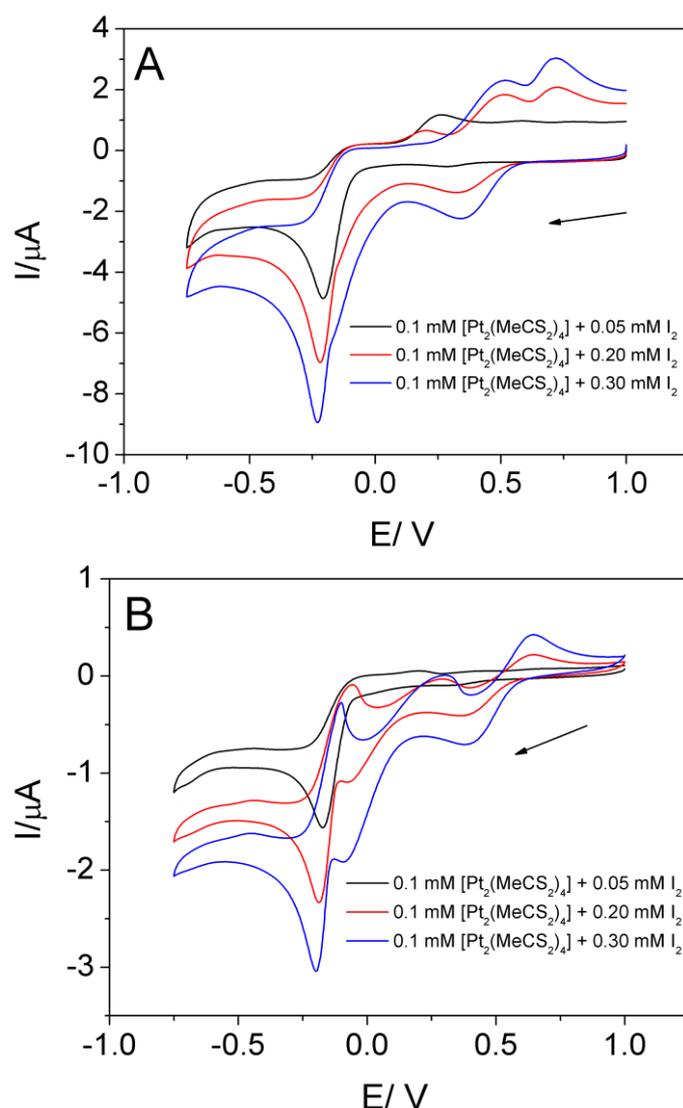


Figura 47- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ 0.1 mM + I_2 0.05 mM (Negro), 0.2 mM (Rojo), 0.30 mM (Azul) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s (A) y 10 mV/s (B).

A bajas concentraciones de I_2 , el voltamperograma cíclico a 100 mV/s es muy similar al observado para el $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$, sin embargo, conforme aumentamos la concentración de este, comienzan a observarse los picos propios del sistema $I_2/I_3^-/I^-$. En estos casos también destaca que la intensidad del pico de oxidación que aparece a +0.27 V en el barrido de vuelta tras la reducción del $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ disminuye al aumentar la cantidad de I_2 libre en la disolución, hasta llegar a desaparecer por completo. Como se puede ver en la figura 48, esto se debe a que el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ al reducirse da lugar al monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$

más yoduro I^- (ambos eran los responsables de generar el pico de oxidación a +0.27 V), al producirse monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ y tener en la disolución exceso de I_2 molecular inmediatamente reaccionan volviendo a generar el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ y por tanto evitando la aparición del pico de oxidación a +0.27 V en el barrido catódico de vuelta. Junto con la desaparición del pico de oxidación a +0.27 V se observa el aumento de intensidad del pico de reducción, lo cual es coherente con la regeneración en mayor medida del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$.

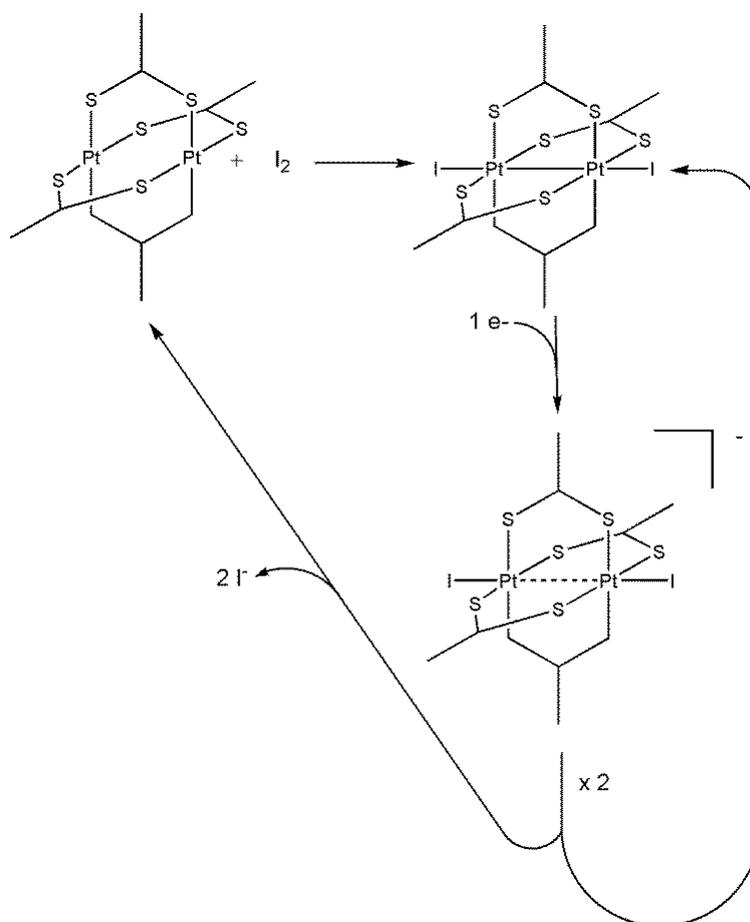


Figura 48- Procesos electroquímicos del monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ en presencia de yodo (I_2).

A velocidades de barrido bajas (10 mV/s) aparece un pico en torno a -0.20 V en el barrido de vuelta anódico, que va aumentando en intensidad al aumentar la concentración de I_2 añadido a la disolución, dando lugar a un sistema totalmente reversible cuando la concentración de I_2 añadido es 0.30 mM. Este hecho corrobora el importante papel del

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

yodo, no solamente en la regeneración de la especie parcialmente reducida originada en el proceso de reducción del barrido catódico previa a su dismutación, sino también evitando la formación del monómero reducido y de los iones yoduro responsables del pico de oxidación a +0.27 V.

Se ha estudiado la influencia del I₂ en el comportamiento electroquímico del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂]. Se registraron los voltamperogramas de disoluciones 0.1 mM del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] en presencia de concentraciones crecientes de I₂ (0.5 mM a 1.5 mM), observándose un comportamiento similar al comentado para el caso del monómero reducido [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] + I₂, mostrado en la figura 50. Como en el caso anteriormente comentado, la intensidad del pico de oxidación del barrido anódico de vuelta a +0.27 V (adscrito a la oxidación de I⁻ y [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] generados en el proceso de reducción -0.20 V) decrece al aumentar la concentración de I₂ hasta que desaparece a una concentración de 1.5 mM de I₂. Este hecho corrobora que el I₂ libre en disolución reacciona con el [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] que se genera en la dismutación convirtiéndolo en [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂], o bien reacciona oxidándolo parcialmente generando el intermedio inestable que se dismuta [Pt(III)Pt(II)(MeCS₂)₄I₂]⁻. En la figura 49 se han resumido los procesos que ocurren.

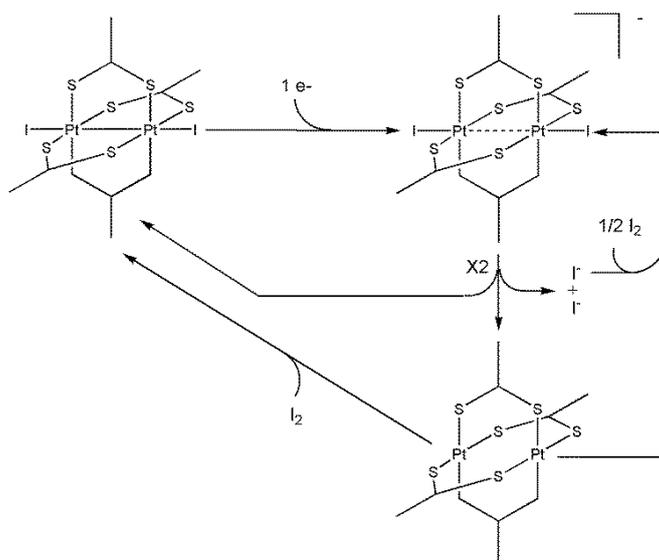


Figura 49- Procesos electroquímicos del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] en presencia de yodo (I₂).

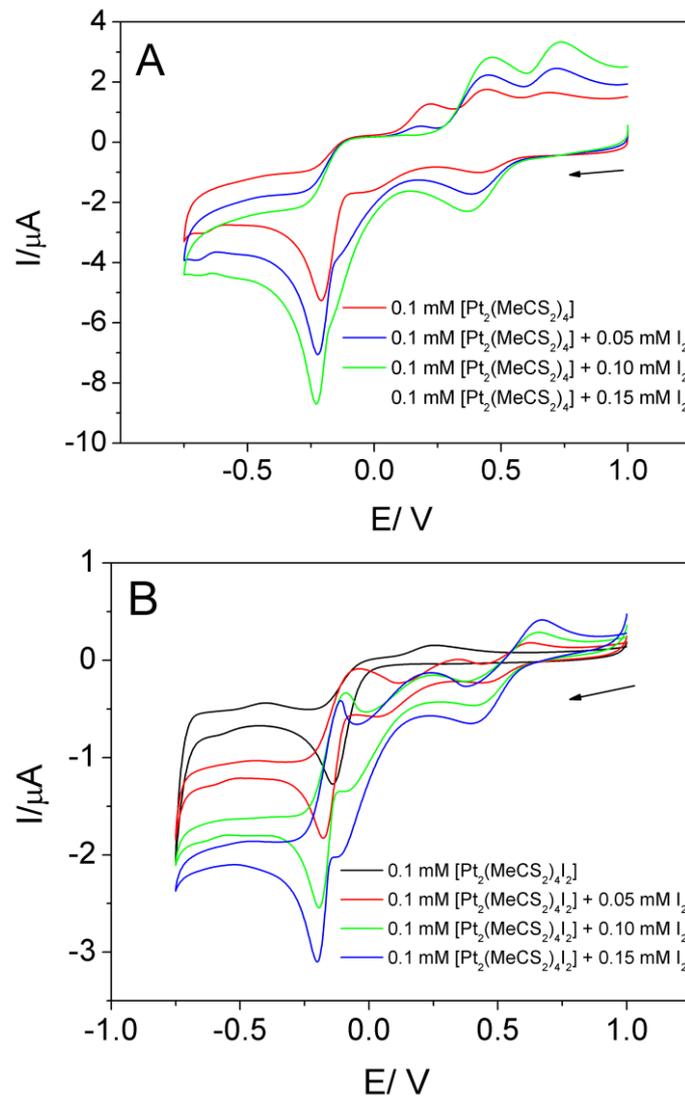


Figura 50- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ 0.1 mM + I_2 0.00 mM (Negro), 0.05 mM (Rojo), 0.10 mM (Verde) y 0.15 mM (Azul) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s (A) y 10 mV/s (B).

Se ha determinado el número de electrones involucrados en el proceso de reducción que aparece a -0.20 V en presencia de I_2 en el medio, y se comprueba que el proceso sigue intercambiando 1 electrón. Como se observa en la figura 50B, a velocidades de barrido de potencial bajas (10 mV/s), al aumentar la concentración de I_2 comienza a aparecer un pico en torno a -0.20 V en el barrido de vuelta, dando lugar a un sistema reversible. La aparición de este pico, es consistente con el proceso de dismutación que tiene lugar al reducirse el monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$, generando el monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$, el cual reacciona con el I_2 en exceso de la

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

disolución generando la especie oxidada intermedia, exactamente igual a la que se produce en los primeros instantes del intercambio electrónico, antes del paso de la dismutación. Este paso de dismutación ha de ser más rápido que la regeneración parcial de esta especie inestable, debido a que para detectarla por voltamperometría cíclica se han de utilizar velocidades de barrido bajas (se observa a 10 mV/s o inferiores). Sin embargo, a las mismas concentraciones de I₂ a 100 mV/s no se observa esta especie (pico reversible a la reducción) y sí se observa el proceso de oxidación a +0.27 V propio del [Pt(II)Pt(II)(MeCS₂)₄] + I⁻.

Se ha estudiado también el comportamiento electroquímico de disoluciones del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] en presencia de I⁻. En la figura 51A se puede comprobar como el comportamiento es muy similar al del monómero oxidado [Pt(III)Pt(III)(MeCS₂)₄I₂] en presencia de I₂, apareciendo los pares redox del sistema I₂/I₃⁻/I⁻. Además en la figura 51B se muestra el comportamiento del sistema a velocidades de barrido bajas, comprobándose que en el barrido anódico de vuelta no aparece el pico de oxidación reversible a la reducción del barrido catódico (-0.20 V), confirmándose por tanto que es el I₂ el responsable de la regeneración de la especie parcialmente oxidada [Pt(III)Pt(II)(MeCS₂)₄I₂]⁻ que da lugar al sistema reversible. Los procesos que tiene lugar se han resumido en la figura 52.

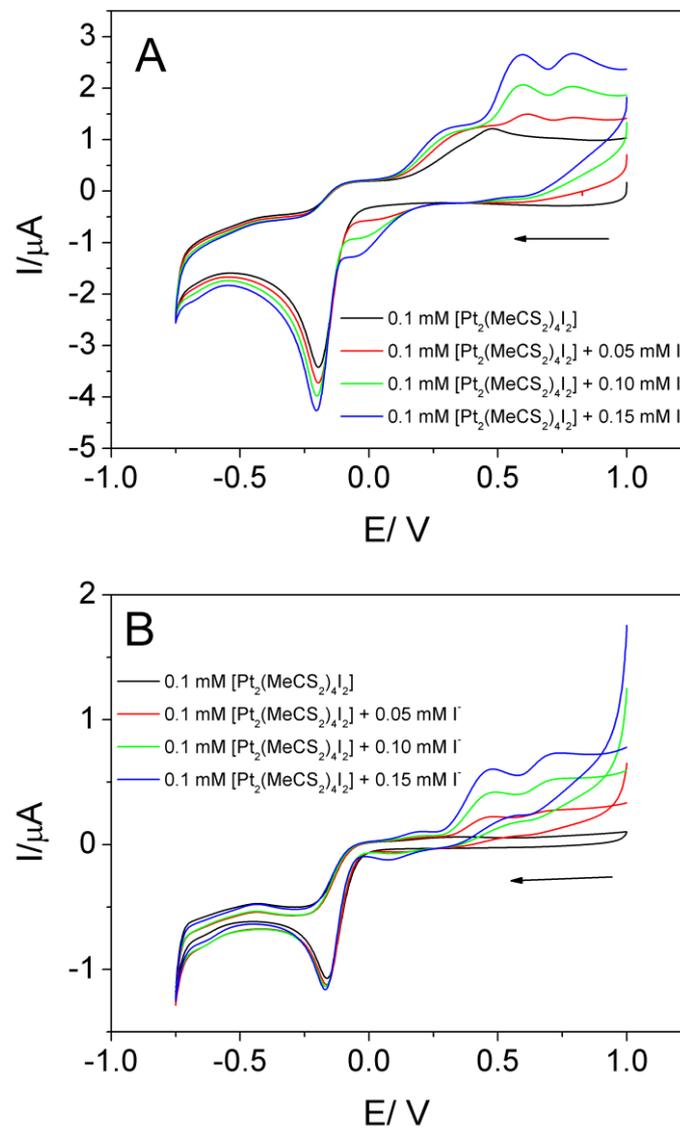


Figura 51- Voltamperogramas cíclicos con electrodo de GC de $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_2$ 0.1 mM + I^- 0.00 mM (Negro), 0.05 mM (Rojo), 0.10 mM (Verde) y 0.15 mM (Azul) en TBAP 0.1 M/ CH_2Cl_2 a 100 mV/s (A) y 10 mV/s (B).

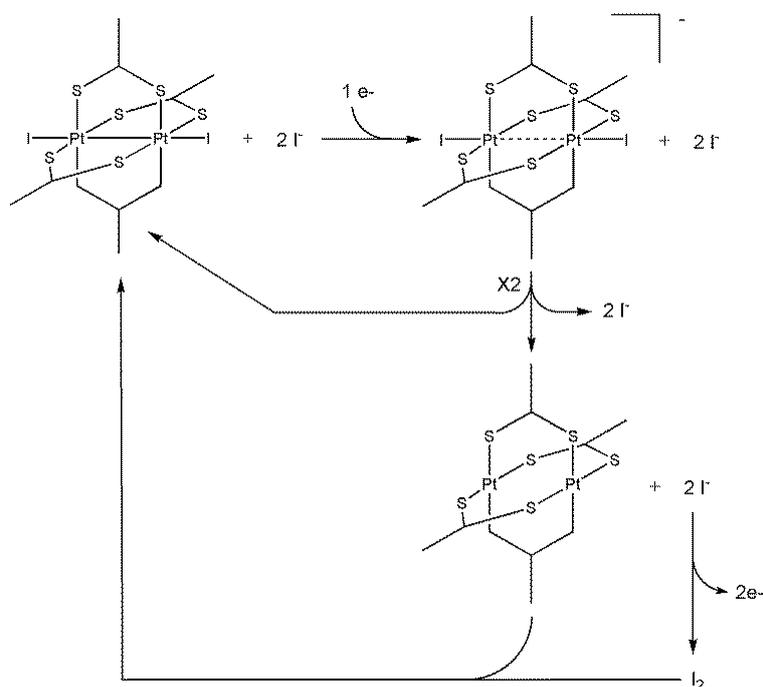


Figura 52- Procesos electroquímicos del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ en presencia de yoduro (I^-).

Finalmente y en base a los resultados obtenidos se propone un mecanismo para el proceso de electrosíntesis del polímero $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ como se resume en el figura 53. Según el cual, en primer lugar se produce la reducción del monómero oxidado $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ a -0.20 V, generándose una especie (monómero oxidado parcialmente reducido) inestable, la cual gracias a la implicación de 2 de sus entidades moleculares da lugar a un proceso de dismutación en el cual por un lado se regenera el sustrato $[Pt(III)Pt(III)(MeCS_2)_4I_2]$ y por otro el monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ y $2 I^-$. Durante el barrido catódico de vuelta, esta última especie $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ junto con el ion I^- van a reaccionar, oxidándose en primer lugar los I^- a I_2 y reaccionando este último químicamente con el monómero reducido $[Pt(II)Pt(II)(MeCS_2)_4]$ en la proporción exacta para formar el polímero de coordinación de valencia mixta $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$ dando lugar a las nanoesferas del material electrosintetizado.

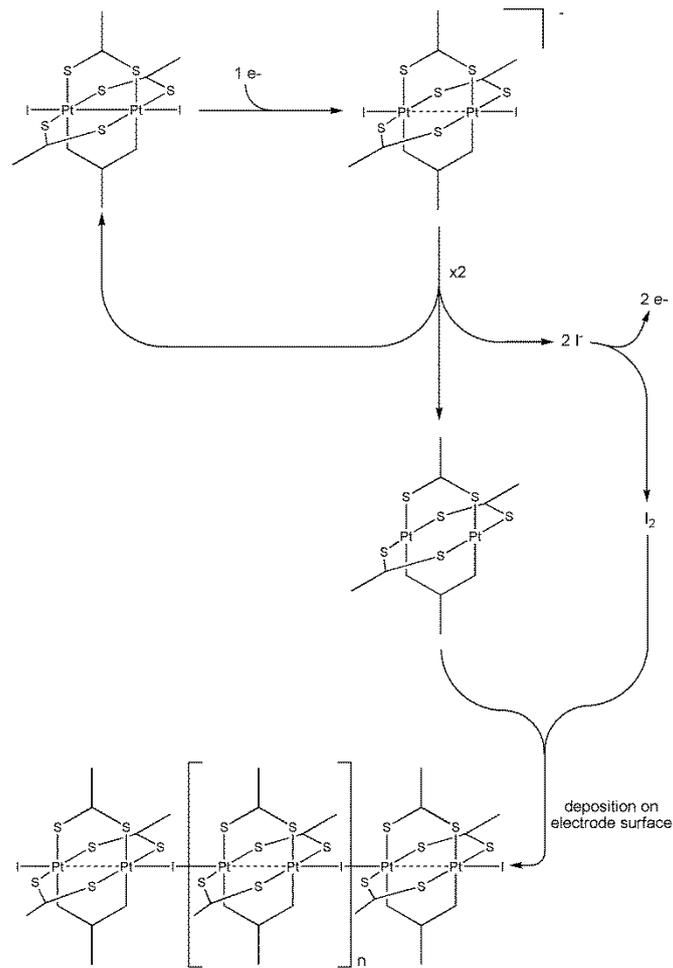
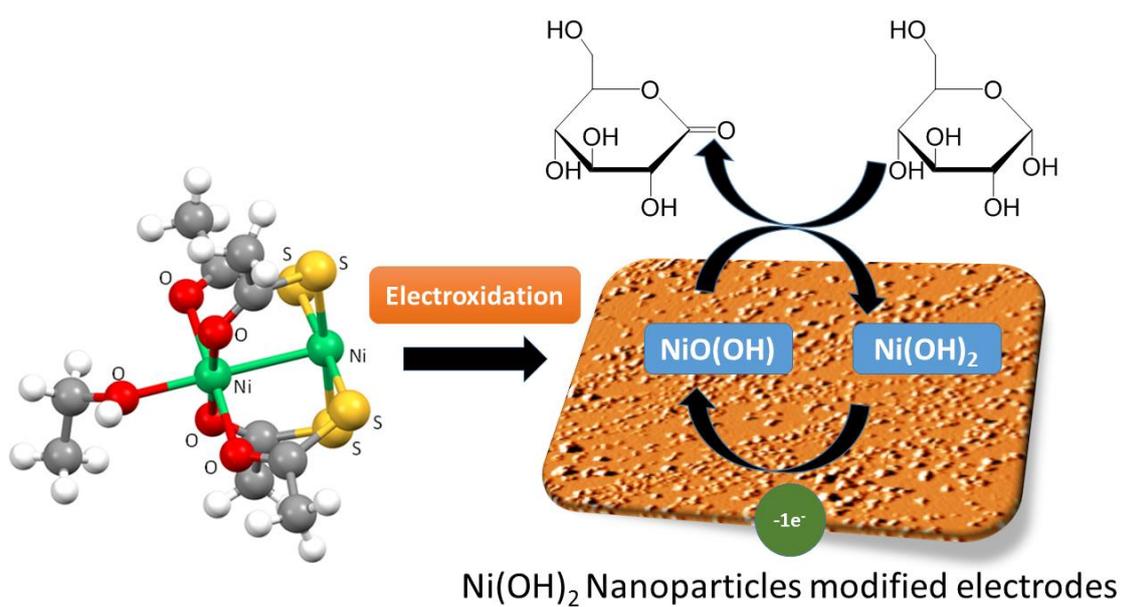


Figura 53- Mecanismo propuesto para la formación de nanoesferas de $[Pt(II)Pt(III)(MeCS_2)_4I]_n$.

Resultados y discusión.

Capítulo I- Generación electroquímica y caracterización de nanoestructuras de diplatino yodo tetrakis (monotioacetato) [Pt(II)Pt(III)(MeCS₂)₄I]_n.

Capítulo II- Electrodos modificados con compuestos de níquel.



Resultados y discusión.

Capítulo II- Electrodo modificado con compuestos de níquel.

Los materiales con propiedades electrocatalíticas son en la actualidad un campo de amplio estudio debido a sus importantes aplicaciones en la síntesis química, pilas de combustible, sistema de almacenamiento energético y sensores electroquímicos.^[198-201] En este contexto, los materiales que contienen níquel son muy atractivos, ya que suelen ser muy abundantes en la tierra, muy baratos y su gran actividad catalítica es conocida desde hace años.^[94] En particular, microestructuras y nanoestructuras de hidróxido de níquel están mostrando un gran potencial en el ámbito de las pilas de combustible^[202, 203], baterías alcalinas recargables^[204], y electrocatalizadores para síntesis de compuestos orgánicos.^[205, 206] El grado de éxito del empleo del hidróxido de níquel en estas aplicaciones depende de manera importante del tamaño de sus estructuras y de su morfología^[204]. Por lo general las diferentes rutas químicas usadas para la generación de estructuras de hidróxido de níquel sobre superficie de materiales, como la formación sobre sistemas sol-gel, los métodos solvotermales y los que emplean sonoquímica, dan lugar en su mayoría a la formación de películas de este material.^[207, 208] También, se han desarrollado algunos métodos para la formación de nanoestructuras de hidróxido de níquel, de una gran variedad morfológica, como nanoplatillos^[209, 210], esferas huecas^[211, 212], bastones alargados, nanorectángulos^[213, 214], estructuras en forma de flor^[215, 216] y nanohilos^[217]. En principio, el hidróxido de níquel en aplicaciones electrocatalíticas podría ser más eficiente usando nanomateriales con cierta porosidad. Hay muy pocos ejemplos en la literatura que muestran la producción de nanopartículas aisladas de Ni(OH)₂ sobre superficies electródicas. La electrosíntesis de este material gracias a la presencia en el medio de iones Ni²⁺^[218], en la mayor parte de los casos, en lugar de nanoestructuras suele generar películas sobre la superficie del electrodo. Estas no son tan efectivas como las nanopartículas, en los procesos electrocatalíticos al tener menor relación área/volumen. Ante esta situación, una buena aproximación para la obtención de nanopartículas o nanoestructuras puede ser la electrosíntesis de compuestos de níquel que formen micro o nano estructuras, y su posterior modificación en medio alcalino obteniéndose nanoestructuras de hidróxido de níquel.

En la literatura podemos encontrar ejemplos de compuestos organometálicos que ofrecen la posibilidad de ser electrodepositados sobre superficies electródicas generando nanoestructuras^[219]. Esta posibilidad nos ha llevado a considerar

determinados compuestos organometálicos que contienen átomos de níquel en su estructura y que pueden ser buenos candidatos para este propósito. Con este objetivo, y dado los buenos resultados obtenidos en el capítulo anterior, se seleccionó un complejo *Paddle-Wheel* formado por 2 átomos de níquel en su estructura (figura 54). Se comenzó estudiando el comportamiento electroquímico de esta molécula, así como posibles procesos de electrodeposición con el fin de obtener electrodos modificados con nanoestructuras de hidróxido de níquel.

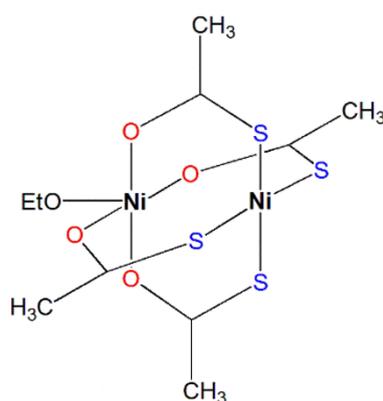


Figura 54- Representación de la estructura del complejo tipo *Paddle-Wheel* diníquel tetrakis (monotioacetato).

El objetivo de obtener superficies electródicas modificadas con nanoestructuras de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ es la gran reactividad electrocatalítica que presenta el par $\text{Ni}(\text{II})/\text{Ni}(\text{III})$ hacia la electrooxidación de pequeñas moléculas orgánicas que contienen grupos hidroxilos, aminos y tioles en su estructura^[220]. En los últimos años se ha investigado mucho sobre el mecanismo que tiene lugar, afirmándose en muchos artículos que el primer paso sería la oxidación de $\text{Ni}(\text{II})$ a $\text{Ni}(\text{III})$ formándose la especie NiOOH . Esta especie es en realidad la especie electrocatalíticamente activa y la responsable de la oxidación irreversible de estas moléculas orgánicas^[220-223]. Muchos autores han descrito el uso de electrodos modificados con compuestos de níquel para la oxidación electrocatalítica de glucosa y alcoholes^[224-229], sin embargo, solamente en algunos de ellos se utilizan procesos simples de modificación directa de los electrodos que emplean^[220, 230-232].

Por tanto a lo largo de este capítulo se van a exponer los estudios realizados sobre el comportamiento electroquímico del compuesto $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$, y los procesos a los que da lugar, haciendo especial hincapié en aquel que origina la electrodeposición de un

complejo de coordinación de níquel. Se ha caracterizado por distintas técnicas el material electrogenerado y se ha propuesto un mecanismo para el proceso de electrosíntesis. Una vez caracterizado el compuesto se ha usado como precursor en para la formación en medio alcalino de hidróxido de níquel, se han caracterizado la electroquímica de este, y se ha analizado por diversas técnicas su composición y morfología. Por último se han empleado electrodos modificados con nanopartículas de hidróxido de níquel para la electrooxidación catalítica de alcoholes y azúcares, obteniéndose buenas propiedades analíticas de los electrodos que nos llevan a proponerlos como sensores electroquímicos de estas moléculas.

1. Generación electroquímica de diníquel tetrakis (diacetato) $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$.

1.1. Caracterización electroquímica del $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$.

1.1.1. Estudios por voltamperometría cíclica.

Se estudió en primer lugar el comportamiento electroquímico del complejo *Paddle-Wheel* $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ en disoluciones TBAP 0.1 M/cloroformo (CHCl_3) mediante voltamperometría cíclica. Se eligió el CHCl_3 como disolvente ya que en diclorometano el compuesto es inestable, generando un precipitado de color anaranjado que se atribuye a la formación de compuestos clorados. En cloroformo el compuesto presenta buena solubilidad y estabilidad, y pese a tener mayor número de cloros en su estructura no se producen los procesos descritos para el diclorometano. Otros disolventes que presenten en su estructura nitrógenos u oxígenos (átomos muy coordinantes) pueden coordinar el níquel y alterar los procesos electroquímicos que se observan.

Las figuras 55A y 55B muestran los voltamperogramas cíclicos de disoluciones de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 obtenidos a 100 mV/s con electrodos de disco de GC y Au respectivamente. Como se puede observar al aplicar un barrido de potenciales en sentido anódico aparece un proceso de oxidación tanto en el electrodo GC como en el de Au a aproximadamente 1.10 V y 0.90 V, respectivamente. En el barrido de vuelta no aparecen picos de reducción, por lo que se puede determinar que se trata de un proceso no reversible. Es importante destacar que en ambos materiales electródicos, GC y Au, se observa el mismo único proceso de oxidación, adelantándose unos 200 mV para el caso del Au, aunque a priori se trataría del mismo proceso que el descrito en GC.

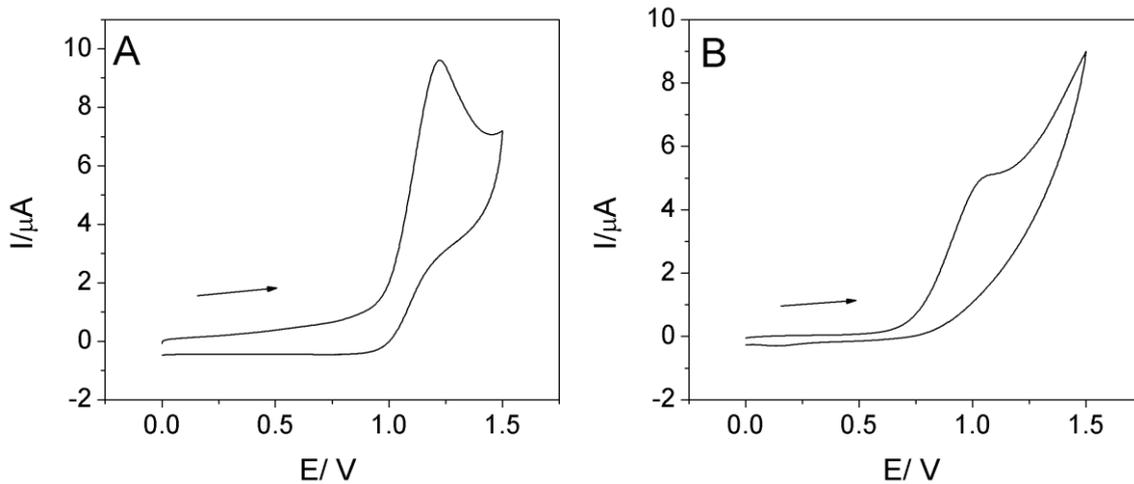


Figura 55- Voltamperograma cíclico obtenido con un electrodo GC (A) y un electrodo de Au (B) en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 a 100 mV/s.

Se realizó un estudio de velocidades de barrido de potencial para caracterizar dicho proceso tanto en electrodos de GC como de Au, figuras 56A y 56B respectivamente. En ambos casos se puede observar que si el barrido de potenciales es inferior a 100 mV/s, el proceso de oxidación es totalmente irreversible y no se aprecia pico de vuelta. Sin embargo a altas velocidades como 500 mV/s comienza a intuirse un pico en el barrido catódico que sería el correspondiente al par redox de la oxidación. El pico de oxidación sin embargo, aparece a todas las velocidades de barrido de potencial estudiadas, aumentando en intensidad conforme aumenta la velocidad de barrido. Por tanto podemos decir que se trata de un proceso de oxidación irreversible, que ha de tener reacciones químicas acopladas, de modo que la especie oxidada se transforma de manera irreversible al poco tiempo de ser generada.

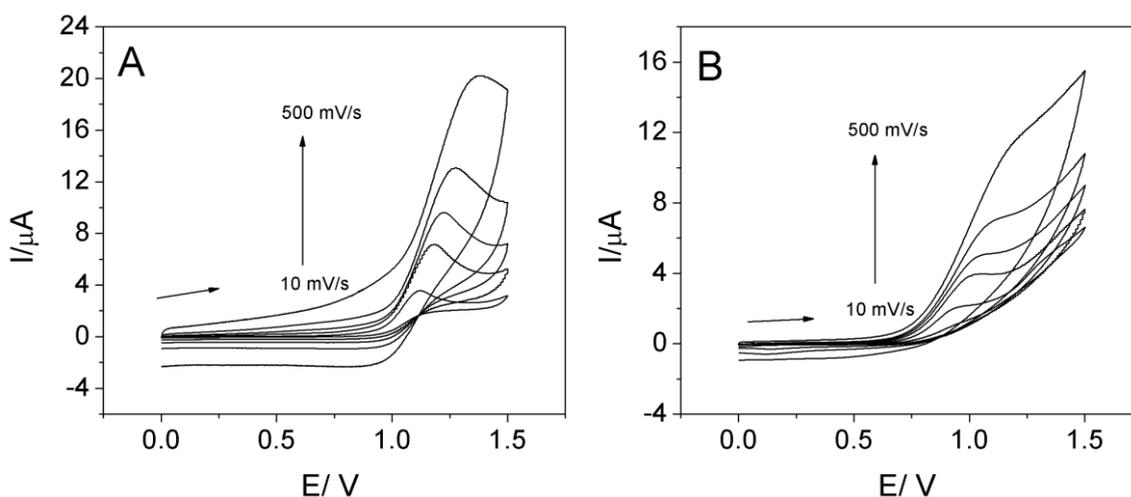


Figura 56- Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo de GC (A) y con un electrodo de Au (B) en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 a distintas velocidades de barrido de potencial (10 mV/s a 500 mV/s).

Se aplicaron ciclos sucesivos de voltamperometría cíclica, tanto en el caso de electrodos de GC como de Au, para ver como evolucionaba el pico de oxidación. Podemos observar en las figuras 57A y 57B como se produce una disminución de la intensidad del pico de oxidación conforme se aplican barridos de potencial sucesivos, aunque de forma más pronunciada en el electrodo de Au. Este comportamiento suele ser típico de procesos de electrosíntesis en los que sobre la superficie del electrodo se genera un material menos conductor que el propio electrodo. Por tanto estos estudios indican que durante el proceso de oxidación se está electrosintetizando un nuevo material.

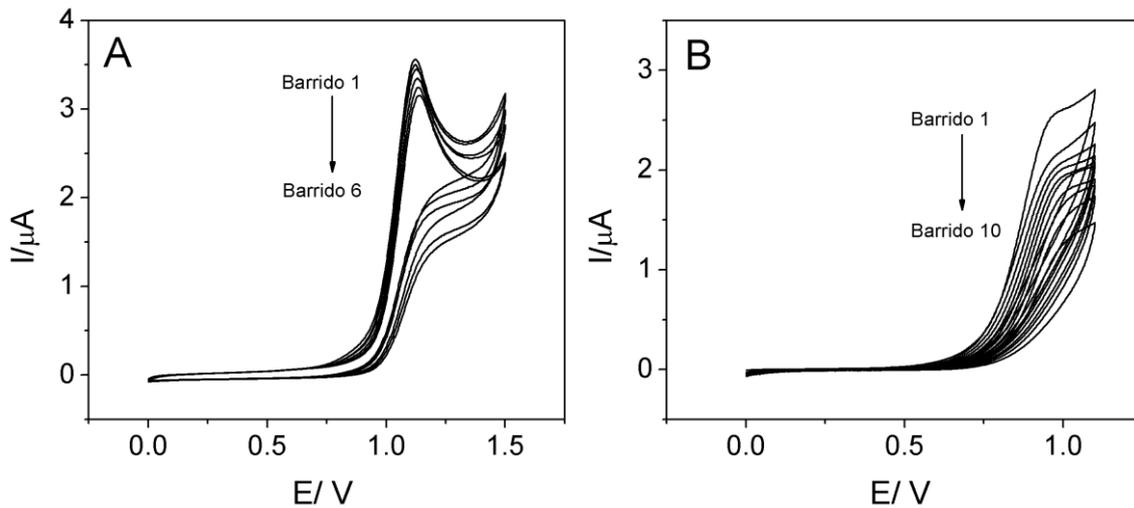


Figura 57- Voltamperogramas cíclicos sucesivos obtenidos con un electrodo de GC (A) y con un electrodo de Au (B) en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ 10 mV/s.

Para comprobar si se estaba depositando algún material sobre la superficie del electrodo, y si este es electroactivo, se modificaron los electrodos aplicando 10 ciclos de voltamperometría cíclica en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ a 10 mV/s. Una vez modificado el electrodo se introdujo en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ y se registraron voltamperogramas. En la figura 58 se muestran los voltamperogramas en electrolito soporte tanto del electrodo de GC modificado como del electrodo de GC sin modificar, pudiéndose comprobar cómo tras la modificación aparece un par redox poco intenso pero detectable con un potencial formal de 0.63 V. Si sobre el electrodo modificado aplicamos barridos sucesivos de voltamperometría cíclica entre 0 y 1.5 V, la intensidad del par redox decrece menos de un 1% tras 100 ciclos, confirmando la buena estabilidad tanto química como electroquímica del electrodo modificado.

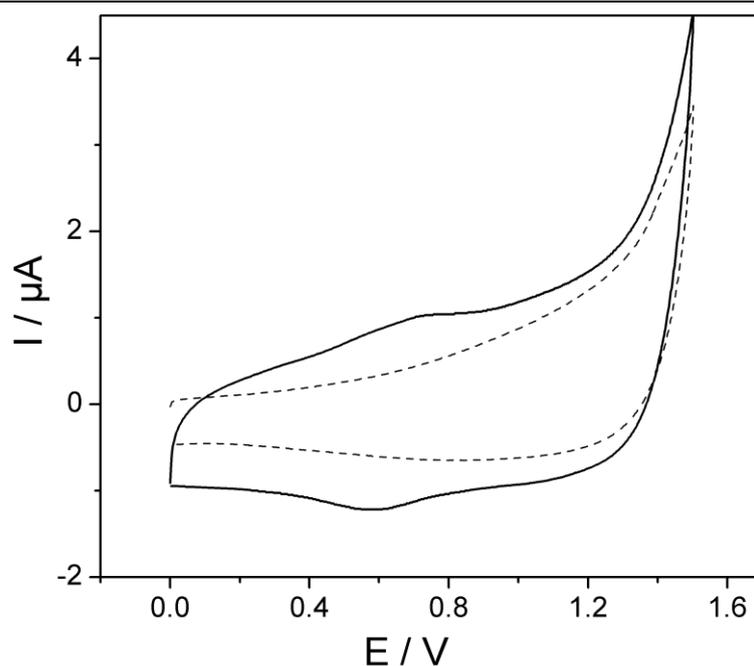


Figura 58- Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo de GC modificado (10 barridos de potencial cíclico entre 0 y 1.5V en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM) (línea continua) y sin modificar (línea discontinua) en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 a 10 mV/s.

1.1.2. Estudio del proceso de oxidación del $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. Determinación del coeficiente de transferencia de carga y número de electrones involucrados en el proceso.

Al igual que en el capítulo I se ha tratado de obtener información de los procesos electroquímicos que ocurren en la oxidación de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. En primer lugar ya que no se conocía el coeficiente de difusión del complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ se determinó usando el método descrito por Chatenet. $M^{[169, 170]}$ que se describe en el apartado 4.2 de Material y Métodos, utilizándose un electrodo de disco-anillo.

La figura 59A muestra un ejemplo de cronoamperometrías realizada en el electrodo de anilla de platino del electrodo rotatorio de disco-anillo usado para las medidas. A partir de ella se determina el tiempo de tránsito a distintas velocidades de rotación. En la figura 59B se ha representado este tiempo en función del inverso de la velocidad de rotación multiplicado por la constante $K = 4.428$ (s/rpm), obteniéndose una recta. A partir de la pendiente se obtiene el coeficiente de difusión de la especie en disolución $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ (ecuación (3) Material y métodos), conociendo el valor de viscosidad

cinemática de TBAP 0.1 M/CHCl₃ $\nu = 0.00381 \text{ cm}^2/\text{s}$. El coeficiente de difusión D para el complejo [Ni₂(MeCOS)₄] calculado es igual a $6.80 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.

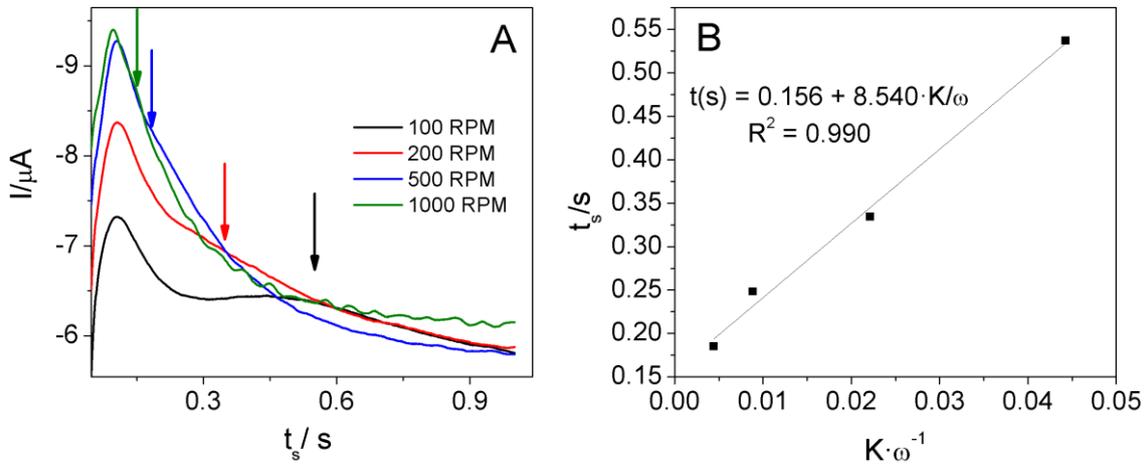


Figura 59-(A) Cronoamperometrías registradas con el electrodo de anilla de platino del RRDE a distintas velocidades de rotación (ω) aplicando un potencial constante de 1.3 V en la anilla y de $E = 0 \text{ V}$ antes del $t_s = 0 \text{ s}$ y $E = 1.3 \text{ V}$ después del $t_s = 0 \text{ s}$ en el disco de carbón vítreo. (B) Ajuste lineal de tiempo del tránsito (t_s) frente a $K \cdot \omega^{-1}$.

Conociendo el valor del coeficiente de difusión para [Ni₂(MeCOS)₄] en TBAP 0.1 M/CHCl₃, se puede calcular el número de electrones involucrados en el proceso de oxidación a +1.10 V, mediante cronoamperometría y/o cronoculombimetría. En la figuras 60A y 60B se muestra un ejemplo de una cronoamperometría obtenida en una disolución de [Ni₂(MeCOS)₄] 0.1 mM en TBAP 0.1 M/CHCl₃ y su ajuste lineal de intensidad de corriente frente a $t^{1/2}$, respectivamente. Del valor de la pendiente a partir de la ecuación de Cottrell se obtiene el valor del número de electrones para el proceso de oxidación que resulta ser igual a 4. Para corroborar el resultado anterior, se realizaron también cronoculombimetrías aplicando el mismo potencial (figura 60C). El ajuste lineal de la carga frente a $t^{1/2}$ se recoge en la figura 60D. Del valor de la pendiente de la recta se calculó el número de electrones involucrados en el proceso de oxidación siendo este igual a 4.

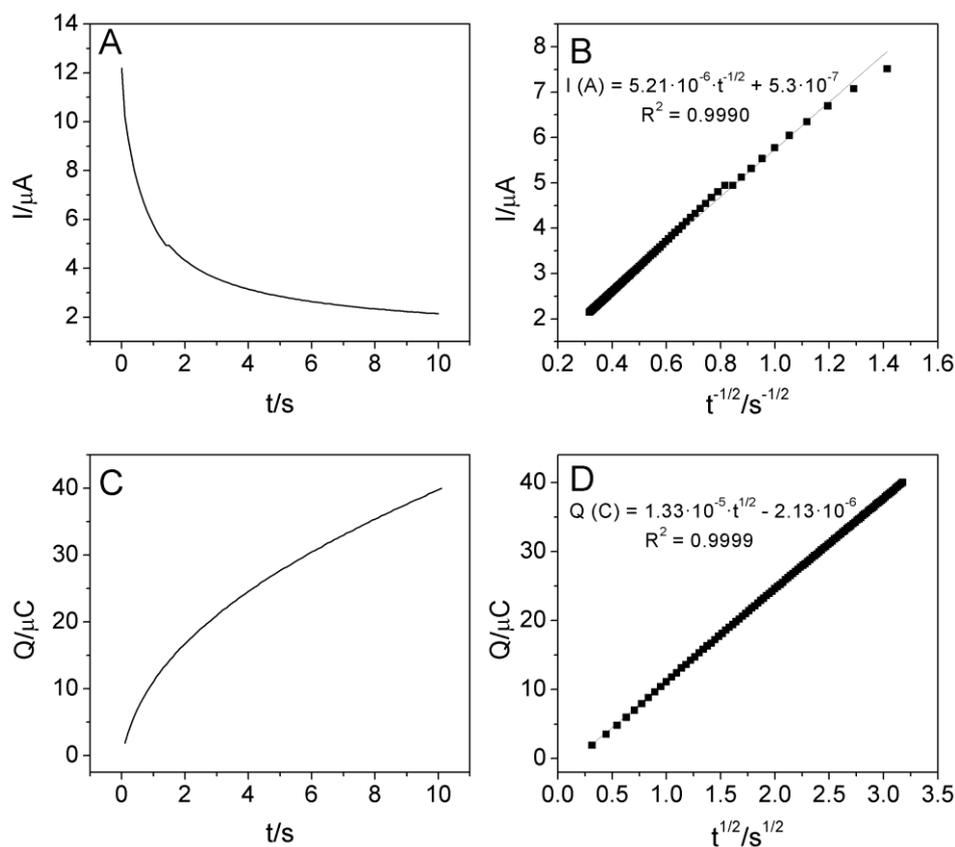


Figura 60- (A) Cronoamperometría estableciendo el potencial del electrodo de GC a 1.30 V en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$. (B) Representación I frente a $t^{-1/2}$ obtenida de la relación intensidad de corriente frente tiempo de la cronoamperometría anterior. (C) Cronocoulombimetría de un electrodo de GC a 1.30 V en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$. (D) Representación Q frente a $t^{1/2}$ obtenida de la relación carga frente tiempo registrada en la cronocoulombimetría anterior.

Una vez determinado el número de electrones (n), analizando los voltamperogramas cíclicos obtenidos a diferentes velocidades de barrido de potencial (figura 56) se determinó el coeficiente de transferencia electrónica (α) a partir de la ecuación (2) de materiales y métodos. En la figura 61 se representa el valor del potencial de pico medido a las distintas velocidades de barrido frente al logaritmo de la velocidad de barrido. Se puede diferenciar 2 regiones lineales en función de la velocidad de barrido. A partir de la pendiente de cada tramo, utilizando la ecuación (2) descrita en Materiales y Métodos (apartado 4.1) se obtiene un valor de α igual a 0.95 para velocidades entre 2 y 100 mV/s. Este valor aunque muy alto, puede ser admisible para sistemas totalmente irreversibles.

Del segundo tramo lineal, de 100 mV/s a 1000 mV/s se obtiene un valor de α igual a 0.76, sigue siendo un valor elevado, pero que se corresponde con la aparición de un proceso de reducción, reflejado en el pequeño pico de vuelta que se aprecia.

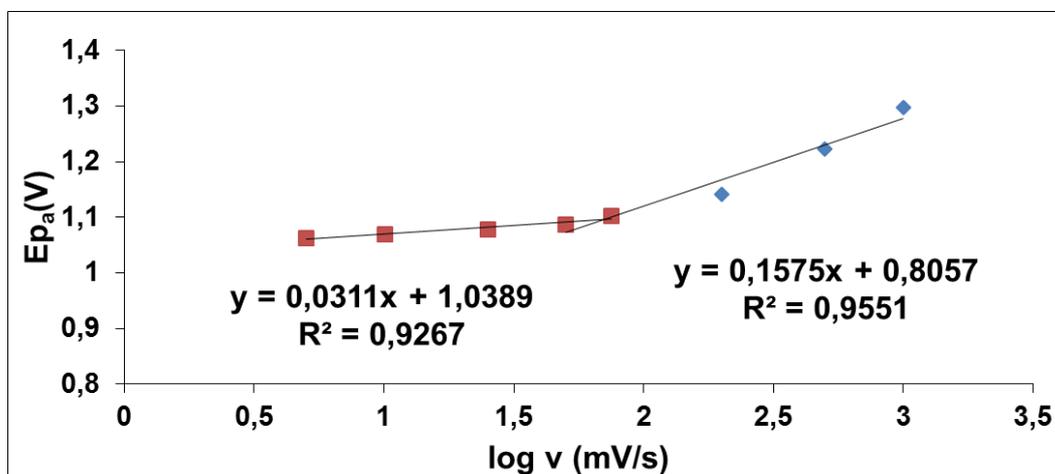


Figura 61- Potencial de pico anódico frente al logaritmo de la velocidad de barrido ($E_{p_{an}}/\log(v)$).

1.2. Electrosíntesis del diníquel tetrakis (diacetato) [$Ni_2(MeCO_2)_4$].

1.2.1. Estudio mediante la microbalanza de cristal de cuarzo.

Como se comentó anteriormente, al aplicar ciclos sucesivos de voltamperometría cíclica sobre electrodos de GC y de Au, se observó que las intensidades del pico de oxidación disminuían con cada uno de los ciclos sucesivos. Una posible explicación de este resultado sería la electrodeposición de un material poco conductor que actuaría como inhibidor de la superficie electroquímica. Para corroborar este efecto se realizaron estudios utilizando la microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo (EQCM). Como ya se citó anteriormente, se trata de una poderosa técnica que ofrece simultáneamente información de magnitudes electroquímicas (intensidad, potencial, carga) junto con la variación de la frecuencia de vibración del cristal, la cual está relacionada con la masa que se electrodeposita sobre la superficie del electrodo de oro de microbalanza de cristal de cuarzo por la ecuación de Sauerbrey^[175] (Ecuación (14) Materiales y Métodos).

Para realizar este estudio se utilizó como electrodo de trabajo un electrodo de oro depositado sobre un cristal de cuarzo para QCM. Se dieron 5 barridos cíclicos de

potencial desde 0 V hasta 1.5 V a una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 a 10 mV/s. En la figura 62 se representa los valores de variación de la frecuencia (Δf) frente al potencial aplicado (E). Se observa que se produce un descenso en la frecuencia cuando se aplica un potencial de +0.90 V. Este es el potencial al cual se produce la oxidación del $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ lo que indica que se está depositando sobre el electrodo algún material como resultado del proceso de oxidación. Al aplicar al electrodo de oro de la QCM un potencial constante de 1.10 V durante 150 segundos se comprobó también el descenso de frecuencia, indicando que tan solo aplicando el potencial de oxidación apropiado se produce el proceso de electrodeposición sobre la superficie del electrodo.

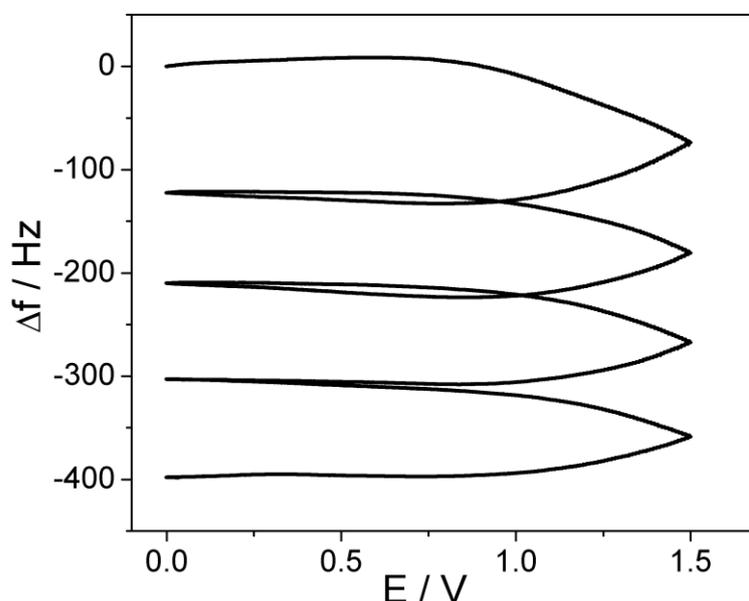


Figura 62- Registro de la variación de frecuencia de vibración (Δf) frente al potencial (E) aplicado durante los sucesivos ciclos de voltamperometría en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 a 10 mV/s.

En la tabla V se recogen los valores de la variación de frecuencia en cada uno de los ciclos sucesivos aplicados y la masa asociada a estas variaciones calculada a partir de la ecuación de Sauerbrey.

Tabla V- Relación de variaciones de frecuencia (Δf) determinadas para cada uno de los barridos de voltamperometría cíclica a los que se somete el electrodo de EQCM y relación de esta a través de la ecuación de Sauerbrey con la cantidad de masa en ng/cm^2 depositado del material electrosintetizado.

Ciclo	Δf (Hz)	$\Delta m(\text{ng}/\text{cm}^2)$
1	126.148	2232.82
2	88.073	1558.89
3	95.154	1684.23
4	91.370	1617.25

Como se puede apreciar la masa depositada en cada uno de los ciclos sucesivos es más o menos constante, exceptuando en el primer ciclo donde es ligeramente superior. Esto puede ser debido a que el electrodo de Au de la QCM es más activo a la electrodeposición del material (menos conductor, como se dedujo en el apartado 1.1.1), y conforme se va recubriendo este, menos favorecido el proceso de electrosíntesis, por lo cual la cantidad de compuesto que se electrodeposita es menor.

1.2.2. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados obtenidos en el proceso de electrosíntesis.

Tras comprobar que durante el proceso de oxidación del $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ se produce la deposición de un material sobre la superficie del electrodo, se procedió a la caracterización del mismo. Se determinó su morfología mediante microscopía de barrido electrónico y su composición mediante análisis de EDX (energía dispersiva de rayos X), realizados durante los análisis por FE-SEM, y mediante espectroscopía de fotoelectrones generados por rayos X (XPS). De este modo, se obtiene información acerca del tipo de estructuras y tamaño que constituyen el material electrosintetizado, y de su composición con el fin de establecer el proceso electroquímico y determinar el mecanismo. Para llevar a cabo esta caracterización y poder operar tanto en el microscopio FE-SEM como en la cámara de vacío del XPS, el compuesto se electrosintetizó sobre superficies de Au (Placas AFM Au) y de grafito pirolítico altamente orientado (HOPG) en lugar de usar los electrodos de disco convencionales. Se comprobó por FE-SEM y EDX que tanto la morfología como la composición del material electrogenerado era la misma en ambas superficies.

1.2.2.1. Microscopía electrónica de Barrido (SEM). Análisis de microestructuras por EDX.

Se analizaron las superficies de Au (figura 63A) y de HOPG (figura 63B) sobre las que se había electrosintetizado el material aplicando 1.15 V durante 150 s al electrodo sumergido en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 . En ambos casos se puede apreciar cómo se han generado sobre la superficie del electrodo una especie de plataformas en forma de discos sobre las que parece crecer un cristal en forma de bastón, que según el caso puede ser más o menos alargado. Las plataformas suelen tener un diámetro aproximado de 5 μm , y el tamaño del bastón o cristales varía en función del tiempo de electrodeposición.

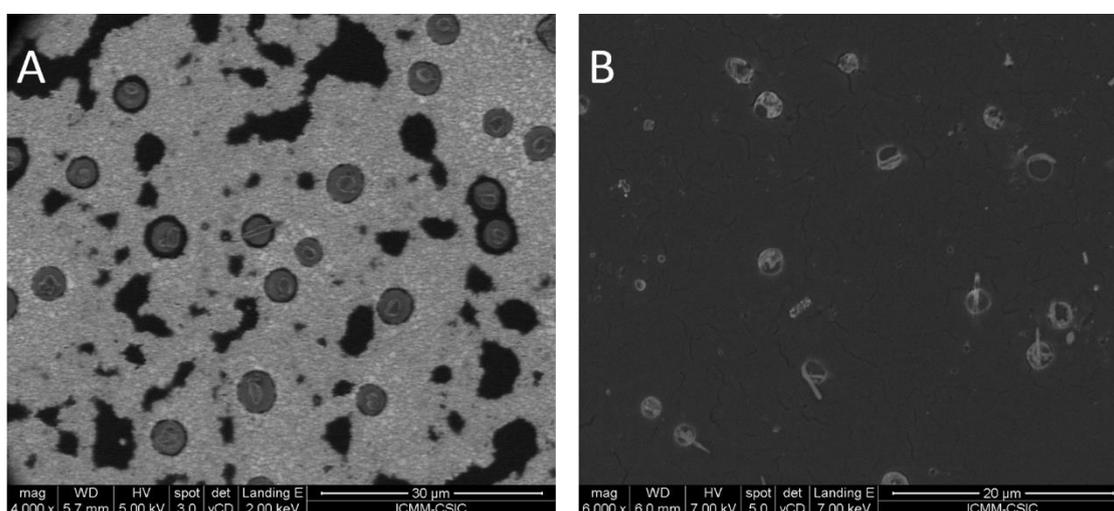


Figura 63- FE-SEM superficie de Au (A) y de HOPG (B) modificadas aplicando 1.15V durante 150 s en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 .

Para comprobar como cambiaba la morfología del material en función del tiempo de electrodeposición, se ensayaron distintos tiempos desde 30 a 600s (figura 64). Como se puede observar al aumentar el tiempo de electrodeposición aumenta la longitud del cristal que crece sobre la plataforma. Del mismo modo, aunque quizás algo menos evidente, parece que el tamaño de las plataformas disminuyen al aumentar la longitud del cristal, como si a lo largo del proceso de electrodeposición el material se fuera organizando para la formación del cristal, ya que en un primer momento se encuentra en forma amorfa sobre la superficie. En definitiva se puede afirmar que el material crece en forma de plataformas de unos 5 μm de diámetro aproximadamente, y sobre estas

van creciendo cristales alargados de un grosor en torno a 300-500 nm aproximadamente y de longitud variable en función del tiempo empleado para su electrodeposición.

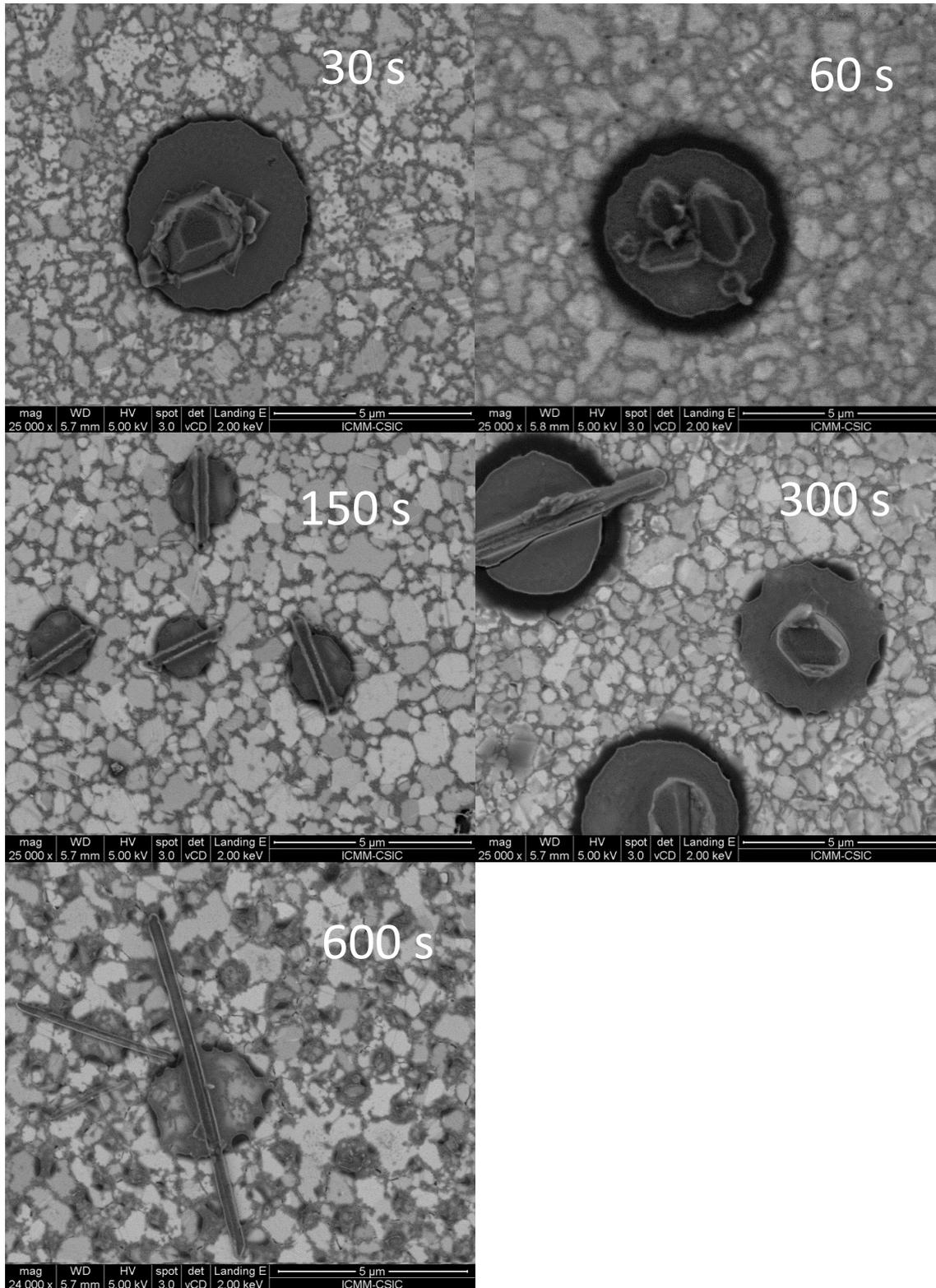


Figura 64- FE-SEM superficies de Au modificadas aplicando 1.15V durante 30 s, 60 s, 150 s, 300 s y 600 s en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$.

Resultados y discusión.

Capítulo II- Electrodo modificado con compuestos de níquel.

Se realizaron análisis por energía dispersiva de rayos X (EDX) del material, de las plataformas y de los cristales. No se observaron diferencias significativas en la composición, por lo que se puede afirmar que se trata del mismo material, aunque quizás en distintas fases, una amorfa (plataforma) y la otra cristalina.

Se llevó a cabo también el análisis por EDX de cristales del material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ depositados sobre la superficie de Au, con objeto de comprobar si había diferencias composicionales entre el material inicial y el material electrosintetizado. En la tabla VI se muestran los resultados del análisis EDX del material de partida y en la tabla VII del material electrosintetizado. Esta técnica como se ha mencionado anteriormente ofrece resultados semi-cuantitativos, y es por ello que no se han de asumir estrictamente los valores estequiométricos que se obtienen para los elementos analizados, sobre todo en el caso de elementos de bajo peso molecular, donde los errores suelen ser bastante importantes. A pesar de ello, en los resultados obtenidos hay un dato muy significativo, que es la presencia de S, en el material de partida y la ausencia de este elemento en el material electrosintetizado. Este dato parece indicar que durante el proceso electroquímico de oxidación, se produce la pérdida de átomos de azufre.

Tabla VI- Porcentajes atómicos y proporción estequiométrica obtenidos por EDX del material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$.

Átomo	% atómico	Estequiometría
C	74.53	13
O	7.11	1
S	7.58	1
Ni	5.95	1
Au	4.82	Superficie electrodo

Tabla VII- Porcentajes atómicos y proporción estequiométrica obtenidos por EDX del material electrosintetizado.

Átomo	% atómico	Estequiometría
C	20.74	2
O	32.30	2
S	0.00	0
Ni	13.53	1
Au	33.43	Superficie electrodo

1.2.2.2. Espectroscopía de fotoelectrones inducidos por Rayos X (XPS).

Con el fin de obtener más información sobre la composición del material electrosintetizado, se llevó a cabo en colaboración con la investigadora Eva Mateo Martí del INTA-CSIC, el análisis por XPS de muestras del compuesto electrosintetizado así como de muestras del material de partida. El material de partida se depositó sobre las superficies de Au a partir de una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en cloroformo.

En la tabla VIII se muestran los resultados del análisis para el material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ y el material electrosintetizado, indicando para cada uno de los átomos detectados la energía de enlace en la que aparecen.

Tabla VIII-Energías de enlaces en eV obtenidas para C (1s), O (1s), Ni ($2p_{1/2}$), y S (2p) del análisis mediante XPS del material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ y el material electrodepositado.

	$[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$	Material electrodepositado
C (1s)	286.5	286.4
O (1s)	531.6	531.2
Ni ($2p_{1/2}$)	856.0	856.3
S (2p)	164.2	-

En el caso del compuesto de partida, se observan las energía de enlaces a 286.5 eV y 531.6 eV que corresponde a la región del carbón y del oxígeno, pudiéndose asignar ambas al grupo monotiocarboxilato. Por su parte el Ni ($2p_{1/2}$) aparece a 856.0 eV, pico característicos de acetato de níquel. Además a 164.2 eV aparece el pico característico de átomos S enlazados a átomos de níquel^[233]. Por tanto se puede afirmar que el compuesto se adsorbe sin modificación alguna sobre la superficie de Au en la que se deposita para realizar el análisis. Con respecto a los resultados del material electrodepositado se ha de destacar la desaparición del azufre, no detectándose en el análisis. El análisis de XPS confirma la transformación del ligando monotioacetato a acetato, además los valores de 286.4 eV y 531.2 eV para el carbón y el oxígeno, respectivamente confirman la presencia del grupo carboxílico. En cuanto a la energía de enlace del Ni(II) a 856.3, es característica de acetatos de níquel.^[234]

Los resultados de los análisis por XPS sugieren que en el proceso de electrodeposición el material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ se oxida dando lugar a un material que no contiene azufre y que además el entorno químico de los átomos que lo conforman (C, O, Ni) es muy similar al del acetato de níquel (II).

1.2.3. Estudios mediante espectroscopía de absorción UV-Vis.

Se continuó analizando el material electrosintetizado por otras técnicas para comprobar si el material formado sobre la superficie del electrodo era acetato de níquel (II) (monometálico, es decir formado por un solo átomo de níquel) o alguna otra especie similar. Por tanto se procedió a electrodepositar mayor cantidad de material. Para ello se utilizaron electrodos de oro de mayor área específica, aplicando potencial (+1.15 V) durante tiempos más elevados (10000 s) y en volúmenes de disolución mayores (10 mL). El proceso de síntesis y recolección del material obtenido se describe en detalle en el apartado 3.2.3 de Materiales y Métodos.

El material electrosintetizado, pese a no ser soluble en cloroformo, sí lo es en otros disolventes como acetonitrilo (CH_3CN), por tanto se pudieron disolver mayores cantidades del material electrosintetizado para realizar diferentes análisis en disolución por diferentes técnicas. Entre ellas la espectrofotometría ultravioleta visible (UV-Vis). El primer estudio que se realizó con esta técnica consistió en obtener el espectro de

absorción UV-Vis de una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM TBAP 0.1 M/ CHCl_3 recién preparada y tras 10000 s después de la electrolisis. Los espectros obtenidos se muestran en la figura 65. Como puede comprobarse el $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ en disolución TBAP 0.1 M/ CHCl_3 muestra una banda intensa de absorción a 370 nm y una banda más débil a 460 nm. Ambas bandas desaparecen tras el proceso de electrosíntesis. También desciende en gran medida la absorción en la región por debajo de 340 nm. La desaparición de las bandas es fruto del proceso de electrolisis ya que las bandas de la disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ permanecen inalterables con el tiempo.

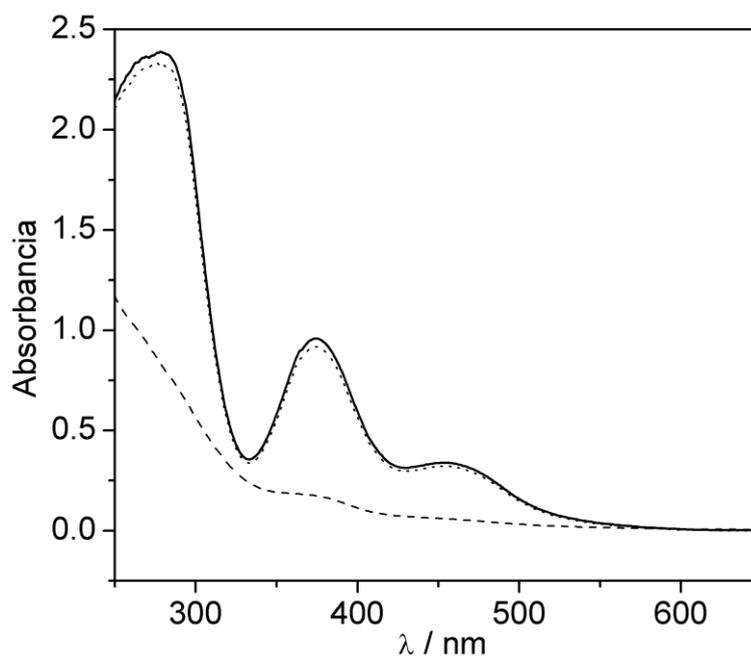


Figura 65- Espectro UV-Vis obtenido de una disolución 0.1 mM $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ TBAP 0.1 M/ CHCl_3 antes (línea continua) y después (línea discontinua) de la electrolisis a +1.15 V durante 10000 s. Espectro de la disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ tras 10000 s (línea punteada).

El segundo de los experimentos consistió en electrosintetizar el material sobre el hilo de Au, y tras lavar en cloroformo, disolverlo en 1 mL de acetonitrilo. Se obtuvo el espectro UV-Vis de la disolución obtenida y se comparó con el espectro de una disolución 0.1 mM $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ disuelto en acetonitrilo (Figura 66).

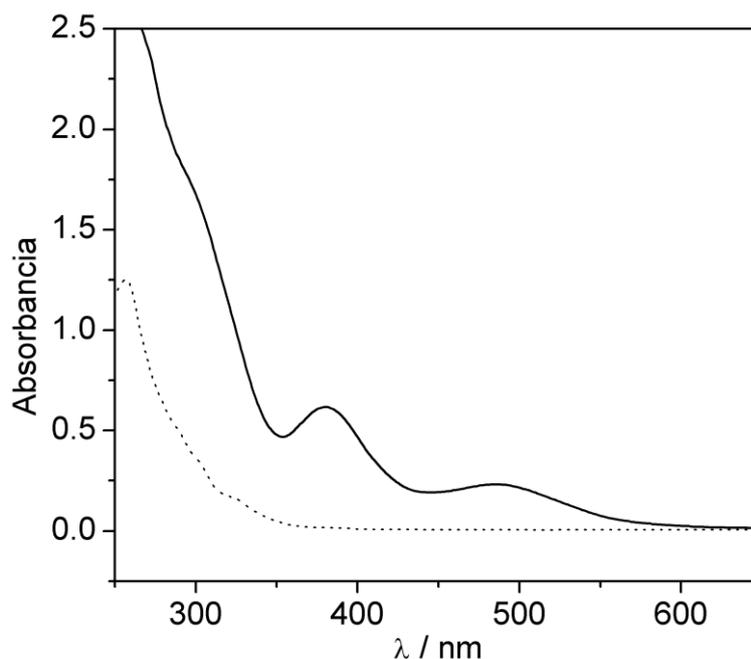


Figura 66- Espectro UV-Vis obtenido de una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM en acetonitrilo (línea continua) y disolución del material electrodepositado en acetonitrilo (línea discontinua).

Como se puede comprobar el material electrodepositado disuelto en acetonitrilo (disolución incolora) no muestra las bandas propias de su precursor a 390 y 500 nm. Sin embargo, a longitudes de onda menores de 300 nm muestra bandas de absorción, indicando la presencia de una especie en disolución. Para compararlo con el espectro de absorción UV-Vis del acetato de níquel (II) (mononuclear, es decir que contiene un átomo de Ni por entidad molecular), se intentó disolver en acetonitrilo una pequeña cantidad de este compuesto comercial, sin embargo no se pudo disolver, y el espectro de adsorción de la disolución una vez centrifugada y extraído el sobrenadante no mostró ninguna banda de absorción en la región de 200-800 nm. Este hecho parece indicar que no se está transformando el material de partida $[Ni_2(MeCOS)_4]$ en acetato de níquel (II) mononuclear, sino que se está generando otra especie con un entorno químico parecido.

1.2.4. Análisis por espectrometría de masas-electrospray.

Como en el apartado anterior, se preparó una disolución del material electrosintetizado en CH₃CN (apartado 3.2.3 de Materiales y Métodos) y se analizó por espectrometría de masas, usando como método de ionización el electrospray.

La mayor parte de los picos obtenidos confirman la presencia de Ni(II), por ejemplo $m/z(+)= 90.5$ asignado a la especie $[\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CN})_3]^{2+}$, $m/z(+)= 111$ asignado a $[\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CN})_4]^{2+}$, $m/z(+)= 239$ asignado a $[\text{Ni}(\text{ClO}_4)(\text{CH}_3\text{CN})_2]^+$ y $m/z(-)= 357$ asignado a $[\text{Ni}(\text{ClO}_4)_2]^-$. Sin embargo, la señal a $m/z(-)= 369$ que se muestra en la figura 68, de acuerdo con su posición y con su distribución isotópica, puede asignarse a la especie $[\text{Ni}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4(\text{OH})]^-$. La formación de este ion en el proceso de ionización, sugiere que el material electrodepositado es una especie dimetálica, como un nuevo complejo *Paddle-Wheel* de Ni (II) acetato. En la bibliografía se reportan 33 estructuras tipo *Paddle-Wheel* de complejos dimetálicos de níquel con ligandos carboxilos que cumplen estas características, pero sin embargo en la mayoría de los casos el metal presenta coordinación en posición axial por aminas o fosfinas. Se encuentran en la bibliografía solo dos ejemplos de ligandos tipo oxo (tetrakis (μ_2 -benzoato-O, O')-bis (ácido benzoico)-di-níquel^[235], y el tetrakis (μ_2 -propionato)-diacuo-di-níquel^[236]. Por tanto el método de electrosíntesis descrito proporciona un medio para la síntesis del denominado tetrakis (diacetato) de diníquel o diníquel tetra (diacetato) representado en la figura 67. Este complejo hasta la fecha no se ha descrito, por tanto no se han propuesto métodos para llevar a cabo su síntesis.

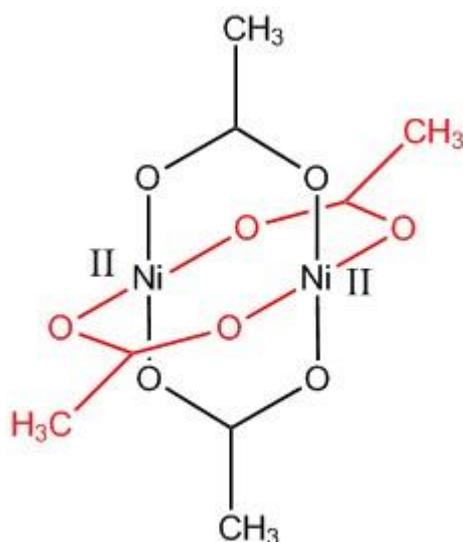


Figura 67- Representación de la estructura del complejo tipo *Paddle-Wheel* diníquel tetrakis (diacetato).

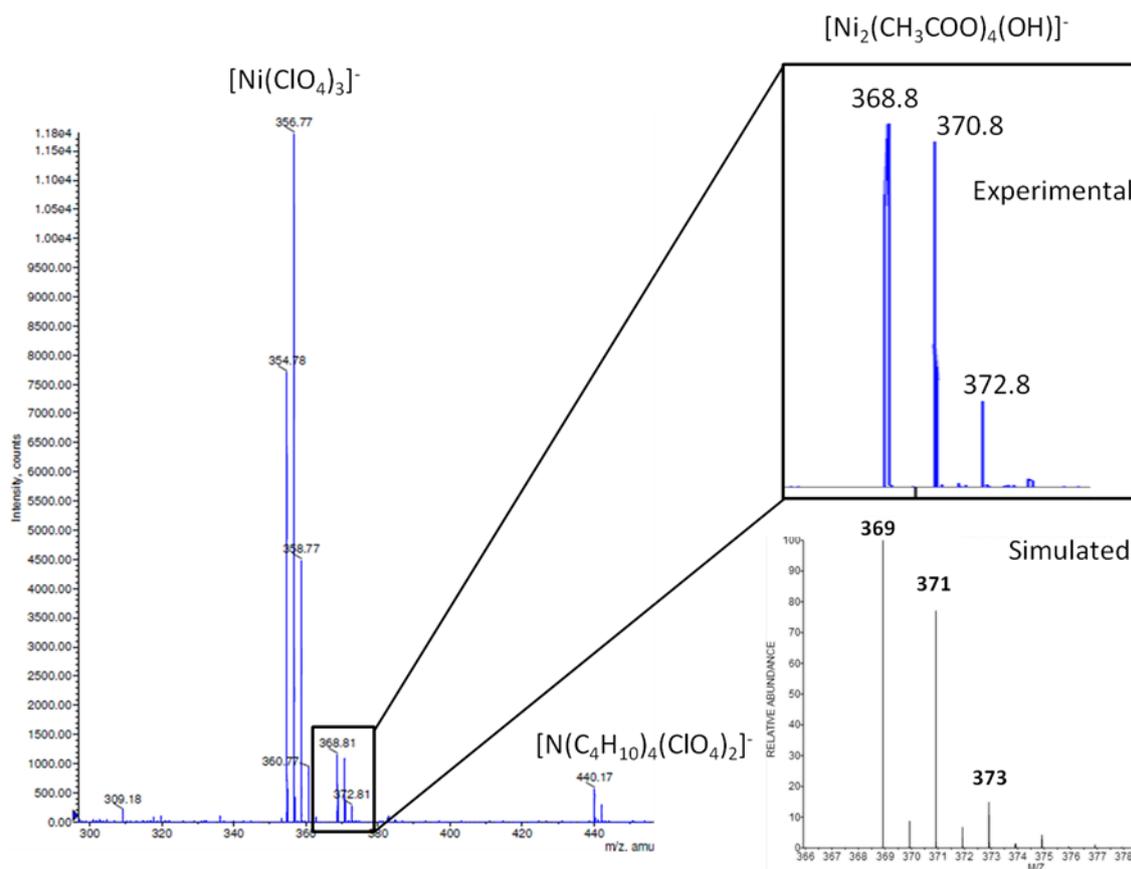


Figura 68- Espectro de masas mediante ionización por electroespray de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ disuelto en CH_3CN .

1.3. Mecanismo electroquímico del proceso de electrosíntesis del $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$.

Los estudios realizados permitieron proponer un mecanismo para el proceso de oxidación en el que se genera el compuesto $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ en forma de microestructuras a partir de disoluciones de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. El número de electrones involucrados en la oxidación que produce la electrosíntesis de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ es de 4. También se determinó que el material electrodepositado no contiene átomos de azufre, como en el material de partida. Por tanto, se postula que en la oxidación de cada átomo de azufre de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ se pierde un electrón formando especies con puente disulfuro. Hay evidencias reportadas en la bibliografía para complejos de un solo átomo de níquel (II) en los cuales espontáneamente se forman enlaces S-S, generando especies pertioacetato a partir del ligando tioacetato del material inicial^[237]. En el caso que se está estudiando parece que la estructura bimetálica impuesta por el material de partida, obliga a la formación de una estructura bimetálica de Ni(II) acetato, reemplazando todos

los átomos de azufre por oxígenos, en lugar de la formación de pertiocarboxilatos monometálicos. La fuente de átomos de oxígeno disponible más probable parece ser las pequeñas cantidades de agua presentes en el disolvente orgánico, ya que se trabaja en atmosfera abierta, aunque los disolventes son anhidros inicialmente, en contacto con la atmosfera rápidamente se hidratan.

Asumiendo que los átomos de azufre de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ se sustituyen por átomos de oxígeno, provenientes de moléculas de agua que hidratan el cloroformo, se producirán una serie de procesos que irán sucediendo hasta completar la reacción:

- Electrooxidación de los átomos de azufre.
- Rotura de los enlaces Ni-S.
- Formación de los enlaces S-S.
- Rotura de los enlaces S-C
- Formación de los enlaces C-O.
- Transferencia de protón de átomos de oxígeno al disulfuro formado.
- Formación del enlace Ni-O.

A qué nivel de simultaneidad ocurrirán todos estos procesos en los 4 átomos de azufre presentes en la estructura del compuesto de partida se desconoce, sin embargo todo el conjunto de procesos ocurre suficientemente rápido como para no ser detectados por voltamperometría cíclica, registrándose a través de esta técnica un único proceso de oxidación, en el que se intercambian de manera global y simultanea 4 electrones. Esto suele ser habitual en sistemas de transferencia multielectrónica con cooperación, es decir que el primero de los procesos favorece la pérdida sucesiva de electrones en los procesos sucesivos.

El proceso global que se supone tendría lugar se resume en la figura 69.

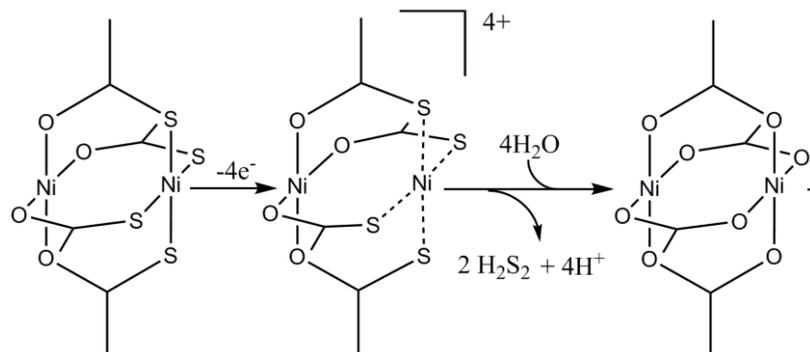


Figura 69- Mecanismo electroquímico propuesto para la electrosíntesis de $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ a partir de $[Ni_2(MeCOS)_4]$.

El mecanismo propuesto se ve apoyado por los resultados obtenidos en los estudios que se exponen a continuación.

1.3.1. Influencia de la presencia de H_2O en el medio.

Mediante microscopía óptica se observó la morfología de los microcristales de $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ obtenidos durante el proceso de electrosíntesis, y la influencia de la presencia de agua en el disolvente de cloroformo de partida en la formación de dichas estructuras. Para ello el $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ se electrogeneró sobre superficies de Au partiendo de disoluciones de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ en ausencia de agua (excepto la adsorbida por el disolvente durante la manipulación de las disoluciones y las medidas) y saturadas de agua, analizándose por microscopía óptica. El cloroformo es un disolvente inmiscible con el agua, por tanto al añadir 100 μ L de agua a unos 10 mL de la disolución de cloroformo, ya se generaban 2 fases diferenciadas, las cuales se separaban como paso previo a la electrosíntesis. En la figura 70 se muestra la imagen obtenida por microscopía óptica de la superficie de Au modificadas de forma habitual en cloroformo seco y en cloroformo saturado con H_2O . Como se puede observar, aunque las microestructuras parecen ser más pequeñas en la imagen B (Cloroformo saturado de agua), la cantidad de puntos de nucleación del material es muchísimo mayor, y en total la cantidad de material electrosintetizado es mayor que en el caso de utilizar cloroformo seco (figura 70A). Este resultado indica que el agua actuaría como reactivo limitante, ya que la cantidad de agua que tendría el disolvente orgánico seco no sería suficiente para reaccionar de forma estequiométrica con la totalidad del material de partida presente en la disolución. Además estos resultados apoyarían la suposición de que el agua del

medio está involucrada en el proceso de electrosíntesis de acuerdo con el mecanismo propuesto para el proceso.

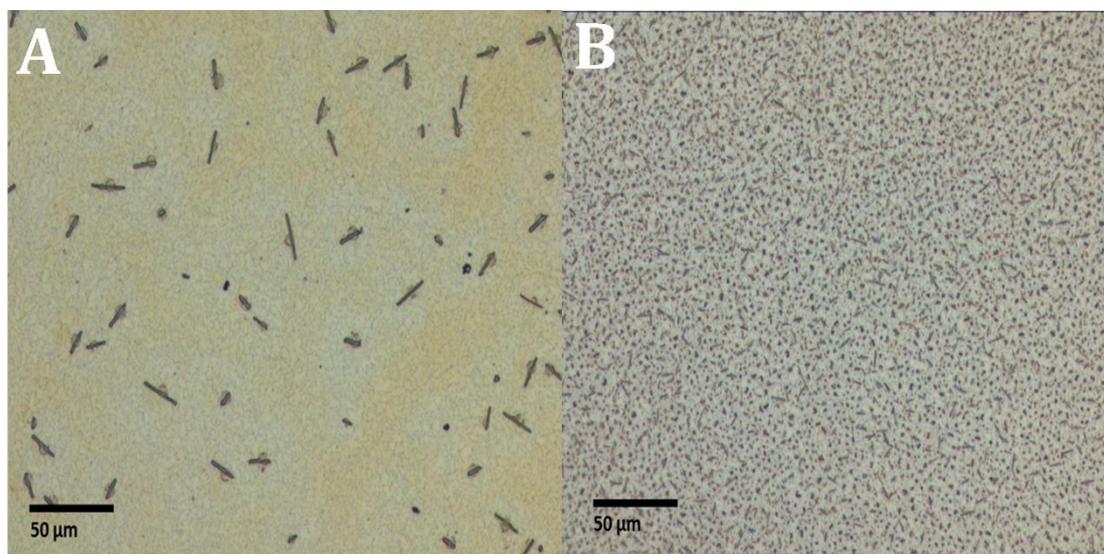


Figura 70- Imágenes de microscopía óptica obtenidas al modificar una superficie de Au aplicando 1.15 V durante 150s con una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 . (A) Cloroformo seco y (B) Cloroformo saturado de agua.

Es difícil controlar la cantidad de agua que adsorbe el disolvente, pues en la mayoría de los casos se llega a saturación y por tanto el tamaño de los cristales presentaba cierta variabilidad. Con idea de obtener cristales grandes se ensayaron tiempos de electrodeposición más altos y disoluciones de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ CHCl_3 saturadas de agua. La figura 71 muestra un ejemplo de material electrosintetizado obtenido en estas condiciones al aplicar +1.15 V durante 600 s, obteniéndose cristales mucho más grandes y llamativos que se ven perfectamente con la resolución del microscopio óptico. Además como puede verse en la imagen, al aplicar potencial durante un tiempo más elevado desaparecen las plataformas de material sobre las que crecían los cristales, aparentemente al aplicar potencial durante más tiempo las plataformas se han transformado en la fase cristalina del compuesto.

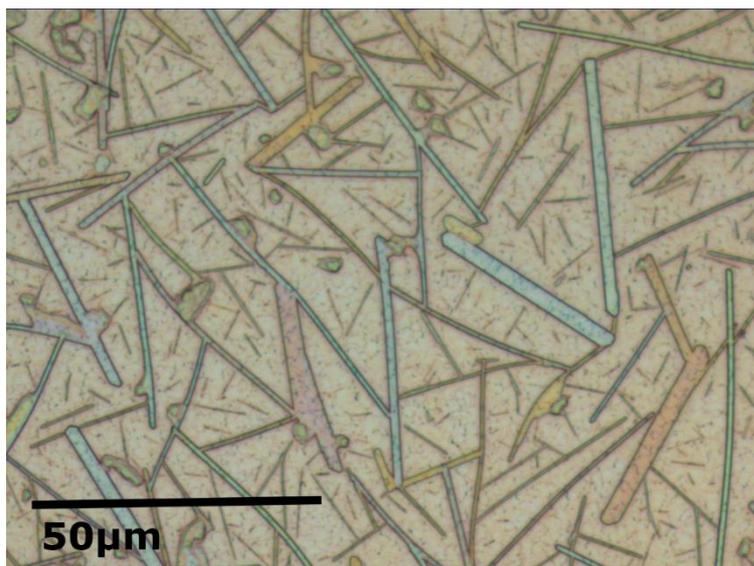


Figura 71- Imágenes de microscopía óptica obtenida al modificar una superficie de Au aplicando 1.15 V durante 600s en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.25 mM en TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ preparada en cloroformo saturado de agua.

El tamaño de los cristales es bastante grande, pudiéndose observar con microscopios ópticos de no demasiados aumentos. Se pensó, por tanto en observar la formación de los cristales "in situ", y monitorizar el proceso mediante la adquisición de videos de la superficie. En el CD adjunto a la memoria de tesis se puede encontrar uno de los videos grabados. En él se observa cómo cambia la superficie durante el proceso de electrosíntesis. Se aprecia claramente el crecimiento de los cristales a partir de plataformas. Este video no es en tiempo real, sino que es 16 veces más rápido que el tiempo real para que se puedan apreciar mejor el crecimiento de los cristales.

1.3.2. Estudios por microscopía RAMAN acoplada a medidas electroquímicas.

Con el objetivo de ver qué cambios se producían en los tipos de enlaces durante el proceso de electrooxidación de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ a $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ se ha estudiado dicho proceso mediante la espectroscopía Raman acoplada a electroquímica, monitorizando de manera simultánea los cambios que se producen durante dicho proceso. En todos los estudios se usó un láser de 785 nm, debido a que presentaba la mejor resolución de los espectros comparados con los otros 2 ensayados de 532 nm y de 633 nm.

En primer lugar se estudió por espectroscopía Raman el material de partida $[Ni_2(MeCOS)_4]$, se depositaron sobre una superficie de Au 25 µL de una disolución de

[Ni₂(MeCOS)₄] 0.25 mM en CHCl₃ y se dejaron evaporar. En la figura 72 puede observarse el espectro Raman obtenido. Teniendo en cuenta la estructura molecular del material de partida [Ni₂(MeCOS)₄], los desplazamientos Raman son coherentes con algunas vibraciones que tienen cabida en su estructura molecular. No había sido descrito anteriormente el espectro Raman de este material, por tanto en el presente trabajo de tesis se ha realizado una asignación de bandas, buscando en la bibliografía espectros Raman de moléculas similares o de fragmentos moleculares que se diferencian en la molécula. En primer lugar el pico observado a 194 cm⁻¹ se ha atribuido a la vibración tipo v^B(Ni-S) y el pico a 241 cm⁻¹ a la vibración v^A(Ni-S), dada la proximidad y similitud con las vibraciones descritas por Siiman^[238] en complejos planos de níquel con ligandos que se unen a través de azufres. En el artículo se dan unos desplazamientos de 177 v^B(Ni-S) y 259 v^A(Ni-S), que están muy próximos a los obtenidos, por lo que parece razonable asignarlos. Se obtienen valores de desplazamiento RAMAN muy similares para la molécula de NiS^[239], en la que únicamente existe enlaces Ni-S, luego parece razonable asignar ambas bandas a las distintas vibraciones del enlace Ni-S del complejo [Ni₂(MeCOS)₄]. En este último artículo de Bishop y col^[239] para la molécula de NiS también describen una vibración en 222 cm⁻¹, la cual puede corresponder con la detectada a 219 cm⁻¹ en el espectro mostrado en la figura 72, siendo por tanto también consecuencia del enlace Ni-S. También se asociada a este enlace Ni-S la banda a 553 cm⁻¹ y asignada a v(Ni-S) por Siiman^[238]. La pequeña banda observada en torno a 336 cm⁻¹ puede ser equivalente a la banda detectada a 328 cm⁻¹ en el artículo de Siiman^[238] la cual presenta 2 componentes vibracionales que son la suma de 2 torsiones δ(CCS)+ δ(CCO). Estas componentes vibracionales generan además una banda a 536 cm⁻¹ que también se detecta en el espectro en la figura 72. La banda a 416 cm⁻¹ puede ser asignada a la vibración del enlace Ni-O v^A(Ni-O), la cual aparece a 398 cm⁻¹ en el trabajo de Siiman^[238] en el que se estudian complejos de Ni-S con ligando de oxígeno que también coordinan al metal como es el caso del complejo [Ni₂(MeCOS)₄]. Por último la banda que aparece en torno a 708 cm⁻¹, puede atribuirse a una doble contribución de vibraciones de enlaces del tipo v(C=S) y v(C-CH₃) que en el caso del complejo [Ni₂(MeCOS)₄] estará presente por el propio enlace C-CH₃, así como posibles deslocalizaciones puntuales de la carga de modo que se pueda establecer un pseudo-doble enlace C=S. Esta asignación de bandas del espectro Raman del compuesto de

partida es compatible con la estructura inicial del compuesto, y permite una posible interpretación a cada una de las bandas observadas.

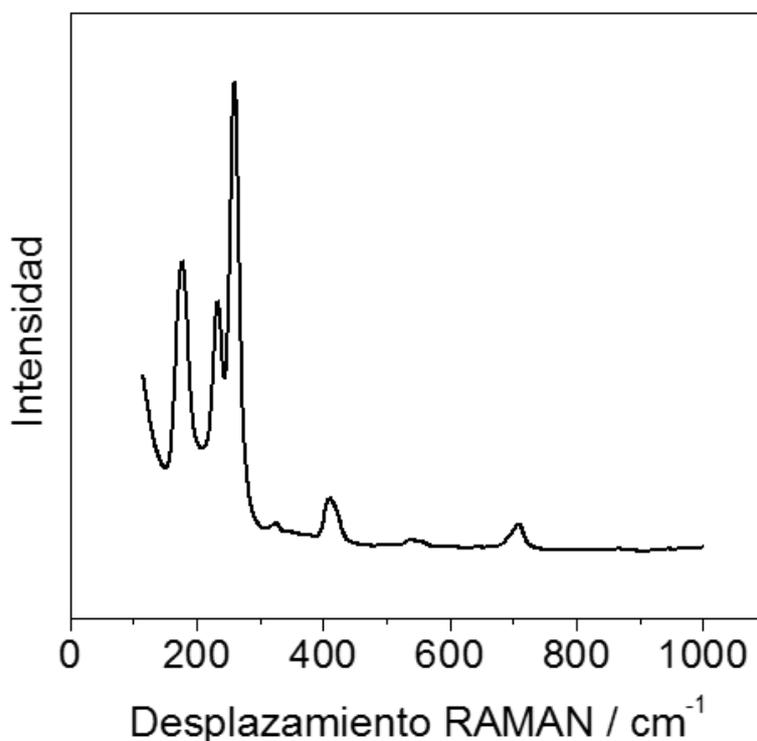


Figura 72- Espectro Raman de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ obtenido usando un láser de 785 nm.

Posteriormente se analizó el material electrosintetizado $[Ni_2(MeCO_2)_4]$, modificando una superficie de Au en una disolución de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$ aplicando 1.15 V durante 150s. En la figura 73 puede observarse el espectro Raman obtenido. No presenta ninguno de los picos asignados en el caso anterior para enlaces tipo Ni-S. La banda a 460 cm^{-1} puede ser asignada al enlace $\nu(Ni-O)$, coincidiendo exactamente en la misma posición para la banda de esta vibración descrita por Datta^[240]. La banda a 624 cm^{-1} es característica de grupos acetato, en los que se da la torsión $\delta(COO)$ como en el caso de acetato de níquel mononuclear^[241]. La intensa banda a 933 cm^{-1} se asigna a la vibración de enlaces tipo $\nu(C-C)$ presentes en grupos acetato ($C-COO^-$)^[241].

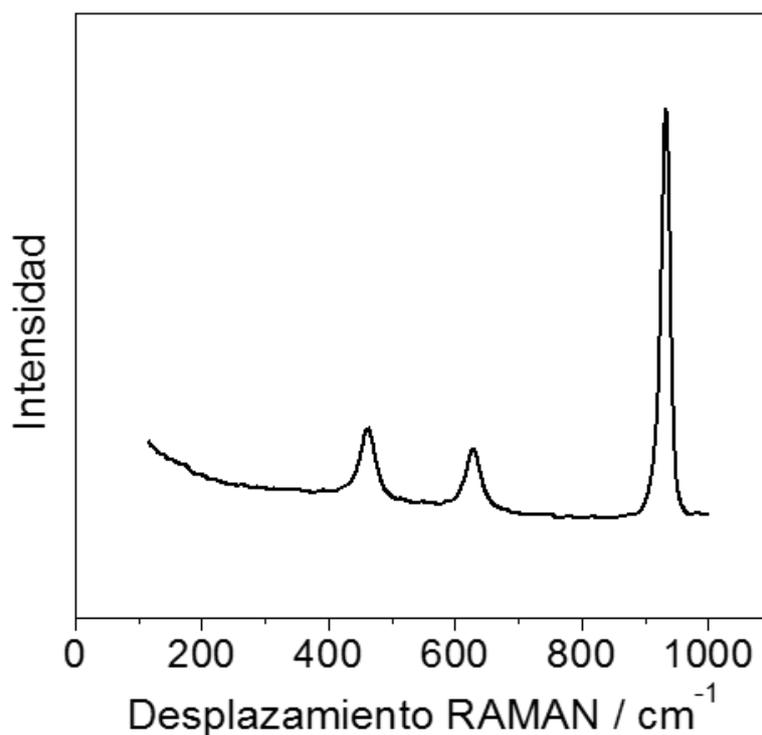


Figura 73- Espectro Raman de $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ obtenido usando un láser de 785 nm.

Una vez caracterizados los espectros Raman de las especies de partida y final del proceso de electrooxidación, se comenzó a realizar experimentos “in-situ”, es decir se registraron espectros Raman sucesivos conforme se aplica el potencial necesario para que el proceso ocurra. Como electrodo de trabajo en este caso se usó un electrodo de Au, el cual había sido pretratado para la generación de nanopartículas de Au sobre su superficie (Apartado 3.1 de Materiales y Métodos) y de este modo obtener mayor intensidad de las transiciones Raman gracias al efecto SERS^[167]. La celda electroquímica diseñada para tal fin, se acopló a un microscopio de Raman confocal, se llenó con una pequeña cantidad de disolución y se enfocó sobre la superficie del electrodo, en la cual se generó el material electrosintetizado. Es importante tener en cuenta que además del espectro de las especies involucradas en el proceso electroquímico, se van a detectar bandas propias al disolvente (cloroformo) así como del electrolito soporte (TBAP). Para conocer estas contribuciones se realizó un espectro del electrodo de Au (modificado con nanopartículas de Au) recubierto por TBAP 0.1 M/ $CHCl_3$. En la figura 74 puede verse el espectro (Azul), en el que se detectan principalmente 3 bandas de mayor intensidad (enmarcadas con un recuadro azul). Estas bandas estarán siempre presentes y sin

Resultados y discusión.

Capítulo II- Electrodo modificado con compuestos de níquel.

modificación alguna durante todo el proceso de electrosíntesis ya que corresponden al blanco. Como se puede observar en el espectro verde (figura 74), al incluir en la disolución el compuesto de partida aparecen pequeñas bandas, a modo de hombros de las bandas más intensas correspondientes a los componentes mayoritarios del blanco (TBAP/ CHCl_3), pero que coinciden en desplazamiento con las obtenidas en el espectro de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ sólido (espectro negro figura 74 y figura 72). Además al observar el espectro violeta figura 74, el cual corresponde al electrodo modificado al final del proceso de electrosíntesis, se aprecia la aparición de dos bandas (enmarcadas en rojo) que coinciden en desplazamiento con las mostradas en el espectro del material sólido electrosintetizado $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ (espectro rojo figura 74 y figura 73), la cual confirma la generación del compuesto $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ sobre la superficie del electrodo de Au.

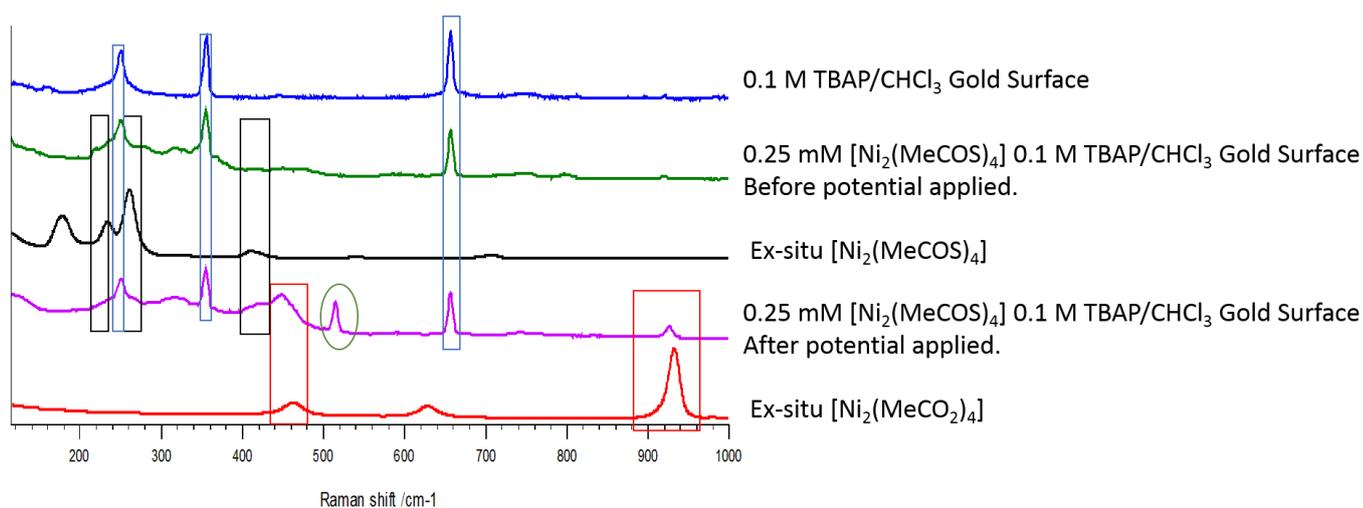


Figura 74-Espectros Raman registrados usando un láser de 785 nm. Espectro obtenido sobre la superficie de un electrodo de Au recubierto con TBAP 0.1 M/ CHCl_3 (Azul). Espectro obtenido sobre la superficie de un electrodo de Au recubierto con 0.25mM $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ TBAP 0.1 M/ CHCl_3 (Verde). Espectro $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ sólido (Negro). Espectro obtenido sobre la superficie de un electrodo de Au recubierto con 0.25mM $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ TBAP 0.1 M/ CHCl_3 tras el aplicar 1.15 V durante 200 s (Violeta). Espectro $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ sólido (Rojo).

La monitorización mediante espectroscopía RAMAN del proceso de electrosíntesis se llevó a cabo tomando espectros Raman entre 100 y 1000 cm^{-1} cada 25 segundos a la vez

que sobre el electrodo de Au sumergido en la disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25 mM TBAP 0.1 M/ CHCl_3 se aplicaba +1.15 V durante 200 s. En la figura 75 se aprecia que al iniciar el proceso de electrosíntesis comienzan a crecer las bandas a 460 cm^{-1} y 933 cm^{-1} . Estas, como se comentó anteriormente, se han asignado al enlace Ni-O y C-COO⁻, lo cual indica formación del material $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ y confirma el mecanismo propuesto al principio de este apartado. Además de la formación del compuesto electrodepositado, la sucesión de espectros RAMAN registrados con el tiempo muestra la aparición de una banda a 510 cm^{-1} . Esta banda no se había asociado a ninguno de los compuestos (de partida o inicial) ni a la disolución TBAP/ CHCl_3 . De acuerdo con el mecanismo propuesto se genera H_2S_2 como subproducto de la electrooxidación, y precisamente esta banda a 510 cm^{-1} se asocia con la vibración del enlace $\nu(\text{S-S})$ ^[242], lo cual confirmaría la generación de este subproducto de la reacción, y por tanto el mecanismo electroquímico propuesto para la electrooxidación de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ a $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ (figura 69).

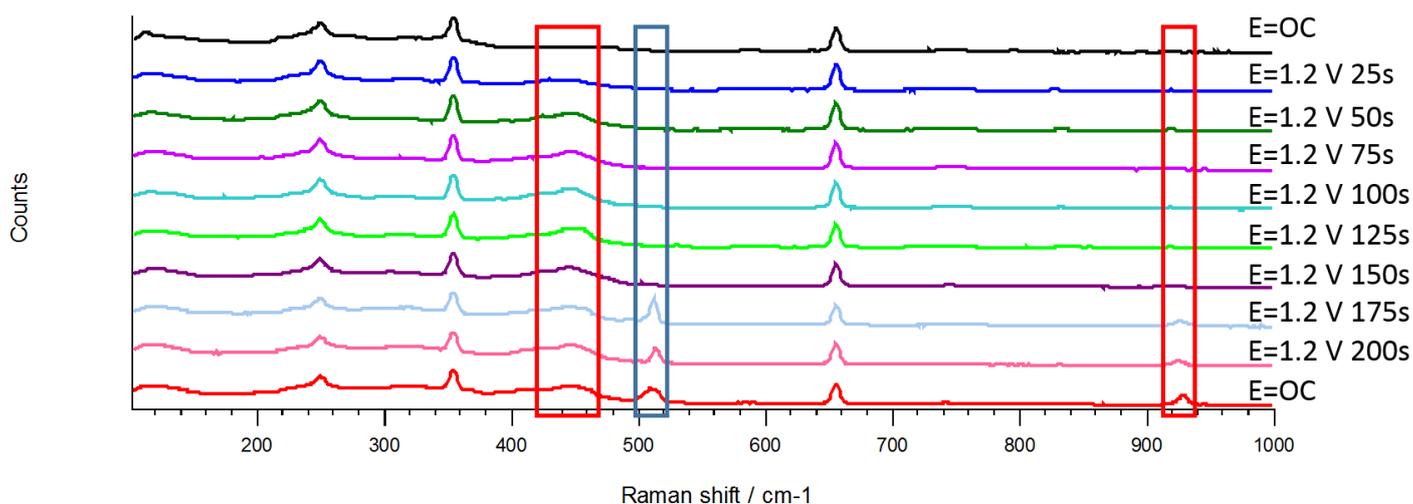


Figura 75-Electroquímica-Raman in-situ. Registros de espectros Raman cada 25 s simultáneos a la aplicación de 1.15 V durante 200 s en un electrodo de Au sumergido en $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.25mM TBAP 0.1 M/ CHCl_3 .

2. Generación de Nanopartículas de Ni(OH)₂.

Una vez modificadas las superficies electródicas con microestructuras del compuesto de níquel [Ni₂(MeCO₂)₄], el siguiente paso para usar estos electrodos en la electrooxidación catalítica de moléculas orgánicas es su empleo en medios alcalinos, donde los centros Ni(II) presentan reactividad a bajos potenciales de oxidación (0.45 V). En estos sistemas, tanto empleando óxidos o hidróxidos de níquel, como empleando complejos estables en sosa, el potencial de oxidación/reducción del par Ni(II)/Ni(III) está muy condicionado por el pH del medio, como se puede comprobar en trabajos previos del grupo con complejos de níquel tipo DH-Salophen^[243] y otros trabajos presentes en la bibliografía^[225, 244, 245]. Es por ello que se utilizaron disoluciones de NaOH 0.1 M. Se ha ensayado también disoluciones de KOH 0.1 M y el comportamiento es exactamente el mismo, por lo que se puede usar cualquiera de ellos indistintamente.

2.1. Transformación electroquímica de las microestructuras de [Ni₂(MeCO₂)₄] en nanopartículas Ni(OH)₂.

Antes de usar los electrodos modificados con [Ni₂(MeCO₂)₄] en procesos electrocatalíticos, se procedió a activarlos y a estudiar su comportamiento en medio alcalino. Para ello se aplicaron 50 ciclos de voltamperometría cíclica a una velocidad de 100 mV/s. En la figura 76 puede observarse los voltamperogramas sucesivos obtenidos durante este proceso de activación. Es evidente que hay diferencias importantes entre el primer barrido y los sucesivos. El primer barrido de oxidación muestra un pico ancho en torno a 0.55 V y un pequeño prepico a 0.45 V, mientras en el barrido catódico de vuelta se observa un pico a 0.35 V. En los barridos sucesivos el pico ancho a 0.55 V desaparece y comienzan a crecer a partir de entonces los picos del par redox entorno a E⁰ = 0.43 V. Este cambio radical de la morfología del voltamperograma puede ser debido a que el níquel que se encontraba formando parte de la estructura del complejo tipo *Paddle-Wheel* [Ni₂(MeCO₂)₄], se transforma en hidróxido de níquel, de ahí el desplazamiento del pico de oxidación en el barrido anódico. También se encuentran casos en la bibliografía^[246] en los que dependiendo de la fase de hidróxido de níquel que se forme sobre la superficie del electrodo, el potencial del pico de oxidación del barrido

anódico se puede desplazar, por tanto se puede tratar de un caso similar de un cambio de la fase de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a consecuencia de la aplicación de ciclos de potencial.

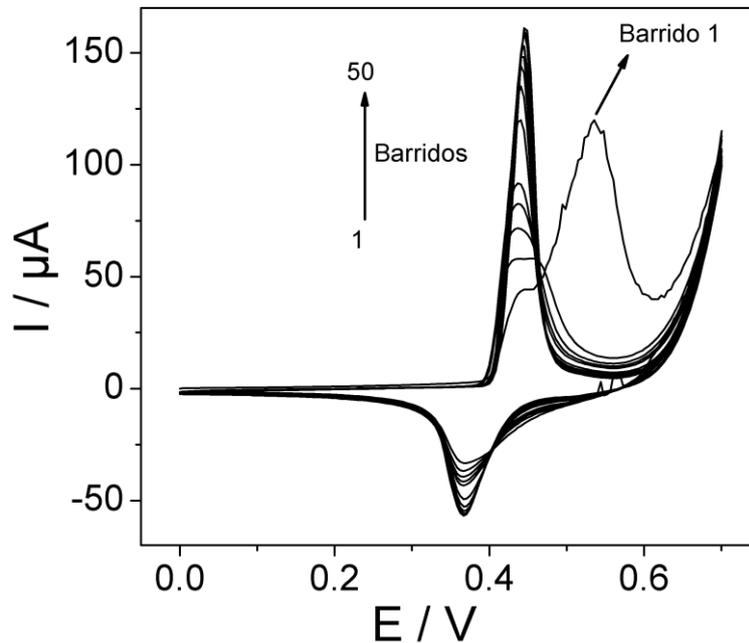


Figura 76- Proceso de activación electrodo de GC modificado con $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ aplicando 50 barridos de CV entre 0 V y 0.7 V en NaOH 0.1 M a 100 mV/s.

Se midió la intensidad de los picos de oxidación y reducción obtenidos en los distintos ciclos, y se representaron los valores obtenidos en función del número de ciclos para ver si en algún momento se estabilizaban (Figura 77). Como se puede observar la intensidad de ambos picos crece aproximadamente hasta el ciclo 30 del proceso de activación, comenzando a ser estable a partir de este ciclo y mostrando muy buena estabilidad a la sucesión de ciclos, lo cual hace de gran interés el sistema para su aplicación en el ámbito de la electrocatálisis.

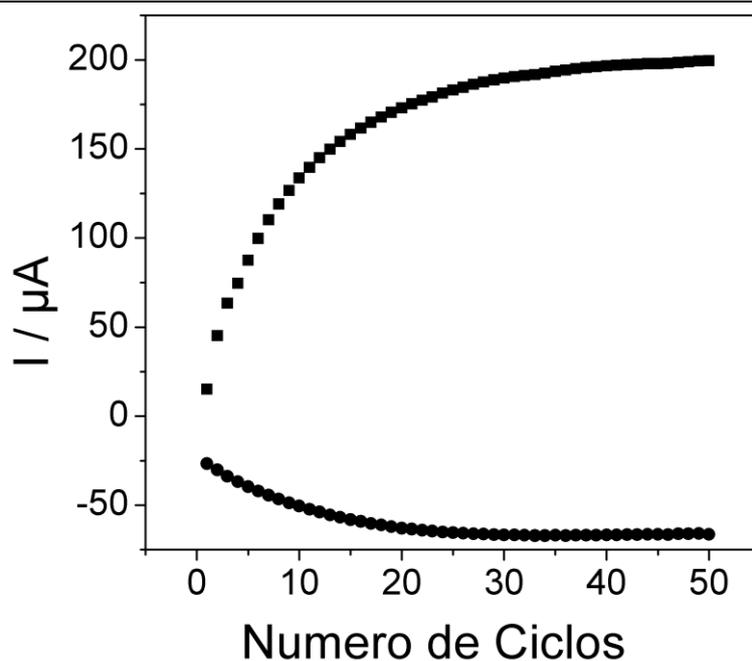


Figura 77- Representación de la intensidad de corriente de pico anódico (■) y catódico (●) obtenidas en cada uno de los ciclos de voltamperometría cíclica aplicados durante el proceso de activación.

Para comprobar que la respuesta de los electrodos de Au y de HOPG modificados con $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ era la misma que para el caso de los electrodos de GC, se llevó a cabo el mismo proceso de modificación y activación, obteniéndose los voltamperogramas de la figura 78. Como puede comprobarse el proceso es muy similar en ambas superficies electródicas, y podemos considerar que el material se está comportando de igual manera. Llama la atención en el caso del oro, la aparición de dos pequeñas ondas (comparado con la modificación del electrodo GC) una en el barrido anódico (0.3 V) y la segunda en el barrido catódico (0.1 V). Haciendo un blanco del electrodo de Au sin modificar se ha confirmado que estos picos son debidos a óxidos de oro.

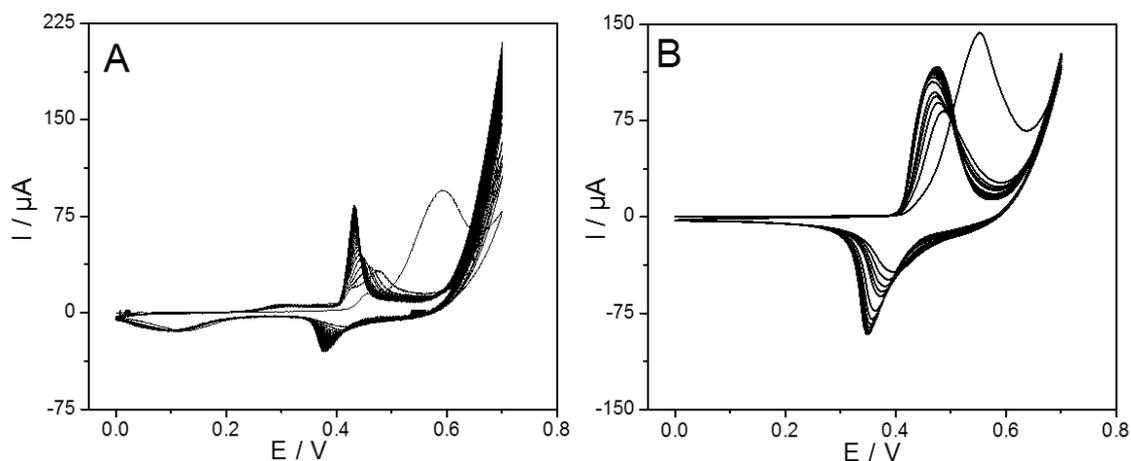


Figura 78- Proceso de activación de electrodos de Au (A) y de HOPG (B) modificados con $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ aplicando 50 barridos de CV entre 0 V y 0.7 V en NaOH 0.1 M a 100 mV/s.

2.2. Caracterización electroquímica de electrodos modificados con nanopartículas de $Ni(OH)_2$.

Como posteriormente se demostrará, la caracterización superficial de estos electrodos modificados determina que el modificador está constituido por nanopartículas de hidróxido de níquel ($Ni(OH)_2$). Además, se ha realizado un estudio detallado de su comportamiento electroquímico. En la figura 79 puede observarse el voltamperograma de un electrodo de GC modificado con estas nanopartículas de $Ni(OH)_2$. Como se puede ver aparece un par redox con potencial formal $E^0 = 0.43$ V. Este par redox está adscrito a los siguientes procesos:

- $Ni(OH)_2 + OH^- \rightarrow NiOOH + H_2O + e^-$ (Oxidación).
- $NiOOH + H_2O + e^- \rightarrow Ni(OH)_2 + OH^-$ (Reducción).

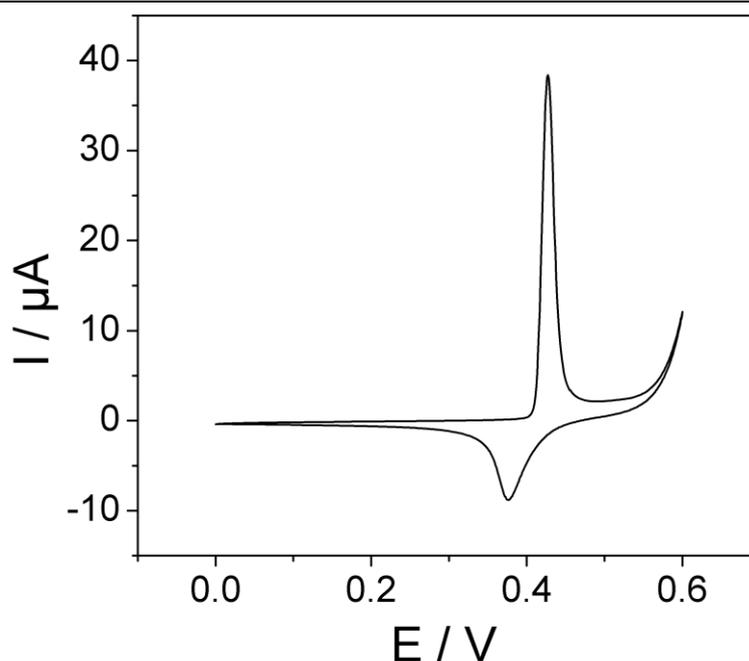


Figura 79- Voltamperograma cíclico de un electrodo de GC modificado con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

El voltamperograma muestra la forma típica de un proceso redox confinado en la superficie. El valor de ΔE_p es un poco alto para un proceso de este tipo, esto es debido a que hay especies aniónicas en disolución que están involucradas en la oxidación del material superficial, en este caso hay que tener en cuenta que los grupos OH^- presentes en la disolución tienen un papel muy importante en el proceso de oxidación de $\text{Ni}(\text{II})$ a $\text{Ni}(\text{III})$, y por ello se observa este comportamiento intermedio entre procesos electroquímicos puramente superficiales y los difusionales^[247].

Se estudió la influencia de la velocidad de barrido de potencial sobre el comportamiento electroquímico del material electrodepositado sobre la superficie de un electrodo (figura 80A). Analizando las intensidades de pico anódico y catódico y representando estos valores frente a $v^{1/2}$, se obtiene una relación lineal entre ambos parámetros, considerando los valores de intensidad para velocidades de 2 a 100 mV/s (figura 80B). Este comportamiento es típico de procesos electroquímicos limitados por difusión, este hecho apoya lo expuesto en el párrafo anterior, en relación a que el anión OH^- juega un papel fundamental en el proceso de electrooxidación. Por ello y aunque las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ se encuentran inmovilizadas sobre la superficie del electrodo,

el proceso se comporta como un proceso difusional, ya que depende de la difusión de los iones OH^- desde el seno de la disolución.

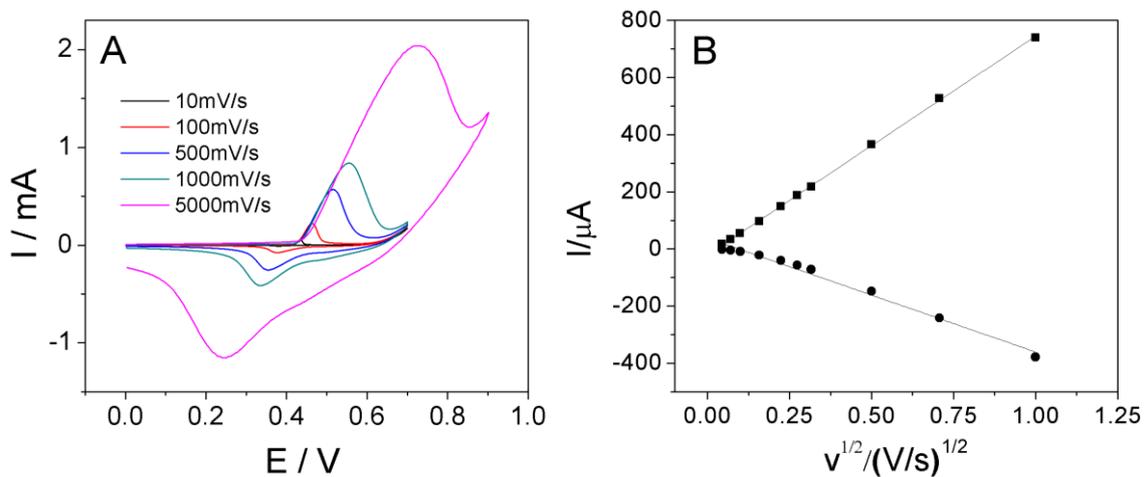


Figura 80-(A) Voltamperogramas cíclicos de un electrodo de GC modificado con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a distintas velocidades de barrido en NaOH 0.1 M. (B) Representación intensidad de corriente de pico anódico (■) y catódico (●) con respecto a $v^{1/2}$.

Aunque la teoría dice que para aplicar el método de Laviron^[171] es necesario que en el proceso electroquímico no exista difusión de las especies que intervienen en el proceso redox, se ha usado este método, pues a priori el material responsable de los picos de oxidación y reducción (las nanopartículas de hidróxido de níquel) se encuentra inmovilizado en la superficie del electrodo. Pese a la componente difusional del proceso la relación de los valores de potencial de pico respecto al logaritmo decimal de la velocidad de barrido de potencial se ajusta bien a las ecuaciones descritas para este tipo de sistemas. A partir de esta relación se ha calculado la constante de transferencia heterogénea (k_s) y el coeficiente de transferencia de carga (α) aplicando el método de Laviron (apartado 4.5 Materiales y Métodos ecuaciones (8), (9) y (10)). En la figura 81 se muestra la representación del valor de potencial del pico anódico y catódico con respecto al logaritmo en base decimal de la velocidad de barrido. Como se aprecia a velocidades altas (200 mV/s a 5000 mV/s) la relación se torna lineal, ajustándose a las ecuaciones del modelo, y obteniéndose de ellas el valor $k_s = 24.5 \text{ s}^{-1}$ y un valor de $\alpha = 0.4$. Este valor de α es razonable para un proceso reversible, indicando que está ligeramente favorecida la oxidación frente a la reducción, pero son procesos

energéticamente muy similares, de ahí que el valor este próximo a 0.5. Con respecto a la constante de transferencia heterogénea (k_s) es un valor bastante alto y positivo para el sistema, lo que indica que hay una buena transferencia de electrones entre el material electrodo y las nanopartículas de hidróxido de níquel. En la figura 81 también se puede observar que a velocidades de barridos bajas el sistema se comporta de modo quasireversible, siendo los valores de ΔE_p no muy grandes, sin embargo a velocidades altas el valor de ΔE_p comienza a aumentar, volviéndose el proceso más irreversible y mostrando la existencia de una limitación cinética a la transferencia de carga.

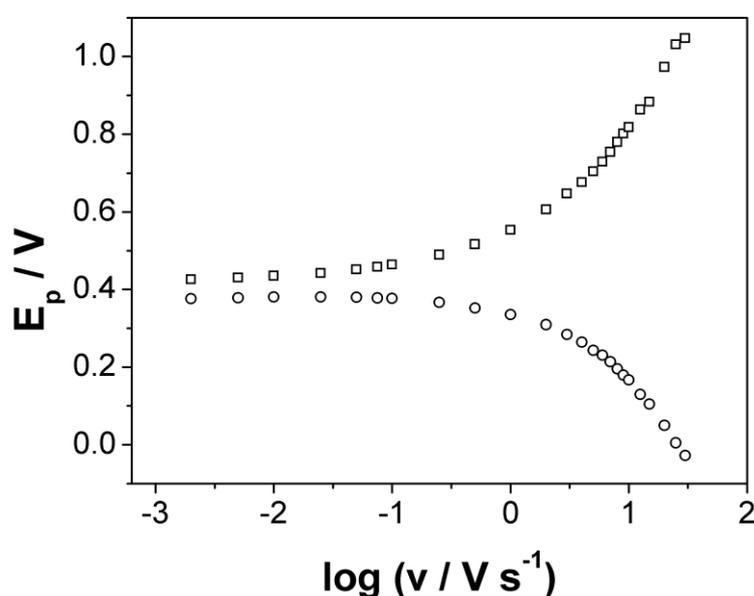


Figura 81- Potencial de pico anódico (\square) y catódico (\circ) frente al logaritmo en base decimal de la velocidad de barrido de potencial. Método de Laviron.

A partir de la carga obtenida del pico anódico (Q_{ox}) y del pico catódico (Q_{red}) del voltamperograma a 10 mV/s se ha calculado el recubrimiento superficial de hidróxido de níquel en la superficie del electrodo tras el proceso de modificación, usando la ecuación (7) de Materiales y métodos. La relación entre Q_{ox}/Q_{red} es igual 1.1, lo cual indica que prácticamente la totalidad del material que se oxida se reduce en el barrido de vuelta. El valor del recubrimiento superficial obtenido es $\Gamma = 6.53 \cdot 10^{-9}$ mol/cm². Del mismo modo se ha calculado el recubrimiento en los electrodos de Au de la microbalanza de cristal de cuarzo. En este caso se ha relacionado la cantidad de Ni(OH)₂ obtenida a partir del valor del recubrimiento, con la masa del [Ni₂(MeCO₂)₄] depositada,

y considerando que de cada mol de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ se obtienen 2 moles de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ se ha calcula la conversión de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ a nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ siendo esta de alrededor del 90%.

2.3. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados con $\text{Ni}(\text{OH})_2$.

Aunque el estudio electroquímico previo aporta información valiosa sobre la naturaleza química del sistema, ya que los picos de oxidación y reducción obtenidos son característicos de especies de níquel en medio básico, las cuales en la mayoría de los casos, aunque no en todos, suelen ser debidos a la presencia de óxidos o hidróxidos de níquel, también se han llevado a cabo el análisis de las superficies electródicas modificadas mediante técnicas de análisis superficial. Para este estudio se han usado electrodos planos de Au (Placas AFM Au) o bien láminas de HOPG.

Tras el proceso de electrodeposición y de activación en NaOH 0.1 M los electrodos se secaron en una corriente de nitrógeno y. se almacenaron en un desecador al menos 24 h antes del análisis.

2.3.1. Microscopía electrónica de Barrido (SEM). Análisis de nanoestructuras por EDX.

La figura 82 muestra las imágenes obtenidas por FE-SEM ultra alto vacío de electrodos de Au modificados por el procedimiento descrito.

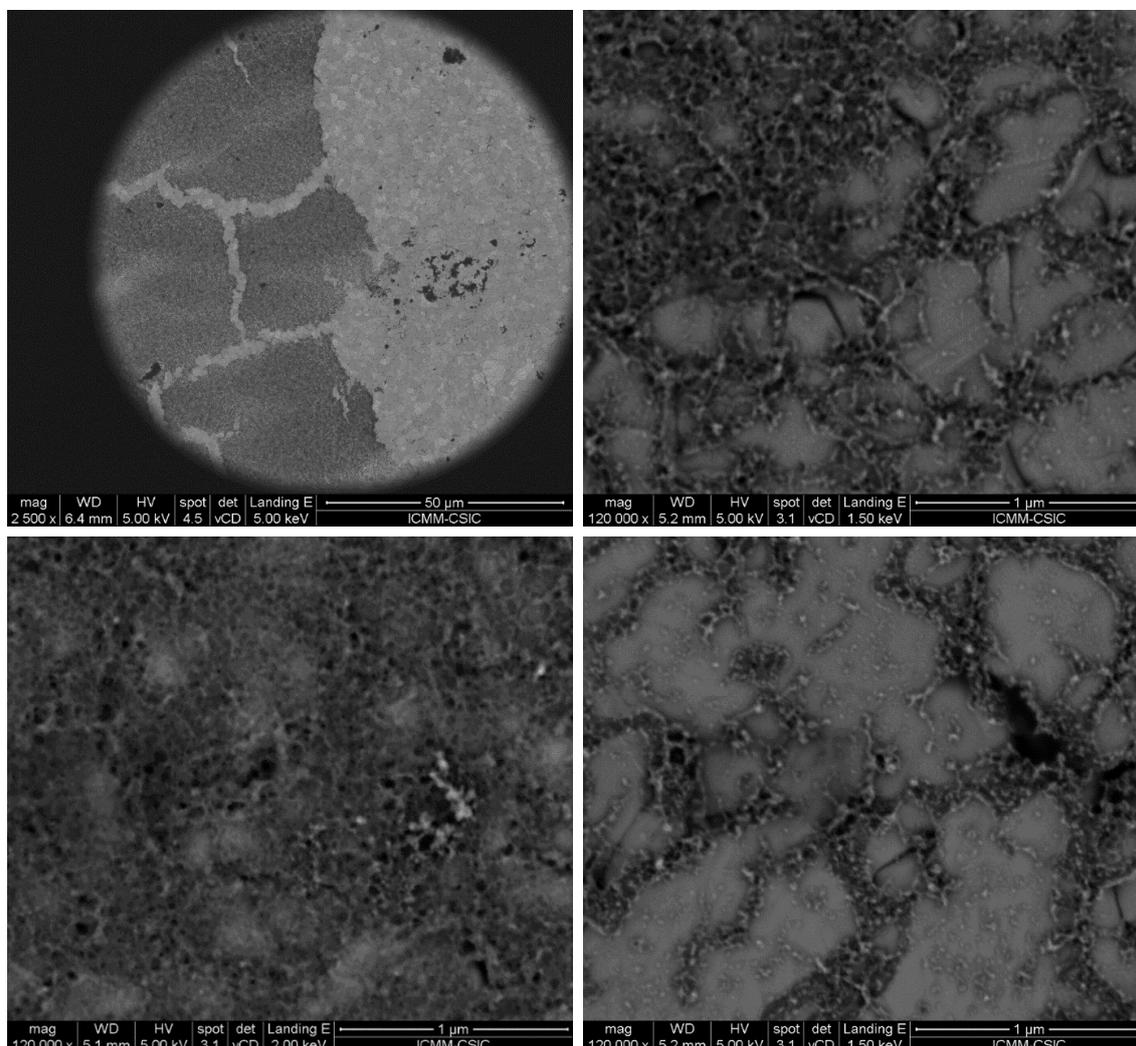


Figura 82- Imágenes de una superficie de Au modificada con nanopartículas de Ni(OH)₂ obtenidas por FE-SEM.

En la imagen pueden observarse una especie de nanoestructuras, de forma no definida que se agregan formando una superficie porosa. En la imagen inferior derecha si se puede observar una de las terrazas de oro menos recubierta por el material, pudiéndose ver sobre la superficie pequeñas nanopartículas. Del mismo modo se han analizado superficies de HOPG modificadas de la misma forma (Figura 83). Se puede observar que se forman el mismo tipo de nanoestructuras que sobre electrodos de oro, aunque en

este caso se aprecia algo mejor las nanopartículas o agregados de las mismas, observándose que el material poroso no es más que nanopartículas unidas entre sí.

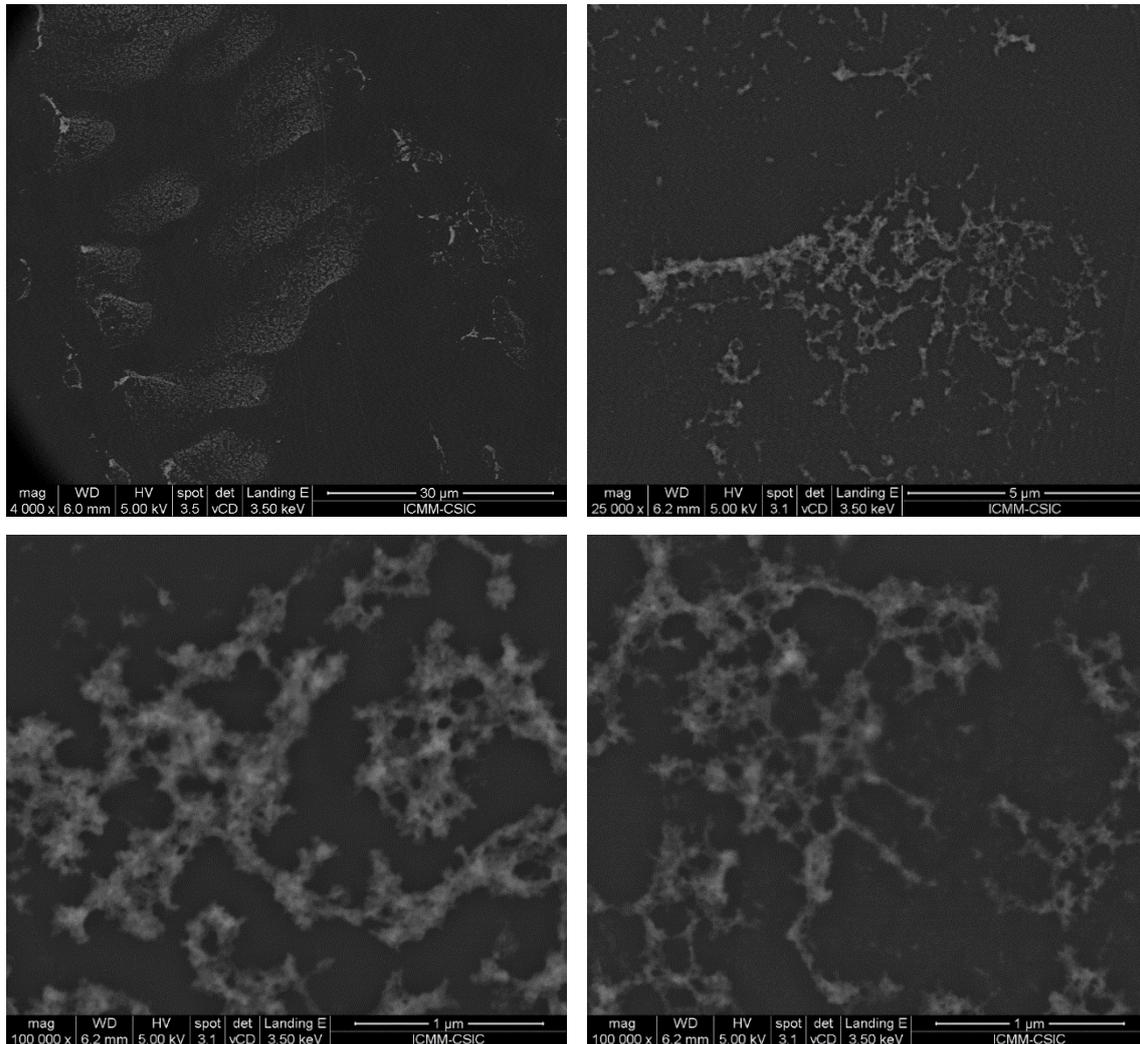


Figura 83- Imágenes de una superficie de HOPG modificada con nanopartículas de $Ni(OH)_2$ obtenidas mediante FE-SEM.

Se han realizado estudios de energía dispersiva de rayos X (EDX) para conocer detalles de la composición de este material. En los distintos análisis que se llevaron a cabo se obtuvieron siempre porcentajes atómicos que mostraban una relación estequiométrica Ni (1) O (2), lo cual concuerda con la formación de nanopartículas de $Ni(OH)_2$.

2.3.2. Espectroscopía de fotoelectrones generados por rayos X. (XPS).

Con objeto de obtener más información acerca de la composición de las nanoestructuras generadas se realizaron estudios de XPS. Los resultados obtenidos se recogen en la tabla IX, conjuntamente con los obtenidos para el material de partida $[Ni_2(MeCOS)_4]$ y el

Resultados y discusión.

Capítulo II- Electrodos modificados con compuestos de níquel.

material electrosintetizado $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$. El hidróxido de níquel presenta valores de las energías de enlace correspondientes al oxígeno (530.4 eV) y al níquel (856.8 eV) diferentes respecto a los valores obtenidos del análisis del material de partida y el material electrosintetizado $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$. Si además se comparan estos valores de energía de enlace con los encontrados en la bibliografía para el acetato de níquel mononuclear $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ^[234] se observan importantes diferencias, lo cual sugiere la transformación de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ a hidróxido de níquel $\text{Ni}(\text{OH})_2$ ^[248-250]. Además el valor de energía de enlace para el carbono a 289.3 es muy característico de carbono carboxilo y se puede asignar a la formación de $\text{CH}_3\text{-COO}^-$ como subproducto de la transformación.

Tabla IX- Energías de enlaces en eV obtenidas para C (1s), O (1s), Ni (2p_{1/2}), y S (2p) en el análisis del material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$, del material electrodepositado $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ y del producto de su tratamiento electroquímico en NaOH 0.1M.

	$[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$	$[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$	$\text{Ni}(\text{OH})_2$
C (1s)	286.5	286.4	289.3
O (1s)	531.6	531.2	530.4
Ni (2p_{1/2})	856.0	856.3	856.8
S (2p)	164.2	-	-

Por tanto el análisis por XPS confirma la transformación del material electrosintetizado $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ a nanopartículas de hidróxido de níquel $\text{Ni}(\text{OH})_2$. En base a estos resultados se puede resumir el proceso global de transformaciones que tiene lugar sobre la superficie del electrodo de acuerdo a la figura 84.

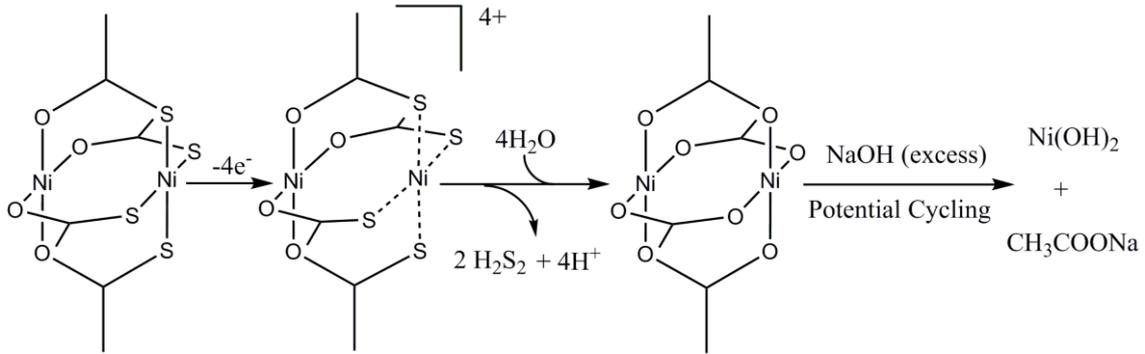


Figura 84- Mecanismo electroquímico propuesto para la electrodeposición de nanopartículas de $Ni(OH)_2$ a partir de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ en disolución.

2.3.3. Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

El análisis morfológico de las nanopartículas de $Ni(OH)_2$ se ha realizado sobre placas de Au y de HOPG mediante la técnica de microscopía de fuerza atómica (AFM). Esta técnica permite analizar de manera muy precisa la morfología de nanomateriales sobre superficies planas, obteniendo información cuantitativa acerca del tamaño de nanopartículas. En la figura 85A se muestra una imagen típica de AFM con un excelente recubrimiento homogéneo de nanopartículas. Entorno al 50% de las nanopartículas muestran una altura media de 1 a 3 nm. También pueden observarse en la figura 86 algunos agregados de nanopartículas con alturas de 6 a 12 nm.

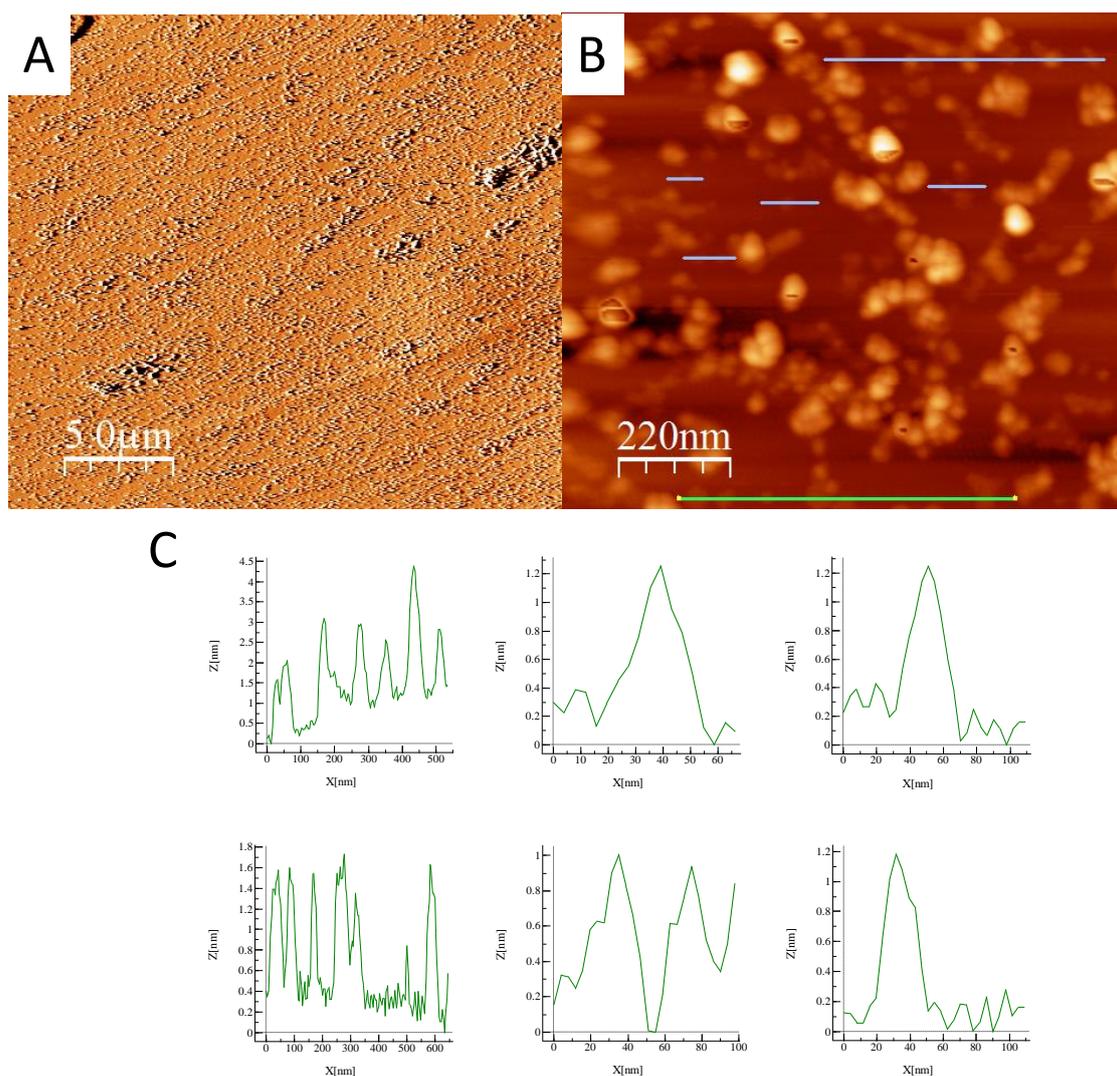


Figura 85- (A) Imagen de AFM de nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ generadas sobre HOPG. (B) Ampliación de una región de la imagen anterior. (C) perfiles de alturas seleccionados de la imagen (B).

Un análisis de la dimensiones laterales de las nanopartículas sugiere que el tamaño de una de sus dimensiones (anchura, eje de las X) es aproximada al tamaño de resolución de la punta de AFM, el cual es de aproximadamente 20-25 nm (Figura 85 B y C). Sin embargo, el tamaño de las alturas de estas nanopartículas, es en torno a 1-3 nm, por tanto se puede considerar que en realidad tienen forma de nanodiscos, con altura comprendida entre 1-3 nm y diámetro de 20-25 nm aproximadamente. De la figura 86 se puede concluir que la gran mayoría de estas nanopartículas no supera los 3 nm de altura, aunque también se aprecian estructuras más altas que se han formado por aglomeración. La estadística recogida en la tabla inferior de la figura 86 demuestra que

la mayoría tienen el tamaño mencionado. Se analizaron también placas de Au, sin embargo como se puede ver en las imágenes de FE-SEM, se producían gran cantidad de agregados de estas nanopartículas lo cual ha dificultado el análisis de forma detallada como el que se ha realizado con las placas de HOPG.

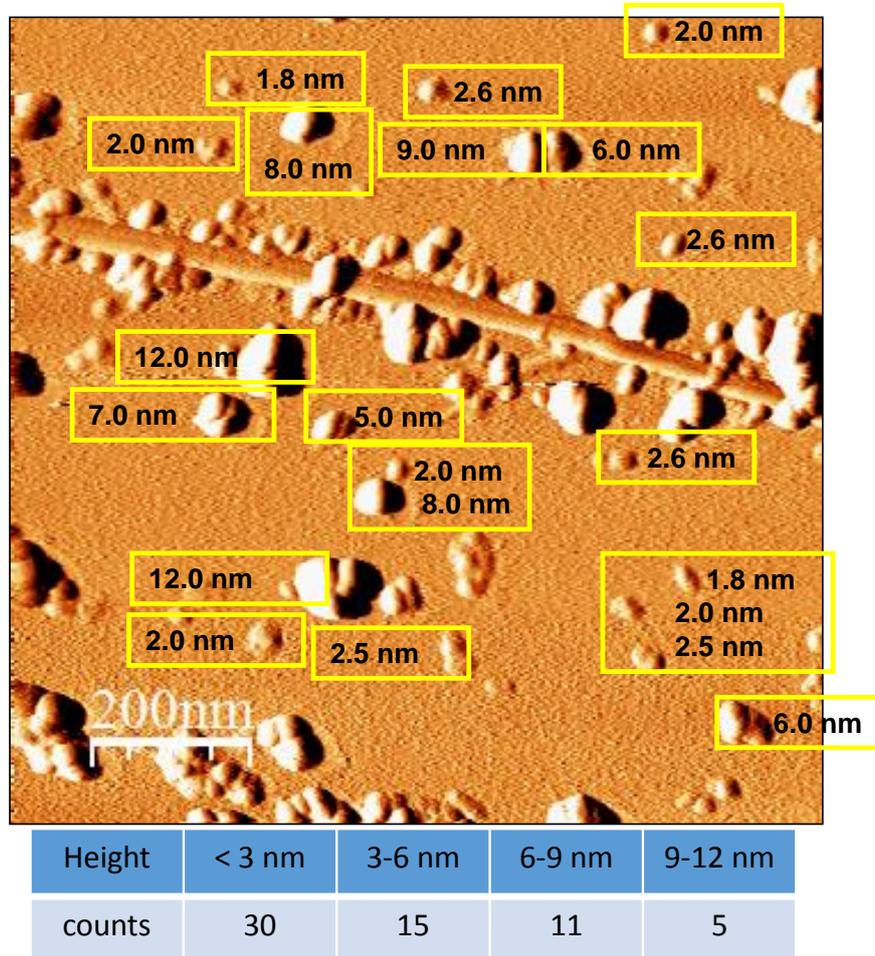


Figura 86- Imagen de AFM de nanopartículas de Ni(OH)₂ generadas sobre HOPG y análisis estadístico de sus alturas.

En definitiva de los distintos análisis de superficie realizados se puede concluir que se generan nanodiscos de Ni(OH)₂ y que al menos una de sus dimensiones tiene entre 1-3 nm y un radio aproximado 20-25 nm. Aunque en gran parte se observan nanoestructuras aisladas cubriendo la superficie, es cierto que también se detectan zonas con aglomeraciones de estas, en particular en el caso de placas de Au.

3. Electrooxidación catalítica de azúcares y alcoholes.

3.1. Electrooxidación catalítica de azúcares.

Entre las posibles aplicaciones de los electrodos modificados con nanopartículas de hidróxido de níquel se encuentran la electrooxidación de azúcares. Estos representan una buena alternativa a los biosensores enzimáticos dada su robustez y sensibilidad, y dependiendo de la aplicación, el que carezcan de selectividad para los distintos azúcares, permite utilizarlos como detector único en cromatografía o electroforesis.

Los azúcares en general tanto monosacáridos como disacáridos presentan en su estructura gran cantidad de grupos hidroxilos, los cuales son muy reactivos en los procesos de electrooxidación de Ni(II) a Ni(III) en medio alcalino, en especial cuando el electrocatalizador es el hidróxido de níquel^[226, 251]. En la bibliografía hay ejemplos del uso de este compuesto en la fabricación de sensores de glucosa en medio alcalino^[252, 253]. En los últimos años con el objetivo de mejorar su sensibilidad y evitar el envenenamiento de los electrocatalizadores por productos de la reacción, se ha comenzado a desarrollar sensores con nanoestructuras de compuestos de níquel^[230, 254, 255]. En base a estos resultados se ha ensayado el sistema desarrollado en la electrooxidación catalítica de azúcares.

En la figura 87 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos con la adición sucesiva de glucosa, pudiéndose comprobar como aumenta la corriente de picó de oxidación al aumentar la concentración de glucosa. En el barrido catódico de vuelta se observa una disminución de la corriente de pico de reducción del níquel, comportamiento característico de un sistema electrocatalítico.

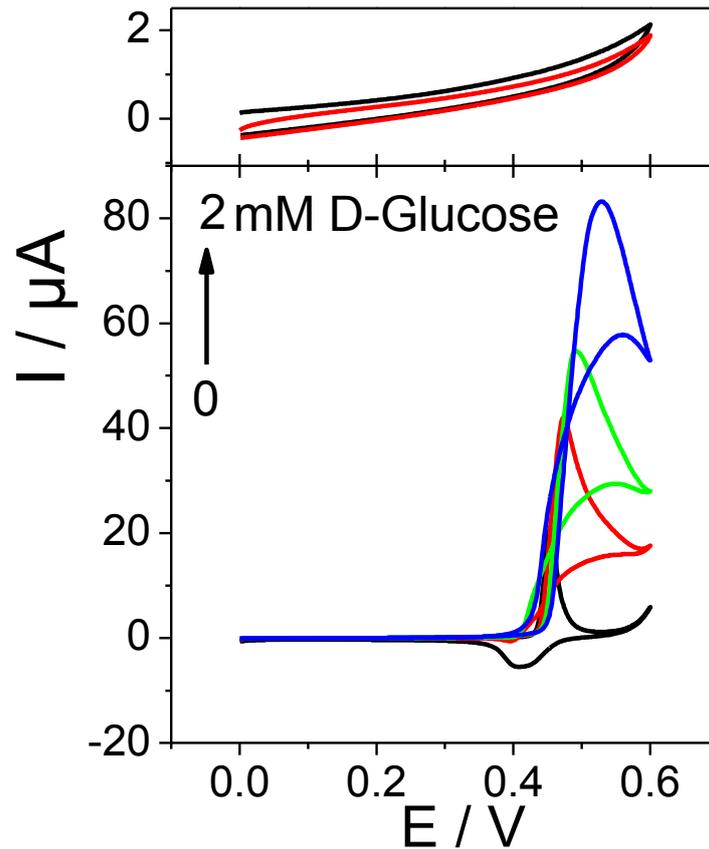


Figura 87- Voltamperogramas obtenidos con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ en ausencia (negro) y en presencia de glucosa 0.5 mM (Rojo), 1 mM (Verde) y 2 mM (Azul) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s. En la parte superior se muestra la respuesta de un electrodo de GC sin modificar en la ausencia (Rojo) y en presencia de Glucosa 2 mM (Negro) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

Es importante destacar que en muchos sensores de este tipo, en los que se emplea bien un complejo de níquel o bien hidróxidos u óxidos de níquel, la reacción de electrooxidación no se da justo en el pico de oxidación, sino que aparecen como una onda secundaria a pocos milivoltios de haber pasado el pico del sistema $\text{Ni}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{NiOOH} + e^-$. Esto se debe a que la especie realmente electrocatalítica es el NiOOH que debe formarse sobre la superficie del electrodo como paso previo al intercambio de electrones con el sustrato. En el presente trabajo sin embargo, el proceso de electrooxidación catalítico tiene lugar casi al mismo potencial que ocurre el proceso $\text{Ni}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{NiOOH} + e^-$ lo cual indica que la transformación del Ni(II) en Ni(III) es muy rápida y que además hay una buena transferencia electrónica entre las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$, y el sustrato (Azúcares).

Con idea de optimizar el proceso electrocatalítico de glucosa se estudiaron las variables involucradas en el proceso para conseguir una mejor eficiencia catalítica. La eficiencia catalítica se ha definido como la relación $(I_{cat}-I_{med})/I_{med}$ donde I_{cat} es la intensidad del pico de oxidación de la catálisis, I_{med} es la intensidad del pico del mediador. De esta forma se pueden establecer de forma objetiva las condiciones en las que con menor cantidad de mediador se obtiene una eficiencia catalítica más alta. Se optimizó en primer lugar la concentración del compuesto de partida $[Ni_2(MeCOS)_4]$ a utilizar para generar $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ sobre la superficie del electrodo. Se fijó para este estudio el tiempo de electrodeposición a 150 s y el potencial a 1.15 V. Se probaron distintas concentraciones del compuesto desde 0.01 mM hasta 0.5 mM. Los resultados obtenidos para 0.5 mM de glucosa se pueden ver en la figura 88. Se comprueba que la mejor eficiencia catalítica ocurre para $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.1 mM, por tanto se eligió esta concentración en los estudios posteriores.

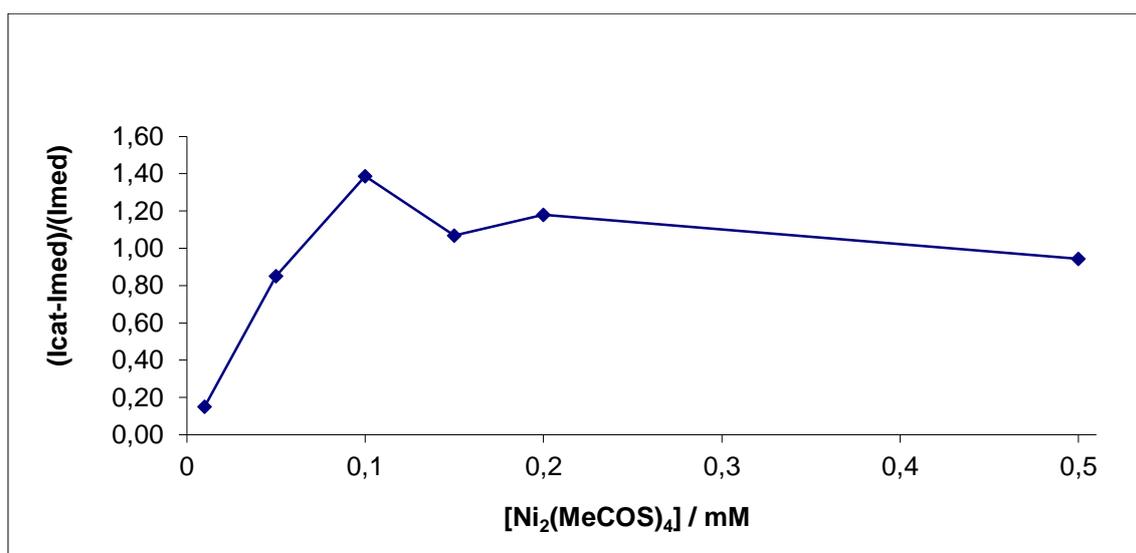


Figura 88- Estudio de eficiencia catalítica de la oxidación de glucosa en función de la concentración de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ de partida.

El segundo de los parámetros optimizados fue el potencial de electrodeposición aplicado. Se ensayaron 3 potenciales, 0.9 V (potencial al cual comienza el proceso pero no se sobrepasa el pico de oxidación), 1.15 V (justo al sobrepasar el pico de oxidación) y a 1.5 V (potencial mucho más positivo que el pico de oxidación). Como en el caso anterior se fijaron 150 s de tiempo de electrodeposición. Los resultados se observan en la figura 89. A la vista de los resultados obtenidos se seleccionó el potencial a 1.15 V.

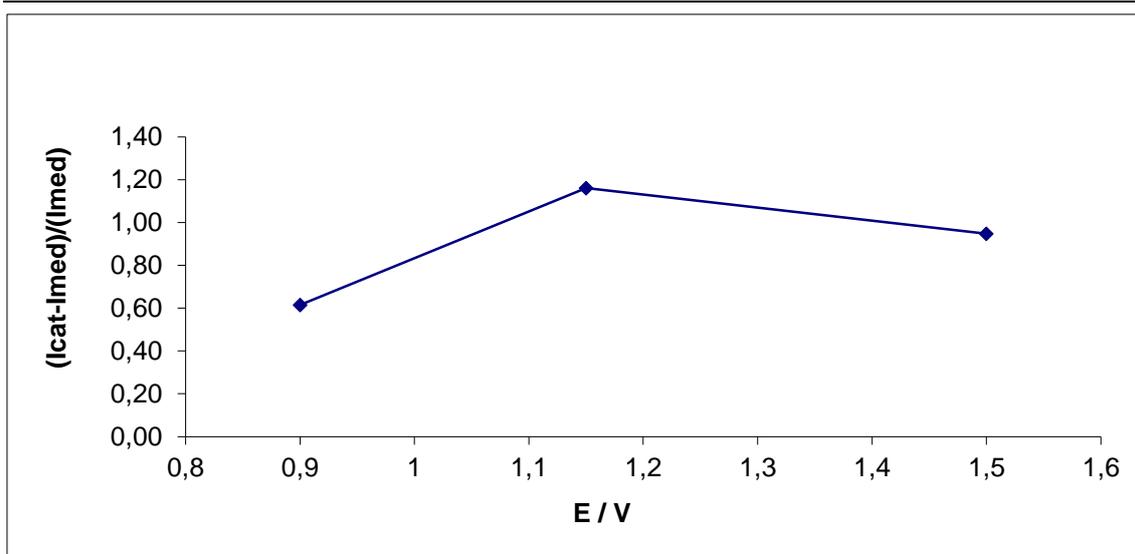


Figura 89- Estudio de eficiencia catalítica de la oxidación de glucosa en función del potencial de electrooxidación.

Por último se estudió el tiempo de electrodeposición. Se ensayaron desde 60 s hasta 300 s. Figura 90. Se comprueba que el tiempo de electrooxidación que mejor funciona para la posterior electrocatálisis de glucosa es 150 s, por tanto se establecen las siguientes condiciones para la fabricación del sensor: 1.15 V durante 150 s en una disolución de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM TBAP 0.1 M/ CHCl_3 .

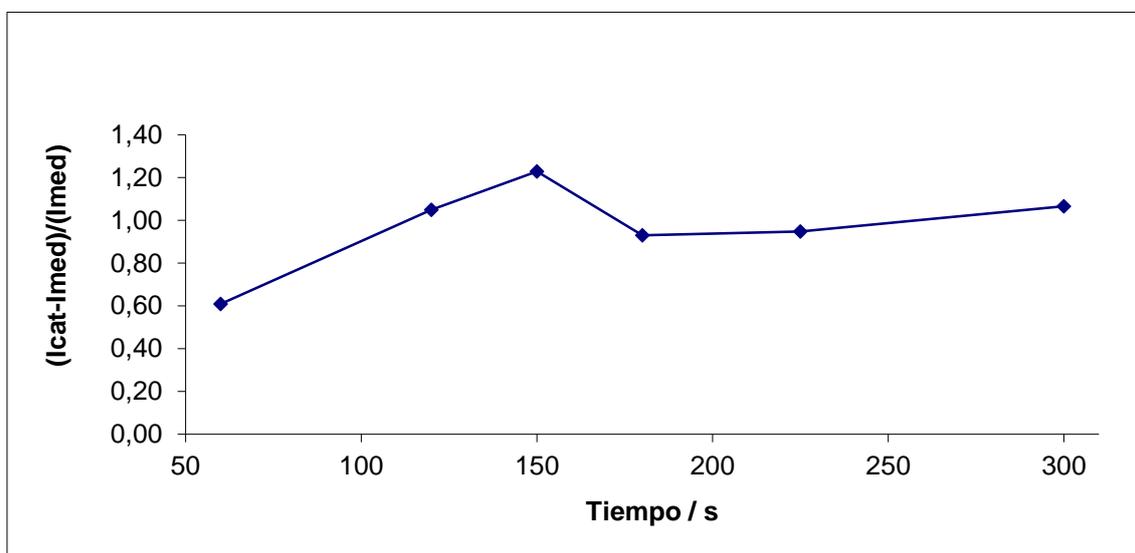


Figura 90- Estudio de eficiencia catalítica de la oxidación de glucosa en función del tiempo de electrodeposición.

El mecanismo de la oxidación electrocatalítica de azúcares en presencia de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ es el siguiente:

- $\text{Ni}(\text{OH})_2 + \text{OH}^- \rightarrow \text{NiOOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{e}^-$
- $\text{NiOOH} + \text{azúcar} \rightarrow \text{Ni}(\text{OH})_2 + \text{productos derivados de la oxidación de azúcares.}$

El aumento del pico de oxidación y la disminución simultanea del pico de reducción se debe principalmente a que cuando el $\text{Ni}(\text{OH})_2$ se oxida a NiOOH , este rápidamente reacciona con los azúcares regenerando el $\text{Ni}(\text{OH})_2$ que se vuelve a oxidar, de ahí el aumento de la intensidad de oxidación. Del mismo modo en el barrido de vuelta no se registra la reducción del NiOOH ya que se ha transformado rápidamente a $\text{Ni}(\text{OH})_2$.

Se ha realizado un estudio del proceso de electrooxidación catalítica de glucosa a distintas velocidades de barrido 2 mV/s a 500 mV/s con objeto de analizar cómo afecta al proceso. Los voltamperogramas pueden observarse en la figura 91A. Además se ha estudiado la relación de la intensidad de pico de oxidación con respecto a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (figura 91B) comprobándose que existe una relación lineal, lo cual indica que el proceso está controlado por la difusión de glucosa.

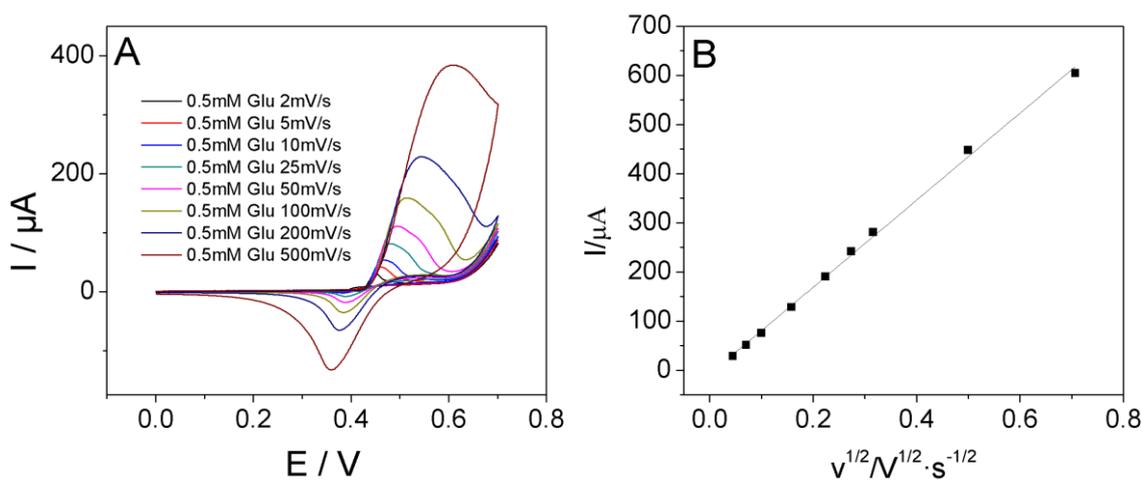


Figura 91- (A) Voltamperogramas obtenidos con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ en Glucosa 0.5 mM NaOH 0.1 M a distintas velocidades de barrido de potencial. (B) Intensidad de corriente del pico de oxidación (I_{pox}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial ($v^{1/2}$).

La representación de la corriente catalítica normalizada a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, frente a la velocidad de barrido (figura 92) presenta la forma adscrita a un mecanismo ECE catalítico, según la teoría de Nicholson y Shain^[11].

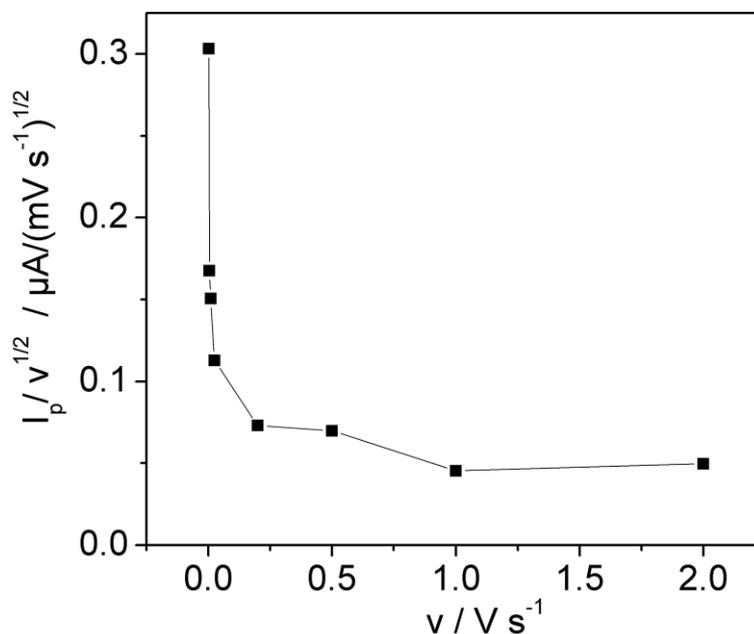


Figura 92- Representación de la corriente catalítica normalizada a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido frente a la velocidad de barrido.

Para comprobar la versatilidad del electrodo modificado desarrollado como sensor de glucosa se realizaron estudios de cronoamperometría en estático a distintas concentraciones de glucosa y aplicando al electrodo un pulso de potencial desde 0.0 V hasta 0.5 V, potencial suficiente para oxidar el $Ni(OH)_2$ a $NiOOH$, responsable de la oxidación catalítica de glucosa y de los diferentes azúcares. En la figura 93 se representan las cronoamperometrías obtenidas. Como se puede observar existe una relación lineal entre la intensidad de corriente (estado estacionario) y la concentración de glucosa de la disolución. A partir de ella se obtuvo la correspondiente curva de calibrado ($y = 0.0203x + 0.1700$, $R^2 = 0.9961$) para la glucosa, estas se han obtenido a partir del valor medio de las medidas realizadas por triplicado de cada uno de los patrones. De ella se determinaron los límites de detección ($0.36 \mu M$) y cuantificación ($1.19 \mu M$), calculados como la concentración correspondiente a la intensidad media de corriente del blanco + 3 veces o 10 veces la desviación estándar del blanco, respectivamente. Tanto la media como la desviación estándar del blanco se han

obtenido a partir de 10 medidas independientes de este. A partir de la pendiente de la recta y al área geométrica del electrodo, se calculó la sensibilidad del método para glucosa ($287 \mu\text{A} / \text{mM}\cdot\text{cm}^2$). También se determinó el intervalo lineal (1-2500 μM Glucosa).

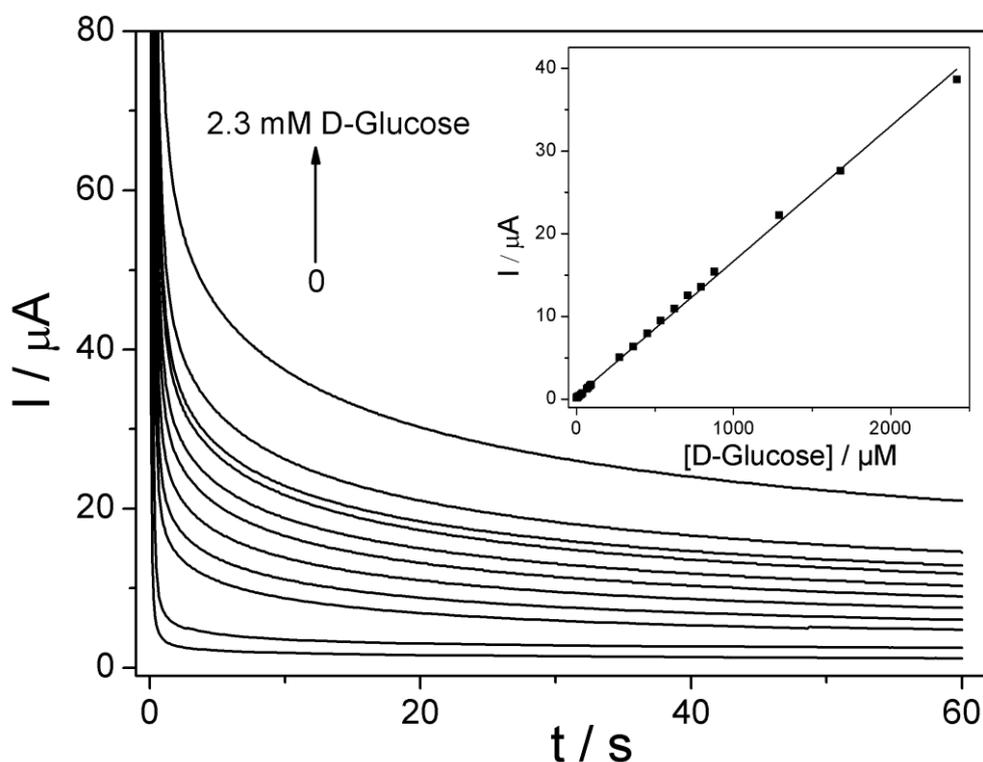


Figura 93- Cronoamperometrías obtenidas con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ a $E = +0.5 \text{ V}$ con adiciones sucesivas de D-Glucosa (0-2.3 mM). Inset: Representación de la curva de calibrado obtenida al representar la intensidad de corriente de cada una de las cronoamperometrías en el segundo 50 con respecto a la concentración de D-Glucosa.

Por otro lado, se evaluó la actividad catalítica calculando la constante catalítica por el método de Galus^[172] explicado en el apartado 4.6 de Materiales y Métodos. En la figura 94A se muestran los valores de eficiencia catalítica en función de la raíz cuadrada del tiempo de las cronoamperometrías registradas para distintas concentraciones de glucosa. La representación posterior de los valores de las pendientes de cada una de las rectas obtenidas con respecto a la raíz cuadrada de la concentración (Figura 94B) proporciona para el caso de la glucosa un valor igual a $5.3 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ de la constante catalítica. Este valor es elevado en comparación con algunos de los sensores de glucosa publicados en la bibliografía que calculan este parámetro ($7.4 \cdot 10^2 - 2.1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)^{[256-}

258] lo que sugiere que las nanopartículas pequeñas de óxido de níquel modificando la superficie del electrodo son muy eficientes desde el punto de vista electrocatalítico.

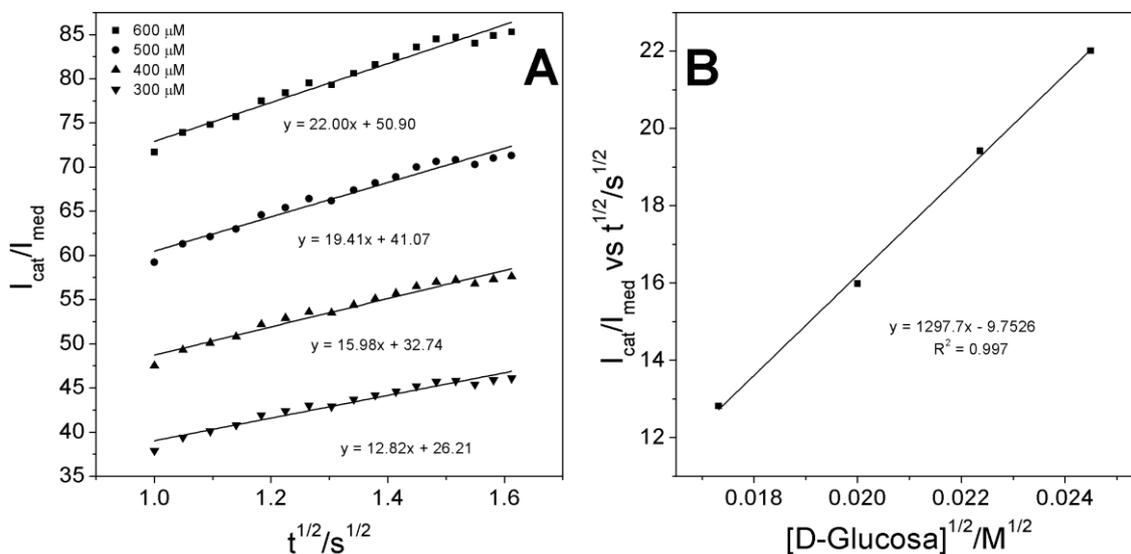


Figura 94- (A) Representación de la eficiencia catalítica del sensor de glucosa en función de la raíz cuadrada del tiempo para diferentes concentraciones de glucosa. (B) Representación de Galus de la eficiencia catalítica normalizada con la raíz cuadrada del tiempo respecto de la raíz cuadrada de la concentración de glucosa. Datos obtenidos de la representación gráfica de la figura A.

Se ha de destacar las buenas propiedades analíticas que presenta el sensor desarrollado, con respecto al resto de sensores de glucosa, no enzimáticos, que usan compuestos de níquel como electrocatalizador. Por ejemplo, la sensibilidad 287 $\mu A / mM \cdot cm^2$, es mayor en comparación con otros sensores descritos en la literatura de 0.86, 72, 120 y 230 $\mu A / mM \cdot cm^2$ [230, 259-262], a pesar del bajo recubrimiento de la superficie con $Ni(OH)_2$. Con respecto al límite de detección, 0.36 μM , este valor es bastante competitivo en comparación con los sensores fabricados con $Ni(OH)_2$ más sensibles descritos para la determinación de carbohidratos [251, 254, 256]. En la tabla X se muestran algunos parámetros analíticos de otros sensores similares de glucosa, con objeto de comparar el sensor desarrollado con otros sensores que se han publicado en la bibliografía recientemente. Se observa en cuanto al límite de detección de glucosa, el sensor desarrollado presenta uno de los valores más bajos, ello lo convierte en un sensor con muy buenas cualidades, mejorando aquellos que se están desarrollando en los últimos años, ya que hay muy pocos ejemplos de sensores capaces de superar este límite de

detección. A la vez el intervalo lineal que se presenta es bastante amplio, abarcando varios ordenes de magnitudes en un mismo intervalo lineal, siendo este similar al de otros sensores reportados.

Tabla X-Sensibilidad, límite de detección e intervalo lineal de sensores de glucosa no enzimáticos reportados en la bibliografía.

Referencia	Límite Detección (μM)	Intervalo Lineal (μM)
Este Trabajo	0,36	1-2500
[230]	0,4	50-1000
[260]	500	500-10000
[259]	1,8	5-550
[263]	5	15-3200
[264]	0,6	2-3800
[261]	5	20-1700
[265]	5,8	10-1300
[266]	3	10-750
[251]	3,4	-
[267]	0,3	2-10 y 50-3300
[268]	0,3	1-4300
[269]	0,6	2-3100
[270]	0,82	2-2300
[271]	0,36	1-800

El sensor desarrollado ha sido también evaluado en la determinación de otros azúcares (fructosa, sacarosa, lactosa y maltosa) además de glucosa, para los cuales se han realizado estudios similares tanto de voltamperometría cíclica y de cronoamperometrías en estático, a partir de las cuales se determinaron los parámetros analíticos y la constante catalítica con el método de Galus.

En la figura 95 pueden observarse los voltamperogramas cíclicos obtenidos tras adiciones sucesivas de cada uno de los azúcares estudiados.

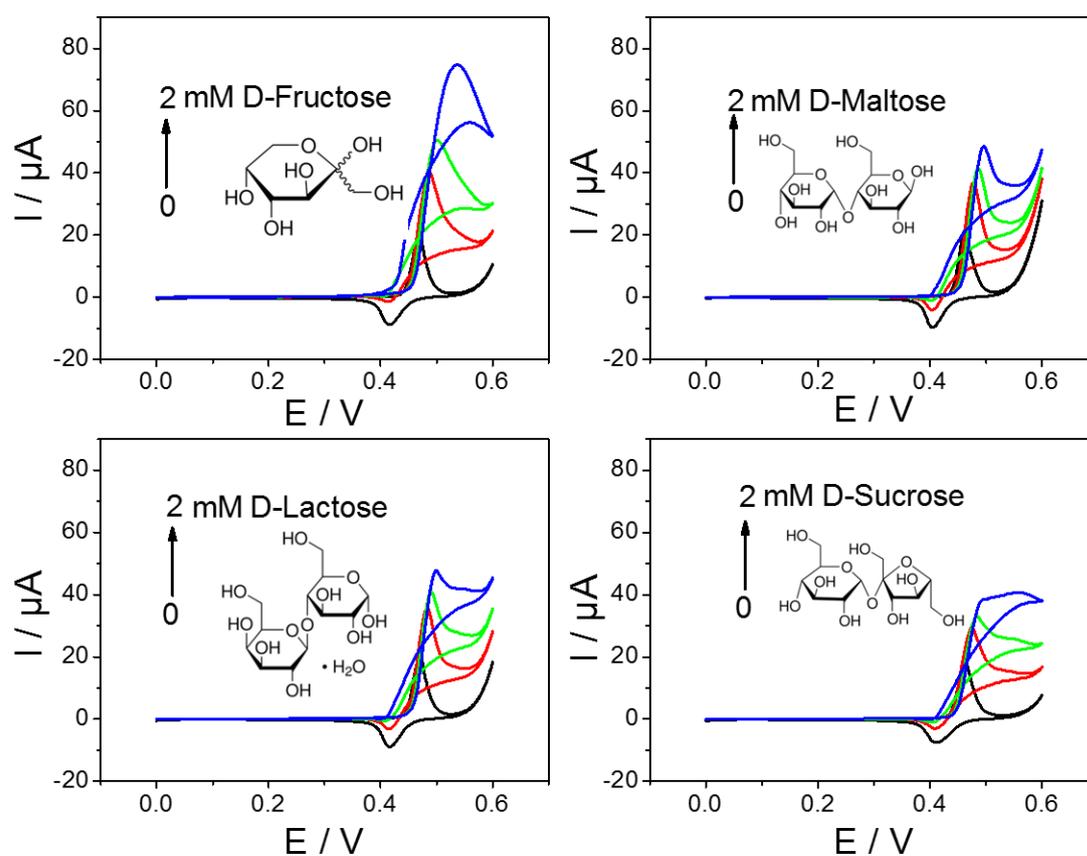


Figura 95- Voltamperometrías obtenidas con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ para adiciones sucesivas de los azúcares (0, 0.5, 1.0, 2.0 mM) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

Al igual que para la glucosa, para el resto de azúcares estudiados se realizaron cronoamperometrías en estático a +0.5V con electrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ y se obtuvieron las curvas de calibrado, a partir de las cuales se calcularon los parámetros analíticos. De las cronoamperometrías también se obtuvieron las constantes catalíticas mediante el método descrito por Galus. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla XI.

Tabla XI- Propiedades analíticas y constantes catalíticas obtenidas en la determinación de azúcares mediante cronoamperometrías usando el electrodo Ni(OH)₂/GC.

Azúcar	Sensibilidad ($\mu\text{A}\cdot/\text{mM cm}^2\cdot$)	Límite Detección (μM)	Límite Cuantificación (μM)	Intervalo Lineal (μM)	k_{CAT} ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
Glucosa	287 \pm 11	0.36	1.19	1-2500	5.3 x 10 ⁵
Fructosa	397 \pm 13	0.29	0.95	1-3100	9.2 x 10 ⁴
Maltosa	393 \pm 14	0.27	0.88	1-1700	4.0 x 10 ³
Lactosa	614 \pm 15	0.30	0.99	1-3100	2.8 x 10 ⁴
Sacarosa	529 \pm 18	0.13	0.43	1-1700	5.3 x 10 ⁴

Se puede apreciar que los límites de detección y cuantificación obtenidos para los distintos azúcares son muy similares a los obtenidos para glucosa o incluso mejores, lo mismo ocurre con el intervalo lineal. Con respecto a las constantes catalíticas obtenidas por el método de Galus, se ha de destacar que los dos monosacáridos (glucosa, fructosa) estudiados presentan una constante mayor que el resto de disacáridos, lo cual parece indicar que el electrodo Ni(OH)₂/GC presenta mejor reacción con monosacáridos.

Con respecto a la estabilidad que presenta el sensor es bastante amplia en el tiempo, al tratarse de un material inorgánico estable, por ello pueden almacenarse los electrodos modificados meses sin que se vea afectado su funcionamiento. En particular se probó a usar un electrodo modificado, medir un proceso electrocatalítico con 0.5 mM de glucosa realizando voltamperometría cíclica a 10 mV/s, enjuagar el electrodo y secarlo en corriente de nitrógeno y almacenarlo durante 3 meses. Tras este tiempo volver a medir una voltamperometría cíclica en las mismas condiciones y comparar las señales. La modificación de la intensidad de pico descendió solamente el 2 %, por lo que es una buena muestra de la gran estabilidad que presenta el sensor desarrollado.

La repetibilidad del sensor fue evaluada midiendo por cronoamperometría un patrón de glucosa de 100 μM unas 5 medidas, obteniéndose una desviación estándar relativa (D.E.R) de 3.4%, lo cual demuestra la gran repetibilidad en las medidas del sensor.

Por tanto, los resultados obtenidos permiten concluir que se ha desarrollado un sensor de azúcares eficiente y competitivo con los sensores de este tipo previamente desarrollados reportados en la bibliografía. Los límites de detección y cuantificación son bajos y los intervalos lineales son muy amplios, los cuales permitirían analizar muestras de diversa naturaleza con concentraciones dispares de azúcares. Una de las desventajas del sensor, como ya se ha comentado anteriormente, es la falta de selectividad a los distintos azúcares, lo cual si la idea es analizar la muestra sin tratamientos de separación previos, bien electroforéticos y o bien cromatográficos, constituye un gran inconveniente. Sin embargo, su aplicación como detector sensible a varios azúcares, puede permitir la obtención de un índice de azúcares totales en la muestra, o bien utilizándolo en combinación con algún método de separación previo. Este sería el caso bien de acoplarlo en celdas de flujo a sistemas de cromatografías HPLC, o a un sistema de electroforesis capilar convencional. También se puede utilizar como detector en sistemas de microfluídica como en los que se están trabajando en la actualidad, incorporados como detector en un chip de separación electroforética^[272].

3.2. Electrooxidación catalítica de alcoholes.

Al igual que en el caso de los azúcares, la presencia de grupos hidroxilos en la estructura de pequeñas moléculas orgánicas, hace factibles su electrooxidación en medio básico mediante el uso de electrocatalizadores que contienen átomos de níquel. Son muchos los ejemplos descritos en la bibliografía de esta aplicación con complejos de níquel de distinta naturaleza^[221, 228, 243, 273], con óxidos de níquel^[229] y también con hidróxidos de níquel^[230]. Dado la buena respuesta electrocatalítica hacia azúcares que ha presentado el electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ desarrollado, nos ha llevado a ensayarlo también en la electrooxidación de alcoholes. Se han seleccionado en principio diversos alcoholes y se ha estudiado cómo afecta la posición del grupo hidroxilo en la electrocatalisis de estas moléculas.

En el ámbito de las aplicaciones de los electrodos capaces de oxidar electrocatalíticamente alcoholes, además de ser usados como sensores de estos compuestos, hay una gran aplicabilidad en el campo de las celdas o pilas de combustibles, concretamente en aquellas que trabajan en medio básico^[215, 217]. El uso por tanto de Ni(OH)₂ como catalizador para este tipo de sistemas puede tener un gran potencial, dado el bajo coste y la gran abundancia del níquel. Aquí radica la importancia del estudio y la generación de nuevos complejos de níquel o el control de la morfología de las formas ya existentes como óxidos e hidróxidos de níquel, para obtener superficies con la mayor actividad catalítica posible.

Es importante también el conocimiento de los factores que influyen en la electrocatálisis de estas moléculas, concretamente se aprecian diferencias significativas en la reactividad de los distintos alcoholes en función de la posición del grupo hidroxilo, así como del número de sustituyentes que presentan el carbono sobre el que se encuentran. En el estudio llevado a cabo se ha caracterizado el comportamiento electrocatalítico de diversos alcoholes alifáticos como el metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, ciclohexanol y ciclopentanol. En este estudio las concentraciones molares de los alcoholes ensayadas fueron muy superiores a las usadas para el estudio de electrooxidación de azúcares, ello es debido al número de grupo hidroxilos presentes por cada molécula, mientras que las moléculas de azúcares contiene 5 grupos hidroxilos (monosacáridos) y 8 (disacáridos), cada uno de los alcoholes analizados solamente presenta en su estructura un grupo hidroxilo, por tanto la reactividad que presentan los azúcares es mayor que los alcoholes. Aun así es interesante su estudio, sobre todo en el ámbito de aplicación a pilas de combustibles donde se usan concentraciones relativamente altas de estos compuestos, aunque el empleo de estos electrodos como sensores de estas moléculas también ofrece buenos parámetros analíticos. El estudio, al igual que en el caso de los azúcares se comenzó obteniendo las voltamperometrías cíclicas de los distintos alcoholes ensayados con el electrodo modificado Ni(OH)₂/GC a bajas velocidades de barrido, para apreciar bien el efecto electrocatalítico (figura 96 y 97). Se puede apreciar en los voltamperogramas como la catálisis de alcoholes no ocurre en el pico de oxidación del paso de Ni(OH)₂ a NiOOH, sino que aparece un pico a potenciales superiores. Este hecho es más acusado en el caso de grupos hidroxilos

secundarios (2-propanol) y terciarios (ciclohexanol y ciclopentanol) Ello es debido a que existe una limitación cinética del proceso, de modo que es necesario un tiempo apreciable en el voltamperograma para que comience a ocurrir la electrooxidación del alcohol. Una vez comienza a oxidarse se produce entonces el aumento de la intensidad registrada, como consecuencia de la regeneración del $\text{Ni}(\text{OH})_2$ en la superficie del electrodo a partir del NiOOH formado durante la oxidación, gracias a la oxidación de los alcoholes y su consecuente reducción. Esta limitación cinética es más acusada para el caso de grupos hidroxilos secundarios y terciarios, y por tanto está menos favorecida la oxidación electrocatalítica de estos grupos. Ello puede deberse tanto a factores estéricos como a la dificultad para ser oxidado dado el entorno electrónico más aceptor cuanto más sustituido por otros carbonos este al carbono hidroxílico.

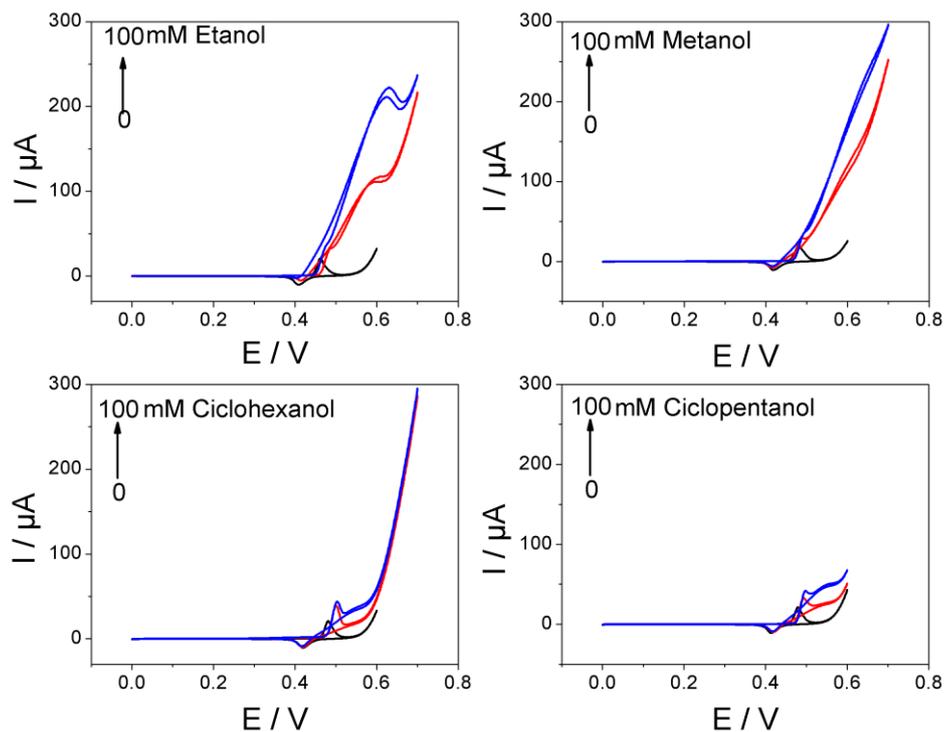


Figura 96- Voltamperometrías obtenidas con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ para adiciones sucesivas de los alcoholes (0, 50, 100 mM) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

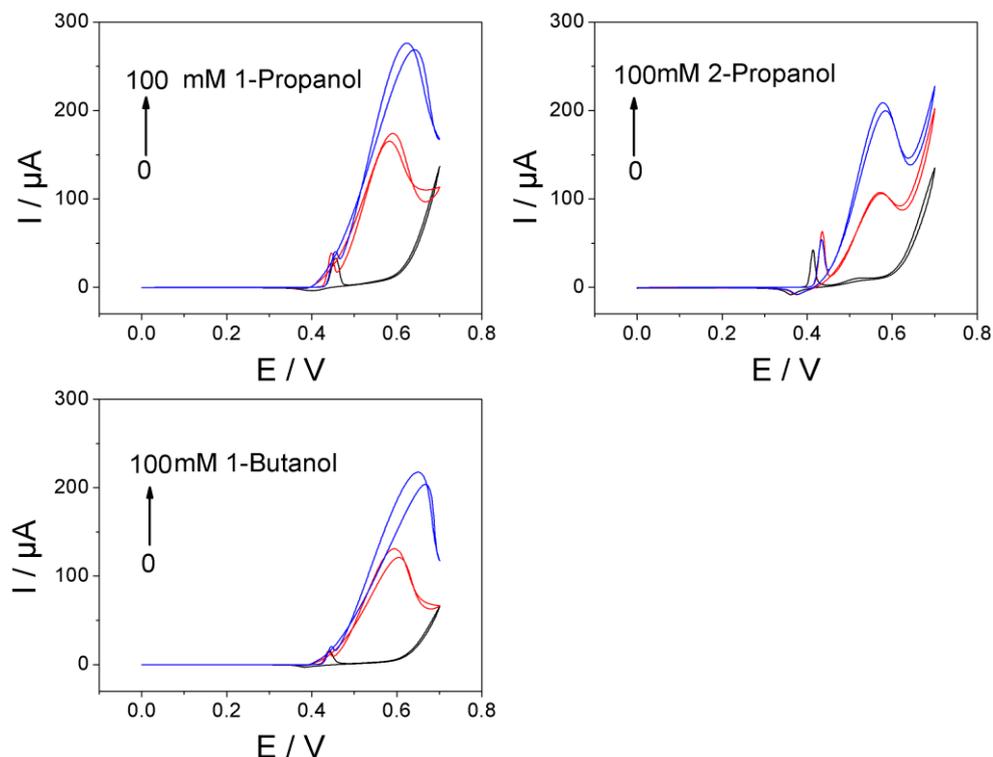


Figura 97- Voltamperometrías obtenidas con un electrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{GC}$ para adiciones sucesivas de los alcoholes (0, 50, 100 mM) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

Se obtuvieron las cronoamperometrías en estático de cada uno de los alcoholes analizados con un electrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{GC}$ aplicando +0.5 V. De los datos de intensidad de corriente difusional frente a la concentración se obtuvieron las curvas de calibrado que se muestran en la figura 98 para cada uno de ellos. Estas se han obtenido a partir del valor medio de las medidas realizadas por triplicado de cada uno de los patrones. A partir de estas rectas se determinaron los parámetros analíticos que se muestran en la tabla XII. Los parámetros analíticos para la determinación de alcoholes son buenos. Se obtienen límites de detección del orden de unidades de μM o decenas de μM . Además se obtienen intervalos lineales verdaderamente amplios desde concentraciones de pocos μM hasta decenas de mM albergando casi 5 órdenes de magnitud, lo cual hace especialmente útil el sensor para muestras con gran variabilidad en el contenido alcohólico.

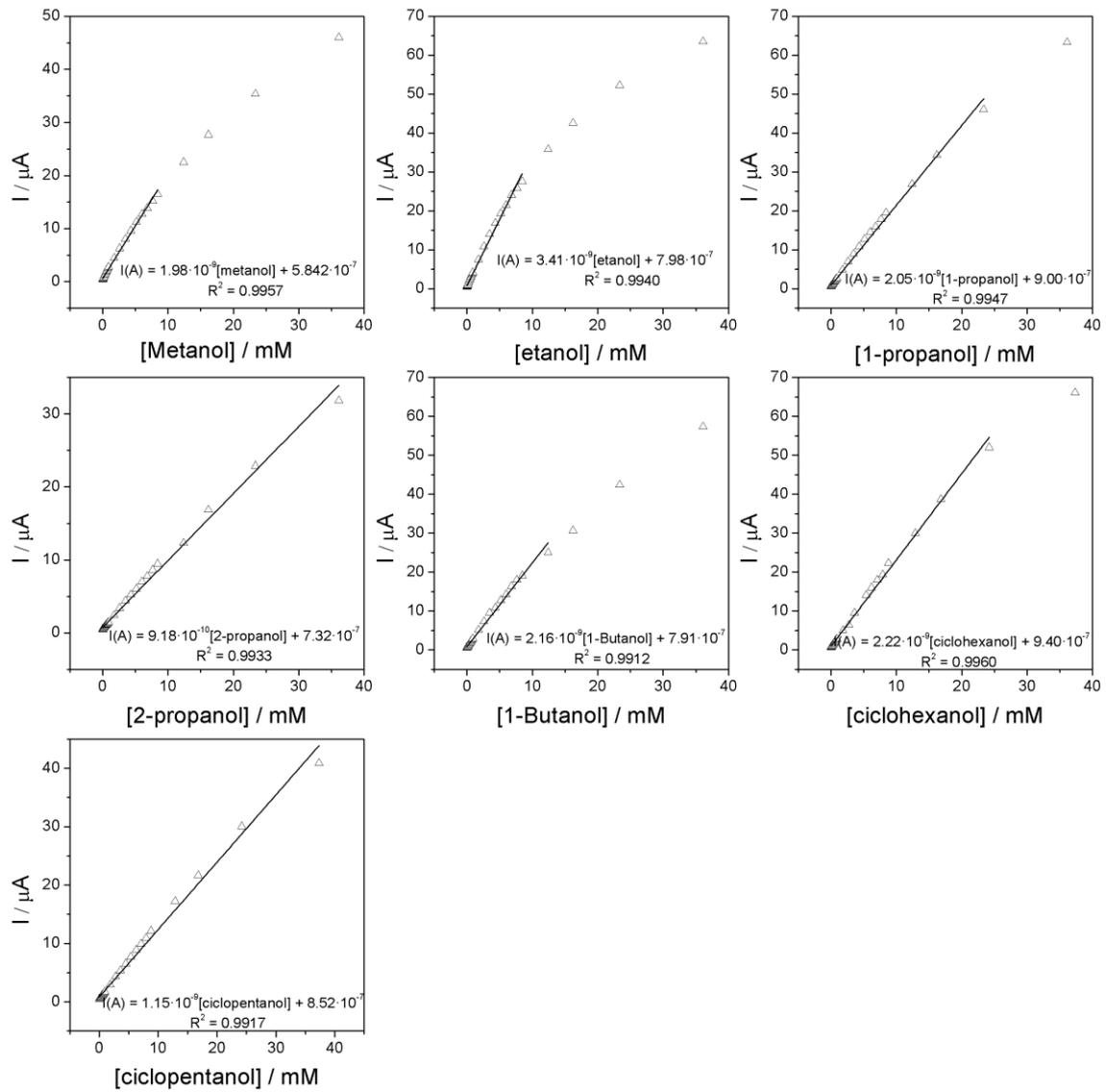


Figura 98- Representación de la curva de calibrado obtenida al representar la intensidad de corriente difusional de cada una de las cronoamperometrías en el segundo 50 con respecto a la concentración de alcoholes.

Resultados y discusión.

Capítulo II- Electrodo modificado con compuestos de níquel.

Tabla XII- Propiedades analíticas y constantes catalíticas obtenidas en la determinación de alcoholes mediante cronoamperometrías usando un electrodo $Ni(OH)_2/GC$.

	Límite Detección (μM)	Límite Cuantificación (μM)	Sensibilidad ($\mu A \cdot /mM \cdot cm^2$)	Intervalo Lineal (μM)	k_{cat} ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
Metanol	3.617	12.056	36.8	12-10000	9.4
Etanol	0.784	2.613	59.7	3-10000	14.9
1-Propanol	2.266	7.552	34.6	8-23000	5.1
2-Propanol	4.488	14.959	15.1	15-35000	1.0
1-Butanol	2.106	7.021	38.9	7-23000	3.6
Ciclopentanol	3.467	11.557	20.6	12-37000	2.8
Ciclohexanol	1,829	6,096	35.1	6-24000	8,1

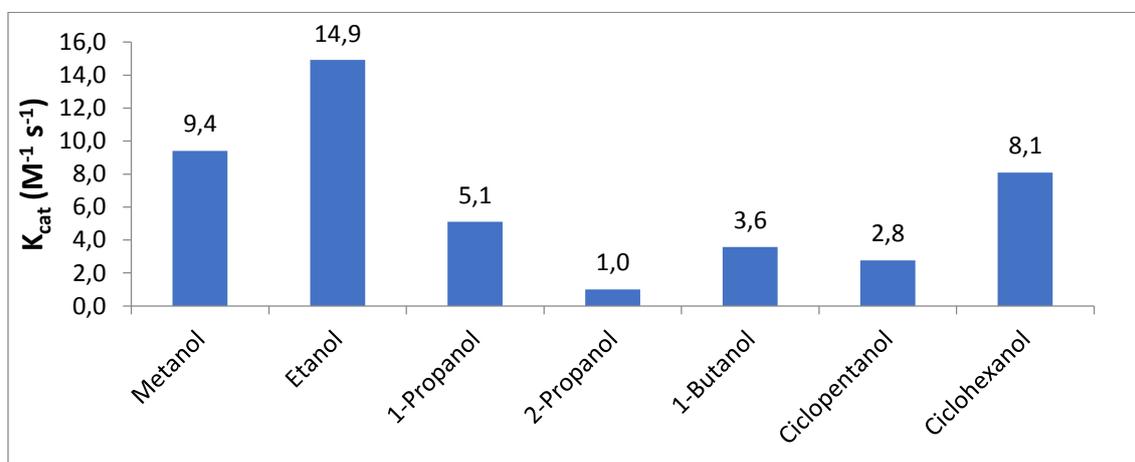


Figura 99- Diagrama de representación de K_{cat} distintos alcoholes.

Para calcular la constante catalítica se usó el método de Galus^[172] descrito en el apartado 4.6 de Materiales y Métodos. Como se observa en la figura 99 es interesante comprobar cómo cambia la constante catalítica de cada uno de los alcoholes en función de la posición del grupo hidroxilo. Por lo general se observa como los hidroxilos terminales son mucho más reactivos, lo cual puede obedecer tanto a un menor impedimento

estérico para que se de la unión electrocatalizador con el grupo hidroxilo, pero también a la mayor disponibilidad de enlaces de hidrógeno en el carbono que permiten la oxidación de este. Por el contrario, aquellos alcoholes secundarios presentan K_{cat} inferiores debido a un mayor impedimento estérico y sobre todo el menor carácter dador de electrones por parte del carbono, ya que al estar sustituido establece enlaces covalentes con otros carbonos, y estos dejan de tener enlaces covalentes con átomos de hidrógeno, los cuales son menos electronegativos a priori que el carbono y que por tanto aportan mayor carga electrónica al entorno del átomo de carbono, favoreciendo la oxidación. Es significativo que a excepción del etanol, conforme aumenta el número de carbonos de la cadena alifática disminuye la K_{cat} , esto se explica simplemente por estadística ya que al ser más grande la molécula menor probabilidad de interactuar directamente el hidroxilo con el grupo NiOOH. Son llamativos los altos valores de K_{cat} de ciclohexanol y ciclopentanol con respecto a cadenas alifáticas de menor número de carbono. Este hecho puede ser explicado por una mejor disposición y accesibilidad del grupo hidroxilo en la configuración del ciclo al electrocatalizador. También se ha de tener en cuenta las fuerzas de Van der Waals, las cuales producen la atracción de las cadenas alifáticas de los alcoholes, interaccionando entre sí, y haciendo más inaccesibles los grupos hidroxilos al electrocatalizador. En el caso de los alcoholes cíclicos están fuerzas de atracción tipo Van der Waals están menos favorecidas.

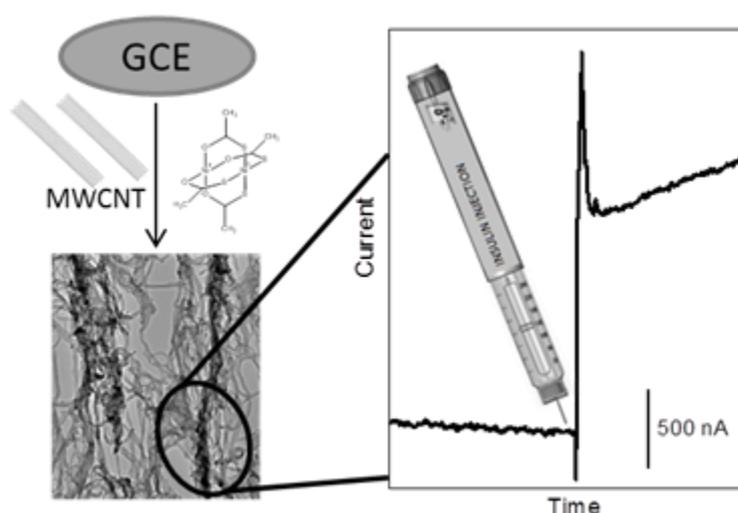
Con respecto a la estabilidad del sensor, ya se mencionó en el apartado anterior para azúcares que se ha probado experimentalmente su estabilidad durante 3 meses, aunque se considera que esta puede ser mucho mayor si los electrodos están almacenados en un lugar limpio y seco que no altere la composición de hidróxidos de níquel de las nanopartículas.

La reproducibilidad en las medidas fue ensayada por cronoamperometrías, registrando la corriente de 5 ensayos de diferentes electrodos modificados con una disolución 1 mM de etanol, obteniéndose un D.E.R del 4.2 %, probando a raíz de este bajo valor la buena reproducibilidad de las medidas.

Se puede concluir por tanto este apartado comprobando con los datos expuestos la gran proyección que pueden tener los electrodos modificados con nanopartículas de hidróxido de níquel para la electrooxidación catalítica de alcoholes, siendo conscientes

de que además de poder ser usado como sensor, estos pueden abrir un amplio campo de estudio a la hora de su utilización como sustrato oxidable en celdas de combustible. Como vemos el hecho de nanoestructurar el catalizador y generar nanopartículas de hidróxido de níquel de tamaño muy pequeño, ofrece constantes catalíticas muy elevadas que pueden permitir la obtención de buenos rendimientos energéticos en este campo de aplicación. Desde un punto de vista analítico, al igual que hemos comentado para el caso de los azúcares, puede considerarse un detector polivalente a varios alcoholes, y puede ser una buena opción como detector en sistemas de separación previo de estos alcoholes o para tener índices alcohólicos globales, bastante sensible y que ofrece intervalos lineales muy amplios.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.



Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

Durante las últimas décadas se ha potenciado el interés por desarrollar nuevos catalizadores y electrocatalizadores que no usen metales nobles, debido fundamentalmente, al alto precio de los mismos. Especialmente los estudios se han centrado en los catalizadores de níquel y cobalto, dado su gran abundancia y bajo coste. Ambos han sido ampliamente usados como mediadores redox en medio básico, debido a la gran actividad electrocatalítica que presentan frente a la oxidación de moléculas orgánicas pequeñas que contienen en su estructura grupos hidroxilo, amino y tiol. En el caso de los compuestos de níquel se considera que poseen un gran efecto electrocatalítico como consecuencia de los electrones d desapareados o los orbitales d vacíos que se generan en las especies de Ni oxidadas, quedando por tanto el centro metálico disponible para establecer enlaces con moléculas adsorbidas o intermediarios de la reacción redox^[274-276].

Como ya se ha mencionado, la actividad electrocatalítica de los diferentes materiales, se incrementa notablemente cuando estos se encuentran nanoestructurados frente a aquellos que presentan estructura macroscópica. Este efecto es principalmente debido a la mayor relación superficial que presentan y por tanto el mayor número de centros de reacción en contacto con el sustrato electrocatalítico. Es por ello que se está extendiendo el uso, entre los distintos sensores electroquímicos, de diferentes superficies decoradas con nanopartículas o nanoestructuras con diferentes nanomateriales^[277-280]. En el mismo sentido se han desarrollado estrategias de modificación de electrodos que combinan nanotubos de carbono con nanopartículas metálicas o de óxidos de metales mejorando de esta forma las propiedades analíticas del sensor resultante^[281]. Hay ejemplos en la bibliografía de electrodos modificados con distintos compuestos, en particular de níquel, combinados con nanomateriales de carbono para evitar el envenenamiento del electrocatalizador durante la electrooxidación de analito^[278, 282-284].

Dado los buenos resultados obtenidos con la modificación de electrodos de carbón vítreo con nanopartículas de hidróxido de níquel siguiendo la metodología descrita en el capítulo II, se decidió probar la modificación de electrodos modificados con nanotubos de carbono, combinando de esta forma las nanopartículas previamente

desarrolladas con un nanomaterial de carbono que pudiese aportar ventajas a los procesos electrocatalíticos, gracias al aumento de la superficie electródica que aportan, así como evitando el envenenamiento de los centros electrocatalíticos por los productos de la reacción electrocatalizada. Durante el capítulo por tanto se mostrarán los estudios que se realizaron para la modificación de electrodos de carbón vítreo con nanotubos de carbono mediante el método desarrollado en el capítulo II. Una vez modificados estos electrodos se ha caracterizado su comportamiento electroquímico en medio básico, comprobándose la capacidad de generar superficies con altos recubrimientos de nanopartículas de Ni(OH)₂. Estos electrodos además se han aplicado a nuevos analitos, en este caso, a la electrooxidación catalítica de insulina, estudiando en detalle dicho proceso, y consiguiendo emplear estos electrodos como sensor electroquímico de insulina en muestras reales.

1. Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)_2 sobre nanotubos de carbono.

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 3.2.5 de Materiales y Métodos se modificaron electrodos de carbón vítreo (GC) con nanotubos de carbono de pared múltiple carboxilados (MWCNTs-COOH) sobre los que se electrogeneraron nanopartículas de hidróxido de níquel (Ni(OH)_2). A estos electrodos se hará mención en esta memoria con las siglas $\text{Ni(OH)}_2/\text{Nafion-MWCNTs/GC}$. Se realizaron estudios encaminados a comprobar la formación de estas nanopartículas sobre los nanotubos de carbono carboxilados que recubrían el electrodo GC.

1.1. Análisis de superficies modificadas con $\text{Ni(OH)}_2/\text{Nafion-MWCNTs/GC}$ mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Se prepararon rejillas de cobre recubiertas por nanotubos de carbono sobre los que se electrodepositaron nanopartículas de Ni(OH)_2 y se estudiaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) (apartado 3.2.5 Materiales y Métodos). Las imágenes obtenidas se muestran en la figura 100. Como se observa las nanopartículas se distribuyen de forma homogénea sobre el entramado de MWCNTs-COOH. En las imágenes de mayor aumento se aprecia en detalle una de estas nanopartículas. Se estimó el tamaño de varias de ellas y todas presentan un tamaño entre 8 y 11 nm, siendo muy baja la dispersión de tamaños observados. Son muy homogéneas en cuanto a tamaño y forma.

Para comprobar la composición de las nanopartículas se llevó a cabo el análisis por energía dispersiva de rayos X (EDX) de las mismas, obteniéndose el espectro que se muestra en la figura 101. Se puede confirmar la presencia de níquel y oxígeno. El porcentaje de oxígeno es mayor del esperado, lo cual es debido a la presencia de otros átomos de oxígeno, además de los que forman el Ni(OH)_2 , como pueden ser los grupos carboxilos que rodean a los nanotubos MWCNTs-COOH. El pico en torno a 8.2 eV que no ha sido asignado corresponde a Cu, que es el material de la rejilla usada para el análisis. Estos estudios demuestran la presencia de nanopartículas de Ni(OH)_2 sobre los MWCNTs-COOH.

Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

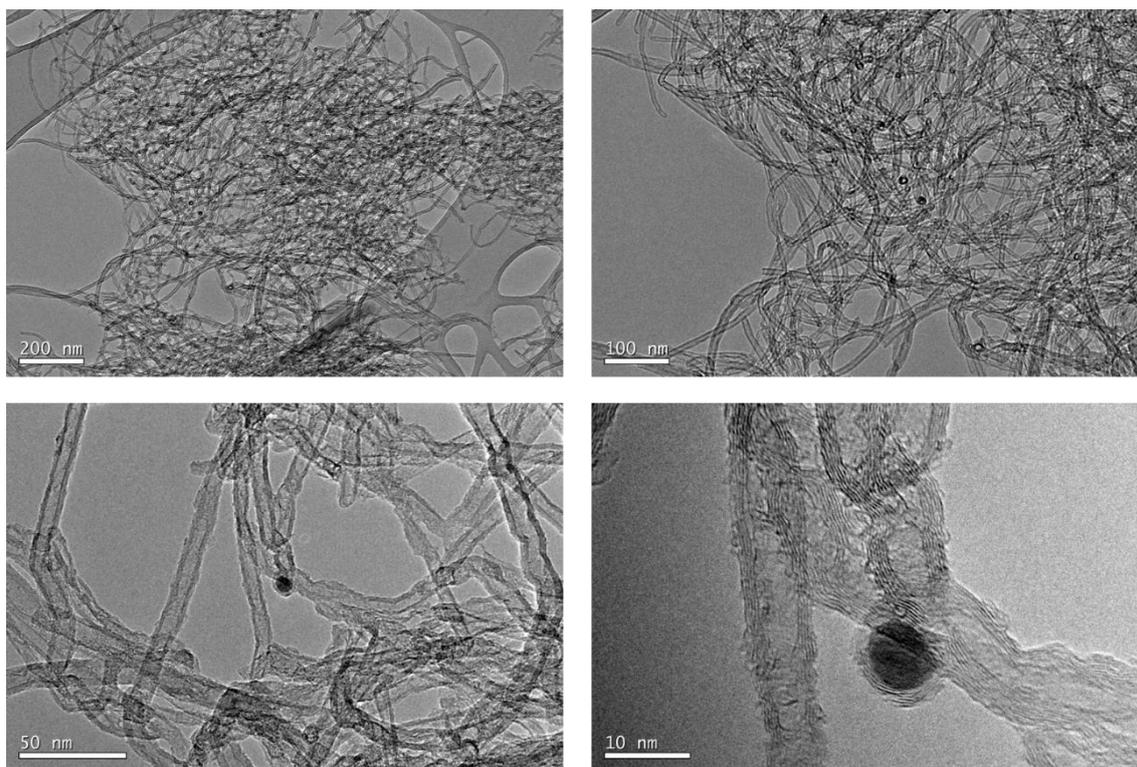


Figura 100- Imágenes TEM Ni(OH)₂NPs/Nafion-MWCNTs-COOH.

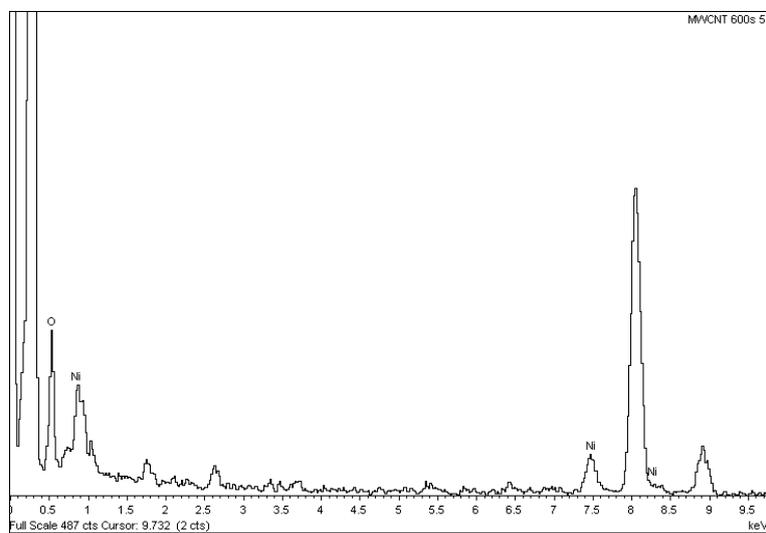


Figura 101- Espectro EDX obtenido de una rejilla de Cu modificada con Ni(OH)₂NPs/Nafion-MWCNTs-COOH.

2. Comportamiento electroquímico de los electrodos Ni(OH)₂/Nafion-MWCNTs/GC en NaOH 0.1M.

El comportamiento electroquímico de los electrodos modificados se estudió en NaOH 0.1 M. En primer lugar se sometió a los electrodos a un proceso de activación como el descrito en el capítulo II, que consiste en la aplicación de 50 barridos continuos de potencial entre 0 y 0.7 V a 100 mV/s. La sucesión de voltamperogramas obtenidos se muestra en la figura 102. Se aprecia como los voltamperogramas obtenidos en los barridos sucesivos van cambiando con respecto al primero de los barridos. En este primer barrido aparece un par redox, en el que el pico anódico aparece en torno a +0.50 V. A partir del segundo barrido y sucesivos el pico de oxidación aparece a un potencial menor +0.44 V y la intensidad del pico decae en torno a un 7 % con respecto al primero de los barridos. A partir del segundo barrido la intensidad se mantiene constante en los ciclos sucesivos, y el pico de oxidación sufre pequeños desplazamientos a potenciales más negativos, estabilizándose rápidamente el voltamperograma, y estableciéndose el potencial formal del par redox en +0.39 V. Este par redox se asocia con los procesos ya mencionados en el capítulo anterior:

- $\text{Ni(OH)}_2 + \text{OH}^- \rightarrow \text{NiOOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{e}^-$ (Oxidación).
- $\text{NiOOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{e}^- \rightarrow \text{Ni(OH)}_2 + \text{OH}^-$ (Reducción).

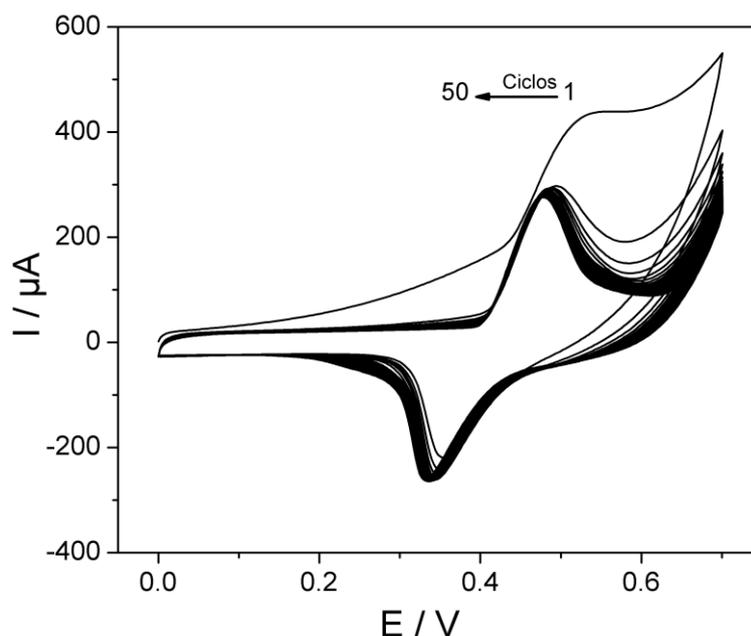


Figura 102- Proceso de activación del electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs/GC}$ en NaOH 0.1 M a 100 mV/s .

Una vez activado el electrodo en medio alcalino, se registraron voltamperogramas en el mismo medio NaOH 0.1 M a 10 mV/s . A partir de la carga obtenida del área del pico de oxidación de este voltamperograma, y aplicando la ecuación (7) de Materiales y Métodos se obtiene el recubrimiento de la superficie electroquímica $\Gamma = 2.26 \cdot 10^{-8} \text{ mol/cm}^2$. Este valor es 4 veces superior al obtenido al modificar un electrodo de igual área geométrica de GC (0.07 cm^2) sin modificar con MWCNTs-COOH, lo que confirma el aumento de área electroquímica que produce el uso del nanomaterial de carbono. El par redox ($E^0 = 0.39 \text{ V}$) presenta un voltamperograma cuya forma es la típica de un proceso confinado sobre la superficie, sin embargo la separación de picos anódico y catódico (ΔE_p) es elevada, lo que sugiere que el proceso de reducción del barrido catódico de vuelta tiene una cinética de reacción lenta. También es debido a la componente difusional del proceso consecuencia de la intervención de los iones OH^- en el proceso.

Con el objetivo de profundizar en el estudio del comportamiento electroquímico de estos electrodos modificados se ha realizado un estudio de velocidades de barrido de CV empleando estos electrodos modificados (figura 103).

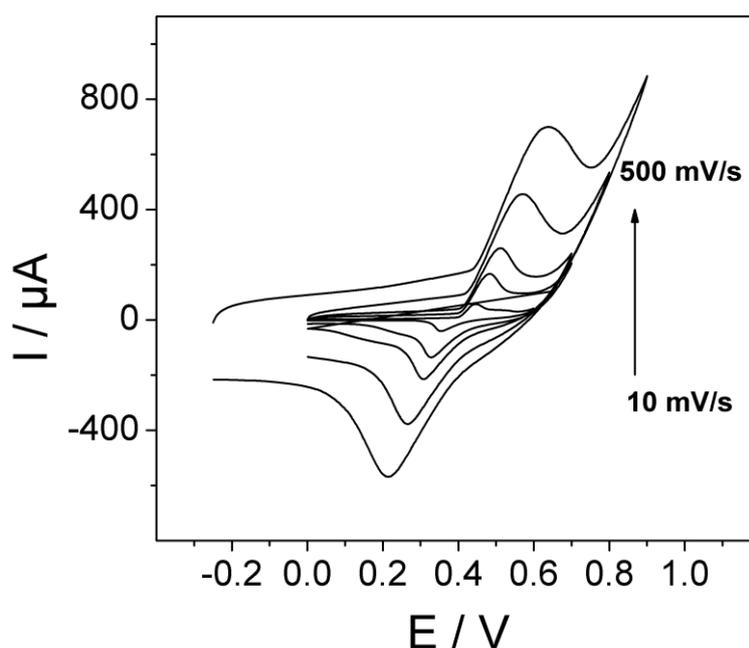


Figura 103- Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ en NaOH 0.1 M a velocidades de barrido crecientes.

A partir de estos voltamperogramas obtenidos de la figura 103, se representa el potencial de pico anódico y catódico frente al logaritmo en base decimal de la velocidad de barrido de potencial, figura 104. Aplicando el método de Laviron^[171] para el cálculo de la constante heterogénea de transferencia de carga (k_s) y el coeficiente de transferencia de carga (α), se obtuvieron los valores de $k_s = 22.9 \text{ s}^{-1}$ y $\alpha = 0.49$. Estos valores indican por un lado que existe una buena transferencia de electrones entre el material electródico y el mediador en este caso nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$, y por otro lado indican la totalidad reversibilidad del proceso ya que tanto la oxidación como la reducción se encuentran igualmente favorecidos. También se ha estudiado la relación de la intensidad de corriente de pico anódico y catódico con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (figura 105), obteniéndose una relación lineal a velocidades entre 2-75 mV/s, lo cual indica que existe una componente difusional del proceso, debida a la participación OH^- en el mecanismo de oxidación-reducción del mediador de los iones OH^- que se encuentran libres en disolución, y difunden hasta la superficie del electrodo para dar lugar al proceso.

Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)_2 sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

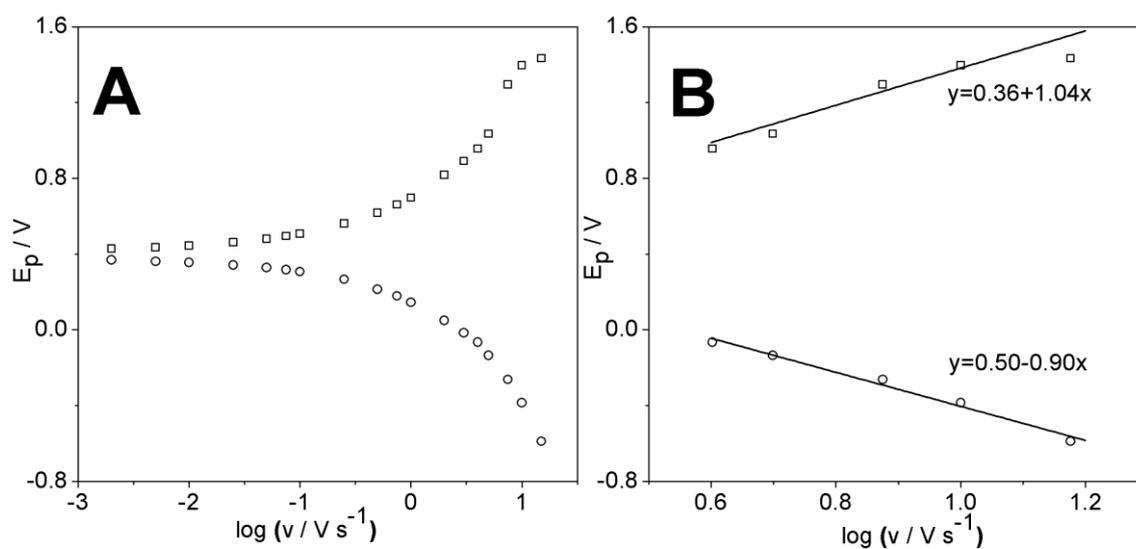


Figura 104-(A) Potencial de pico anódico (\square) y catódico (\circ) frente al logaritmo en base decimal de la velocidad de barrido de potencial. (B) Rectas y ajustes obtenidos.

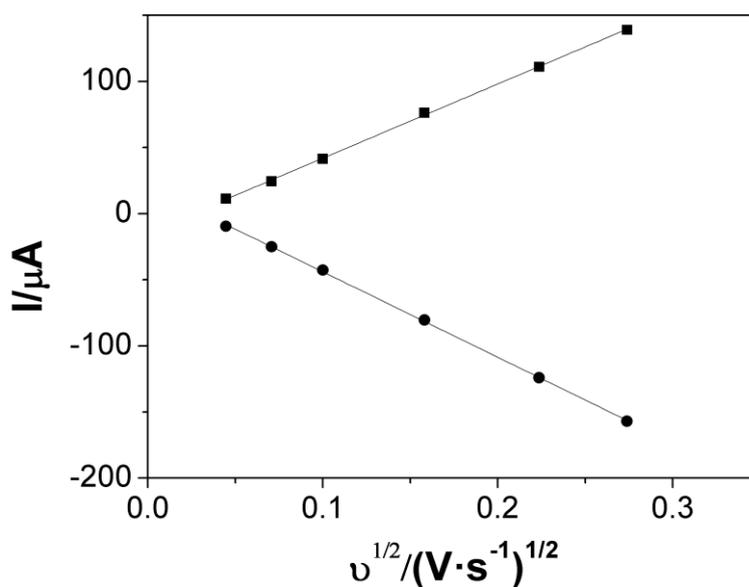


Figura 105- Representación de la intensidad de corriente de pico anódico (\blacksquare) y catódico (\bullet) frente a $v^{1/2}$.

3. Electrooxidación catalítica de insulina en electrodos Ni(OH)_2 /Nafion-MWCNTs/GC.

La insulina es una importante hormona polipeptídica segregada por el páncreas, cuya función es regular el nivel de glucosa en sangre en un intervalo limitado de concentraciones^[285, 286]. La insulina está formada por dos cadenas polipeptídicas unidas entre sí mediante 3 puentes disulfuros. En la figura 106 se puede apreciar su estructura consistente en una cadena de 21 aminoácidos (cadena A) y otra de 30 aminoácidos (cadena B). La diabetes es una enfermedad causada por la segregación insuficiente de insulina o bien la pérdida de actividad de la insulina producida por los individuos. Ello se traduce en perturbaciones en el metabolismo de glucosa y lípidos. El tratamiento fundamental para los enfermos de diabetes tipo I consiste en la administración de insulina al paciente. La insulina se lleva administrando unos 75 años. En un principio se inyectaba a los pacientes insulina de cerdo, la cual es muy similar a la humana. Sin embargo, en los últimos 20 años se han alcanzado importantes logros que han permitido la biosíntesis de insulina humana, gracias a bacterias del tipo *Escherichia coli*, a las que se les introducen las secuencias de ADN necesarias para la síntesis de la proteína (Insulina Humana). Además, en los últimos años se están comenzando a usar análogos a la insulina, los denominados de acción rápida como la insulina Aspart (en la que se ha sustituido la prolina B28 por ácido aspártico) y otros de acción prolongada como Insulina Glargina (en la que se sustituye la glicina A21 por asparagina y se añaden 2 argininas al grupo carboxilo terminal de la cadena B).

El análisis y la determinación de insulina es por tanto de vital importancia en el ámbito clínico para el diagnóstico de los diferentes tipos de diabetes y el insulinoma (tumor de páncreas)^[287]. También es importante en los controles de calidad farmacológicos a los que se someten los distintos preparados de insulina suministrados a los diabéticos.

Human Insulin

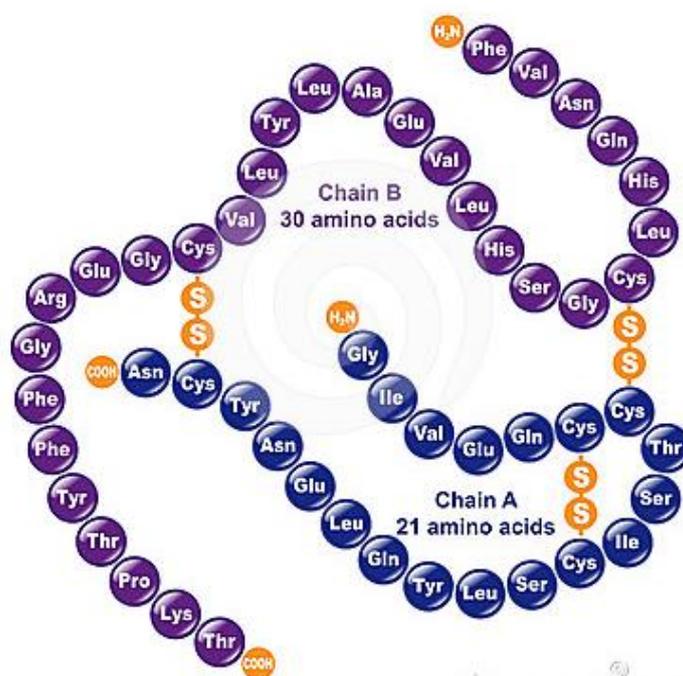


Figura 106-Representación de las cadenas de aminoácidos que forman la Insulina.

Se han descrito muchos métodos analíticos para el análisis cuantitativo de insulina entre los que podemos destacar radioinmunoensayos^[288, 289], transferencia de energía entre fluoróforos (FRET)^[290], espectrometría de masas MALDI-TOF^[291], electroforesis capilar^[292], cromatografía de líquidos de alta resolución^[293], etc. La mayoría de estos métodos son caros, requieren mucho tiempo de análisis y son poco prácticos. De hecho, no hay ningún método de referencia comúnmente aceptado por toda la comunidad científica. Por ello se está tratando de establecer uno de ellos.

El uso de métodos electroquímicos, en particular de sensores electroquímicos, ofrece algunas ventajas respecto al resto de metodologías, como pueden ser una alta sensibilidad, respuesta rápida, bajo coste, miniaturización de sistemas así como la posibilidad de diseñar dispositivos portátiles fáciles de usar por usuarios no especializados que permiten la monitorización en tiempo real de los niveles de insulina, lo cual es una mejora importante en el campo del diagnóstico de la prediabetes.

El desarrollo de sensores electroquímicos como herramienta analítica para la determinación de insulina se basa fundamentalmente en la preparación de electrodos

modificados, ya que la electrooxidación directa de insulina sobre la superficie de electrodos convencionales está limitada por la baja sensibilidad, escasa reproducibilidad, falta de selectividad y la mala estabilidad de la señal. Todo ello es debido en gran medida al elevado sobrepotencial al que ocurre el proceso de electrooxidación de insulina, además de que presenta una cinética de reacción lenta y a que los subproductos de la reacción por lo general acaban envenenando el electrodo^[282]. Para evitar estos inconvenientes se han empleado con éxito electrodos modificados en la determinación de insulina. Entre los más destacados cabe mencionar los fabricados con películas de óxido de rutenio^[294], nanopartículas de óxido de cobalto^[295], nanopartículas de sílice^[277], óxido de iridio^[296], y nanopartículas de óxido de níquel^[278].

Las nuevas tendencias en el desarrollo de sensores electroquímicos de insulina combinan mediadores redox orgánicos o inorgánicos con materiales nanoestructurados, concretamente con diferentes nanomateriales de carbono como puede ser láminas de grafeno o nanotubos de carbono^[278, 283, 284]. La gran ventaja de emplear nanomateriales de carbono, concretamente nanotubos de carbono, es que evitan en gran medida el envenenamiento de la superficie sensora por los productos de la reacción de electrooxidación^[297], este es uno de los principales problemas que afectan a los sensores electroquímicos basados en la oxidación de grupos que contienen azufre^[297].

Todas estas características de los nuevos sensores de insulina que se están desarrollando en la actualidad nos ha llevado a probar la electrooxidación catalítica de este compuesto en electrodos modificados Ni(OH)₂/Nafion-MWCNTs/GC. La figura 107B muestra la respuesta del electrodo modificado en ausencia y presencia de insulina. En el voltamperograma en ausencia de insulina se ven claramente los procesos de oxidación reducción adscritos a la transformación de Ni(OH)₂ a NiOOH. Al adicionar insulina se comprueba como la intensidad del pico anódico aumenta, mientras que la del pico catódico disminuye, presentando el típico comportamiento de un proceso electrocatalítico. Este hecho indica la participación directa de las nanopartículas Ni(OH)₂ en la oxidación de insulina. Al reaccionar la especie oxidada NiOOH con la insulina presente en el medio se regenera la especie Ni(OH)₂, la cual por efecto del potencial

vuelve a oxidarse provocando el aumento de la intensidad de corriente anódica. Al mismo tiempo al consumirse la especie oxidada (NiOOH) la intensidad de corriente del proceso de reducción en el barrido de vuelta en el que se transforma NiOOH a Ni(OH)_2 decae. Se puede observar también el desplazamiento del pico de oxidación a potenciales más positivos en presencia de insulina, indicando la existencia de un impedimento cinético del proceso de electrooxidación. En el caso del electrodo sin nanopartículas Nafion-MWCNTs/GC (figura 107A) se puede ver como la presencia de insulina no produce la aparición de picos significativos en el voltamperograma, por lo que la oxidación de la insulina no ocurre a los potenciales barridos.

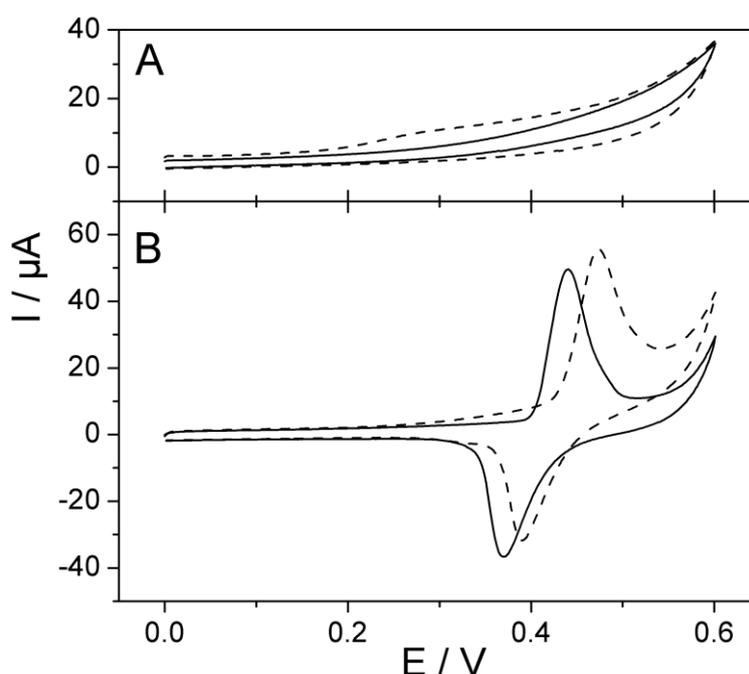


Figura 107-(A) Voltamperograma cíclico de un electrodo Nafion-MWCNTs/GC en ausencia (línea continua) y presencia de 0.5 mM de insulina (línea discontinua) en NaOH 0.1 M. (B) Voltamperograma cíclico de un electrodo Ni(OH)_2 /Nafion-MWCNTs/GC en ausencia (línea continua) y presencia de insulina 0.5 mM (línea discontinua) en NaOH 0.1 M. Velocidad de barrido 10 mV/s.

Es importante destacar que en el electrodo desarrollado el aumento de intensidad durante la oxidación de la insulina se produce sobre el mismo pico de potencial del proceso de oxidación Ni(OH)_2 a NiOOH y no aparece como un segundo pico tras la oxidación del mediador como sucede en otros electrodos similares desarrollados^[278].

Ello indica una mejora en la rapidez y efectividad del proceso de transferencia electrónica entre el mediador Ni(OH)_2 y el sustrato insulina.

Para comprobar el efecto de los nanotubos sobre la electrooxidación catalítica de insulina, se realizó un ensayo mediante voltamperometría cíclica consistente en comparar la respuesta del electrodo modificado con nanotubos ($\text{Ni(OH)}_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$, figura 108B) y sin nanotubos ($\text{Ni(OH)}_2/\text{GC}$, figura 108A) ante la adición sucesiva de cantidades crecientes de insulina. Se puede comprobar cómo para el caso del electrodo que contiene nanotubos la adición de cantidades sucesivas de insulina se traduce en el aumento de intensidad del pico anódico, comportándose del modo esperado. Por el contrario, en el electrodo que no contenía nanotubos de carbono se comprueba cómo pese al aumento en la primera adición de la intensidad anódica esta disminuye tras la segunda adición. Además, se puede observar como el potencial se va desplazando cada vez a valores más positivos. Ambos hechos pueden ser explicados debido al envenenamiento del electrocatalizador por los productos derivados de la reacción electrocatalizada. Por tanto, es evidente el papel de los nanotubos de carbono en la mejora de la respuesta catalítica, evitando el envenenamiento del electrocatalizador, y también aumentando la cantidad de este sobre la superficie del electrodo.

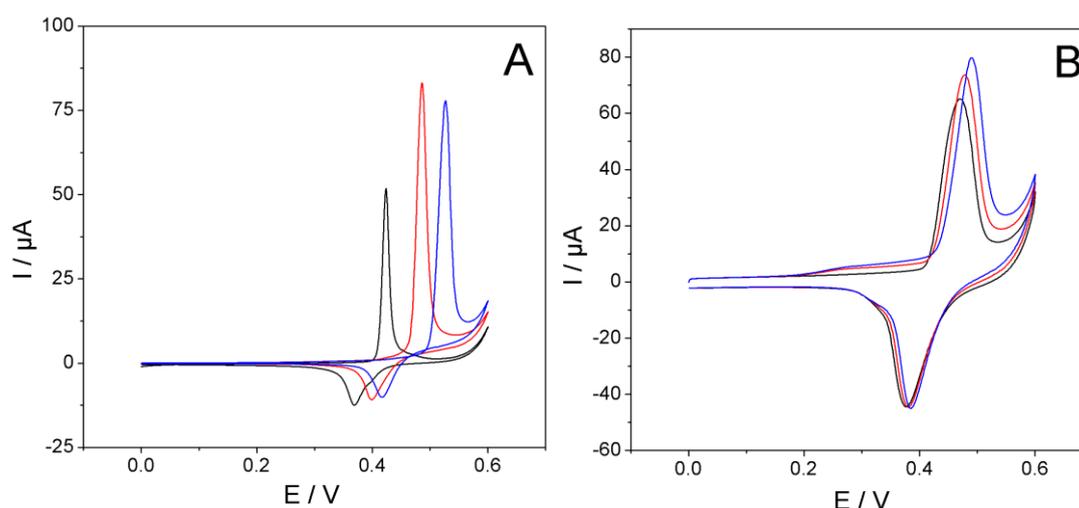


Figura 108-Voltamperogramas cíclicos de un electrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{GC}$ (A) y de un electrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ (B) en ausencia (negro) y presencia de insulina 0.25 mM (rojo) y 0.50 mM (azul) en NaOH 0.1 M a 10 mV/s.

Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

Con objeto de conseguir la mejor eficiencia catalítica (intensidad de corriente del pico anódico en presencia de insulina dividido por la intensidad de corriente del pico anódico en ausencia de insulina $i_{\text{CAT}}/i_{\text{med}}$) se optimizó la cantidad de electrocatalizador depositado en el electrodo. Para ello se optimizaron la concentración de material de partida en disolución $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ y el tiempo de electrodeposición durante el proceso de electrosíntesis de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$, que es el precursor de las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ responsables del proceso electrocatalítico (Figura 109). Para el estudio de la concentración de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ óptima se fijaron el tiempo de electrodeposición y el potencial aplicado en 150 s y 1.15V respectivamente y se estudiaron 3 concentraciones del material de partida, obteniéndose la mejor eficiencia catalítica cuando se utiliza una concentración de 0.1 mM. Fijado este valor se estudió el tiempo de electrodeposición óptimo (aplicando el mismo potencial) obteniéndose la mejor eficiencia catalítica para 150 s. Por tanto, se establecieron las condiciones para la modificación del electrodo en $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ 0.1 mM aplicando 1.15 V durante 150 s.

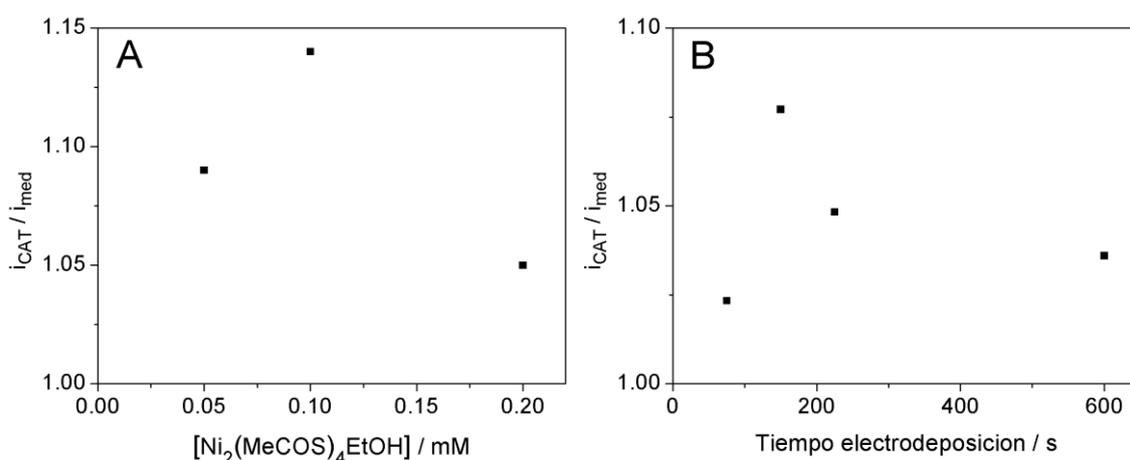


Figura 109- Eficiencia catalítica de electrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ en función de la concentración de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ usada en su modificación (A) y en función del tiempo de electrodeposición (B). Potencial aplicado 1.15 V.

Una vez optimizados los parámetros para la preparación del sensor se procedió a estudiar la influencia de la velocidad de barrido en el proceso electrocatalítico. En la figura 110A se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos en 0.5 mM de insulina en NaOH 0.1 M. Representando las intensidades de corriente de pico frente a la raíz

cuadrada de la velocidad de barrido (10-500 mV/s) (figura 110B) se obtiene una relación lineal entre ambos parámetros, lo cual indica que el proceso está controlado por la difusión de la insulina.

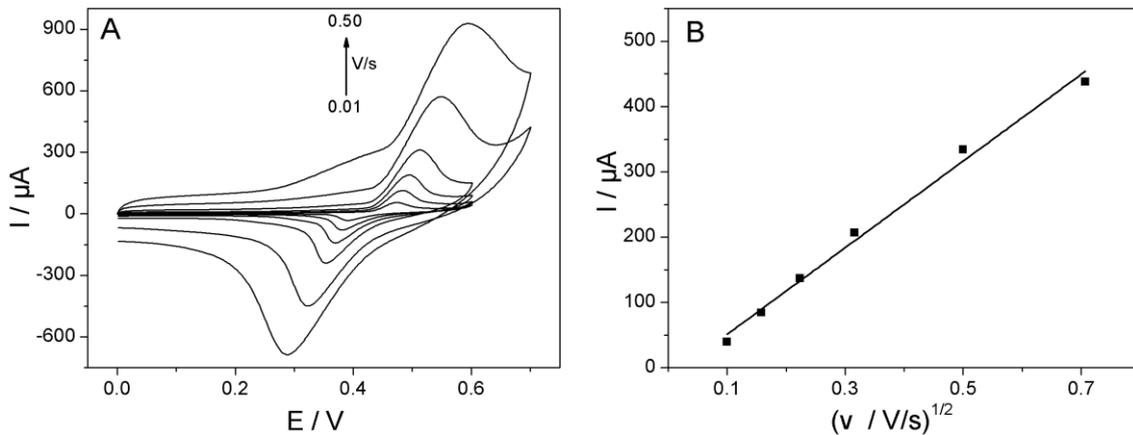


Figura 110-(A) Voltamperogramas cíclicos obtenidos con electrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ en una disolución 0.5 mM Insulina NaOH 0.1 M a distinta velocidad de barrido. (B) Intensidad de corriente de pico anódico frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial de los voltamperogramas registrados en A.

Se ha calculado la constante catalítica del proceso mediante cronoamperometría aplicando el método de Galus^[172] (Apartado 4.6 Materiales y Métodos). En la figura 111A se recogen las rectas obtenidas al representar la eficiencia catalítica ($I_{\text{cat}}/I_{\text{med}}$) frente a la raíz cuadrada del tiempo, a partir de las cronoamperometrías registradas aplicando 0.5 V sobre el electrodo modificado a diferentes concentraciones de insulina. En la figura 111B se representa el valor de las pendientes de las rectas de la figura 111A frente a la raíz cuadrada de la concentración de insulina. De la pendiente de la recta obtenida se calcula el valor de la constante catalítica que es igual a $1.12 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Este elevado valor confirma que la eficiencia catalítica de las nanopartículas de hidróxido de níquel es muy alta para la electrooxidación de insulina.

Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)_2 sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

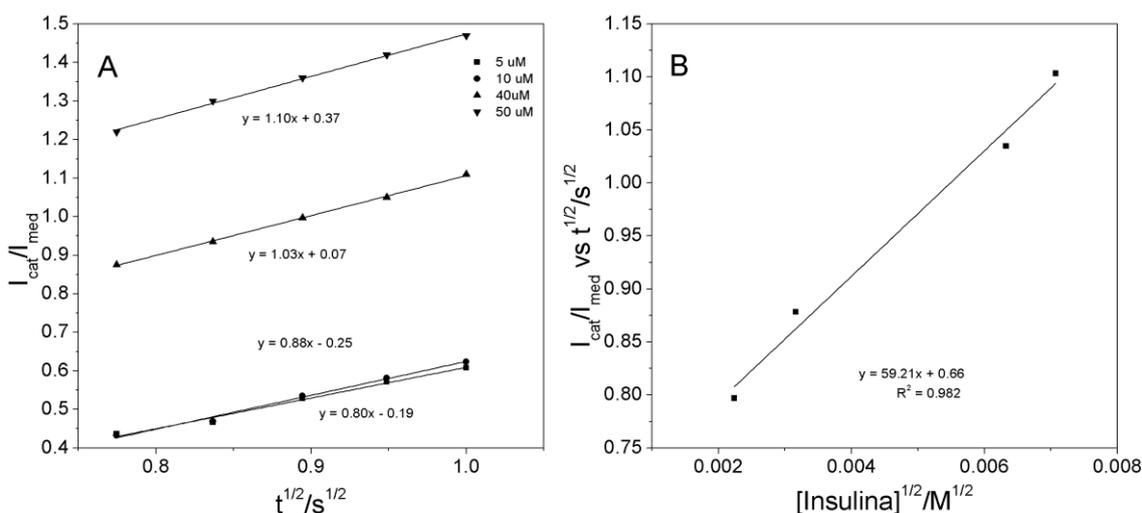


Figura 111-(A) Representación de la eficiencia catalítica del sensor de insulina en función de la raíz cuadrada del tiempo para diferentes concentraciones de insulina. (B) Representación de Galus de las pendientes obtenidas en la figura 111A frente a la raíz cuadrada de la concentración de insulina.

Para profundizar en el estudio electroquímico del proceso electrocatalítico de oxidación de insulina, este se ha caracterizado usando electrodos de disco rotatorio, y se ha estudiado el comportamiento electroquímico a distintas velocidades de rotación en disoluciones 50 μM de insulina en NaOH 0.1 M. Los voltamperogramas obtenidos se muestran en la figura 112. La forma de estos voltamperogramas no es la esperada para un proceso difusional ya que no se alcanza una meseta de corriente, sino que la corriente descende, pudiéndose apreciar un pico. Ello es debido a que el proceso tiene una limitación cinética. Sin embargo, se observa cómo al aumentar la velocidad de barrido, la corriente una vez se sobrepasa el pico aumenta, señal de que hay mayor difusión de insulina pese al impedimento cinético. Este comportamiento es típico de este tipo de sistemas electrocatalíticos de níquel en medio básico para la electrooxidación de azúcares según se recoge en la bibliografía^[298].

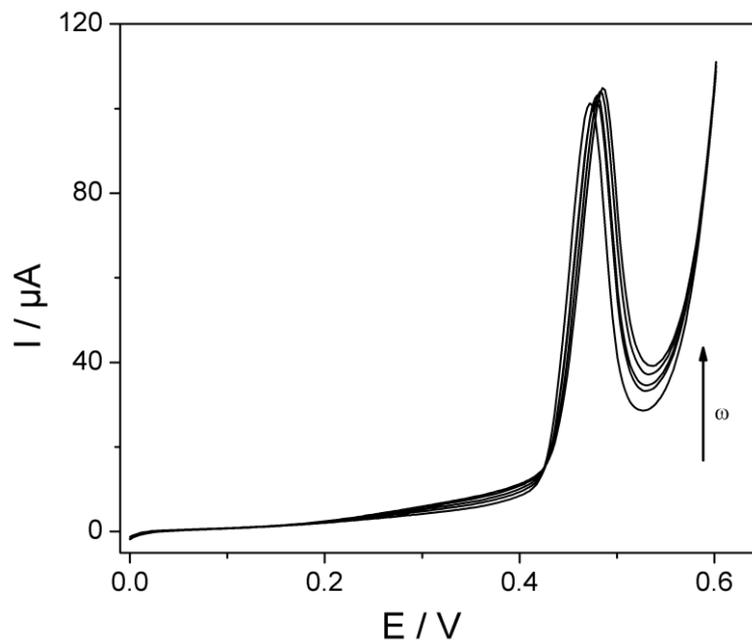


Figura 112- Voltamperogramas obtenidos con electrodo rotatorio (RDE) modificado $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ en 0.05 mM insulina $\text{NaOH } 0.1 \text{ M}$ a 5 mV/s a diferentes velocidades de rotación ($400\text{--}1800 \text{ RPM}$).

A partir de los valores obtenidos para la intensidad de corriente en la región difusional, y relacionándolos con la velocidad de rotación del electrodo mediante la ecuación de Koutecky-Levich^[168, 173, 174] (Apartado 4.7 Materiales y Métodos), se calcula el valor de la constante catalítica a partir del valor de la ordenada en el origen de esta ecuación. Se obtuvo un valor de $4.1 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$ considerando que el valor del coeficiente de difusión de la insulina en $\text{NaOH } 0.1 \text{ M}$ es igual a $4.20 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$, según datos de la bibliografía^[278].

4. Sensor electroquímico de insulina.

Con el objetivo de usar lo electrodo Ni(OH)₂/Nafion-MWCNTs/GC como sensor electroquímico de insulina se llevó a cabo el estudio por cronoamperometría en estático y en dinámico (mediante el uso de electrodos rotatorios RDE) de disoluciones con contenidos crecientes de insulina. Las cronoamperometrías en ambos casos se obtuvieron aplicando un potencial de +0.5 V.

En la figura 113A se muestran las cronoamperometrías en estático. La curva de calibrado obtenida al representar la intensidad de corriente medida en el segundo 50 frente a la concentración de insulina se muestra en la figura 113B. Cada uno de los valores de concentración se midió por triplicado, representándose el punto medio con la barra de error que muestra la desviación estándar de cada medida. A partir de esta recta se calcularon los parámetros analíticos, se calculó la sensibilidad del método con respecto al recubrimiento electrodico de Ni(OH)₂, obteniéndose un valor de $338 \pm 12 \mu\text{A}/\text{mol}\cdot\text{cm}^2$. Se calcularon los límites de detección y cuantificación del sensor a partir del valor medio de 10 réplicas del blanco más 3 y 10 veces la desviación estándar del mismo respectivamente. Se obtuvieron los valores 0.44 y 1.5 μM respectivamente. Además, se evaluó la reproducibilidad del método para 3 electrodos distintos frente a una concentración de 20 μM obteniéndose un valor medio de $19.2 \pm 0.52 \mu\text{M}$ (D.E.R 2.7%).

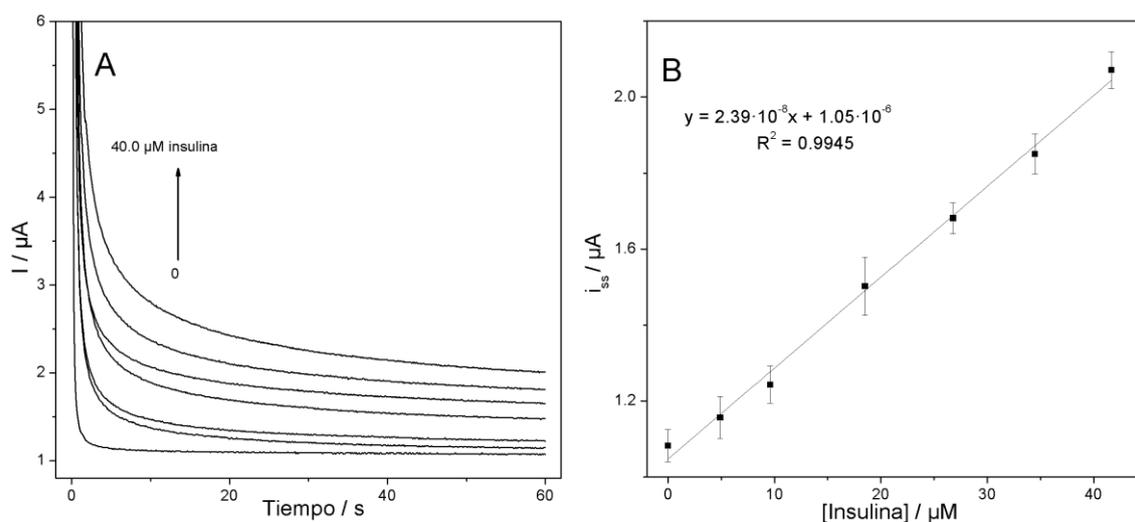


Figura 113- (A) Cronoamperometrías en estático obtenidas con un electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ aplicando 0.5 V en disoluciones de insulina de concentración creciente (0-40 μM) en NaOH 0.1 M. (B) Curva de calibrado obtenida a partir del valor de la intensidad en el estado estacionario (i_{ss}) frente a la correspondiente concentración de insulina.

La estabilidad del sensor se evaluó midiendo su respuesta a insulina durante toda una jornada de trabajo, obteniéndose diferentes rectas de calibrado y realizando varias determinaciones. Tras un primer descenso de un 10% en la intensidad de corriente entre 2 medidas de una misma concentración de insulina consecutivas (la primera vez que se usa el sensor se produce esta pérdida de señal) en el resto de las determinaciones se mantuvo la señal medida constante. Se ensayó la determinación de insulina (40 μM) 3 veces consecutivas con un sensor previamente usado, y se comprobó que la señal se mantenía constante, y las pérdidas de señal que se registraron en los distintos electrodos probados fueron siempre menor al 10%. Este comportamiento indica la ausencia de envenenamiento del electrocatalizador ($\text{Ni}(\text{OH})_2$) con los productos derivados de la electrooxidación de la insulina. Además, dado que el electrocatalizador es una especie inorgánica estable ($\text{Ni}(\text{OH})_2$) los electrodos se conservan muy bien a temperatura ambiente sin pérdidas de señal. Se probó a almacenar electrodos durante un periodo de 60 días y se comprobó como la señal del mediador descendió menos de un 6% tras este periodo de tiempo. Sin embargo, dado la facilidad con la que se preparan

los electrodos, todos los estudios realizados se hicieron con electrodos modificados el mismo día de la medida.

Con el objetivo de mejorar los límites de detección y cuantificación así como la sensibilidad del sensor, se realizó la determinación de insulina mediante cronoamperometrías con electrodo rotatorio, de este modo se trata de conseguir mayor difusión de la especie a la superficie del electrodo y obtener señales más intensas a menores concentraciones de insulina. En la figura 114A se muestra un ejemplo de cronoamperometría en dinámico con adiciones sucesivas de insulina, la curva de calibrado obtenida para varias cronoamperometrías se muestra en la figura 114B, se muestran los valores medios de 3 determinaciones para cada una de las concentraciones, junto con la barra de error que muestra la desviación estándar de la medida.

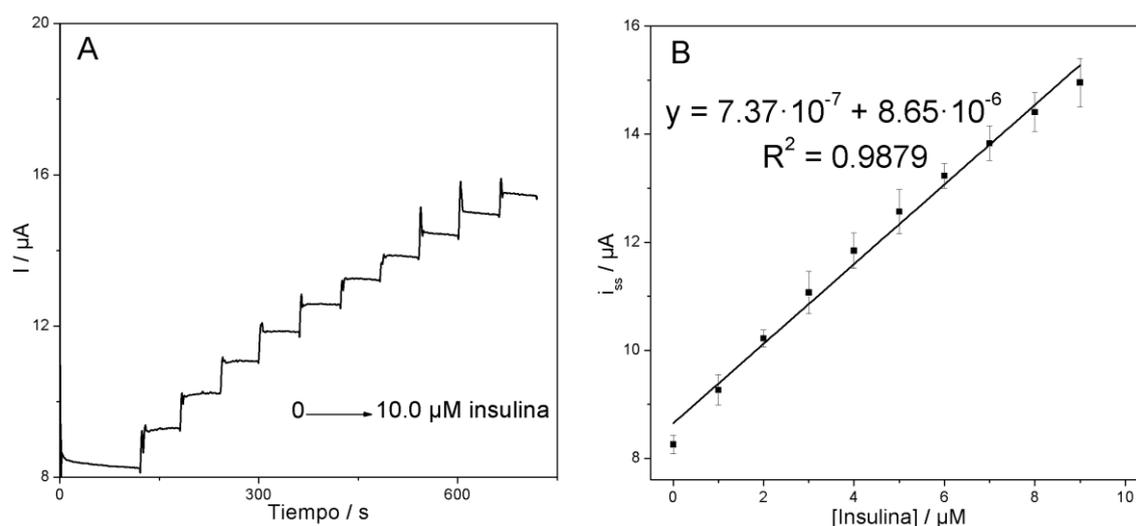


Figura 114-(A) Cronoamperometría dinámica obtenida con un RDE modificado $\text{Ni(OH)}_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ aplicando 0.5 V en una disolución $\text{NaOH} 0.1 \text{ M}$ con adiciones sucesivas de insulina (Adiciones de insulina $1 \mu\text{M}$ en volumen total de celda). (B) Curva de calibrado obtenida a partir del valor de intensidad de corriente de cada uno de los saltos observados en μA frente a la concentración de insulina correspondiente.

De esta forma, se obtuvo una sensibilidad de $(100 \pm 3) \cdot 10^2 \mu\text{A} / \text{mM cm}^2$. Los límites de detección y cuantificación fueron de 85 y 490 nM , respectivamente. Estos límites son

comparables con los alcanzados con otros sensores de insulina^[283, 290, 299]. La reproducibilidad fue evaluada midiendo concentración de insulina de $1.50 \mu\text{M}$ con 3 sensores distintos, obteniéndose un valor medio $1.497 \mu\text{M}$ y una desviación estándar de $0.065 \mu\text{M}$ (D.E.R. 4.3%).

4.1. Estudio de interferentes.

Se ha estudiado la respuesta del sensor desarrollado para insulina frente a determinadas moléculas potencialmente interferentes habituales y presentes tanto en muestras biológicas como en preparados farmacéuticos que contengan insulina. Se ha obtenido la respuesta del sensor en presencia de estos posibles interferentes y se ha comparado con la respuesta en ausencia de los mismos. Se han ensayado concentraciones bajas de los interferentes y concentraciones equimolares. A modo de ejemplo, en la figura 115 se muestra una de las cronoamperometrías registradas ante la adición de distintos interferentes en concentraciones $0.8 \mu\text{M}$ y $8 \mu\text{M}$ de insulina.

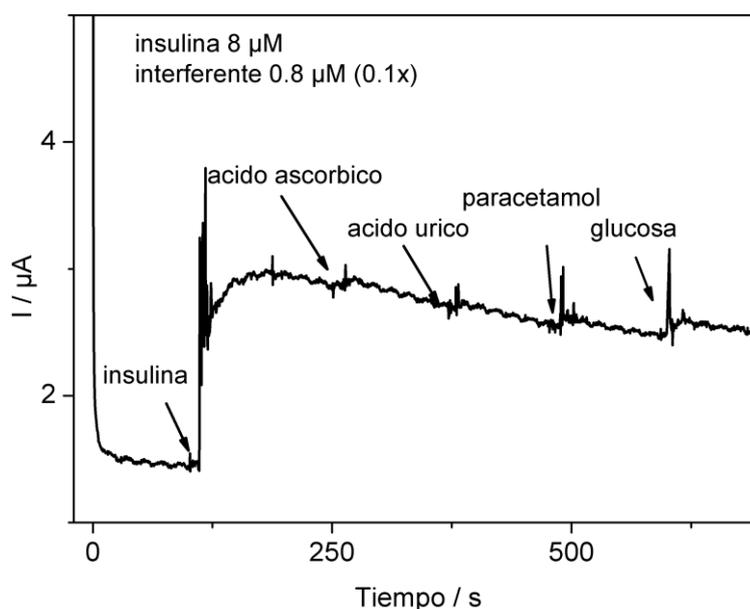


Figura 115- Cronoamperometría dinámica con electrodo RDE $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ a 0.5 V para $8 \mu\text{M}$ de insulina y $0.8 \mu\text{M}$ de cada interferente (ácido ascórbico, ácido úrico, paracetamol, glucosa).

La respuesta del sensor ante la presencia de concentraciones bajas de interferente no se ve apenas afectada, salvo en el caso de la glucosa. En la tabla XIII se recoge el tanto

por ciento de aumento de la señal tras la adición de cada uno de los interferentes estudiados. Se ensayó también la respuesta del sensor en concentraciones equimolares de insulina y cada uno de los interferentes, en este caso la señal se altera considerablemente tras la adición de la mayoría de interferentes. En el caso de la glucosa (como era de esperar) la respuesta del sensor es más intensa que para la misma concentración de insulina (figura 116). Como se comentó en el capítulo anterior, las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ son un buen catalizador de azúcares, entre ellos glucosa, por lo que parece razonable que en este caso también se obtenga buena respuesta. En la tabla XIII se muestra también el porcentaje de aumento de la señal para cada uno de los interferentes ensayados en proporción equimolar a la insulina.

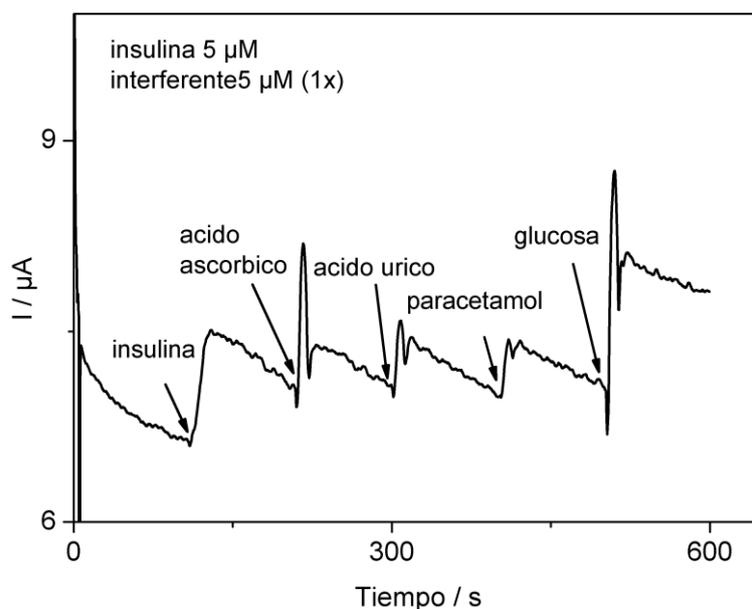


Figura 116- Cronoamperometría dinámica con electrodo RDE $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{Nafion-MWCNTs}/\text{GC}$ a 0.5 V para 5 μM de Insulina y 5 μM de cada interferente (ácido ascórbico, ácido úrico, paracetamol, glucosa).

Tabla XIII- Respuesta relativa del sensor en presencia de interferentes en diferentes relaciones molares respecto a la insulina.

Compuesto	Respuesta relativa (%)	
	[insulina]:[interferente]	
	1:1	1:0.1
Ácido Ascórbico	39	3
Ácido Úrico	45	0.7
Paracetamol	50	4
D-Glucosa	119	7

El Nafion es un polímero fluorado con grupos sulfonatos cuya propiedad característica es que suele estar cargado negativamente. Este polímero se usa habitualmente para fijar materiales sobre superficies electródicas y también para eliminar interferentes con carga negativa, ya que al estar cargado negativamente los repele por repulsión electrostática. En el presente trabajo además de evitar interferentes, como el ácido ascórbico y el ácido úrico en medio básico, se ha usado para obtener una dispersión homogénea de los nanotubos de carbono carboxilados MWCNT-COOH. Generalmente en estos casos el polímero rodea los nanotubos y mejora su dispersión, evitando que se formen grandes agregados de los mismos. De este modo, se consiguió una buena dispersión y cubrir toda la superficie del electrodo de manera homogénea, y sin huecos. Esto evitaba que las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ crecieran directamente sobre la superficie del electrodo, y se produjese el envenenamiento del electrocatalizador, con la consiguiente pérdida de señal en las adiciones sucesivas de insulina.

4.2. Aplicación a muestras reales. Determinación de insulina en preparados farmacéuticos y en plasma humano.

Se han analizado dos tipos de muestras distintas que contienen insulina, como es el plasma humano, y dos preparados farmacéuticos comerciales de uso cotidiano por los enfermos de algunos tipos de diabetes.

En primer lugar se probó en un plasma humano. En el plasma existe una concentración elevada de glucosa, que como se ha demostrado es un interferente para la determinación de insulina. Por ello se requirió de un tratamiento previo de la muestra. Este tratamiento consistió en la centrifugación de las muestras con un filtro Amicon® Ultra 3K. Este filtro tiene el tamaño de poro adecuado para que pasen las moléculas pequeñas como glucosa, así como otras moléculas pequeñas que contengan grupos hidroxilos, aminos o tioles. Por el contrario el filtro impide el paso de proteínas o cualquier componente con un peso molecular superior a 3000 Da. Por tanto la insulina va a quedar retenida en el filtro. Las condiciones empleadas fueron: filtrar las muestras con centrifugación durante 2 horas a 7000 RPM. A continuación se resuspendió el contenido retenido en el filtro en NaOH 0.1 M, y se introdujo en la celda de medida. Se usó un plasma humano comercial, el cual según las especificaciones, no contenía insulina. Por ello se añadieron cantidades conocidas de insulina (bovina) a la muestra de plasma y se sometió al tratamiento mencionado. En la figura 117 se puede observar la respuesta del sensor a la adición sucesiva de patrón de insulina para analizar el contenido de la muestra por el método de adición estándar.

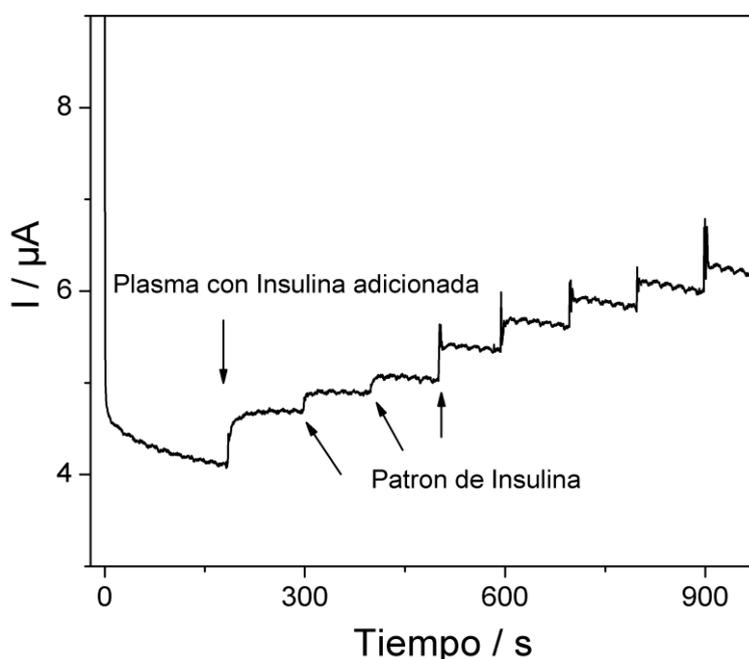


Figura 117- Respuesta del sensor a adiciones sucesivas de $0.5 \mu M$ de insulina en plasma aplicando $0.5 V$.

Como se puede observar en la tabla XIV la recuperación es del 80%, un buen porcentaje teniendo en cuenta la complejidad de la muestra.

También se llevó a cabo la determinación de insulina en dos preparados farmacéuticos. Se analizaron los preparados de la marca NovoRapid® y Lantus®. Habitualmente estos preparados contienen glicerol, con el objeto de solubilizar y mantener estables las proteínas. El glicerol contiene 3 grupos hidroxilos, los cuales pueden ser electro-oxidados por las nanopartículas de Ni(OH)₂, y por ello, al igual que se procedió con el plasma para eliminar la glucosa, se pretrató la muestra con la misma metodología. Una vez recogido el contenido del filtro en NaOH 0.1 M, se adicionó a la celda un volumen determinado de esta disolución. En la figura 118 se muestra la respuesta del sensor a adiciones sucesivas de 0.5 µM de patrón de insulina, con el objetivo de obtener la concentración de insulina que contiene el preparado por el método de adición estándar. En la tabla XIV se recogen las recuperaciones obtenidas para cada preparado farmacéutico analizado, teniendo en cuenta el valor de la concentración de insulina indicada por el fabricante. Se obtienen recuperaciones próximas al 100 %, lo cual nos indica la perfecta aplicabilidad de este método para el análisis de este tipo de muestras. Se trataría de un método de análisis simple, rápido y económico, muy fácil de implantar en cualquier industria farmacéutica que elabore estos preparados, obteniéndose resultados fiables y reproducibles.

Tabla XIV- Resultados de muestras reales analizadas.

Muestra	Cantidad adicionada (µM)	Recuperación % ± D.E*
Preparado farmacéutico de insulina:		
NovoRapid®	0	97.2±0.6
Lantus®	0	98.4±0.3
Plasma humano	1.8	80±6

*D.E: Desviación estándar de 3 determinaciones

Resultados y discusión.

Capítulo III: Electrodeposición de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre nanotubos de carbono. Aplicación a la preparación de un sensor de insulina.

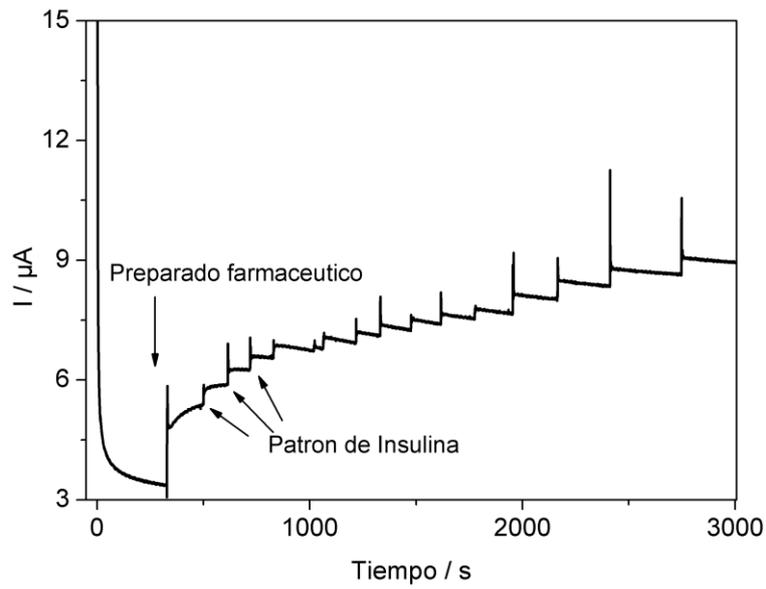
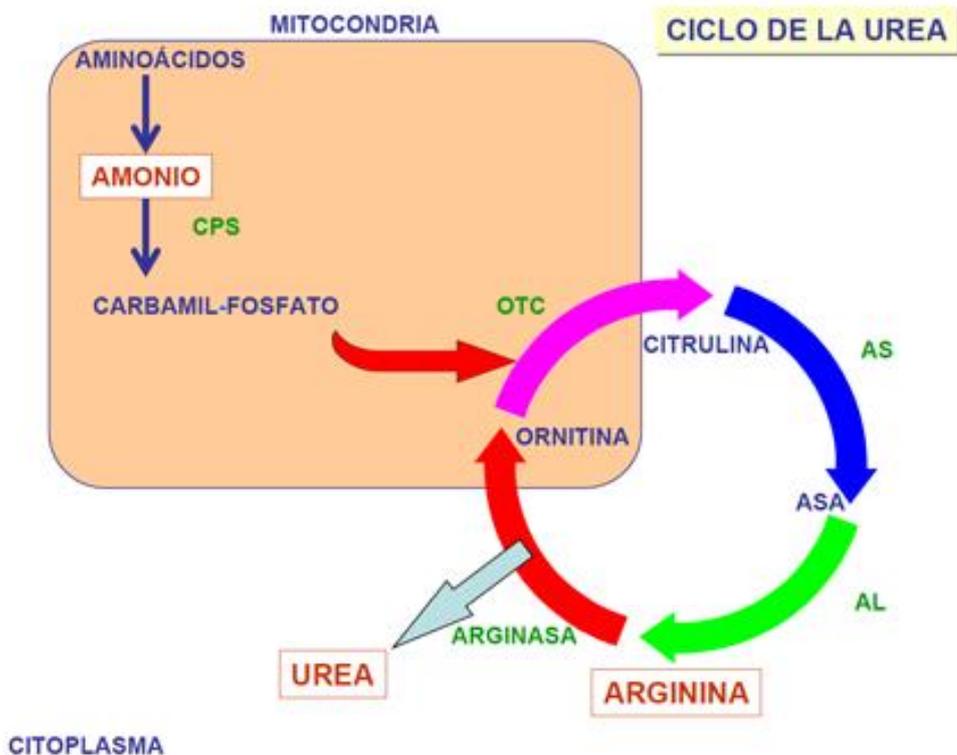


Figura 118- Respuesta del sensor en una disolución NaOH 0.1 M con adición de preparado farmacéutico de insulina y de adiciones sucesivas de 0.5 µM de insulina aplicando 0.5 V.

Capítulo IV: Electrodo modificado con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.



Resultados y discusión.

Capítulo IV: Electrodo modificado con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.

En capítulos anteriores se han demostrado las propiedades electrocatalíticas de los electrodos modificados con Ni(OH)₂, ya que son capaces de electrooxidar fácilmente pequeñas moléculas orgánicas^[220] con grupos funcionales hidroxilo^[221, 225, 227, 228, 231, 243, 244], tiol^[300] y grupos amino^[301]. Entre estos últimos se pueden destacar las posibles aplicaciones analíticas derivadas de la electrooxidación de los grupos amino de los aminoácidos^[302, 303]. Dado que la respuesta electroquímica no va a ser lo suficientemente selectiva, cabe la posibilidad de utilizar los electrodos modificados con Ni(OH)₂ desarrollados en el capítulo II como detectores electroquímicos en sistemas de cromatografía líquida que permitan la separación de analitos en muestras complejas. Con el fin de desarrollar una metodología más fácil y accesible, se han utilizado electrodos serigrafiados comerciales, ya que estos electrodos se comercializan a un coste inferior, siendo desechables y bastante más cómodos y prácticos en su uso. Para ello se optimizó el proceso de modificación electroquímica debido principalmente a que los electrodos serigrafiados de carbono son inestables en el disolvente empleado (Cloroformo) en la electrosíntesis del complejo [Ni₂(MeCO₂)₄]. En este caso la modificación electroquímica se realizó a partir de una disolución del complejo [Ni₂(MeCO₂)₄] en acetonitrilo (CH₃CN). Obtenida por electrooxidación del precursor [Ni₂(MeCOS)₄] sobre un hilo de Au (apartado 3.2.3 Materiales y Métodos). Volúmenes apropiados de esta disolución se depositaron sobre la superficie del electrodo de trabajo serigrafiado (apartado 3.2.6 de Materiales y Métodos), y se activó en NaOH 0.1 M transformándose el complejo tipo paddle-wheel de níquel en nanopartículas de Ni(OH)₂, responsables del proceso electrocatalítico.

En muestras complejas como el caso de muestras biológicas para la determinación de aminoácidos, se requiere de procesos previos de separación del analito. La cromatografía es una técnica de separación muy utilizada con una gran variedad de muestras complejas, en particular la cromatografía de líquidos de alta resolución o sus siglas en inglés HPLC. Esta técnica está ampliamente desarrollada y hay una gran variedad de estrategias a seguir, así como columnas de separación en función de los analitos a analizar. Los detectores más utilizados son los de UV-Vis, sin embargo los electroquímicos pueden ser muy útiles para muchos casos. En el caso de la

determinación de aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea también hay varias opciones apropiadas en función del tipo de detector que se use^[304-306]. Una de ellas es la utilización de columnas de intercambio aniónico que también se han empleado para la separación de azúcares^[307-310]. Presentan la ventaja de que pueden operar con medios básicos como eluyentes, lo cual es una ventaja al combinarla con un detector electroquímico basado en electrodos modificados con Ni(OH)₂. Esta misma metodología se ha empleado para el análisis de aminoácidos de medios de cultivos celulares^[311]. Estas columnas están basadas en el principio de la cromatografía de intercambio iónico, gracias al cual se van separando los distintos analitos en función de su carga. En medio básico (pH 12-13), los aminoácidos en la mayoría de los casos están cargados negativamente, debido a la desprotonación del grupo carboxilo. Sin embargo, el grupo amino va a permanecer neutro al estar desprotonado en ese intervalo de pH. La carga total de los aminoácidos va a depender entonces del tipo de sustituyentes, así como su mayor o menor retención en las columnas.

En el presente trabajo de tesis, utilizando estas columnas en un sistema de HPLC y usando los electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores se abordó la puesta a punto de un método para la determinación de 3 de los aminoácidos involucrados en el ciclo de la urea (arginina, ornitina y citrulina).

En el capítulo III, se demostró la ventaja que la utilización de nanotubos de carbono suponía en la determinación de insulina en los electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH)₂. Por esta razón, en este caso se utilizaron electrodos serigrafados modificados con nanotubos de carbono (SP SWCNT). Los nanomateriales de carbono suelen ofrecer beneficios en este tipo de procesos electrocatalíticos ya que aumentan la superficie específica del electrodo, evitan efectos negativos para el electrodo como el envenenamiento por los productos de reacción del proceso electroquímico, y mejoran la transferencia electrónica entre el mediador empleado y el electrodo^[297], especialmente en el caso de SWCNT^[277, 278, 281, 283, 312, 313]. Además, la combinación de nanomateriales de carbono y nanopartículas de óxidos e hidróxidos metálicos ha dado muy buen resultado. En particular los de níquel se han utilizado para la electrooxidación catalítica de aminoácidos^[314, 315].

El ciclo de la urea es el mecanismo metabólico que elimina el exceso de nitrógeno de origen endógeno y exógeno del organismo mediante la transformación del amoníaco (tóxico para el organismo) en urea^[316, 317]. En el ciclo (figura 119) se emplean 6 enzimas diferentes, tres de estas enzimas (N-Acetilglutamato sintetasa, carbamilo fosfato sintetasa y la ornitina transcarbamilasa) se encuentran en la membrana mitocondrial, las otras tres enzimas se encuentran en el citosol (arginosuccinato sintetasa, arginosuccinato liasa y la arginasa)^[318].

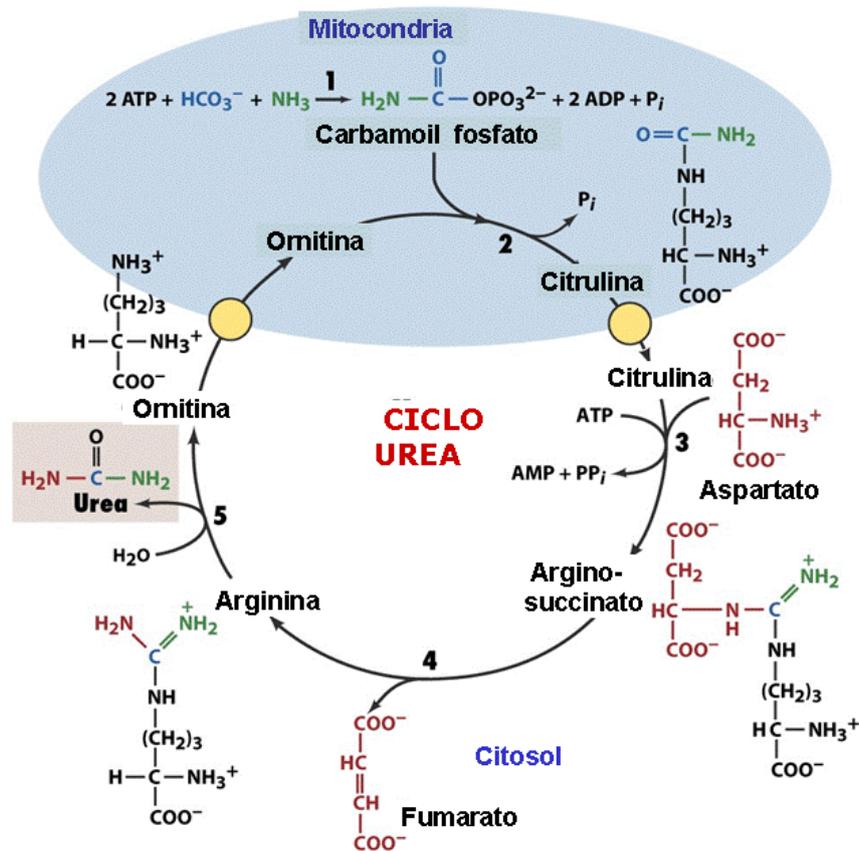


Figura 119- Ciclo de la Urea

Los desórdenes en el ciclo de la urea son debidos a fallos metabólicos producidos por la falta de actividad de alguna de las 4 primeras enzimas (carbamilo fosfato sintetasa, ornitina transcarbamilasa, arginosuccinato sintetasa, arginosuccinato liasa) o del cofactor producido (N-Acetilglutamato). Esto da lugar a la acumulación de amoníaco y otros metabolitos precursores durante los primeros días de vida, lo cual produce, en los niños afectados por esta enfermedad, desordenes muy graves que causan daños cerebrales severos^[319].

Entre las enfermedades asociadas con trastornos del ciclo de la urea se pueden mencionar las siguientes:

- Deficiencia de la enzima carbamilfosfato sintetasa: se trata del trastorno más severo de este tipo de patologías. Los pacientes neonatos a las pocas horas suelen sufrir importantes subidas de la concentración de amoniaco en sangre (hiperamonemia), con un alto riesgo de mortalidad, y en el caso de supervivencia suelen ser enfermos crónicos con alta probabilidad de sufrir crisis de hiperamonemia.
- Deficiencia de la ornitina transcarbamilasa: suele ser muy severa en hombres, dando lugar a importantes crisis de hiperamonemia, y el 15 % de las mujeres portadoras de la mutación que genera esta enfermedad presentan también episodios de hiperamonemia y necesitan de medicación crónica^[320]. Da lugar a la acumulación de ornitina (hiper-ornitinemia).
- Citrulinemia, existe de 2 tipos:
 - Tipo I: Afecta a recién nacidos que presentan una mutación genética en el gen que regula la síntesis de la enzima arginosuccinato sintetasa, por lo que la enzima no presenta la actividad necesaria.
 - Tipo II, aparece en adultos, y se debe a fallos de las proteínas de membranas encargadas de transportar la citrulina entre la pared de la mitocondria y el citosol celular^[321].
- Aciduria arginosuccínica: Es debido a una deficiencia de la enzima arginosuccinato liasa, la cual provoca la acumulación de amoniaco y ácido arginosuccínico. Por lo general, no es tan severa como las anteriores y los afectados suelen sobrevivir si se detecta en los primeros días de vida del neonato. Su tratamiento suele ser únicamente el aporte de arginina al organismo.
- Argininemia: Se produce por la deficiencia de la enzima arginasa, responsable del metabolismo de la arginina, lo cual provoca un aumento de su concentración en el plasma sanguíneo junto con la acumulación de amoniaco. Generalmente se controla con una alimentación baja en proteínas y medicación^[322, 323].

- Deficiencia de la N-Acetilglutamato sintetasa. Esta enzima deja de presentar actividad, produciendo la acumulación de amoniaco^[324].
- Síndrome hiperornitinemia, homocitrulinuria e hiperamonemia (HHH). En el síndrome de HHH el defecto del transportador de ornitina-citrulina a través de la membrana mitocondrial causa una acumulación de ornitina (hiperornitinemia) en el citosol celular, por lo que este aminoácido no puede entrar en la mitocondria y servir de sustrato a la enzima ornitina transcarbamilasa (OTC). Debido a ello se interrumpe el ciclo de la urea, causando una acumulación de amonio en la sangre y en el cerebro (hiperamonemia).

Este tipo de trastornos, se detectan por la aparición en sangre de cantidades anormalmente altas de amoniaco, superiores a 150 mM. Suele presentarse también una concentración alta de glucosa en el suero sanguíneo. Ambos hechos indican que hay un trastorno del ciclo de la urea, aunque no especifican qué parte o enzima del ciclo está fallando. Para determinar cuál es el paso que falla en el ciclo de la urea se realiza un análisis de aminoácidos en plasma sanguíneo. Por regla general, la concentración de arginina se reduce en todos los tipos de desórdenes del ciclo de la urea, a excepción de aquel en el que la cantidad o la actividad de la enzima arginasa son deficitarias. El intervalo normal de concentración de arginina en plasma de neonatos es (12-116 μM)^[325]. En este caso la concentración se eleva del orden de 5 a 7 veces la concentración habitual. Niveles anormales de citrulina también pueden indicar trastornos del ciclo. Se pueden considerar niveles normales de citrulina en plasma aquellos que rondan el intervalo de concentración de 1 a 45 μM^[326]. En caso de niveles altos el fallo se localiza en los procesos controlados por enzimas de las cuales es sustrato la citrulina como arginosuccinato sintetasa, arginosuccinato liasa y la arginasa. Por otro lado cuando los niveles de citrulina son deficitarios el defecto en el ciclo de la urea puede venir de los procesos que producen citrulina, que son aquellos controlados por las enzimas ornitina transcarbamilasa y carbamifosfato sintetasa^[327]. En el caso de fallo del transportador de membrana de la ornitina al interior de la mitocondria se produce la acumulación de ornitina, dando lugar a elevadas concentraciones de este aminoácido en plasma (en torno a 450 μM) y orina (hiper-ornitinemia)^[328].

Por tanto un análisis de aminoácidos en plasma puede determinar rápidamente las causas de la enfermedad por la que aparecen trastornos del ciclo de la urea.

Por regla general, a los recién nacidos se les efectúa un análisis de aminoácidos en sangre con objeto de descartar la presencia de este tipo de trastornos. Se ha demostrado que el diagnóstico rápido y eficaz de estas enfermedades, así como actuaciones rápidas en los bebés en los que se detectan, a nivel alimenticio y de medicación pueden ayudar a que sobrevivan un número alto de los afectados y a mejorar en gran medida la calidad de su vida posterior, dado que altas concentraciones de amoníaco durante los primeros días de vida pueden producir daños cerebrales irreparables^[329].

Para el análisis de aminoácidos en plasma el método más común es la cromatografía de líquidos de fase reversa acoplada a un sistema de ionización por electrospray y a dos analizadores de masas en tándem (RPLC-ESI-MS/MS)^[306]. Por lo que respecta a esta técnica en el ámbito analítico es difícil de competir con ella, debido a su gran selectividad (debido a la separación por cromatografía de líquidos, así como la separación posterior por el tándem de MS/MS) y sensibilidad con límites de detección en torno a 0.1 µM. La desventaja fundamental de dicha técnica de análisis es el elevado coste y la sofisticación de sus equipos. Esta característica hace que no sea accesible a todos los laboratorios de análisis y a países con escaso desarrollo. Es por ello que la búsqueda de alternativas con técnicas más sencillas y económicas puede abaratar los costes de los análisis y hacerlos accesibles a un mayor espectro de la población. Anteriormente al desarrollo de esta técnica, estaba ampliamente implantado el uso de analizadores automatizados, basados en la técnica de HPLC con detección UV-Vis. Sin embargo, también son equipamientos muy costosos y las casas comerciales han dejado de fabricarlos dado el escaso beneficio obtenido. Además, el coste por análisis es elevado^[330] y suele haber solapamiento en la detección de determinados aminoácidos. Por ello en la presente tesis se ha considerado de interés el desarrollo de un método alternativo para la resolución de este problema. En concreto se ha abordado el análisis de arginina, ornitina, citrulina y urea. Para ello, en primer lugar se han estudiado los procesos electrocatalíticos de cada una de las moléculas individualmente sobre electrodos serigrafados de SWCNT comerciales. Como

paso previo al acoplamiento del sistema electroquímico de detección con un sistema de separación HPLC se realizó el estudio en un sistema de análisis en flujo (FIA) para ver la respuesta del sistema ante los analito en estas condiciones dinámicas. Estos estudios nos han permitido separar mezclas preparadas y analizar muestras reales (suero sanguíneo y orina) de los 3 aminoácidos mencionados. Se han obtenido resultados muy satisfactorios para la separación de los distintos aminoácidos, alcanzando límites de cuantificación suficientes para determinar los niveles habituales en sangre y orina, lo cual hace posible la determinación de ciertos trastornos del ciclo de la urea de una manera efectiva y con una metodología más económica que la usada en la actualidad para el estudio de enfermedades metabólicas, lo que puede suponer un avance sobre todo para aquellos organismos, instituciones o sociedades con niveles presupuestarios bajos.

1. Modificación de electrodos serigrafiados con nanopartículas de Ni(OH)₂.

Con el objetivo de obtener superficies electródicas fácilmente modificables y manejables se utilizaron los electrodos serigrafiados de la casa comercial Drop-Sens.

1.1. Electrosíntesis de [Ni₂(MeCO₂)₄] y modificación de los electrodos.

Para la modificación de estos electrodos con [Ni₂(MeCO₂)₄] se intentó la electrosíntesis del compuesto a partir de disoluciones 0.1 mM de [Ni₂(MeCO₂)₄] en TBAP 0.1 M/CHCl₃. Sin embargo, el electrodo no es estable en estas condiciones. Para evitar el problema se preparó una disolución del compuesto electrosintetizado, en un disolvente que fuese compatible con el electrodo. Se siguió el procedimiento descrito en el apartado 3.2.4 de Materiales y Métodos para la obtención de una disolución de [Ni₂(MeCO₂)₄] en CH₃CN. Se tomaron 5 µL de esta disolución se depositaron sobre el electrodo de trabajo del electrodo serigrafiado y se dejó secar el sistema al aire. Para comprobar su estabilidad, se registraron voltamperogramas cíclicos periódicamente, observándose que la intensidad de los picos del par Ni(II)/Ni(III) de los electrodos modificados presentasen valores similares entre ellos. Además, para comprobar la robustez del método de electrosíntesis y preparación de la disolución [Ni₂(MeCO₂)₄]/CH₃CN, se repitió el mismo en 5 ocasiones, comprobándose que los valores de intensidad del par redox Ni(II)/Ni(III) se mantenían en valores muy similares entre los distintos electrodos fabricados con las diferentes disoluciones preparadas.

1.2. Activación de los electrodos en NaOH 0.1 M.

Previamente a ser utilizados para la electrocatálisis de aminoácidos y urea los electrodos serigrafiados modificados con [Ni₂(MeCO₂)₄] se sometieron a un proceso de activación en NaOH 0.1 M con objeto de estabilizar la señal del par redox Ni(OH)₂/NiOOH. En la figura 120 se muestra el proceso de activación. Como se puede comprobar los procesos son similares a los mostrados para el electrodo de carbón vítreo modificado con [Ni₂(MeCO₂)₄], observándose los mismos procesos electroquímicos. Estos electrodos

modificados muestran una gran estabilidad durante días, incluso semanas y meses cuando se almacenan en seco.

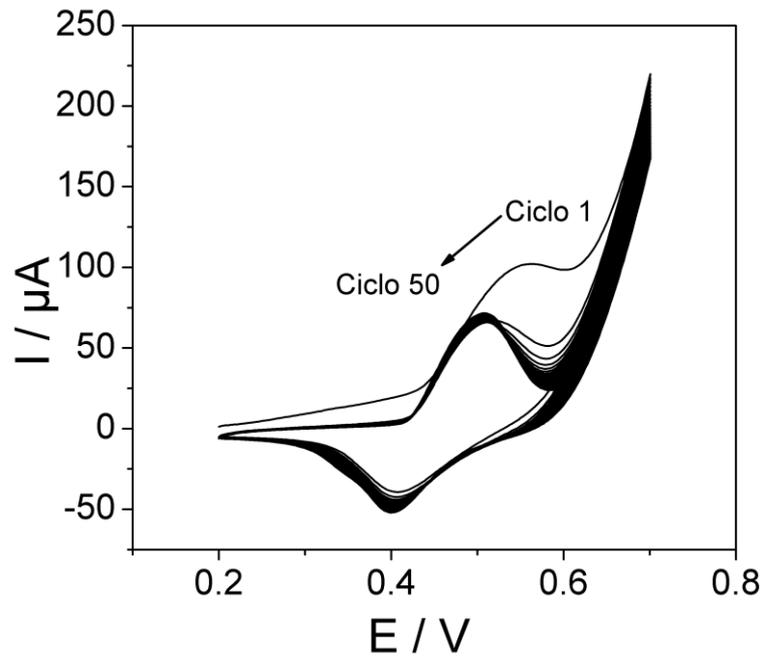


Figura 120- Proceso de activación del electrodo serigrafiado modificado con $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ en NaOH 0.1 M aplicando 50 ciclos de voltamperometría cíclica a 100 mV/s.

2. Caracterización de los electrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2$ /SP SWCNT.

2.1. Caracterización morfológica.

Para comprobar que tipo de nanoestructuras se forman sobre la superficie eléctrica compuesta por nanotubos de carbono del tipo SWCNT se empleó la microscopía electrónica de transmisión con la metodología descrita en el apartado 3.2.6 de Materiales y Métodos para preparar las rejillas de cobre usadas en el análisis. Las imágenes obtenidas se muestran en la figura 121. Se comprueba que sí que aparecen pequeñas nanopartículas de pocos nanómetros de diámetro (en torno a 3 nm aprox.). Se observa cómo se distribuyen de manera homogénea por todo el material, siendo por tanto evidente la nanoestructuración sobre este tipo de electrodos del electrocatalizador $\text{Ni}(\text{OH})_2$.

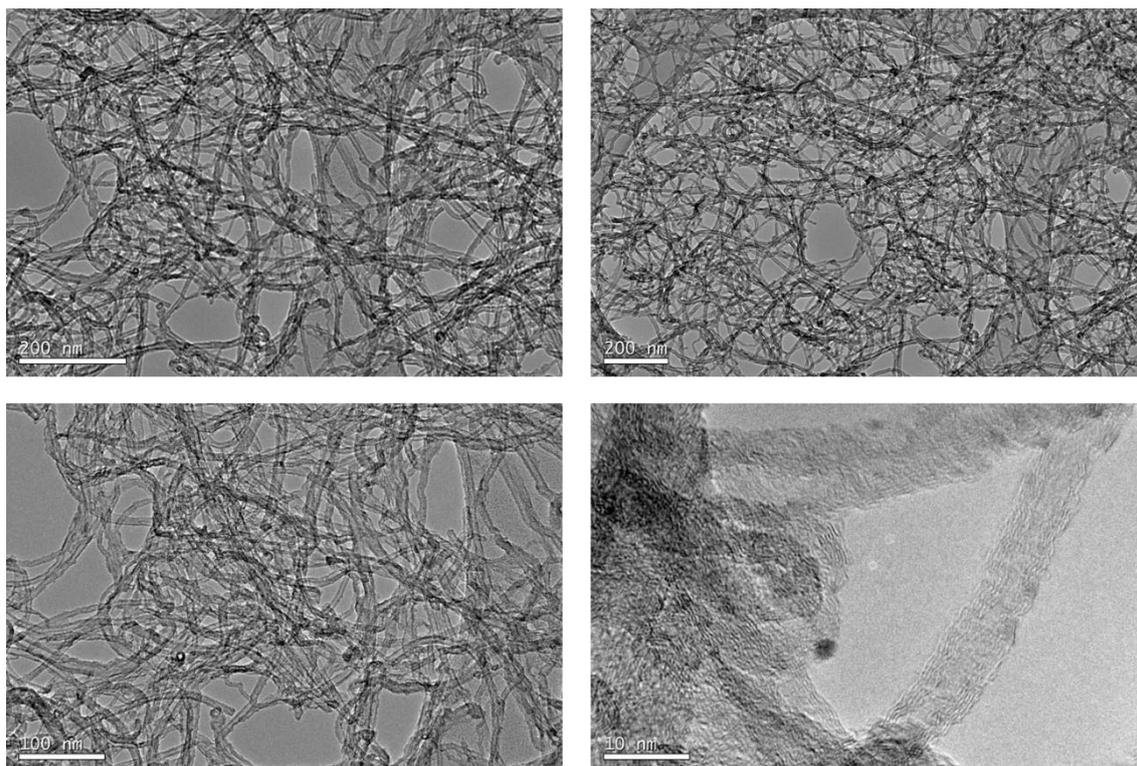


Figura 121-Imágenes TEM de SWCNT modificados con $\text{Ni}(\text{OH})_2$.

Aunque los nanotubos utilizados para este estudio no son exactamente los mismos que los que llevan los electrodos comerciales utilizados, y la metodología seguida es algo diferente a la utilizada para la modificación de los electrodos, se ha considerado que

este estudio podría proporcionar una información valiosa sobre la generación de nanopartículas de Ni(OH)₂ sobre los electrodos serigrafiados modificados con nanotubos de carbono.

2.2. Caracterización electroquímica.

Se ha estudiado el comportamiento electroquímico de los electrodos modificados Ni(OH)₂/SP SWCNT en NaOH 0.1 M (Figura 122). Se observa un par redox con un potencial formal de 0.45 V. El recubrimiento obtenido de electrocatalizador calculado a partir de la carga obtenida tras la integración el pico de oxidación es $\Gamma = 6.26 \cdot 10^{-10}$ mol/cm² y la relación entre la carga del pico anódico y catódico Q_{ox}/Q_{red} del par redox es 1.09, lo que da idea de la buena reversibilidad química del proceso. Además, se ha comparado el recubrimiento de un electrodo serigrafiado de carbono (sin nanotubos) modifico siguiendo la misma metodología, comprobándose como el recubrimiento es 10 veces inferior comparado con el electrodo serigrafiado con nanotubos de carbono. Los procesos redox de oxidación y reducción observados son los mismos ya descritos en capítulos anteriores.

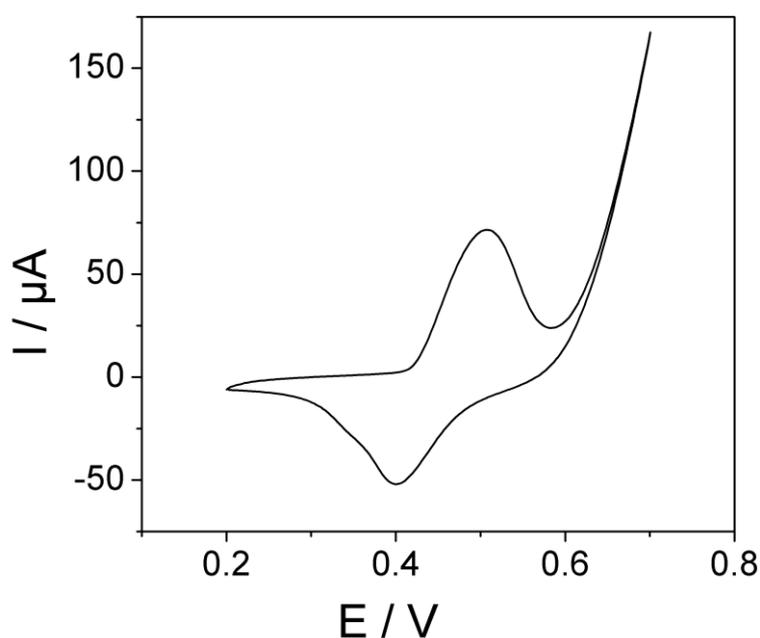


Figura 122- Voltamperograma cíclico de un electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT en NaOH 0.1 M a 100 mV/s.

Se realizó el estudio de la velocidad de barrido de potencial (figura 123A). A partir del cual se realizó el estudio de Laviron (figura 123B), obteniendo el coeficiente de transferencia de carga α (0.60) y el valor de la constante de transferencia heterogénea de carga k_s (16.9 s^{-1}). Analizando los resultados obtenidos, se comprueba como el coeficiente de transferencia electrónica entra dentro de un valor habitual, cercano a 0.5, mientras que el valor de la constante de transferencia heterogénea es suficientemente elevado, por lo que el electrodo demuestra una buena comunicación electrónica con el mediador, en este caso el nanomaterial de Ni(OH)₂. En la figura 123C se puede comprobar, gracias a la relación lineal existente entre la intensidad de los picos anódicos y catódicos con la velocidad de barrido de potencial, que el sistema se comporta como un procesos redox confinado sobre la superficie, por lo que a priori el proceso no debería estar controlado por la difusión de ninguna especie. Sin embargo, en el proceso redox intervienen directamente los aniones OH⁻, por lo que siempre aparece una componente difusional del proceso, lo que hace que el sistema presente propiedades intermedias entre ambos tipos de procesos (en superficie o controlados por difusión).

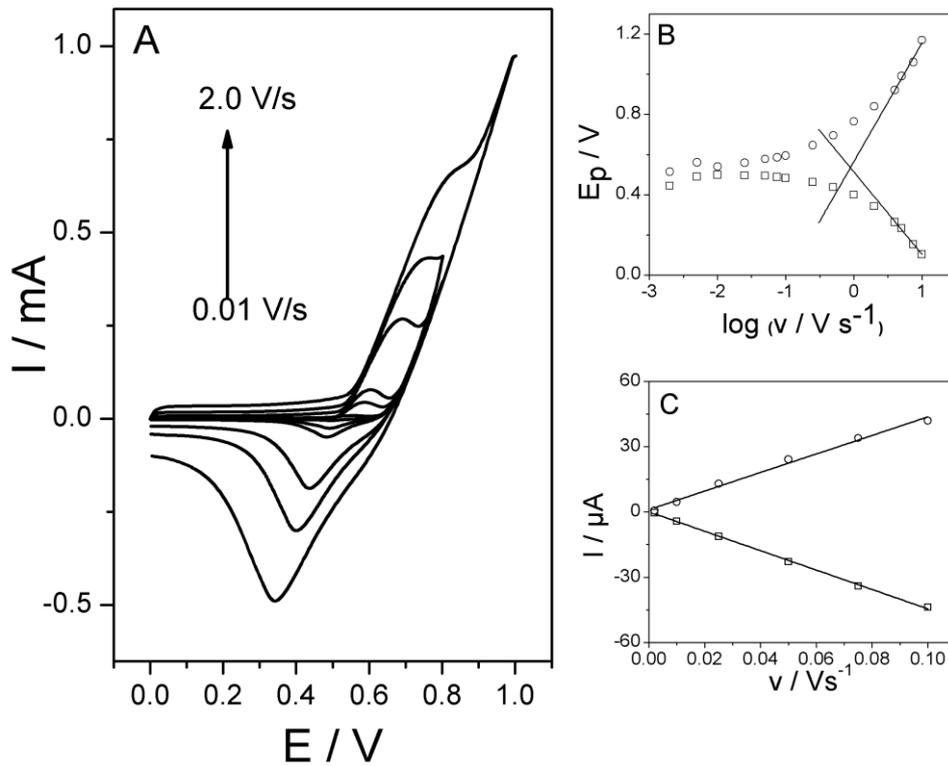
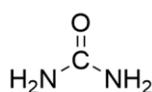


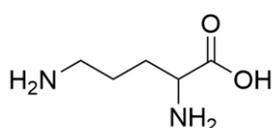
Figura 123-(A) Voltamperogramas cíclicos de un electrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{SP SWCNT}$ en NaOH 0.1 M a distintas velocidades de barrido. (B) Potencial de pico anódico (\circ) y catódico (\square) frente al logaritmo en base decimal de la velocidad de barrido de potencial. Método de Laviron. (C) Representación intensidad de pico anódico (\circ) y catódico (\square) con respecto a v .

3. Electrooxidación catalítica de urea, arginina, ornitina y citrulina.

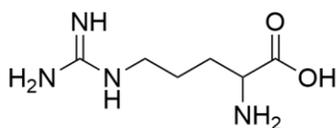
Se ha estudiado la electrooxidación de estas moléculas que llevan grupos amino en su estructura (figura 124) en el electrodo modificado. Los voltamperogramas cíclicos a 5 mV/s en ausencia y en presencia de dichas moléculas se obtuvieron en NaOH 0.1 M (figura 125). Los voltamperogramas de las figuras 125B no dejan duda de la naturaleza electrocatalítica del proceso, quedando bien justificadas por el aumento considerable de la corriente de oxidación del par redox, así como la disminución significativa del pico en el barrido de vuelta. Además en la figura 125 se han incluido la respuesta de los electrodos SP SWCNT sin modificar con Ni(OH)₂ ante la presencia de las mismas concentraciones de analitos, comprobándose como la respuesta catalítica es debida a la presencia de Ni(OH)₂ (figura 125A).



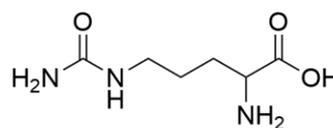
Urea



Ornitina



Arginina



Citrulina

Figura 124-Representación de las fórmulas moleculares de los analitos analizados.

Es importante conocer qué grupos funcionales de los que conforman la estructura de los analitos son aquellos que van a reaccionar con el electrocatalizador de Ni(OH)₂, pues dependiendo del número de grupos reactivos de cada molécula esta sufrirá un mayor o menor número de procesos de electrooxidación. Esto va a repercutir en la señal del compuesto en el sensor. Como se ha mencionado los grupos funcionales reactivos de este tipo de moléculas son los grupos amino (-NH₂) que conforman las aminas.

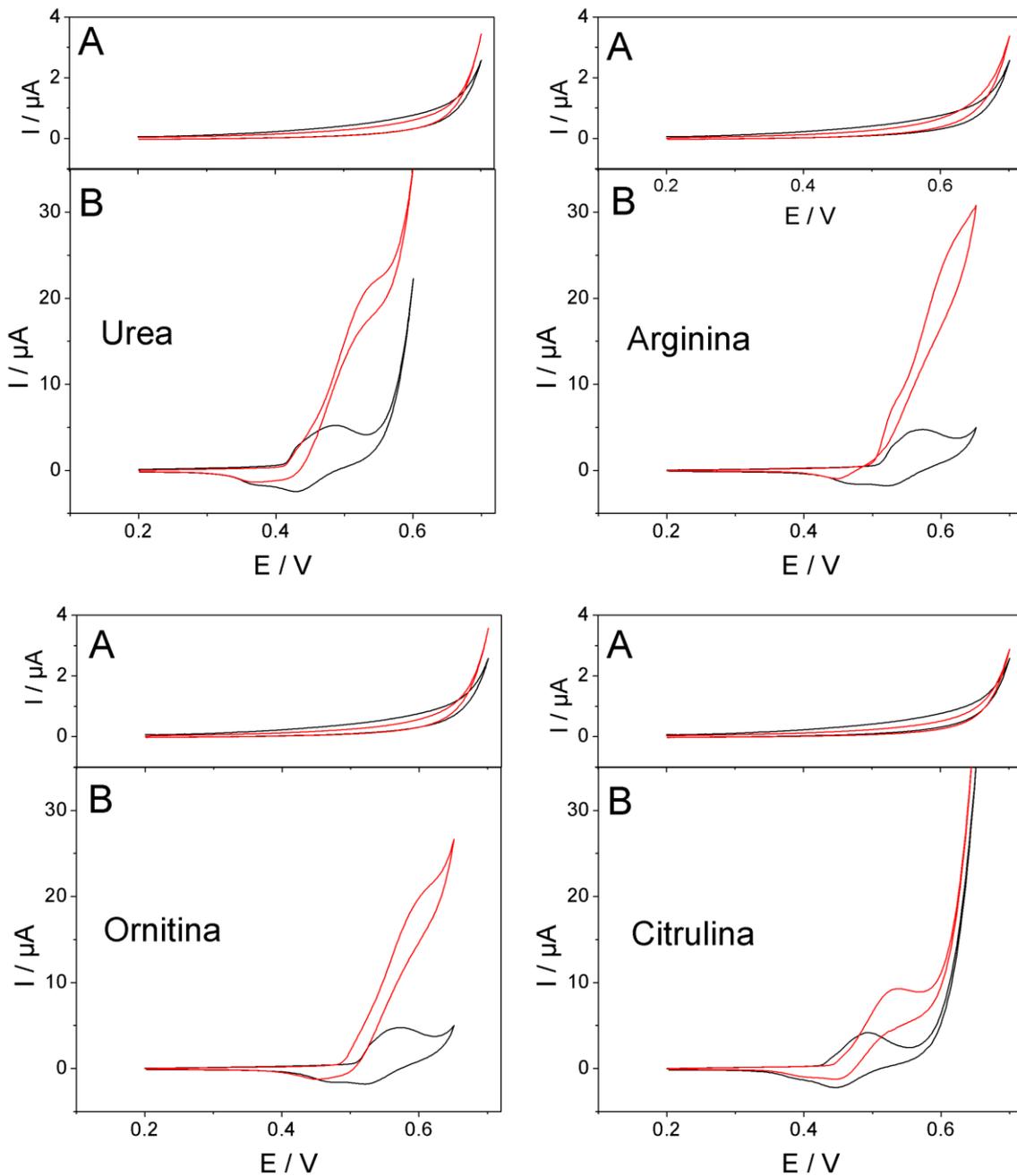


Figura 125- (A) Voltamperometrías obtenidas con electrodo SP SWCNT en presencia (rojo) y ausencia (negro) de 5mM de urea, arginina, ornitina y citrulina en NaOH 0.1 M a 5 mV/s. (B) Voltamperometrías obtenidas con electrodo $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SP SWCNT}$ en presencia (rojo) y ausencia (negro) de 5mM de urea, arginina, ornitina y citrulina en NaOH 0.1 M a 5 mV/s.

Midiendo cronoamperometrías a 0.55 V sobre el electrodo modificado $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SP SWCNT}$, frente a los distintos analitos estudiados, se obtuvieron las curvas de calibrado

(figura 126) y los parámetros analíticos para el sensor (tabla XV). Los valores de los límites de detección y cuantificación son suficientemente pequeños, presentando en cada uno de los analitos buenas sensibilidades. El intervalo lineal es hasta $100 \mu\text{M}$ aproximadamente.

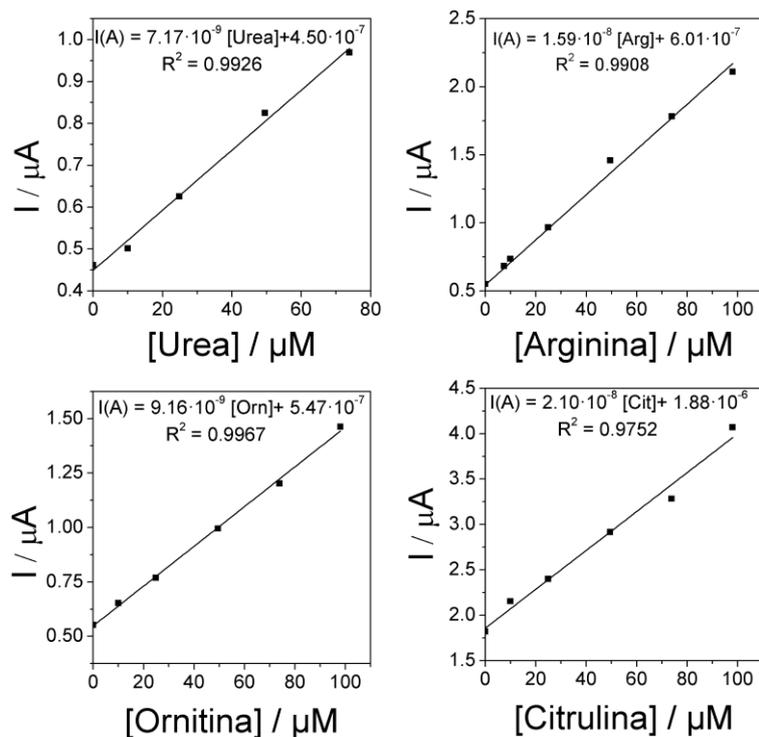


Figura 126-Curvas de calibrado de los distintos analitos.

Tabla XV-Parámetros analíticos obtenidos y valores de la constante catalítica (k_{CAT}) obtenidos mediante el método de Galus para cada uno de los diferentes analitos analizados mediante cronoamperometría a 0.55 V sobre un electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT.

	Límite Detección (μM)	Límite Cuantificación (μM)	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{M cm}^2$)	Intervalo Lineal (μM)	k_{CAT} ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)
Urea	0.42	1.41	0.06 ± 0.01	Hasta 75	$2.82 \cdot 10^2$
Arginina	0.19	0.64	0.13 ± 0.02	Hasta 100	$3.21 \cdot 10^3$
Ornitina	0.36	1.20	0.07 ± 0.01	Hasta 100	$1.12 \cdot 10^3$
Citrulina	0.23	0.75	0.17 ± 0.02	Hasta 100	$1.02 \cdot 10^4$

Además de los parámetros analíticos se ha calculado el valor de la constante catalítica (tabla XV) a través del método de Galus^[172], (apartado 4.6 de Materiales y Métodos). Como ejemplo, en la figura 127 se muestran las representaciones gráficas de I_{cat}/I_{med} frente a $t^{1/2}$ y de las pendientes obtenidas frente a la raíz cuadrada de la concentración ($C^{1/2}$) de uno de los analitos, en este caso de la ornitina. Los valores obtenidos están dentro de los órdenes de magnitudes habituales para este tipo de constantes. Es importante resaltar cómo conforme aumenta el número de grupos funcionales que pueden electro-oxidarse (es el caso de la arginina y la citrulina) este parámetro aumenta, lo cual confirma una mayor tendencia a la electrooxidación del sustrato. En la bibliografía solo se han encontrado constantes catalíticas calculadas por el método de Galus con sensores similares para el caso de la arginina, la constante catalítica obtenida para el electrodo modificado desarrollado en este trabajo de tesis es de un orden de magnitud superior a los descritos en dichos trabajos bibliográficos^[331, 332], lo que supone una mejora con respecto a sensores similares.

Resultados y discusión.

Capítulo IV: Electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.

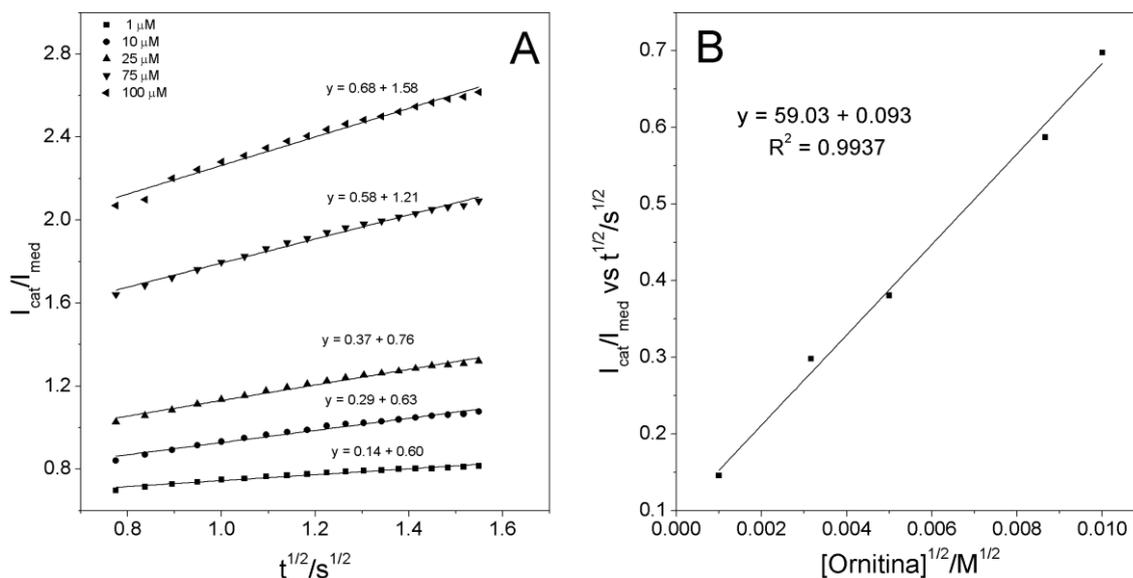


Figura 127- (A) Representación de la eficiencia catalítica del electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT en función de la raíz cuadrada del tiempo para diferentes valores de concentración de ornitina. (B) Representación de Galus de la eficiencia catalítica normalizada con la raíz cuadrada del tiempo respecto de la raíz cuadrada de la concentración de ornitina.

4. Análisis mediante un sistema de inyección en flujo (FIA).

Previamente a la utilización del electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT como detector electroquímico en un sistema de cromatografía de líquidos, se ensayó su funcionamiento en un sistema de inyección de flujo (FIA) para el análisis de urea y aminoácidos (arginina, ornitina y citrulina). Para ello se empleó una celda de flujo de la misma casa comercial que fabrica los electrodos serigrafiados y se conectó a un sistema en flujo controlado por una bomba peristáltica, que proporciona un flujo continuo de fase móvil. Además, se conectó al sistema un inyector gracias al cual se introducían volúmenes controlados de muestra a analizar.

El primer paso fue establecer el potencial óptimo de trabajo. Se realizó entonces un estudio hidrodinámico, en el que se midió la intensidad de los picos FIA para inyecciones de una misma concentración de cada uno de los analitos estudiados a diferentes potenciales de trabajo. Concretamente se usó una concentración de 60 μ M de arginina, ornitina y citrulina, y de 170 μ M de urea. En la figura 128 puede observarse como en todos los casos el potencial en el que se obtiene una mejor intensidad de corriente es el de +0.55 V, por lo se eligió este potencial para los análisis posteriores de FIA y HPLC.

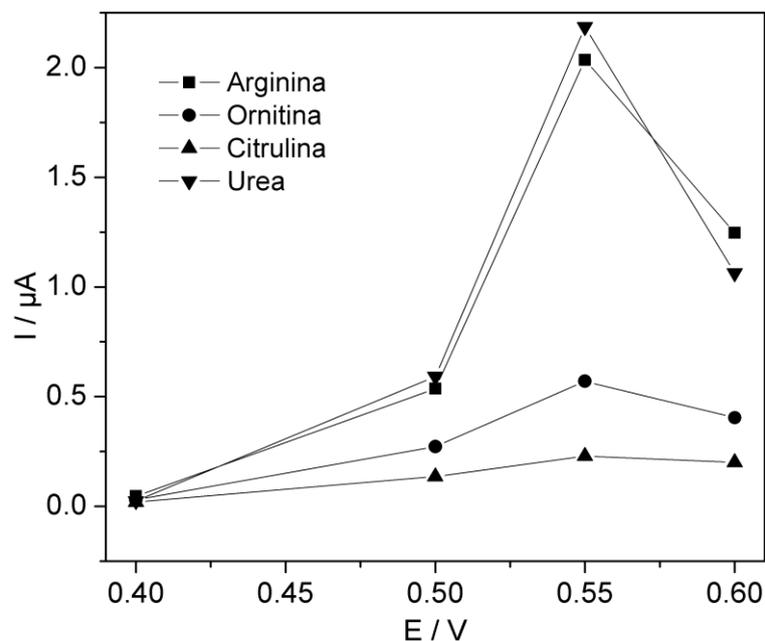


Figura 128-Estudio hidrodinámico de potencial óptimo para el análisis FIA.

En la figura 129 se observan los fiagramas obtenidos para disoluciones patrón urea, arginina, ornitina y citrulina. Se realizaron 3 adiciones sucesivas del mismo patrón en orden creciente de concentraciones. Se puede observar como las réplicas de las distintas concentraciones son reproducibles entre sí, y la intensidad de cada una de las adiciones va aumentando en proporción a la concentración. En la figura 130 se han representado las curvas de calibrado para cada uno de los analitos. Se han calculado los parámetros analíticos que se recogen en la tabla XVI. Los límites de detección y cuantificación obtenidos están dentro de los intervalos de concentración en torno a los que se espera que se encuentren presente estos aminoácidos en sangre y orina. Por otro lado los intervalos lineales son suficientemente amplios para todos los analitos y comprenden las concentraciones en las que suelen estar presentes en medios fisiológicos. Las sensibilidades son buenas, sobre todo en el caso de arginina y urea, siendo menos sensible para el caso de la ornitina y sobre todo citrulina. La repetibilidad de la medida se ha valorado mediante el cálculo del D.E.R para 3 medidas (tabla XVI) de una misma concentración con un mismo electrodo. Los valores de D.E.R están en torno al 2% lo que demuestra la gran repetibilidad de los análisis, excepto en el caso de la citrulina que está en torno a un 8%. Aun en este último, se tratan de valores dentro de los esperados en análisis instrumental. La reproducibilidad fue evaluada con la medida de una misma muestra de concentración 10 mg/L de cada uno de los analitos con 3 electrodos distintos modificados con la misma metodología, en todos los casos el valor de la desviación estándar relativa (D.E.R) fue inferior al 7.5 %, lo que demuestra la reproducibilidad del método.

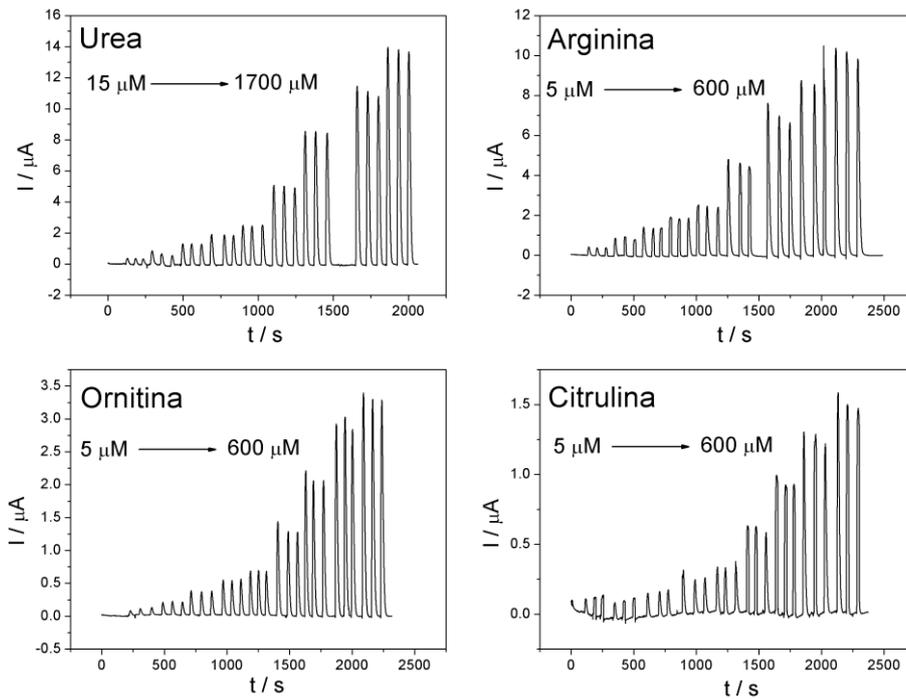


Figura 129-Análisis FIA de urea, arginina, ornitina y citrulina aplicando un potencial de 0.55 V y un flujo de 1 mL/min NaOH 0.1M.

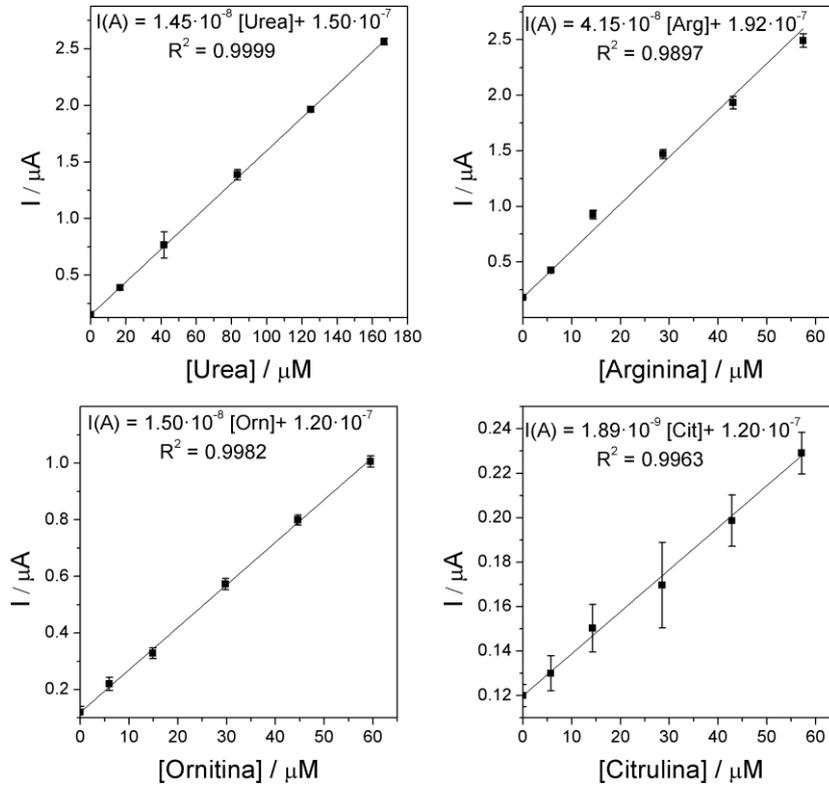


Figura 130-Rectas de calibrado obtenidas por análisis en FIA de urea, arginina, ornitina y citrulina usando el electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT como detector.

Resultados y discusión.

Capítulo IV: Electrodo modificado con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.

Tabla XVI- Parámetros analíticos obtenidos para cada uno de los analitos analizados mediante FIA aplicando 0.55 V sobre un electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT.

	Límite Detección (μM)	Límite Cuantificación (μM)	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$)	% D.E.R (n=3) 10 mg/L	Intervalo Lineal (μM)
Urea	0.51	1.70	115 \pm 1	1.14	Hasta 170
Arginina	0.18	0.59	321 \pm 12	2.08	Hasta 60
Ornitina	0.49	1.64	94 \pm 2	2.48	Hasta 60
Citrulina	3.90	13.02	15 \pm 1	8.41	Hasta 60

El sensor presenta buenas propiedades analíticas para el análisis de estos compuestos, tanto en análisis en estático como en flujo, por lo que se procedió a acoplar este detector a un sistema de separación previa de HPLC, con el objeto de analizar muestras que contuviesen varios de los analitos y posteriormente su aplicación a muestras reales.

5. Análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El electrodo modificado Ni(OH)₂/SP SWCNT se utilizó como detector acoplado a un sistema HPLC, para llevar a cabo la determinación de los aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea en muestras que contienen mezclas de los mismos.

Para la separación de los analitos se utilizó una columna de intercambio aniónico. Se optimizó la composición de la fase móvil. En los estudios llevados a cabo en los apartados anteriores se utilizó como medio para la detección disoluciones de NaOH 0.1 M. Sin embargo, al utilizarlo como fase móvil se alargaban los tiempos de retención (t_R) y los analitos eluyen demasiado juntos como para poder diferenciarlos con el detector electroquímico. Se ensayaron otras fases móviles, en concreto se disminuyó la concentración de NaOH hasta 60 mM. Además se incluyó un modificador orgánico, acetonitrilo, con el fin de mejorar la resolución de los cromatogramas. En la figura 131 se muestra el efecto que al añadir un 3% de acetonitrilo a la fase móvil (NaOH 60 mM) produce sobre los picos. Por tanto, se utilizó esta concentración de modificador orgánico en los estudios posteriores.

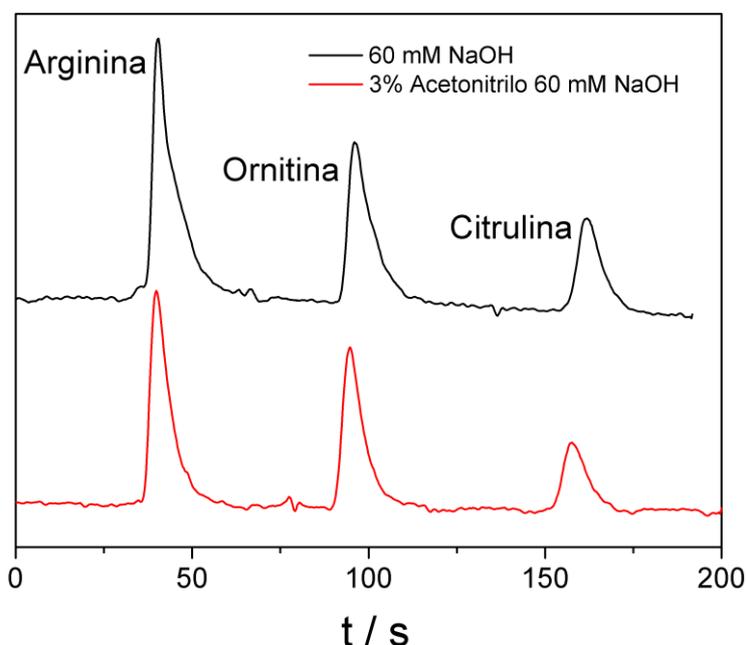


Figura 131-Cromatogramas de una mezcla de arginina 5 mg/L, de ornitina 20 mg/L, de citrulina 20 mg/L con diferentes fases móviles: NaOH 60 mM (negro) y NaOH 60 mM al 3% de acetonitrilo (rojo). Velocidad de flujo de 0.75 mL/min.

Otro de los parámetros importantes a controlar para una detección eficaz de los analitos ha sido el flujo de eluyente por minuto. Las especificaciones de la columna no aconsejaban sobrepasar velocidades de flujo por encima de 1 mL/min. Por ello se ensayaron velocidades de flujo entre 0.25 y 1.00 mL/min. En la figura 132 pueden apreciarse los valores del tiempo de retención y de la intensidad de corriente detectados para cada analito en una mezcla que contenía arginina 30 μ M, ornitina 120 μ M y citrulina 120 μ M. Se observa como conforme aumenta la velocidad de flujo los tiempos de retención son menores, a la vez que los picos son más intensos y más estrechos, lo cual es beneficioso en lo que respecta a la relación señal frente al ruido instrumental. A la velocidad de flujo máximo (1.00 mL/min), se observa una mejora en los tiempos de retención, junto con la disminución de la intensidad de la señal, debido a que el flujo es demasiado rápido para dar tiempo al electrodo a oxidar todo el analito. Estos motivos llevaron a la elección de un flujo de 0.75 mL/min como un compromiso entre el flujo que mejor relación señal/ruido proporciona y el tiempo de retención de los analitos.

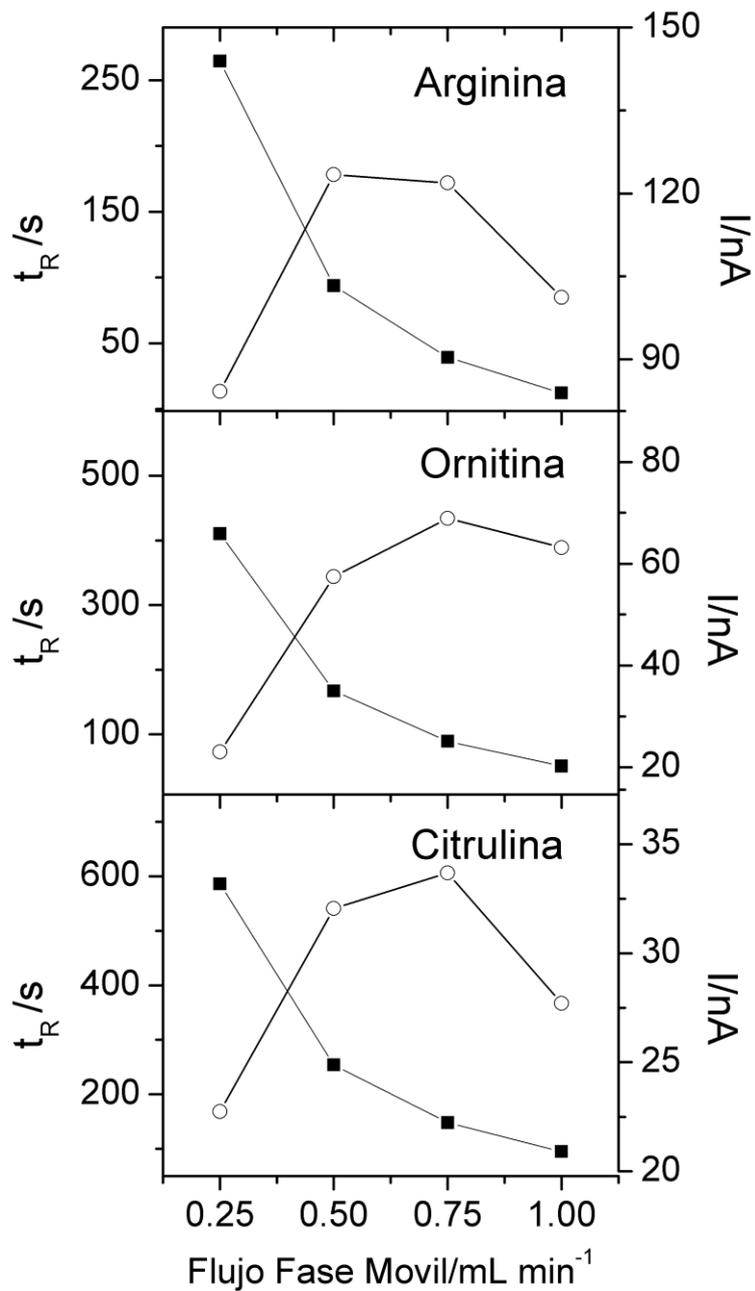


Figura 132 –(■)Tiempo de retención (t_R) vs flujo de fase móvil e (○) intensidad de corriente vs flujo de fase móvil obtenidos para el análisis por HPLC de una mezcla de arginina $30 \mu\text{M}$, ornitina $120 \mu\text{M}$, citrulina $120 \mu\text{M}$ usando como detector el $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SP-SWCNT}$ y como fase móvil NaOH 60 mM al 3% acetonitrilo.

Como se aprecia en el cromatograma de la figura 133 en las condiciones óptimas (0.75 mL/min y composición de fase móvil NaOH 60 mM 3 % acetonitrilo) los tiempos de retención de los analitos estudiados son 40.0 s para arginina, 94.5 s para ornitina y 157.0

Resultados y discusión.

Capítulo IV: Electrodo modificado con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.

s para citrulina. Una vez optimizadas las condiciones de flujo de eluyente y su composición, se obtuvieron las curvas de calibrado de los 3 analitos. Para ello se inyectaron mezclas de diferentes concentraciones de cada uno de ellos y se registraron los cromatogramas (figura 133), representado las cargas de pico de las medidas para cada analito frente a su concentración (figura 134).

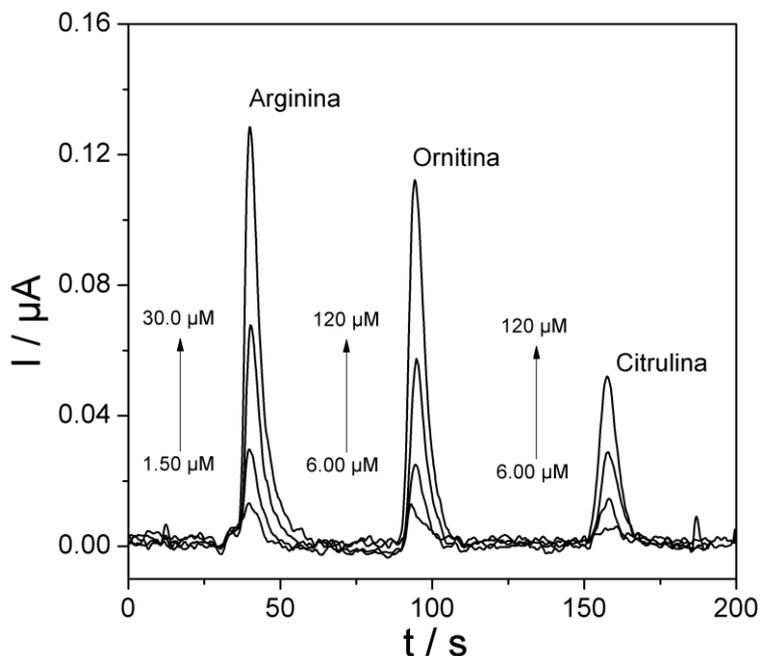


Figura 133- Cromatogramas obtenidos con el electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT de mezclas de arginina, ornitina y citrulina en cantidad creciente de concentraciones usando como fase móvil NaOH 60 mM al 3% acetonitrilo y 0.75 mL/min de flujo.

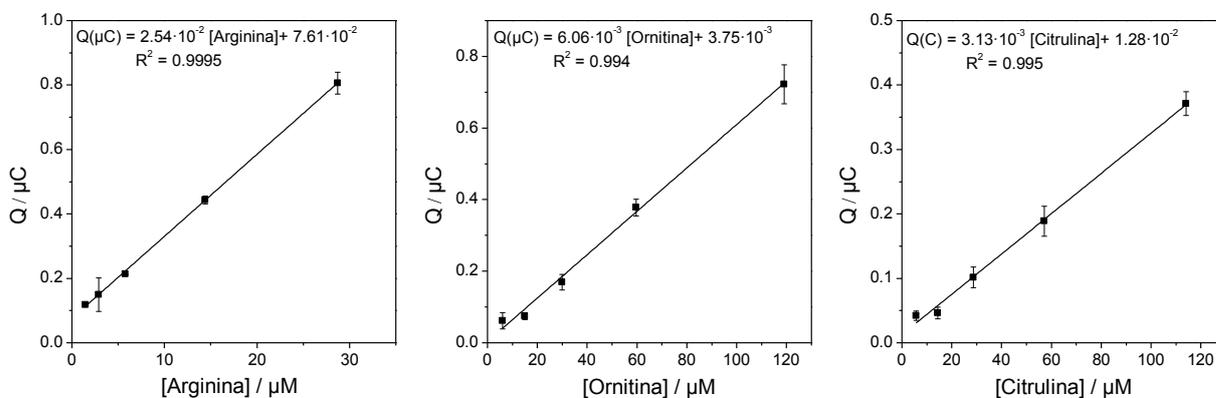


Figura 134-Curvas de calibrado obtenidas por HPLC con un electrodo modificado Ni(OH)₂/SP SWCNT.

A partir de las curvas de calibrado se obtienen los parámetros analíticos para cada uno de los analitos estudiados, que se muestran en la tabla XVII. Los límites de detección y cuantificación alcanzados permiten la determinación de estos analitos en muestras biológicas reales. La sensibilidad es mayor en el caso de la arginina que en el de ornitina y citrulina. Con respecto a los intervalos lineales es importante mencionar el hecho de que se ensayaron concentraciones hasta 120 μM para no perjudicar el funcionamiento de la columna, aunque los intervalos lineales del detector son mayores.

Tabla XVII- Parámetros analíticos obtenidos para cada uno de los analitos analizados mediante HPLC aplicando 0.55 V sobre un electrodo Ni(OH)₂/SP SWCNT.

	Límite Detección (μM)	Límite Cuantificación (μM)	Sensibilidad ($\mu\text{C}/\text{mM cm}^2$)	Intervalo Lineal (μM)
Arginina	0.52	1.72	201 \pm 2	Hasta 30
Ornitina	4.78	15.9	25 \pm 1	Hasta 120
Citrulina	9.20	30.7	48 \pm 3	Hasta 120

Para estudiar la estabilidad de la respuesta electroquímica se inyectó cada 60 segundos la misma cantidad de patrón de arginina de concentración 30 μM y se analizó la variación de la señal detectada. En la figura 135 pueden observarse los picos cromatográficos registrados. Se ha obtenido una desviación estándar relativa (D.E.R) del 7.3 % (n=50), lo que indica que la respuesta es estable y el electrodo no se ve afectado por procesos de envenenamiento producidos por los productos de la oxidación de los aminoácidos.

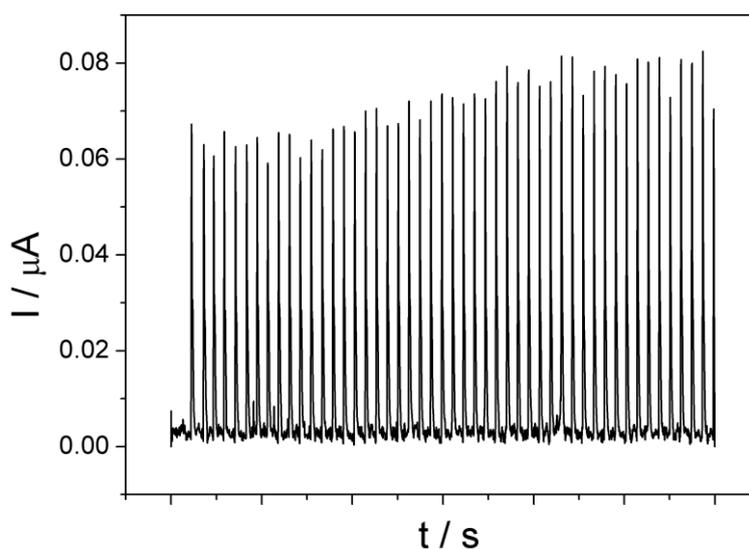


Figura 135-Adiciones sucesivas de patrón de arginina $30 \mu\text{M}$ al sistema HPLC con detección electroquímica usando $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SP SWCNT}$.

La reproducibilidad del método se evaluó midiendo la respuesta de tres electrodos distintos, preparados del mismo modo, para una mezcla de aminoácidos de arginina $30 \mu\text{M}$, ornitina $120 \mu\text{M}$ y citrulina $120 \mu\text{M}$. En estas condiciones, se obtuvo una desviación estándar relativa del 5.7% o inferior, dependiendo de cada aminoácido.

5.1. Análisis de los aminoácidos en muestras reales.

Se llevó a cabo el análisis de los aminoácidos en muestras de orina y de suero sanguíneo mediante el método desarrollado de HPLC usando una columna de intercambio aniónico con detección electroquímica con el electrodo descrito de $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SP SWCNT}$. Las muestras fueron dopadas con cantidades conocidas de cada uno de los aminoácidos y se analizaron usando el método de adiciones estándar con el fin de eliminar los posibles efectos de matriz.

Se trata de muestras complejas que dan lugar a cromatogramas con gran cantidad de picos, muchos de ellos se solapan, por lo que requieren en muchas ocasiones de un tratamiento previo para poder obtener buenos resultados. Por ello, antes de proceder al análisis de los aminoácidos por cromatografía se realizaron tratamientos previos de las muestras dependiendo de la naturaleza de las mismas. Estos tratamientos se describen de forma detallada en el apartado 3.3.2 de Materiales y Métodos.

5.1.1. Muestras de suero sanguíneo humano.

Estas muestras presentan un alto contenido proteico perjudicial para el método de separación con columna aniónica. Por ello el primer tratamiento al que se sometieron estas muestras fue la precipitación de proteínas mediante la adición de ácido perclórico al 5%. Completada la precipitación, se centrifugó la muestra para obtener el sobrenadante. Tras este primer paso, la muestra basificada con NaOH 120 mM con un 6% de acetonitrilo se inyectó en el sistema cromatográfico. Se pudo comprobar que en el frente del cromatograma se obtenía un pico muy intenso y ancho correspondiente a las altas concentraciones de urea que contiene la muestra, así como a otros componentes de la misma. Los cuales enmascararon enormemente el pico de la arginina que aparece a tiempos retención muy bajos desde la salida del frente. Es por ello que se decidió aplicar un tratamiento de limpieza de la muestra tras la precipitación de las proteínas y la obtención del sobrenadante, usando para ello cartuchos de extracción en fase sólida, cuyo adsorbente era una resina de intercambio catiónico.

La muestra (a pH entre 5-7) se pasó por el cartucho de extracción, de modo que los aminoácidos (arginina, ornitina y citrulina), que son de naturaleza básica, se encontrasen con sus respectivos grupos aminos protonados; mientras que la urea (principal interferente), al permanecer con carga neutra en el intervalo de pH de trabajo, no quedase retenida en el cartucho de extracción. Para la elución de los aminoácidos se usó un medio básico NaOH 120 mM, gracias al cual la carga de los mismos pasó a ser neutra, analizándose entonces las disoluciones obtenidas mediante HPLC. El cromatograma obtenido con la muestra dopada se muestra en la figura 136, en la que pueden verse los picos correspondientes a los tres aminoácidos, así como alguno más propio de la muestra.

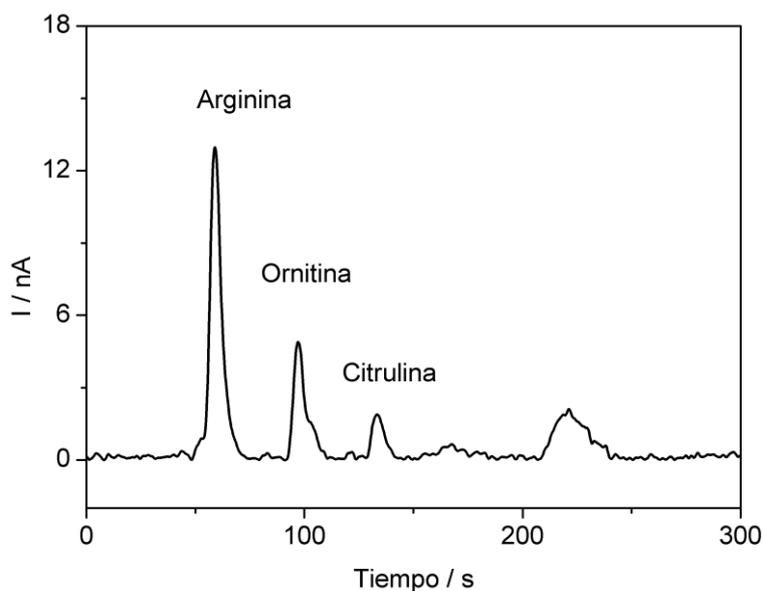


Figura 136-Cromatograma de una muestra de suero sanguíneo humano dopado usando como fase móvil NaOH 60 mM al 3% acetonitrilo y 0.75 mL/min de flujo.

En la tabla XVIII se muestra los valores de recuperación obtenidos de una muestra de suero sanguíneo humano dopada con arginina 30 μ M, ornitina 120 μ M y citrulina 120 μ M.

Tabla XVIII- Valores de recuperación obtenidos de una muestra de suero sanguíneo humano dopada.

	Cantidad de muestra adicionada (μ M)	Recuperación % \pm D.E*
Arginina	30	99 \pm 9
Ornitina	120	83 \pm 2
Citrulina	120	107 \pm 9

*D.E: Desviación estándar de 3 experimentos independientes con 3 determinaciones de la muestra en cada uno de ellos.

Como se puede comprobar las recuperaciones de la cantidad de analitos adicionada son próximas al 100%, por lo que se demuestra la aplicabilidad del método para el análisis y determinación de los tres aminoácidos en suero sanguíneo humano.

5.1.2. Muestras de orina humana.

Existe también interés en la determinación de la presencia de estos aminoácidos en orina como consecuencia de posibles trastornos del metabolismo general de aminoácidos y del ciclo de la urea. Por este motivo, se ha llevado a cabo el análisis mediante la metodología desarrollada de muestras de orina. La orina es también una muestra compleja, con bajo contenido en proteínas si la persona está sana y no presenta cierto tipo de enfermedades, por lo que no es necesario aplicar un paso previo para la eliminación de las mismas. Sin embargo, dado que es la vía de excreción de nitrógeno del organismo en forma de urea, las concentraciones de este compuesto son muy elevadas, en torno a 20 g/L. Como ya se ha mencionado la urea es un interferente en altas concentraciones en el método de análisis desarrollado, ya que aunque tiene un tiempo de retención ligeramente inferior a la arginina, su presencia en altas concentraciones da lugar a picos muy intensos y anchos en el cromatograma, ocultando (por solapamiento) la aparición de la arginina. Esto motivó el uso también de los cartuchos de extracción en fase sólida de la misma forma que en el análisis de suero sanguíneo. Para ello en primer lugar se diluyó la orina en un factor de 1:20. Esta disolución, que presenta pH en torno a 6 se pasa directamente por el cartucho de extracción en fase sólida, con objeto de dejar retenidos los aminoácidos y descartar la urea. Para la elución se usó el mismo volumen de NaOH 120 mM que el de la disolución de orina 1:20 que previamente se pasó por el cartucho, analizándose la disolución eluída con los aminoácidos. En la figura 137 se muestra el cromatograma obtenido con una muestra de orina dopada con 345 μM de arginina, 1140 μM de ornitina y 1140 μM de citrulina.

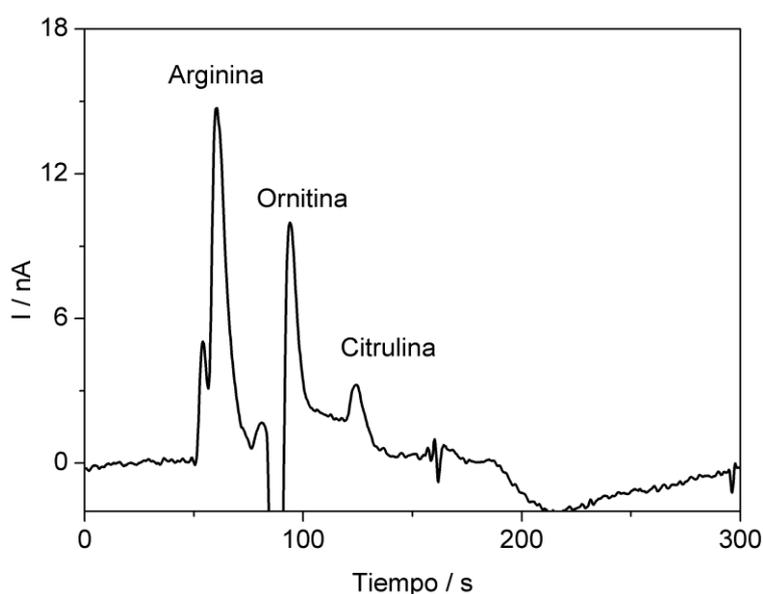


Figura 137-Cromatograma de una muestra de orina humana dopada usando como fase móvil NaOH 60 mM al 3% acetonitrilo y 0.75 mL/min de flujo.

En la tabla XIX se muestra los valores de recuperación obtenidos de una muestra de orina humana dopada.

Tabla XIX- Valores de recuperación obtenidos de una muestra de orina humana dopada.

	Cantidad de muestra adicionada (μM)	Recuperación % \pm D.E*
Arginina	345	80 \pm 4
Ornitina	1140	94 \pm 8
Citrulina	1140	100 \pm 9

*D.E: Desviación estándar de 3 experimentos independientes con 3 determinaciones de la muestra cada uno de ellos.

Como se puede comprobar las recuperaciones de la cantidad de analitos adicionada están entre el 80-100 %, lo que demuestra la aplicabilidad del método para el análisis y determinación de los tres aminoácidos en orina humana. Los trastornos del metabolismo de aminoácidos entre ellos los trastornos del ciclo de la urea provocan grandes alteraciones en la composición de la orina, elevando enormemente las

concentraciones de uno o varios de los aminoácidos estudiados en la misma, por lo que la metodología desarrollada es perfectamente aplicable para la detección de estos trastornos a partir de análisis de la orina de los enfermos

A la vista de estos resultados se puede afirmar que la metodología desarrollada para el análisis de los aminoácidos relacionados con enfermedades y trastornos del ciclo de la urea, permite la determinación de estos analitos en muestras de suero y orina con unos niveles de cuantificación inferiores a los requeridos. Supone pues un avance en cuanto a los métodos disponibles para realizar estos análisis.

Resultados y discusión.

Capítulo IV: Electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH)₂ como detectores electroquímicos en sistemas HPLC.

**Capítulo V: Formación de
hexacianoferrato de níquel (NiHCF)
sobre superficies electrónicas.
Aplicación al desarrollo de
supercapacitores.**



Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitadores.

El desarrollo de la nanotecnología y la nanociencia en las dos últimas décadas ha permitido controlar los materiales a escala nanométrica, lo cual ha generado nuevas oportunidades a la hora de diseñarlos con determinadas propiedades específicas en cuanto a su comportamiento electrónico, fotónico y mecánico. Este desarrollo ha contribuido también al avance de los materiales para el almacenamiento energético, lo cual es de vital importancia para el desarrollo tecnológico futuro^[138].

Los supercapacitores o capacitadores electroquímicos son un tipo de dispositivos de almacenamiento energético que está comenzando a tener gran importancia como dispositivos de almacenamiento energético, capaces de suministrar intensidades de corrientes elevadas en momentos puntuales^[145]. A diferencia de las baterías, las cuales almacenan la energía a través de reacciones químicas de tipo faradaico, los supercapacitores almacenan energía separando las cargas electrostáticas en la superficie de electrodos, basándose en el principio de separación de cargas que se establece, bien al generarse una doble capa capacitiva o bien por un proceso redox. Estos sistemas de almacenamiento de energía ofrecen una densidad de corriente uno o dos órdenes de magnitud superiores a las baterías. Además, los ciclos de carga y descarga de los capacitadores electroquímicos aumentan entre miles y millones de ciclos con respecto a las baterías^[146]. Estas características hacen que los capacitadores electroquímicos sean útiles para situaciones en que se ha de aportar gran cantidad de corriente en poco tiempo y también para almacenar grandes cantidades de corriente generadas en periodos de tiempos muy cortos. Este sería el caso en el arranque de vehículos, el uso en ascensores, sistemas de producción de corriente eléctrica en casos de caída de la red, etc.^[147].

Los materiales nanoestructurados presentan importantes ventajas en el desarrollo de pseudocapacitores, entre ellas destacar que originan transportes cortos y rápidos de electrones y de iones, poseen una gran área superficial entre el electrodo y el electrolito, y dan lugar a nuevas reacciones redox que no se dan en el caso del material no nanoestructurado. Por el contrario presentan la desventaja de que se obtienen mediante síntesis más complejas y tienen mayores costes de fabricación.

El hexacianoferrato de níquel (NiHCF) está considerado uno de los materiales electródicos más prometedores para la fabricación de capacitadores electroquímicos. Puede cambiar de manera fácil y rápida de su forma oxidada a su forma reducida en electrolitos neutros que contengan cationes de metales alcalinos (Li^+ , Na^+ y K^+)^[153-157]. En general, los hexacianoferratos de metales de transición son materiales muy interesantes para el almacenamiento de carga debido a su estructura tridimensional característica, generalmente plagada de túneles (similar a las zeolitas). El método más habitual para la síntesis de este tipo de compuestos ha sido la coprecipitación de los iones que lo conforman^[157, 333]. En el caso del hexacianoferrato de níquel también se han desarrollado métodos electroquímicos partiendo de iones de níquel y el complejo ferrocianuro de níquel en disolución^[155, 334-336]. En otros casos partiendo de un electrodo de níquel metálico se genera el compuesto electroquímicamente^[156, 337]. Generalmente utilizando estos métodos de síntesis electroquímicos suelen obtenerse películas del hexacianoferrato metálico sobre la superficie electródica^[338-342]. La síntesis de nanopartículas de estos compuestos se ha logrado generalmente por otros métodos como la coprecipitación^[343, 344] y uso el de surfactantes^[345].

Como se ha indicado en el capítulo II de esta memoria, en el transcurso de las investigaciones realizadas en esta tesis doctoral se ha desarrollado una metodología para la modificación de electrodos con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$. Tomando como base estas nanoestructuras, se ha llevado a cabo la generación de nanopartículas de NiHCF sobre soportes electródicos. Para ello, tras reducir electroquímicamente las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a nanopartículas de Ni metálico en 0.1 M $\text{LiClO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$ se forman las nanopartículas de NiHCF en disoluciones de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mM en 0.1 M KClO_4 .

Estas superficies electródicas modificadas con nanopartículas de NiHCF pueden ser utilizadas en el desarrollo de supercapacitores.

Uno de los problemas más habituales de los hexacianoferratos metálicos en general, tanto nanoestructurados como formando películas sobre la superficie, es su disolución gradual cuando se someten a ciclos de barrido de potencial ^[346-348], y por ello se han buscado soluciones para impedirlo basados en el recubrimiento de la superficie con

polímeros conductores que protejan el material^[153, 349-351]. Otra de las estrategias es el empleo de disolventes orgánicos en los cuales son insolubles, empleando como electrolito soporte sales que contengan metales alcalinos como cationes por ejemplo el perclorato de litio (LiClO_4), ya que es soluble en disolventes como acetonitrilo o tetrahidrofurano.

Por tanto se llevaron a cabo estudios tanto en medio acuoso como orgánico. Se ha comprobado como para el caso de disoluciones acuosas las nanoestructuras de NiHCF generadas se disuelven al aplicar sobre el electrodo barridos cíclicos de potencial. Con el fin de solucionar este problema se estudió la respuesta del electrodo modificado con nanopartículas de NiHCF en acetonitrilo, consiguiéndose una buena respuesta. El uso de disolventes orgánicos en el ámbito de los supercapacitores ofrece ventajas y desventajas. Entre las desventajas principales está el mayor coste del disolvente, que eleva los costes de producción del sistema, también en el ámbito de la seguridad, dada la alta inflamabilidad de los disolventes. Respecto a las ventajas destacar que ofrecen ventanas de potenciales mucho más amplias que en medio acuosos. También evitan la corrosión de los elementos que conforman el sistema y suelen estabilizar los recubrimientos electródicos, aumentando por tanto la durabilidad del sistema.

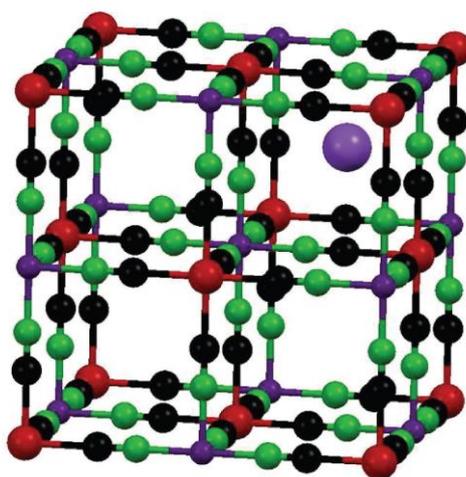


Figura 138-Estructura cristalina del NiHCF. Fe (átomos Rojos), Ni (átomos violetas), C (átomos negros), N (átomos verdes). Las esferas violetas intersticiales representan los huecos que ocupan los cationes alcalinos o bien moléculas de agua de hidratación presentes en la estructura.

1. Formación de NiHCF sobre superficies electródicas.

Dado el buen resultado que se obtuvo partiendo de la electrooxidación del complejo tipo *Paddle-Wheel* $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ y su posterior modificación en NaOH, consiguiendo superficies con un alto recubrimiento en nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$, se utilizó este mismo procedimiento como una buena alternativa a los métodos para la generación de nanomateriales de níquel descritos. La idea se basa en la transformación de las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ generadas en nanoestructuras de níquel metálico como base para la posterior formación de NiHCF, mediante tratamiento con disoluciones de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ^[156, 337]. De esta manera, forzados por la nanoestructura del material de partida ($\text{Ni}(\text{OH})_2$), podría conducirse la formación del complejo de níquel NiHCF de una forma nanoestructurada, lo cual se traduce en beneficios a la hora del uso de estos electrodos modificados en el ámbito de los supercapacitores.

A diferencia de la metodología ensayada en el capítulo II, para esta aplicación se aumentó la concentración del material de partida, de 0.10 mM a 0.25 mM de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ con el objetivo de obtener superficies con mayores recubrimientos, ya que para el uso de estos electrodos modificados como supercapacitores es beneficioso la formación de gran cantidad de material con mucha superficie específica. En la figura 139A y 139B se muestran las cronoamperometrías registradas durante la electrooxidación de $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ a $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ obtenidas para los electrodos de GC y de Au respectivamente.

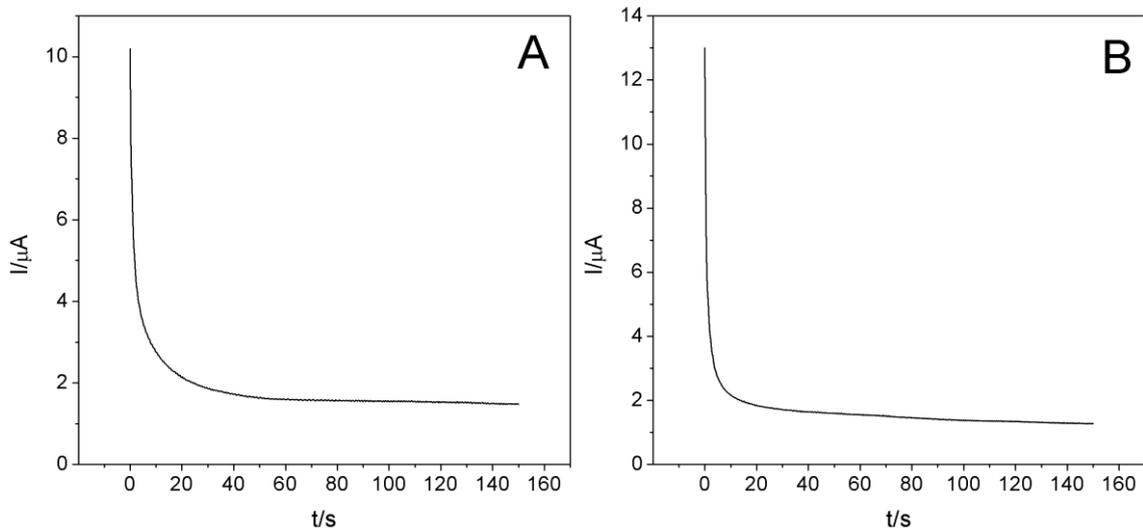


Figura 139-Cronoamperometrías registradas durante la electrooxidación de $[Ni_2(MeCOS)_4]$ a $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ aplicando 1.15 V durante 150 s en $[Ni_2(MeCOS)_4]$ 0.25 mM en electrodos de GC (A) y de Au (B).

Tras la electrodeposición los electrodos modificados con microestructuras de $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ se activaron en NaOH 0.1 M mediante barridos cíclicos de potencial, transformándose estas en nanopartículas de $Ni(OH)_2$. En la figura 140 se observa los voltamperogramas obtenidos.

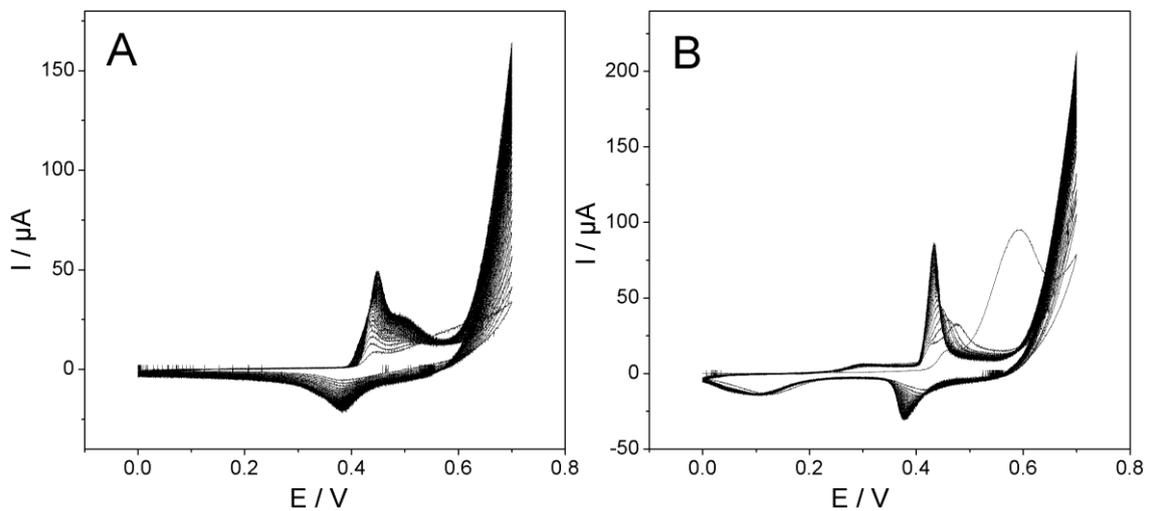


Figura 140- Proceso de activación de electrodos de GC (A) y de Au (B) modificados con $[Ni_2(MeCO_2)_4]$ aplicando 50 barridos CV a 100 mV/s entre 0 V y 0.7 V en NaOH 0.1 M.

Como se observa tanto en la figura 139 como en la 140, ambos procesos son idénticos a los ya descritos en el capítulo II, el aumentar la concentración del material de partida $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$, no afecta a la naturaleza de los procesos electroquímicos descritos. Sí se observa que el valor de la carga del pico anódico en los voltamperogramas en NaOH 0.1 M aumenta, por tanto la cantidad de $\text{Ni}(\text{OH})_2$, como era de esperar, es mayor que cuando se sintetiza el material a partir de disoluciones 0.1 mM $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$.

Una vez obtenidas las superficies electródicas modificadas (GC y Au) con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ el siguiente paso es la reducción electroquímica de estas a níquel metálico para la posterior formación del complejo NiHCF.

1.1. Formación de nanoestructuras de Ni(0) sobre electrodos a partir de nanopartículas de Ni(OH)₂.

Para la reducción de las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a nanopartículas de Ni metálico se abordaron diferentes alternativas. En primer lugar, no se encontraron en la bibliografía ejemplos que mediante electroquímica transformaran electrodos modificados con nanopartículas $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a nanoestructuras de Ni metálico. En general están descritos procedimientos químicos^[352] Estos están basados en la reducción mediante el empleo de hidracina. Sin embargo la reducción química aumentaría el número de pasos a seguir para la modificación de la superficie del electrodo, así como las posibles contaminaciones. Por tanto, se intentó la reducción electroquímica. Se eligió un disolvente orgánico con una amplia ventana de potencial, acetonitrilo (CH_3CN), que permite alcanzar potenciales suficientemente negativos donde tuviese lugar el proceso de reducción. Como electrolito soporte se eligió el perclorato de litio (LiClO_4), aunque también se probó perclorato de tetrabutilamonio (TBAP) comprobando que los procesos que ocurrían sobre la superficie del electrodo eran los mismos. En la figura 141 pueden observarse los procesos que ocurren en el electrodo de GC modificado con $\text{Ni}(\text{OH})_2$. Se pueden distinguir dos procesos redox en el primer barrido de potencial desde 0 V a -2.3 V. El último de ellos llama especialmente la atención al ser más intenso y desaparecer en el 2º y 3º ciclo de potencial. Además, presenta la forma de un proceso redox confinado en la superficie, lo que sugiere que puede ser el paso de Ni(II) a Ni metálico y por tanto la formación de Ni a partir de $\text{Ni}(\text{OH})_2$.

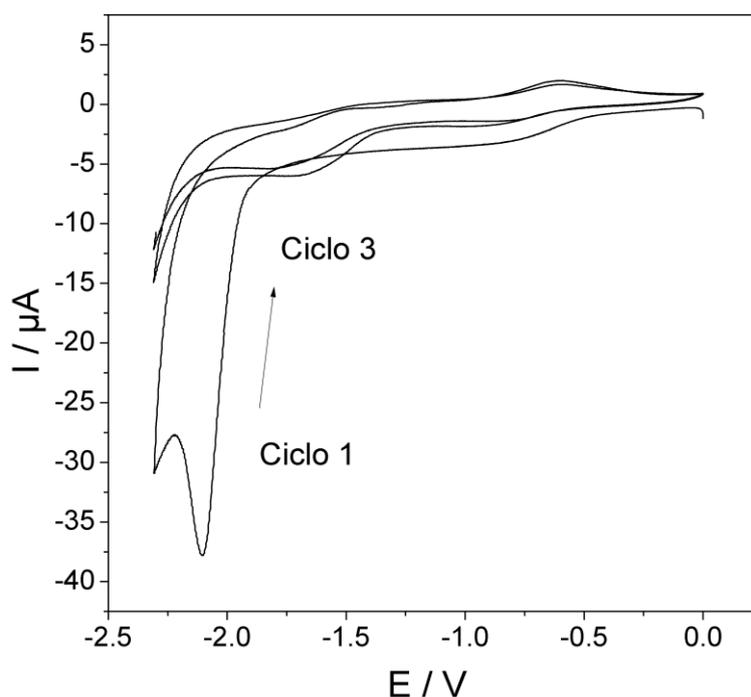


Figura 141-Formación de níquel metálico a partir de electrodos de $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{GC}$ en $\text{LiClO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$ a 10 mV/s .

Aunque el resto de los procesos observados son difíciles de asignar, el proceso a -2.1 V se atribuye a la reducción de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a Ni metálico. Este proceso totalmente irreversible solamente aparece en el primer barrido de potencial. El paso de las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ a nanopartículas de Ni metálico es esencial para la formación del complejo NiHCF, de modo que se ha comprobado que si este paso previo no se da la formación del complejo NiHCF en el siguiente paso no ocurre.

1.2. Formación de NiHCF sobre electrodos modificados con nanopartículas de Ni(0).

Como ya se ha mencionado una de las estrategias descritas para la obtención del complejo NiHCF sobre superficies electródicas, es la formación de películas sobre superficies de níquel o que contienen Ni metálico^[156, 337]. En ambos casos, por regla general, la formación de NiHCF se logra mediante voltamperometría cíclica o aplicando un potencial de oxidación constante al electrodo sumergido en una disolución de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Lo habitual en estos casos es la formación de películas del complejo NiHCF sobre las superficies de Ni metálico. En el procedimiento desarrollado en esta tesis, se ha nanoestructurado la superficie recubierta por Ni metálico, y por tanto la formación

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

del complejo se produce en una superficie de Ni metálico discontinua, con dominios de tamaños en torno a unos pocos nanómetros. En la figura 142 pueden observarse los voltamperogramas sucesivos obtenidos durante el proceso de formación de NiHCF sobre electrodos modificados con nanopartículas de níquel metálico (Ni/GC y Ni/Au).

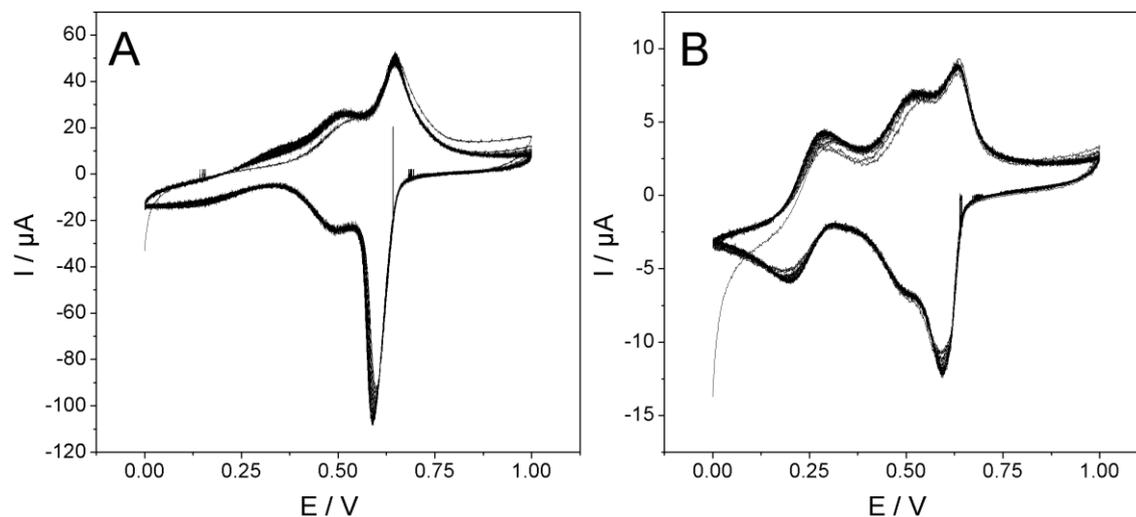


Figura 142-Voltamperogramas sucesivos de la formación de NiHCF sobre electrodos modificados con nanopartículas de níquel metálico Ni/GC (A) y Ni/Au (B) en $K_3[Fe(CN)_6]$ 1 mM en 0.1 M KNO_3 a 100 mV/s.

Como se observa en los voltamperogramas se produce un aumento de la corriente durante los barridos sucesivos en los pares redox detectados. El par redox que aparece en primer lugar a +0.20 V corresponde al sistema Fe^{2+}/Fe^{3+} , característico de la disolución de $K_3[Fe(CN)_6]$. Tras este primer par redox se observan dos procesos a 0.48 V y 0.60 V correspondientes a la especie formada NiHCF. Estos picos se asignarán posteriormente en el apartado dedicado a la caracterización electroquímica del complejo NiHCF en superficies electródicas. El aumento de intensidad no es muy elevado, ello es debido a que prácticamente en el primer barrido se forma todo el complejo NiHCF posible, como se evidencia de la capa de nanopartículas de Ni metálico que recubre la superficie electródica, y la cual reacciona inmediatamente al ser oxidado electroquímicamente para formar el complejo NiHCF.

2. Caracterización de la superficie de los electrodos modificados con Ni metálico y NiHCF.

Con el objetivo de analizar las superficies modificadas con el complejo NiHCF generado, se ha llevado a cabo el estudio mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) de electrodos planos de Au (placas AFM Au) modificados con la metodología descrita en el apartado 3.2.7 de Materiales y Métodos.

2.1. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM).

Las superficies de Au modificadas con las nanopartículas de Ni metálico y con el complejo de NiHCF se analizaron en primer lugar por FE-SEM, con el objetivo de visualizar las nanoestructuras o agregados de las mismas generadas en superficie. Al mismo tiempo, y gracias a los análisis de zonas localizadas por energía dispersiva de rayos X (EDX), se puede tener cierta idea semi-cuantitativa de la composición de las mismas.

En la figura 143, pueden observarse imágenes obtenidas por FE-SEM de la superficie de Au modificadas con Ni metálico. Como puede observarse la estructura de nanopartículas aglomeradas sobre la superficie con aspecto de material poroso es muy similar a la obtenida en el paso previo de formación de nanopartículas de Ni(OH)₂ (capítulo II apartado 2.3.1). Esto indicaría que el proceso de reducción de Ni(OH)₂ a Ni metálico no modifica la nanoestructura y por tanto obtenemos nanopartículas de Ni metálico disponibles para la posterior formación del complejo NiHCF, de forma que la nanoestructura sirve de molde para la formación de nanomateriales del mismo. Dado que la visualización de la superficie una vez formado el Ni, se hizo tras un tiempo después de su preparación, es posible que en realidad se observe el producto de oxidación al aire del níquel metálico dada la presencia de O₂, es decir, se observan óxidos de níquel. Este fenómeno en principio no debería producir grandes alteraciones en la nanoestructura del níquel metálico, ya que únicamente reaccionarían unas pocas capas de átomos de la superficie de Ni metálico con el O₂ de la atmósfera, generando una fina capa de óxidos. Aun así, para minimizar la formación de esta fina capa de óxidos durante la modificación de electrodos, una vez formado el níquel metálico se sumergió el

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

electrodo en una disolución de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1 mM/ KNO_3 0.1 M desoxigenada con Ar. Los electrodos analizados por microscopía electrónica de barrido y EDX que se emplearon para caracterizar la superficie de níquel metálico no se pudieron sumergir en esta disolución, dado que se modificaba la composición del mismo, es por ello que el análisis por EDX de los electrodos indica la presencia tanto de átomos de níquel como de oxígeno, junto con otros elementos como N y C provenientes de restos del disolvente empleado (acetonitrilo), así como pequeñas cantidades de Cl, atribuibles al electrolito soporte que contiene percloratos.

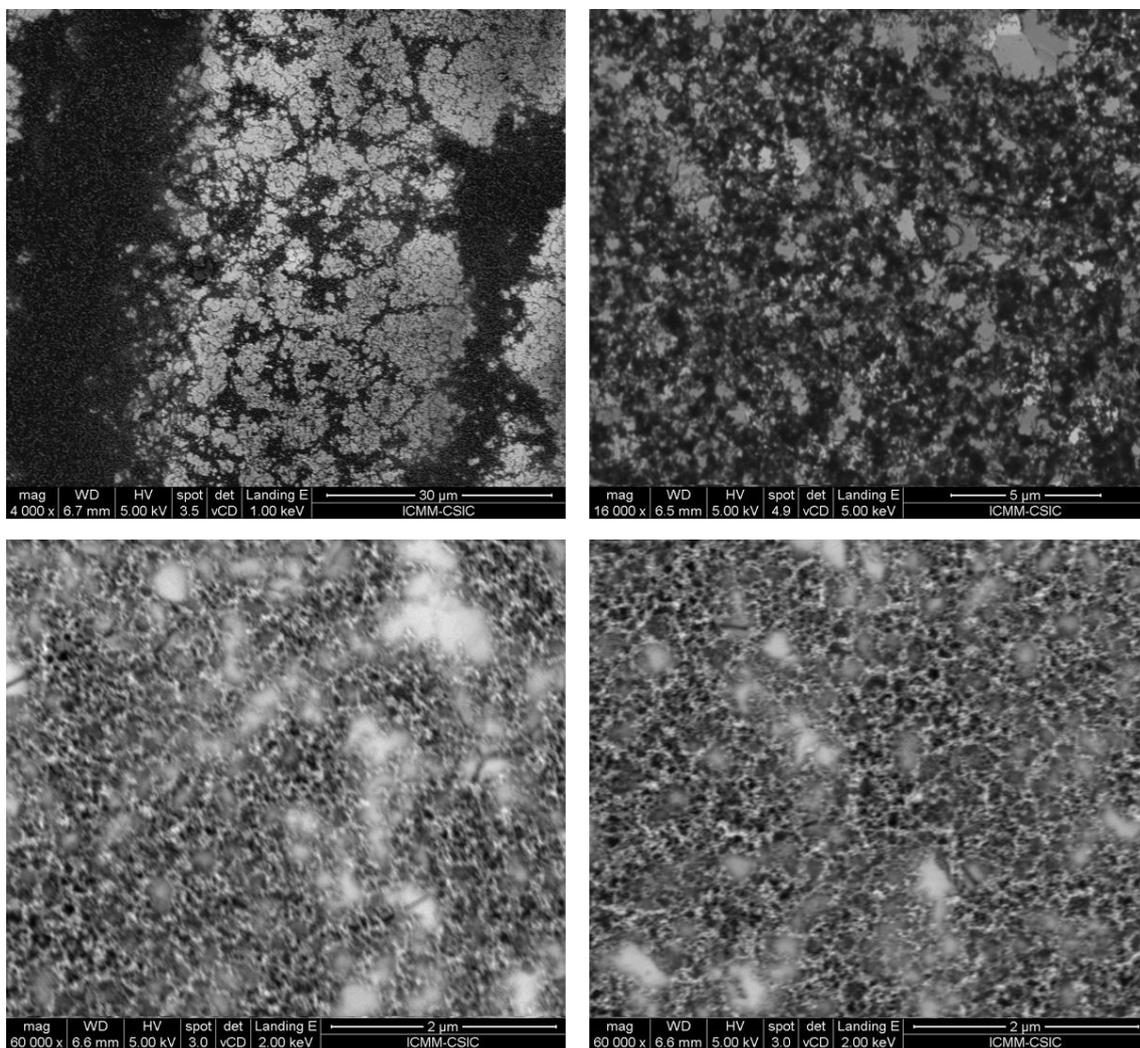


Figura 143-Imágenes FE-SEM con ultra-alto vacío obtenidas a partir de superficies de Au modificadas con Ni metálico.

También se estudiaron por FE-SEM superficies de Au modificadas con el complejo NiHCF y se analizaron por EDX determinadas regiones de la superficie donde se apreciaba la formación del compuesto. En la figura 144 pueden observarse en detalle las fotografías obtenidas por FE-SEM. Como se puede apreciar, desaparece gran parte del material rugoso que se podía ver en el paso anterior y comienza a verse un tenue recubrimiento sobre las terrazas de Au, con una textura granulada, presumiblemente debido a nanopartículas de NiHCF formadas sobre la superficie.

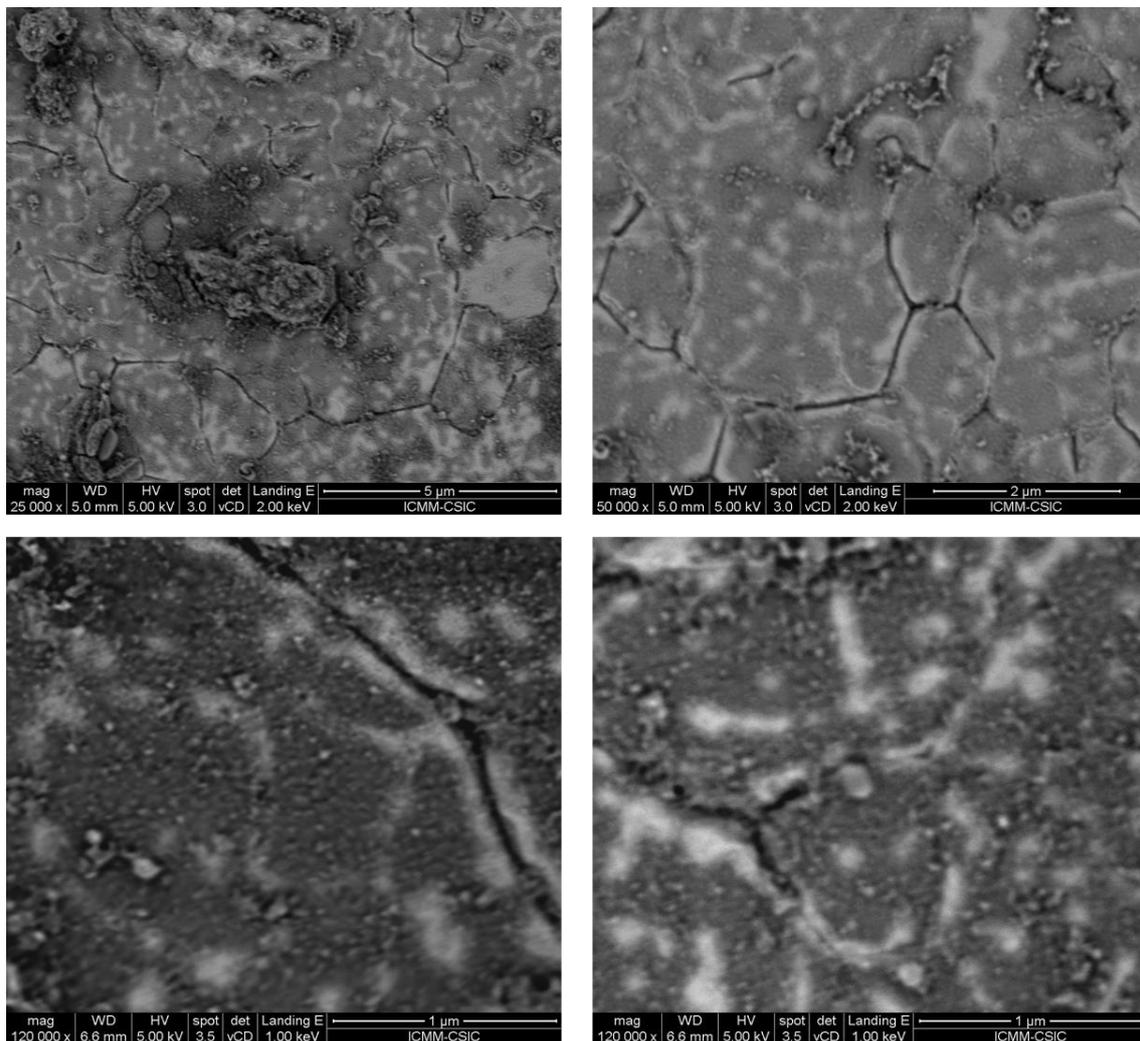


Figura 144- Imágenes FE-SEM con ultra-alto vacío obtenidas a partir de superficies de Au modificadas con NiHCF.

También se analizaron regiones recubiertas por el complejo mediante EDX para ver su composición, los resultados se muestran en la tabla XX. En ella se puede ver que la

proporción entre Fe y Ni es de 1:1, lo cual es acorde con la composición del complejo NiHCF. Además la concentración de N y C es elevada, como sería de esperar en base a la composición del NiHCF. Sin embargo las proporciones estequiométricas de estos elementos no concuerdan exactamente con las que corresponden al complejo NiHCF. Como ya se ha comentado, la técnica de EDX solamente ofrece resultados semi-cuantitativos y poco precisos, siendo la imprecisión mayor en átomos de poco peso atómico como N y C. El oxígeno presente puede ser debido simplemente a que se haya adsorbido de la atmósfera, mientras que Cl puede ser contaminación, aunque la cantidad detectada no es significativa estando en torno al límite de detección.

Tabla XX- Porcentaje atómico y proporción estequiométrica obtenidos por EDX de NiHCF.

Elemento	% Atómico	Estequiometría
C	45.46	8
N	24.95	3
O	10.72	1
Fe	9.64	1
Ni	8.38	1
Cl	0.84	0

2.2. Microscopía de fuerza atómica (AFM).

Se obtuvieron también imágenes por microscopía de fuerza atómica (AFM) con el objetivo de obtener una información más detallada de la morfología de la nanoestructura que se forma durante el proceso de modificación electródica.

En la figura 145 puede observarse una de las imágenes obtenidas de las superficies modificadas con Ni metálico, así como ampliaciones de ciertas regiones y un perfil de alturas para estudiar el tamaño de las nanopartículas formadas.

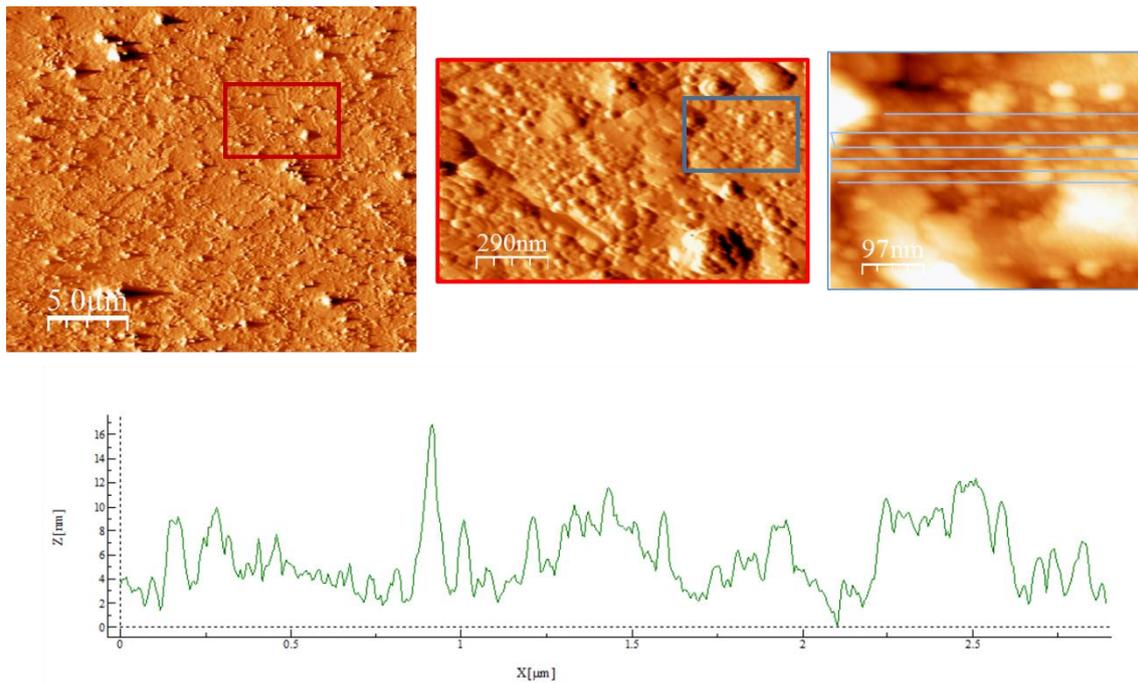


Figura 145-Imágenes AFM y perfil de altura de una superficie de Au modificada con Ni metálico.

Como puede observarse las nanopartículas se distribuyen de manera homogénea por la superficie analizada. También pueden observarse cúmulos de nanopartículas que se aglomeran en determinadas regiones de la superficie. Con respecto al tamaño, si se observa el perfil de alturas, hay muchas nanopartículas de 2 nm de altura, aunque también se distinguen cúmulos de ellas que pueden alcanzar una altura de hasta 16 nm. Toda la superficie aparece cubierta por las nanopartículas de manera que esta adquiere una gran rugosidad, es decir que se forma un material con gran cantidad de intersticios y superficie específica que favorecerá en gran medida el contacto de los centros metálicos de Ni con los iones del complejo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+}$, permitiendo con el tratamiento electroquímico apropiado formar el complejo de NiHCF.

También han sido analizadas por AFM placas modificadas con el complejo NiHCF. La figura 146 muestra imágenes en las que se observa el recubrimiento de las superficies electródicas por el material. Se distinguen nanopartículas del material o cúmulos del mismo de una altura en torno a 10-15 nm según el perfil de alturas, también se aprecian nanopartículas de menor tamaño.

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

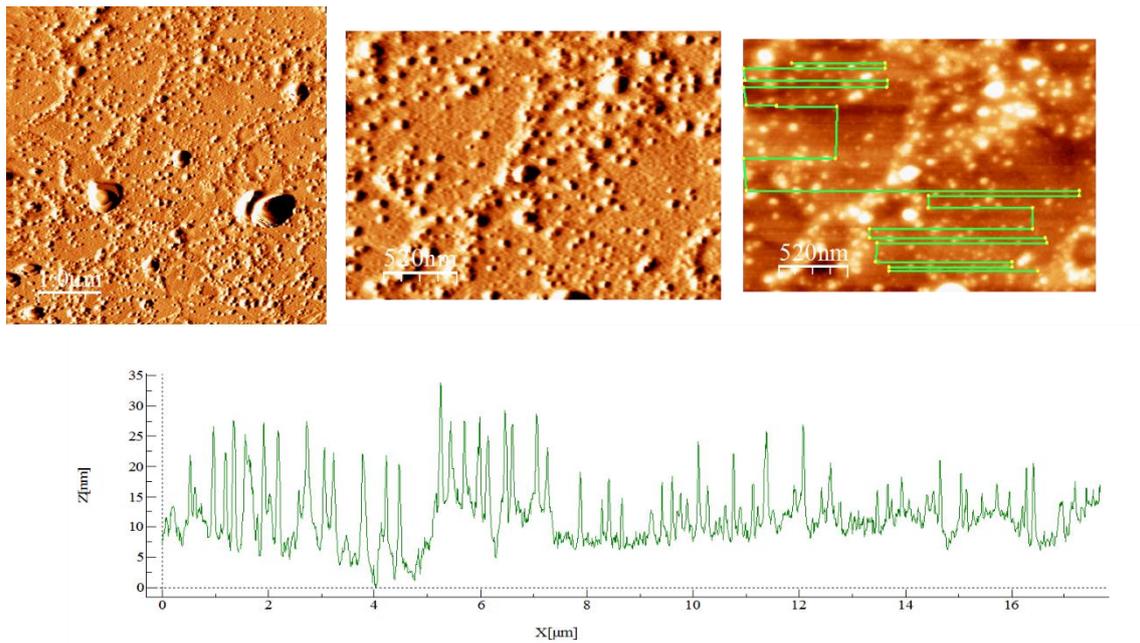


Figura 146- Imágenes de AFM y perfil de altura de una superficie de Au modificada con NiHCF.

En la figura 147 puede apreciarse con más detalle la distribución de nanopartículas y aglomerados. Se distinguen nanoestructuras, que como se puede comprobar, tienen variabilidad de alturas dado las distintas acumulaciones de nanopartículas.

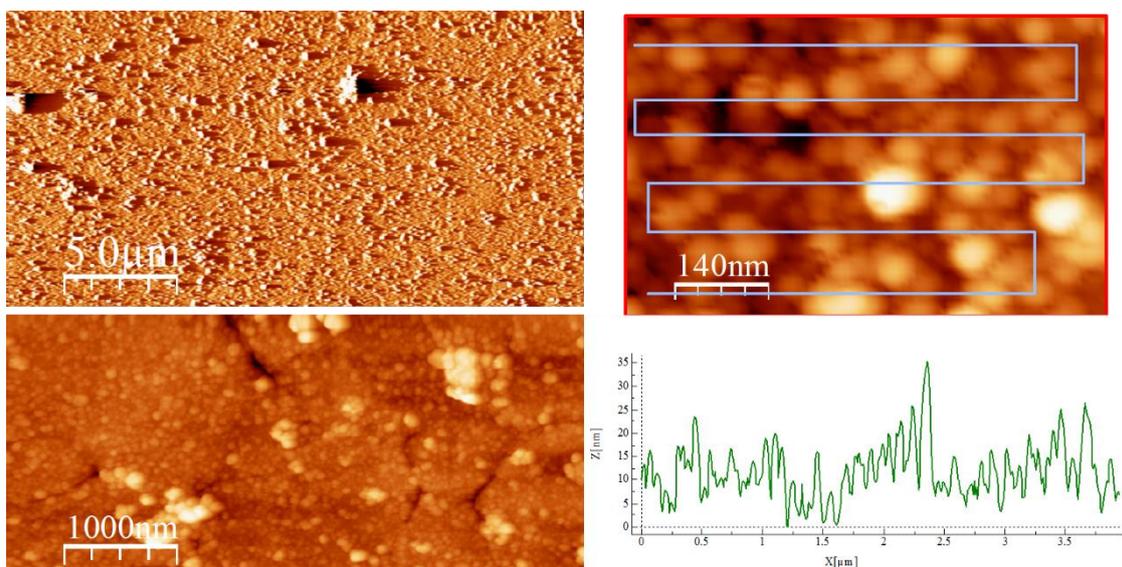


Figura 147- Imágenes de AFM y perfil de altura de una superficie de Au modificada con NiHCF.

Sin embargo, dado el alto grado de acumulación no es posible determinar el tamaño mínimo de las nanoestructuras formadas. Por ello se realizó un análisis más detallado en una región menos poblada. En la figura 148 se puede observar como los perfiles de nanopartículas individuales muestran alturas de unos pocos nanómetros (4-6 nm), mientras que la anchura de las mismas puede oscilar entre los 20-60 nm. Estas dimensiones son muy similares (algo mayores) a las obtenidas en el caso de las nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ (capítulo II apartado 2.3.3). Esto permite concluir que la nanoestructura de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ obtenida está condicionando o modulando la nanoestructura del complejo de NiHCF formado posteriormente, lo cual era el objetivo inicial, pudiéndose obtener por tanto nanoestructuras de un complejo, que por regla general se obtiene en forma de películas sobre superficies electródicas, gracias a la nanoestructura generada previamente para uno de sus precursores, en este caso el Ni metálico.

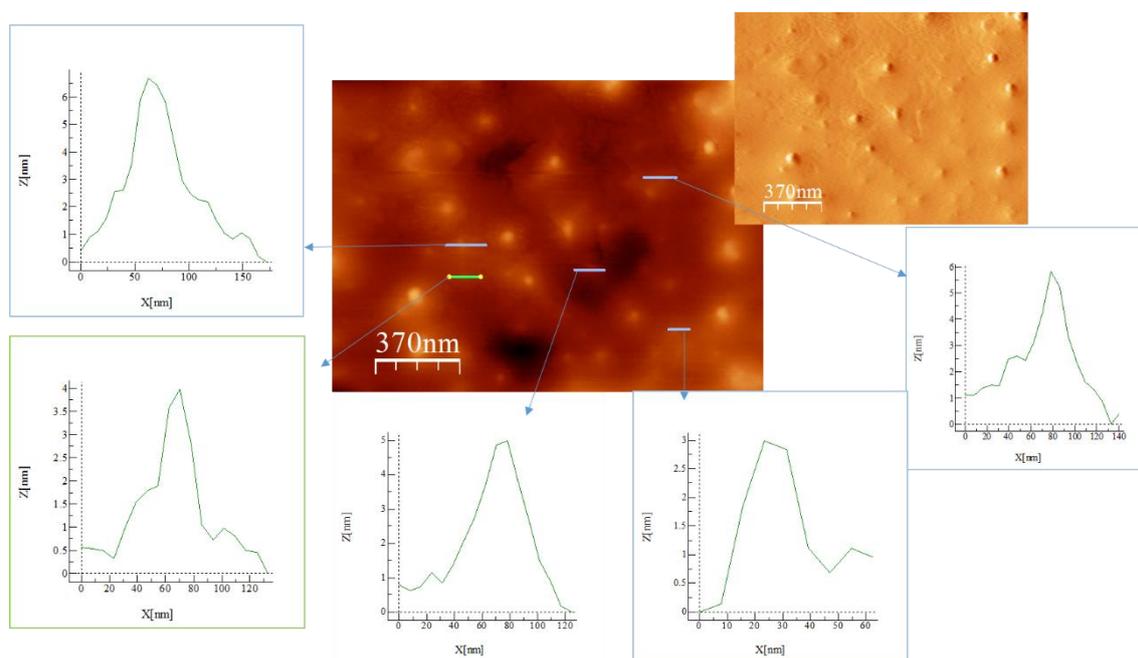


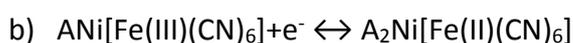
Figura 148- Imágenes de AFM y perfiles de altura de una superficie de Au modificada con NiHCF (región con menor cantidad de material acumulado).

3. Comportamiento electroquímico de los electrodos modificados con NiHCF.

Se estudió el comportamiento electroquímico de los electrodos modificados con NiHCF en distintos disolventes y electrolitos, mediante voltamperometría cíclica. Se estudió la influencia de la velocidad de barrido, se calculó la constante de transferencia de carga heterogénea así como el coeficiente de transferencia carga. Finalmente, se aplicaron barridos cíclicos de potencial sucesivos a 50 mV/s, simulando lo que serían los procesos de carga y descargas de un condensador para evaluar la estabilidad de los supercapacitores preparados.

3.1. Medio acuoso.

En primer lugar se estudió la respuesta de los electrodos de NiHCF en medio acuoso en disoluciones de sales neutras de metales alcalinos. Ello es debido a las ventajas que presentan los supercapacitores que funcionan en estos medios, ya que son mucho más baratos y seguros que los que usan disolvente orgánicos. Además las disoluciones acuosas neutras reducirán la corrosión de los elementos que constituyen el supercapacitor. Se utilizaron disoluciones acuosas de sales de nitrato de cationes alcalinos (LiNO_3 , NaNO_3 y KNO_3) 0.1 M. En la figura 149 se puede ver el comportamiento de los electrodos de carbón vítreo modificados con NiHCF en los distintos electrolitos ensayados. A velocidades de barrido de potencial entre 10 mV/s y 100 mV/s se observan 2 pares redox, con potenciales formales que dependen del catión presente en el electrolito atribuidos a los siguientes procesos:



Los potenciales formales de los pares redox se desplazan en función del catión alcalino en disolución. Estos procesos son consecuencia de la formación de distintas estequiometrias o entornos de coordinación del átomo de níquel del complejo NiHCF (mostrados en las ecuaciones a) y b)), lo que es debido a distintos tipos de intercalación del catión alcalino^[353]. En el caso del catión potasio los dos pares redox salen a +0.45 V

y 0.60 V. En el caso del sodio estos procesos aparecen a potenciales muy próximos de 0.33 V y 0.40 V, no pudiendo distinguirse claramente cada uno de los picos al solaparse. Finalmente en el caso del litio estos procesos producen pares redox a 0.12 V y 0.37 V menos intensos que en los casos anteriores, lo que puede indicar que no se acumulan tantos cationes en los intersticios de la red cristalina, debido a que el tamaño del catión litio no se ajusta del mismo modo que lo pueden hacer los cationes de K^+ y Na^+ .

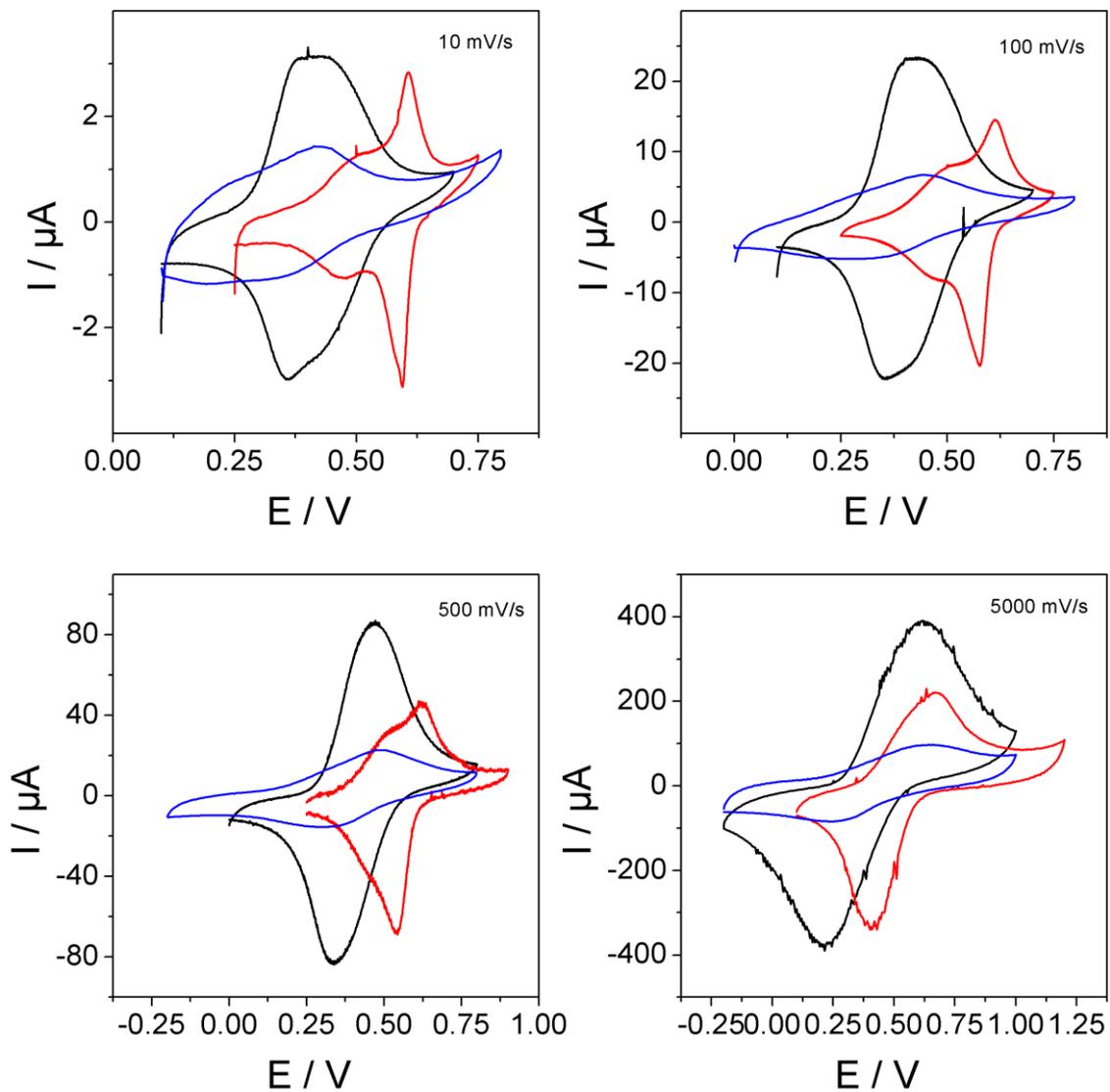


Figura 149-Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con un electrodo NiHCF/GC en disoluciones de $NaNO_3$ (negro), KNO_3 (rojo) y $LiNO_3$ (azul) 0.1

M.

Los electrodos de oro modificados con NiHCF muestran comportamientos muy similares que se pueden observar en la figura 150.

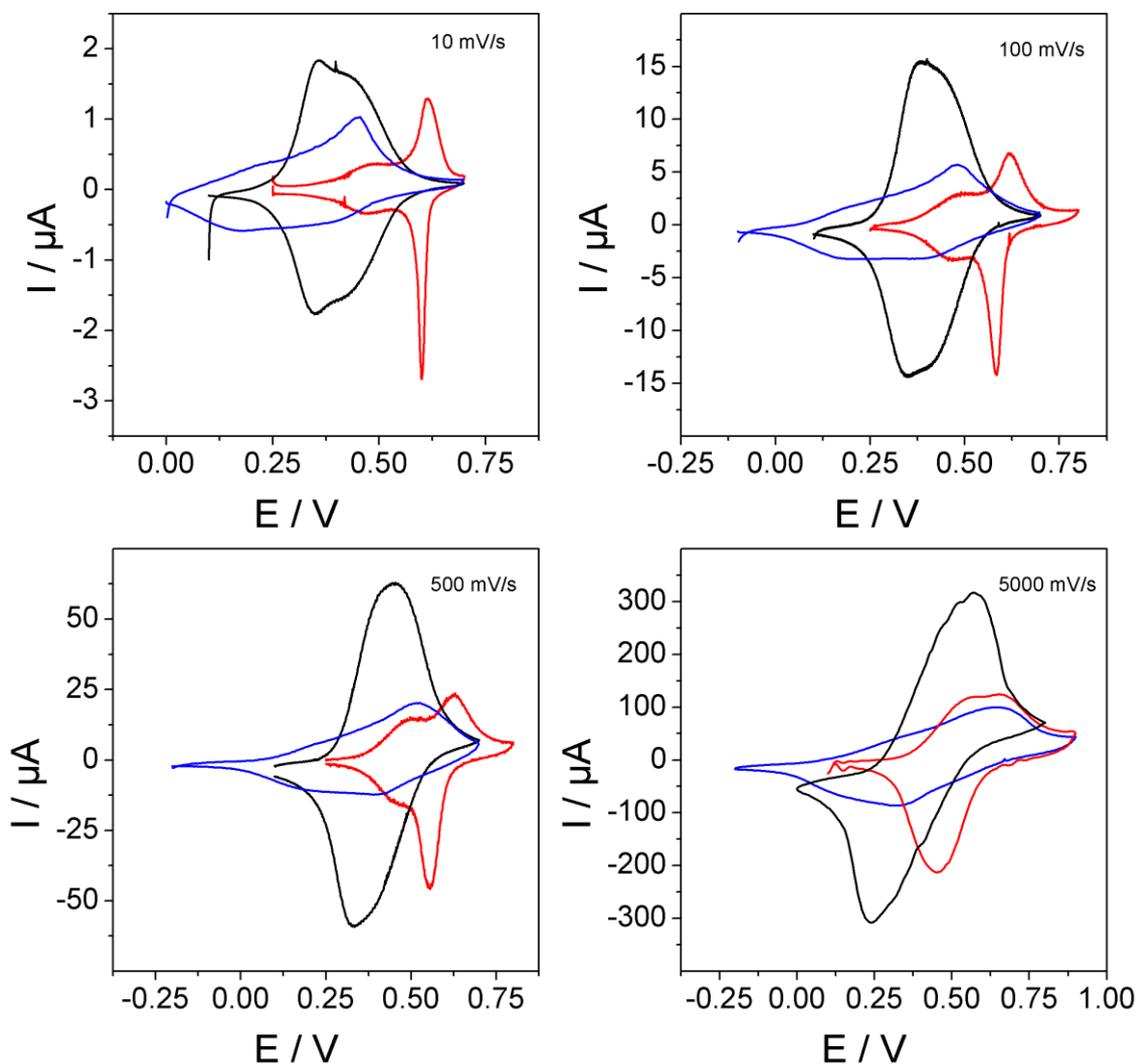


Figura 150- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con un electrodo NiHCF/Au en disoluciones de NaNO_3 (negro), KNO_3 (rojo) y LiNO_3 (azul) 0.1 M.

El comportamiento en ambas superficies electródicas es muy similar no observándose cambios significativos en función del material electródico, siendo por tanto los procesos redox observados debidos al complejo NiHCF.

Con el fin de conocer si existía alguna influencia del anión en el proceso, se realizó el mismo estudio anterior utilizando sales de perclorato en lugar de nitrato. En la figura 151 se muestra el comportamiento de un electrodo NiHCF/GC en disoluciones de sales

de perclorato. Los resultados tanto con electrodos GC como de Au fueron los mismos que los anteriormente descritos, no observándose cambios significativos en los voltamperogramas. Sí se aprecia un ligero aumento de la intensidad de los picos, hecho que puede ser atribuido a la variabilidad en el proceso de modificación de los electrodos.

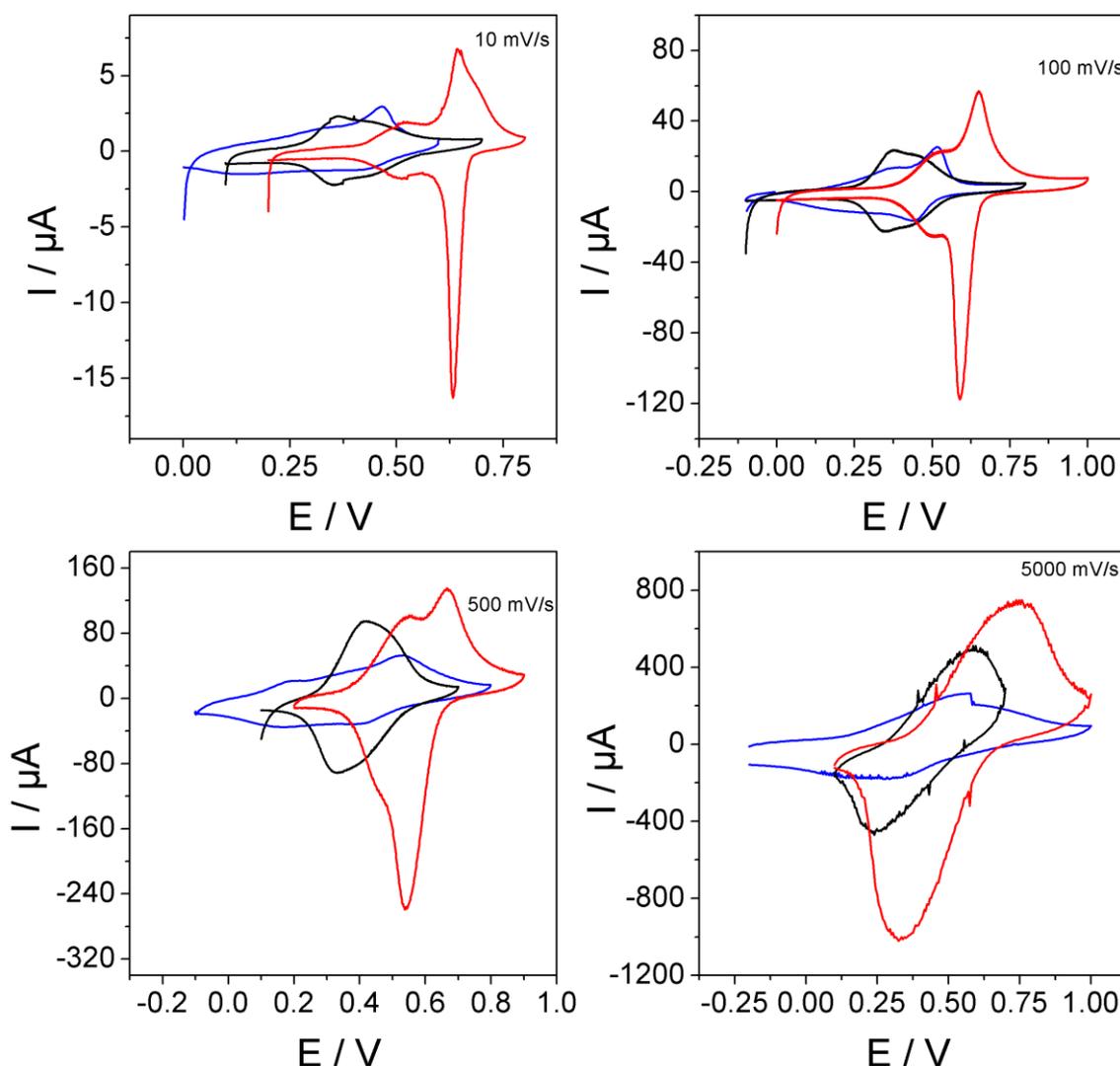


Figura 151-Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido de electrodos NiHCF/GC en de NaClO_4 (negro), KClO_4 (rojo) y LiClO_4 (azul) 0.1 M.

Mediante el método de Laviron^[171] se calcularon entonces las constantes de transferencia de carga heterogénea (k_s), así como el coeficiente de transferencia de carga (α) para los distintos electrodos modificados (NiHCF/GC y NiHCF/Au) en las distintas disoluciones de sales de metales alcalinos tanto de nitratos como de percloratos. En la tabla XXI se recogen los valores obtenidos. Los resultados muestran

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

que se trata de procesos muy reversibles, con valores dentro de lo habitual para α próximos a 0.5 y constantes heterogéneas de transferencia de carga altas, lo cual indica que la transferencia electrónica entre el material electródico (GC o Au) y el nanomaterial sintetizado del complejo NiHCF están intercambiando electrones fácilmente.

Tabla XXI-Coeficiente de transferencia carga (α) y constante de transferencia de carga heterogénea (k_s) obtenidas a partir de estudios de velocidad de barrido de potencial de los distintos electrodos en las diferentes disoluciones de metales alcalinos, mediante el método de Laviron.

	NiHCF/GC		NiHCF/Au	
	k_s (s^{-1})	α	k_s (s^{-1})	α
LiNO₃	29.0	0.49	32.1	0.64
LiClO₄	26.4	0.39	25.3	0.53
NaNO₃	23.0	0.54	15.2	0.468
NaClO₄	29.6	0.49	19.4	0.52
KNO₃	16.5	0.407	39.6	0.63
KClO₄	29.5	0.62	26.4	0.43

Se ha estudiado también la relación de la intensidad de corriente de pico anódico y catódico con respecto a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial. Como ejemplo en la figura 152 se muestran las representaciones intensidad de corriente de pico anódico y catódico frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial ($I_p/v^{1/2}$) obtenidas para el electrodo de NiHCF/GC en disoluciones de sales de perclorato, comprobándose que en todos los casos existe una relación lineal, lo cual indica que en el proceso existe una componente difusional. Esta componente difusional es debida a la intervención en los procesos electroquímicos de los cationes alcalinos que se encuentran en el seno de la disolución, los cuales difunden hasta la superficie electródica cuando ocurren los procesos de oxidación/reducción. Esto también se puede

comprobar viendo la influencia de la concentración del electrolito soporte, que es el que aporta estos cationes. En la figura 153 puede verse como cambia la voltamperometría cíclica al cambiar la concentración del electrolito. Tanto la intensidad como la simetría de los voltamperogramas aumenta al aumentar la concentración de electrolito lo cual es signo de la clara influencia que ejerce en el proceso redox que se está siguiendo.

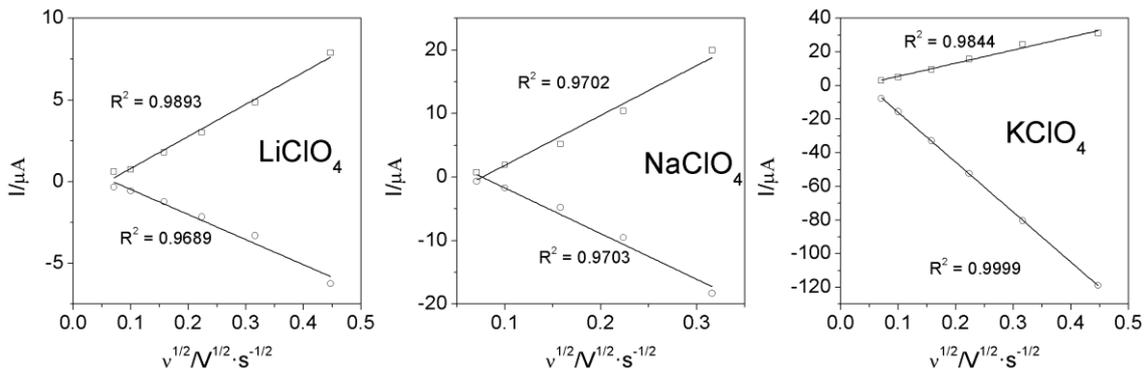


Figura 152- Representaciones de la intensidad de corriente de pico anódico y catódico frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial ($I_p/v^{1/2}$) obtenidas para el electrodo NiHCF/GC en disoluciones 0.1 M de LiClO_4 , NaClO_4 y KClO_4 .

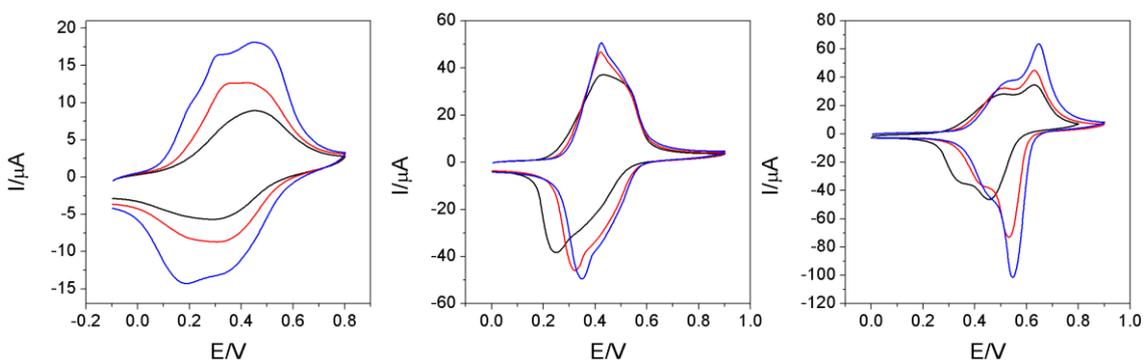


Figura 153-Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo NiHCF/GC en disoluciones de LiClO_4 , NaClO_4 y KClO_4 de distintas concentraciones 0.01 M (negro), 0.05 M (rojo) y 0.1 M (azul) a 100 mV/s.

Se ha determinado el coeficiente de difusión de estos cationes mediante cronoculombimetría en los diferentes electrolitos. Se ha aplicado un potencial suficientemente positivo para sobrepasar el pico de oxidación del complejo NiHCF en cada uno de los cationes alcalinos y se ha registrado la carga con respecto al tiempo. A partir de la ecuación de Cottrell integrada con respecto al tiempo (ecuación (6) de

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

Materiales y Métodos) se obtuvieron los coeficientes de difusión de los distintos cationes. Los resultados se recogen en la tabla XXII. Los valores obtenidos son muy inferiores a los encontrados en la bibliografía para estos cationes en disolución^[354], lo cual, como era de esperar, indica que en la superficie electródica modificada con el complejo NiHCF, los cationes difunden de manera mucho más lenta.

Tabla XXII- Coeficientes de difusión a través del complejo NiHCF calculados para los distintos cationes con electrodo NiHCF/GC a partir de disoluciones de LiClO₄, NaClO₄ y KClO₄ 0.1 M. Comparación con valores de coeficiente de difusión en disolución de cada uno de los cationes.

Cación	Coeficiente de Difusión a través del complejo NiHCF en la superficie electródica	Coeficiente de Difusión en disolución
	$D_{\text{eff}} (10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s})$	$D_{\text{eff}} (10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s})^{[354]}$
Li ⁺	1.2	600
Na ⁺	2.7	910
K ⁺	5.4	1100

Con el objetivo de comprobar la viabilidad del uso de electrodos modificados con nanopartículas de NiHCF como supercapacitores, se han aplicado barridos cíclicos de potencial sucesivos, emulando los ciclos de carga y descarga que han de soportar estos dispositivos. Además de otras cualidades que se comentarán más adelante, una cualidad importante que han de mostrar los electrodos, para ser considerado buenos supercapacitores, es que su respuesta voltamperométrica sea estable, es decir que durante los procesos de carga y descarga la cantidad de energía que almacenan y liberan sea constante, durante un número de ciclos suficientemente elevado que proporcione una larga vida útil al dispositivo. En la figura 154 se muestran los voltamperogramas cíclicos sucesivos de un electrodo NiHCF/GC en tres electrolitos de sales de cationes alcalinos de perclorato. Como podemos comprobar en ningún de los tres electrolitos probados el electrodo NiHCF/GC es estable y la intensidad de los picos va descendiendo

tras los sucesivos ciclos de potencial aplicado. El número de ciclos que habitualmente se suelen aplicar a estos materiales para ver su viabilidad como supercapacitores están en torno a unos 10000 ciclos de carga y descarga. Por tanto, el NiHCF generado no sería efectivo. Esto puede ser debido a que se disuelve, como sucede con otras formas del complejo NiHCF nanoestructurado atendiendo a lo publicado en la bibliografía^[346-348].

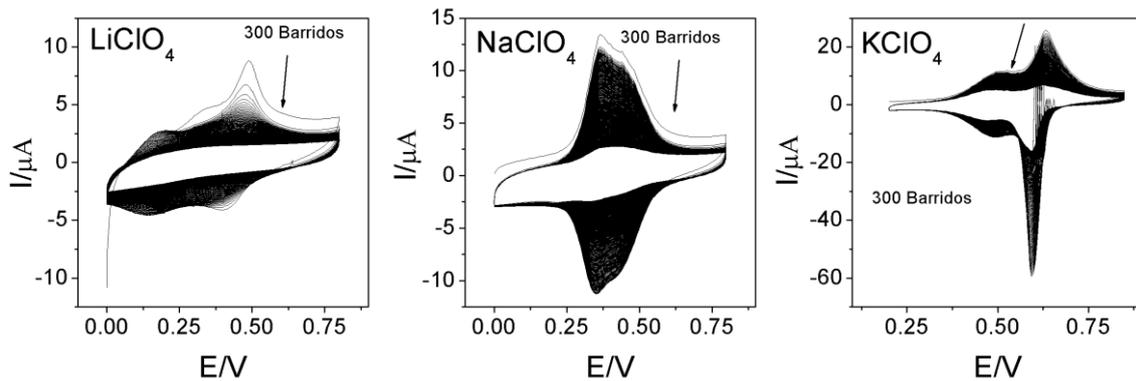


Figura 154-Voltamperogramas cíclicos sucesivos con un electrodo NiHCF/GC en 0.1 M de LiClO_4 , NaClO_4 y KClO_4 a 50 mV/s.

Del mismo modo se probaron electrodos NiHCF/Au. Ocurriendo lo mismo en un tipo diferente de superficie electrónica (figura 155). Al igual que en el caso anterior, no es buena la estabilidad del complejo NiHCF, lo cual indica que el electrodo modificado por el método desarrollado, no es adecuado para ser utilizado para la fabricación de supercapacitores.

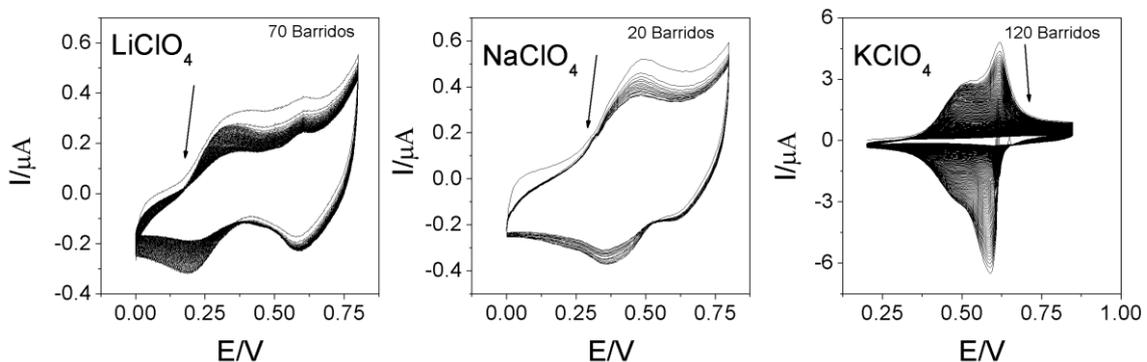


Figura 155-Voltamperogramas cíclicos sucesivos con un electrodo NiHCF/Au en 0.1 M de LiClO_4 , NaClO_4 y KClO_4 a 50 mV/s.

3.1.1. Caracterización del proceso mediante espectroscopía RAMAN acoplada a medidas electroquímicas.

Con el objetivo de obtener más información acerca del proceso redox que sufre sobre la superficie del electrodo el complejo NiHCF, se procedió a estudiar simultáneamente mediante voltamperometría cíclica y espectroscopía RAMAN el comportamiento electroquímico de las nanopartículas del complejo NiHCF.

Se registraron los espectros RAMAN simultáneos al aplicar al electrodo NiHCF/Au un barrido de voltamperometría cíclica en los distintos electrolitos soportes (LiClO_4 , NaClO_4 y KClO_4). Del mismo modo que en el capítulo II, los estudios simultáneos RAMAN/electroquímica, se realizaron con un electrodo de Au, que había sido previamente acondicionado, con el fin de generar nanopartículas de Au, las cuales propiciarían el efecto SERS, que potencia la intensidad de las bandas RAMAN. Por ello, en primer lugar y previamente a la modificación, el electrodo de Au se acondicionó siguiendo el protocolo descrito en el apartado 3.1 de Materiales y Métodos

A la hora de analizar los espectros se prestó especial atención a la región comprendida entre $2000\text{-}2300\text{ cm}^{-1}$ que es en la que aparece la vibración propia al grupo $\text{C}\equiv\text{N}$. Con este estudio se trataba de averiguar si la banda correspondiente a este grupo funcional sufría algún desplazamiento como consecuencia de la variación de la carga del $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ al ser oxidado/reducido mediante la voltamperometría cíclica. En la figura 156 puede observarse el voltamperograma cíclico obtenido a 2 mV/s en una disolución 0.1 M KClO_4 , así como los espectros RAMAN registrados simultáneamente. Antes de aplicar potencial al electrodo (espectro negro, circuito abierto) aparecen 2 bandas RAMAN a 2120 y 2180 cm^{-1} debidas a la vibración $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ ^[355-357]. Como se puede observar en el espectro de partida ya hay parte de los átomos de Fe del complejo NiHCF que se encuentran con estado de oxidación Fe^{3+} . A medida que aumenta el potencial aplicado no se producen cambios en los espectros RAMAN registrados hasta que se alcanza un potencial de 0.42 V donde comienza a oxidarse el Fe^{2+} a Fe^{3+} , entonces comienza a decrecer el pico a 2120 cm^{-1} , atribuido a la vibración de $\text{C}\equiv\text{N}$ que coordina Fe^{2+} y comienza a aumentar el pico a 2180 cm^{-1} atribuido a la vibración de $\text{C}\equiv\text{N}$ que coordina Fe^{3+} . La intensidad del pico continua aumentando frente al descenso del pico a 2120 cm^{-1} mientras los potenciales

son suficientemente positivos como para oxidar el Fe^{2+} a Fe^{3+} . El pico a 2120 cm^{-1} llega a desaparecer totalmente mientras que el pico a 2180 cm^{-1} se mantiene dado que no hay más Fe^{2+} que transformar en Fe^{3+} . Una posible explicación para el desplazamiento de esta vibración en función de la carga del átomo de Fe es que al oxidarse este a Fe^{3+} el triple enlace C≡N deslocaliza parte de su carga en el átomo de Fe^{3+} , más deficitario de electrones que el Fe^{2+} , afectando por tanto a la vibración del enlace, ya que este redistribuye su carga de electrones en función de la carga del metal. Conforme el potencial va haciéndose más negativo en el barrido de vuelta, se produce el proceso de reducción reversible al anterior, es decir la transformación de Fe^{3+} a Fe^{2+} , y se comienza a ver el efecto contrario, es decir el descenso del pico a 2180 cm^{-1} frente al aumento del pico a 2120 cm^{-1} . Sin embargo, la recuperación no es total, y queda una cantidad de Fe^{3+} remanente sobre la superficie del material, aunque en el voltamperograma parezca un proceso totalmente reversible, ya que las intensidades del pico de oxidación y reducción son similares. Esto puede ser una de las causas de por qué la intensidad de corriente decae tras aplicar barridos de potencial sucesivos. Procesos de atrapamiento de carga similares se han descritos en bibliografía de películas de diferentes materiales superpuestas sobre las superficies electródicas^[358]. Aunque en el presente caso el electrodo este modificado por un solo material, puede que ocurra un proceso similar. En este caso puede afectar que la especie oxidada Fe^{3+} , sea menos conductora y por tanto no esté tan favorecida la reducción del material que no está pegado directamente a la superficie electródica, sino que se encuentra sobre la misma especie, y por ello en el barrido de vuelta no se puede reducir por completo.

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

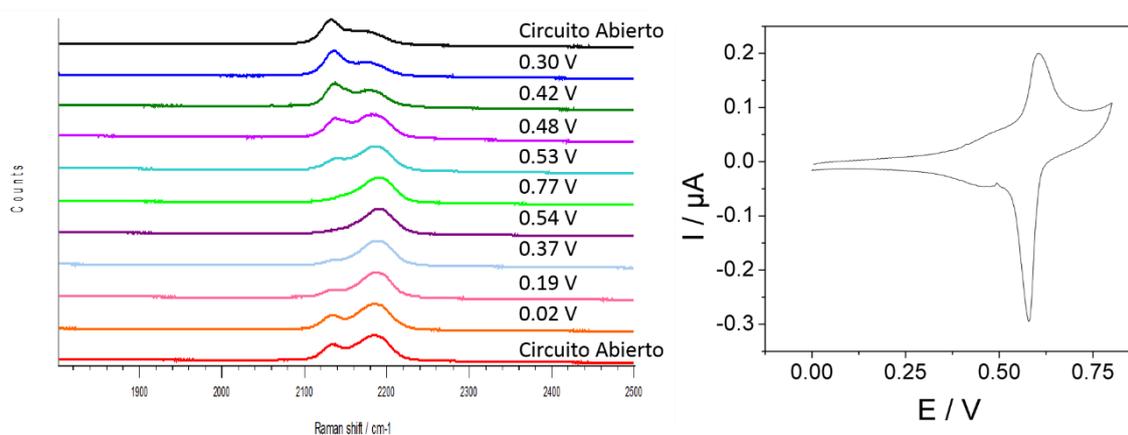


Figura 156-Espectros RAMAN y voltamperograma cíclico obtenidos simultáneamente sobre un electrodo NiHCF/Au en una disolución 0.1 M KClO₄ a 2mV/s.

Estudios similares se han realizado con otros electrolitos como LiClO₄ y NaClO₄, obteniéndose resultados idénticos como puede apreciarse en las figuras 157 y 158.

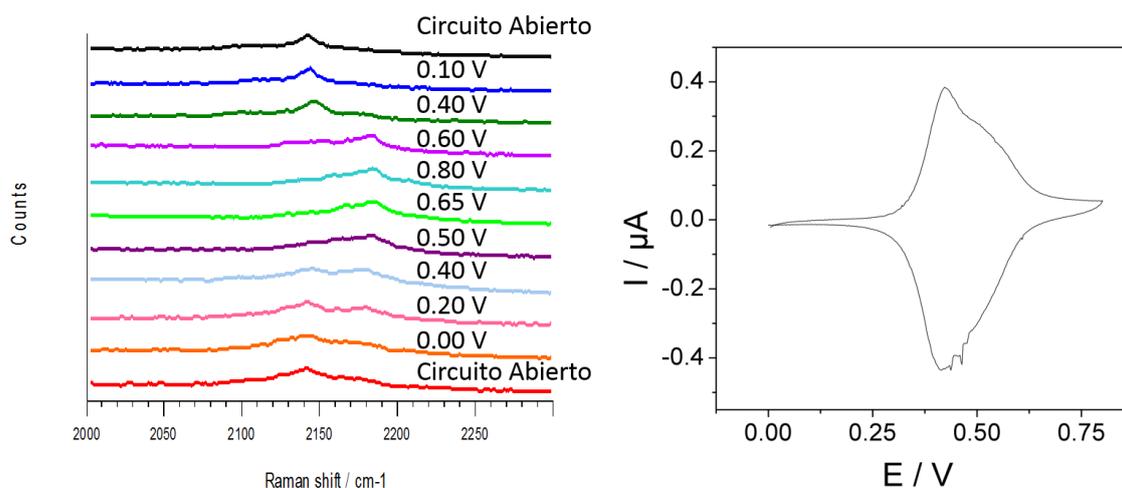


Figura 157- Espectros RAMAN y voltamperograma cíclico obtenidos simultáneamente sobre un electrodo NiHCF/Au en una disolución 0.1 M NaClO₄ a 2mV/s.

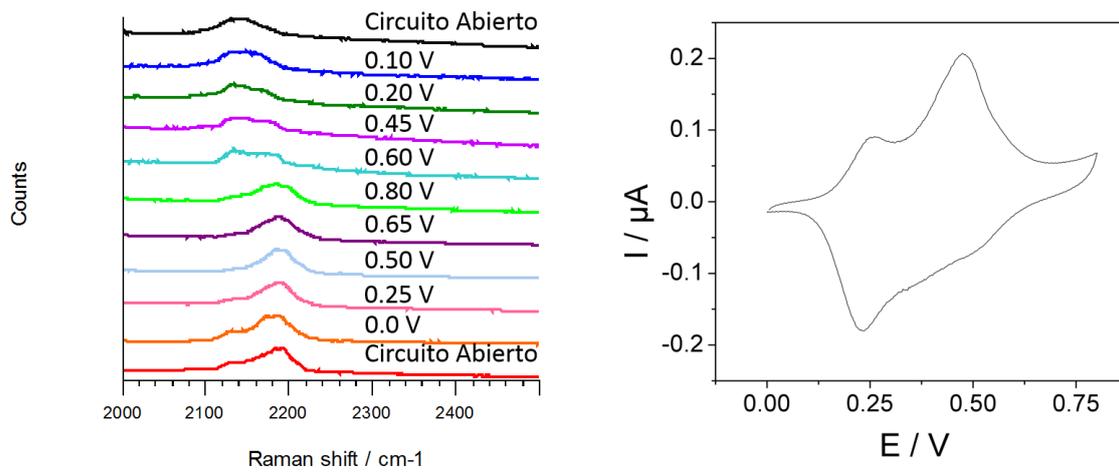


Figura 158- Espectros RAMAN y voltamperograma cíclico obtenidos simultáneamente sobre un electrodo NiHCF/Au en una disolución 0.1 M LiClO₄ a 2mV/s.

3.2. Medio orgánico CH₃CN/LiClO₄.

Con el objetivo de encontrar otros medios en los que el complejo de NiHCF fuera estable se estudió su comportamiento en medio orgánico y utilizando como electrolito soporte una sal que contuviese un catión metálico alcalino soluble en este medio, como el LiClO₄. Tanto el NaClO₄ como el KClO₄ son solubles en este disolvente.

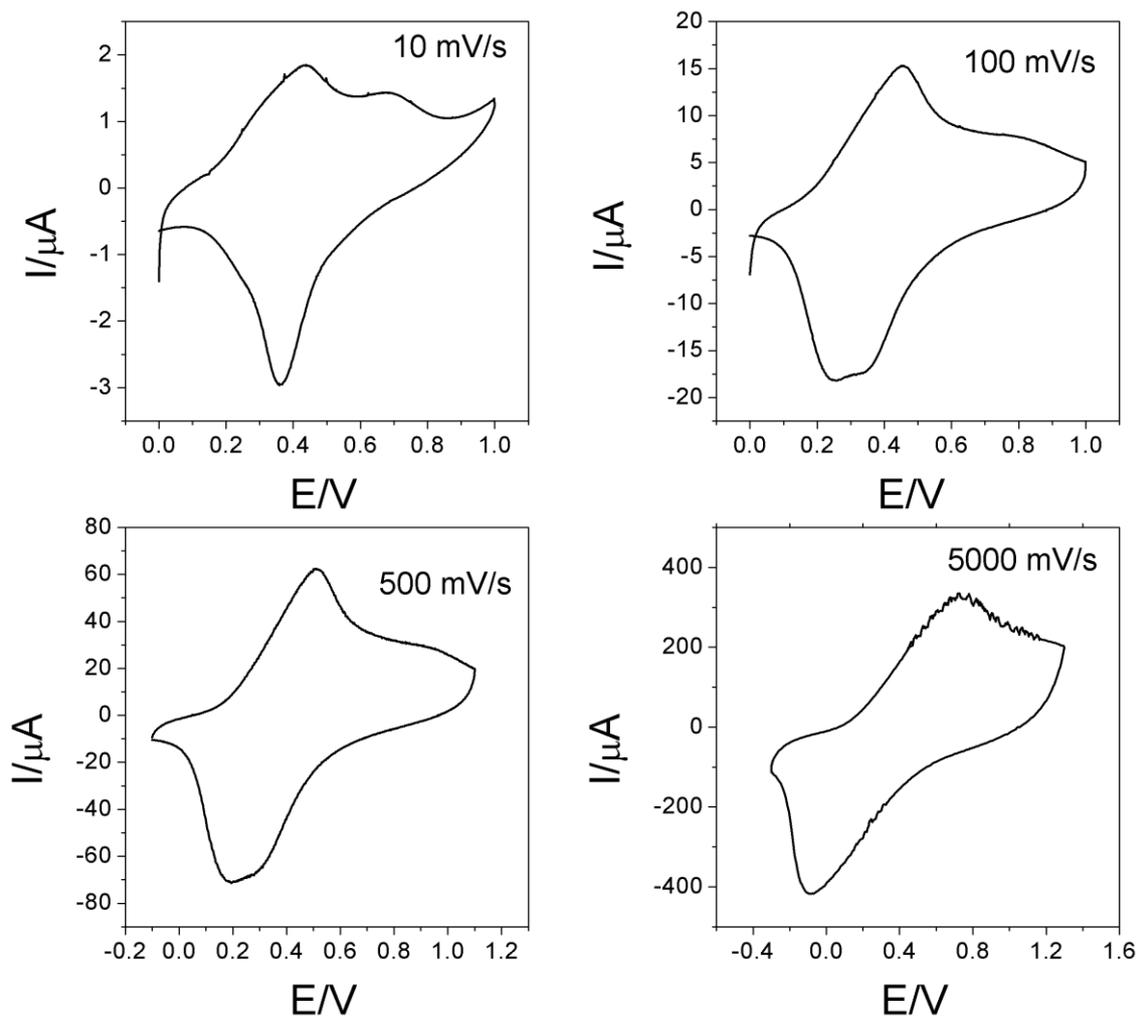


Figura 159- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con electrodos NiHCF/GC en LiClO₄ 0.1 M/CH₃CN.

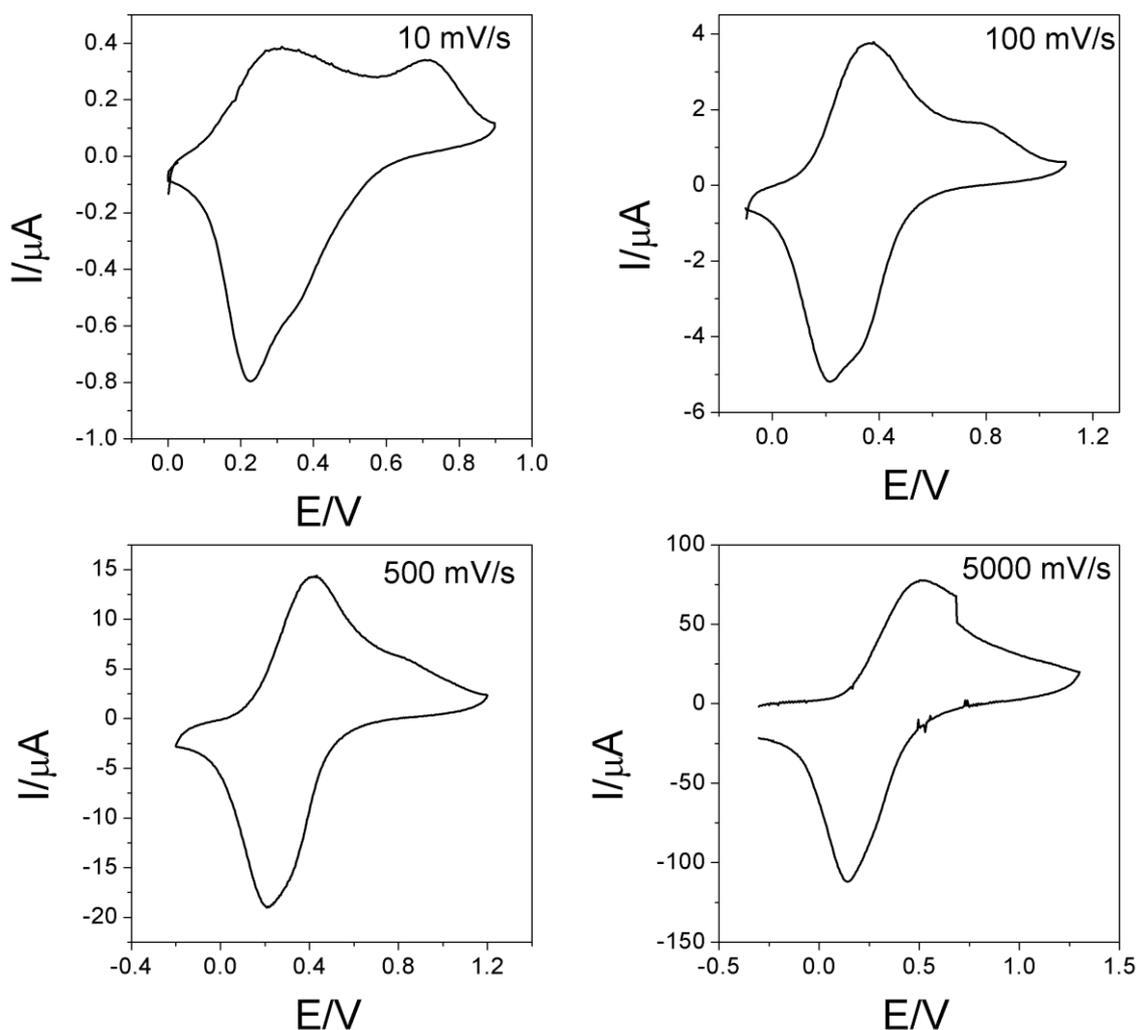


Figura 160- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con electrodos NiHCF/Au en LiClO_4 0.1 M / CH_3CN .

En la figura 159 y 160 pueden observarse los voltamperogramas registrados a distintas velocidades de barrido con los electrodos NiHCF/GC y NiHCF/Au en LiClO_4 0.1M / CH_3CN . Como se observa en ambos electrodos, a bajas velocidades de barrido se detectan dos procesos de oxidación/reducción, cuyos potenciales formales se encuentran en torno a +0.22 V y +0.60 V aproximadamente. Conforme aumenta la velocidad de barrido de potencial estos procesos se solapan observándose un solo pico debido a priori a limitaciones cinéticas producidas por el movimiento de los cationes de Li^+ en la estructura sólida del complejo NiHCF.

Como en el caso anterior en medio acuoso se obtuvieron el coeficiente de transferencia de carga (α) y la constante de transferencia electrónica heterogénea de carga (k_s). Los

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

valores obtenidos tanto para los electrodos de GC y de Au modificados estudiados se recogen en la tabla XXIII. Los valores de la constante de transferencia electrónica heterogénea (k_s) son inferiores a los sistemas en los que se empleó medio acuoso. Con respecto al coeficiente de transferencia (α) se pueden considerar dentro de la normalidad, valores ligeramente desviados de la idealidad de $\alpha=0.5$

Tabla XXIII-Coeficiente de transferencia electrónica (α) y constante de transferencia heterogénea (k_s) obtenidas a partir de estudios de velocidad de barrido de potencial de los distintos electrodos en LiClO_4 0.1M / CH_3CN , aplicando el método descrito por Laviron.

	NiHCF/GC		NiHCF/Au	
	k_s (s^{-1})	α	k_s (s^{-1})	α
$\text{LiClO}_4/\text{CH}_3\text{CN}$	17.4	0.66	19.4	0.39

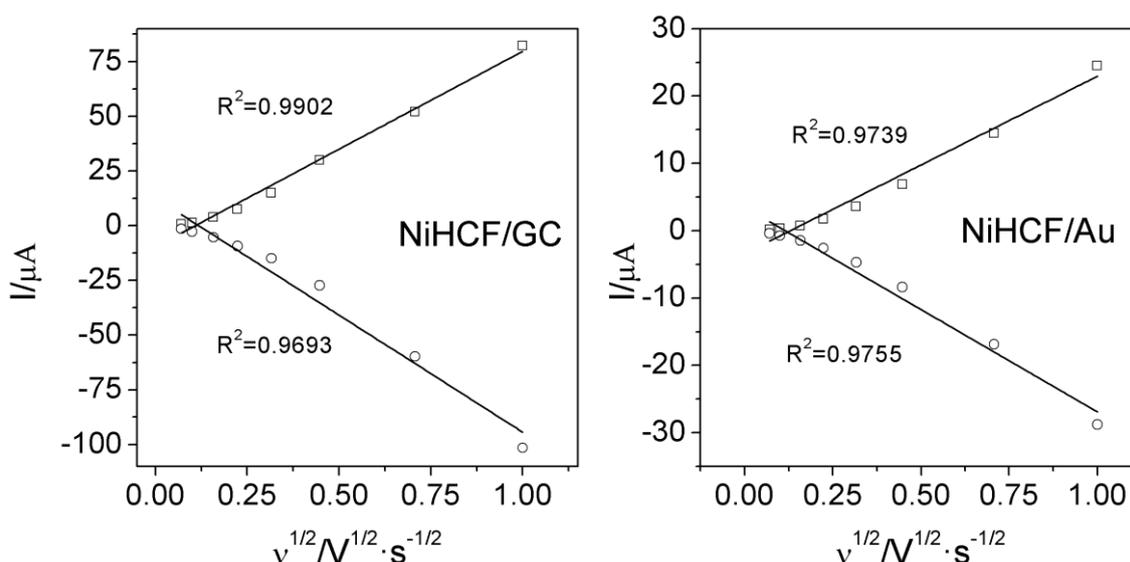


Figura 161- Representación de la intensidad de corriente de pico anódico y catódico frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial ($I_p/v^{1/2}$) obtenidas para el electrodo NiHCF/GC y NiHCF/Au en disoluciones LiClO_4 0.1M / CH_3CN .

En la figura 161 se comprueba que, al igual que en el caso de disoluciones acuosas, el proceso electroquímico tiene una fuerte componente difusional, ya que la intensidad de pico tanto anódico como catódico presenta buenos ajustes lineales con respecto a la raíz

cuadrada de la velocidad de barrido de potencial. Ello es debido a que en este medio orgánico también juegan un papel importante en el proceso redox los cationes alcalinos, en este caso el Li^+ , que al igual que en el caso anterior interviene en dichos procesos, intercalándose en la estructura del sólido en función de la carga de sus centros metálicos, proveniente del seno de la disolución a partir del cual difunden hacia la superficie del electrodo.

Se estudió la respuesta de los electrodos al aplicar ciclos de potencial sucesivos, para comprobar si era estable tras los procesos de carga y descarga a los que somete al material (figura 162). El comportamiento es bastante similar en ambos electrodos, ya que los voltamperogramas aumentan durante los primeros 20 ciclos hasta que alcanza una forma estable durante 10000 barridos. Se deduce por tanto que el material en estas condiciones es bastante estable, y los ciclos de carga-descarga a los que se somete al capacitor no perjudican su capacidad ni su respuesta redox, obteniéndose por tanto electrodos modificados que pueden ser buenos candidatos para ser usados como supercapacitores en medio LiClO_4 0.1 M / CH_3CN .

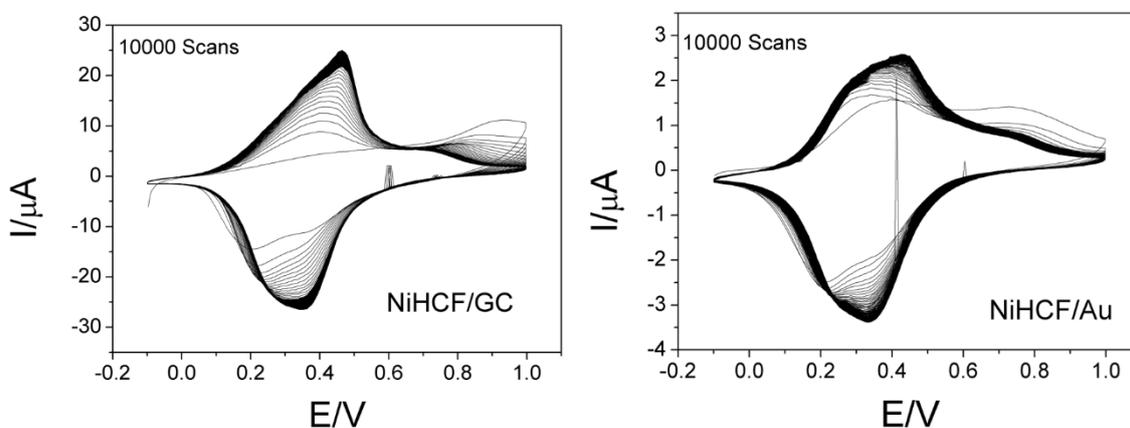


Figura 162- Voltamperogramas cíclicos sucesivos de electrodos NiHCF/GC y NiHCF/Au en de LiClO_4 0.1 M / CH_3CN 50 mV/s.

Para caracterizar el supercapacitor se ha calculado la capacidad específica (apartado 4.9 de Materiales y Métodos). Para ello es necesario saber la masa del complejo que se deposita sobre la superficie del electrodo, por lo que se llevaron a cabo medidas con la microbalanza electroquímica de cristal de cuarzo. Se realizó una aproximación que consistió en medir la frecuencia de vibración de un oscilador de cuarzo (QCM) recubierto

de Au al aire previamente a ser modificado con el complejo de NiHCF, y tras la realización de los sucesivos pasos que conllevan la modificación con el complejo. A partir del cambio de la frecuencia de vibración y la ecuación de Sauerbrey se obtiene la masa por unidad de superficie que se deposita durante el proceso. Esta masa es de 8536.71 ng/cm². Conociendo la superficie de un electrodo de disco de Au (0.0314 cm²) estimamos la cantidad de material que se deposita sobre él (2.68·10⁻⁷ g de NiHCF), y sustituyendo en la ecuación para el cálculo de la capacidad específica (ecuación (15) de Materiales y Métodos) los valores de $\int(I)dV = 2.14 \cdot 10^{-7}$ A·s, $\Delta V = 0.3$ V y $v = 0.01$ V/s se obtiene un valor de capacitancia específica de 149.4 F/g. Este valor es en realidad pequeño en comparación con otros materiales que actúan como supercapacitores electroquímicos, encontrados en la bibliografía como por ejemplo materiales basados en el complejo mixto de cobalto-níquel hexacianoferrato que presenta una capacitancia específica en torno a 400-700 F/g^[155]. Sin embargo, esta investigación sienta las bases de una posible metodología para la modificación de electrodos, los cuales en combinación con nanomateriales de carbono del tipo grafeno (que producen un importante aumento de la superficie específica del electrodo así como de la capacitancia no faradaica) pueden suponer una importante mejora y aumentar la capacitancia de estos electrodos de modo que puedan ser materiales competitivos con características similares a los que se están utilizando en la actualidad.

3.3. Medio orgánico THF/LiClO₄.

Se estudió también el comportamiento del sistema en otro disolvente orgánico, y así poder comparar con los otros disolventes estudiados en función de sus distintas polaridades. En particular, se llevó a cabo el estudio de los electrodos modificados NiHCF/GC y NiHCF/Au en LiClO₄ 0.1 M /THF. El tetrahidrofurano (THF) presenta una constante dieléctrica más baja (7.5) que el agua (82) y el acetonitrilo (37), siendo aún soluble el perclorato de Litio.

En la figura 163 pueden observarse los voltamperogramas a distintas velocidades de barrido. Al igual que en los casos anteriores se observan 2 pares redox. Estos son perfectamente diferenciables a bajas velocidades, y conforme aumentamos la velocidad de barrido de potencial se solapan ambos procesos dando un solo pico.

En la figura 164 se observan los voltamperogramas registrados a diferentes velocidades de barrido de potencial de un electrodo modificado NiHCF/Au. Como en el caso anterior, se observan dos procesos redox reversibles atribuibles a las distintas estequiometrias que presenta el complejo NiHCF descritas en el apartado anterior, y al igual que para el caso del electrodo modificado NiHCF/GC estos dos procesos claramente diferenciados en los voltamperogramas a bajas velocidades se solapan a altas velocidades pareciendo un solo proceso electroquímico. En ambos electrodos estudiados, las características del disolvente no permiten la obtención de voltamperogramas bien definidos a altas velocidades de barridos 5000 mV/s, dada la alta resistividad del medio. Este hecho es consecuencia también de la pequeña ventana de potenciales que permite el disolvente comparado con los dos medios anteriores.

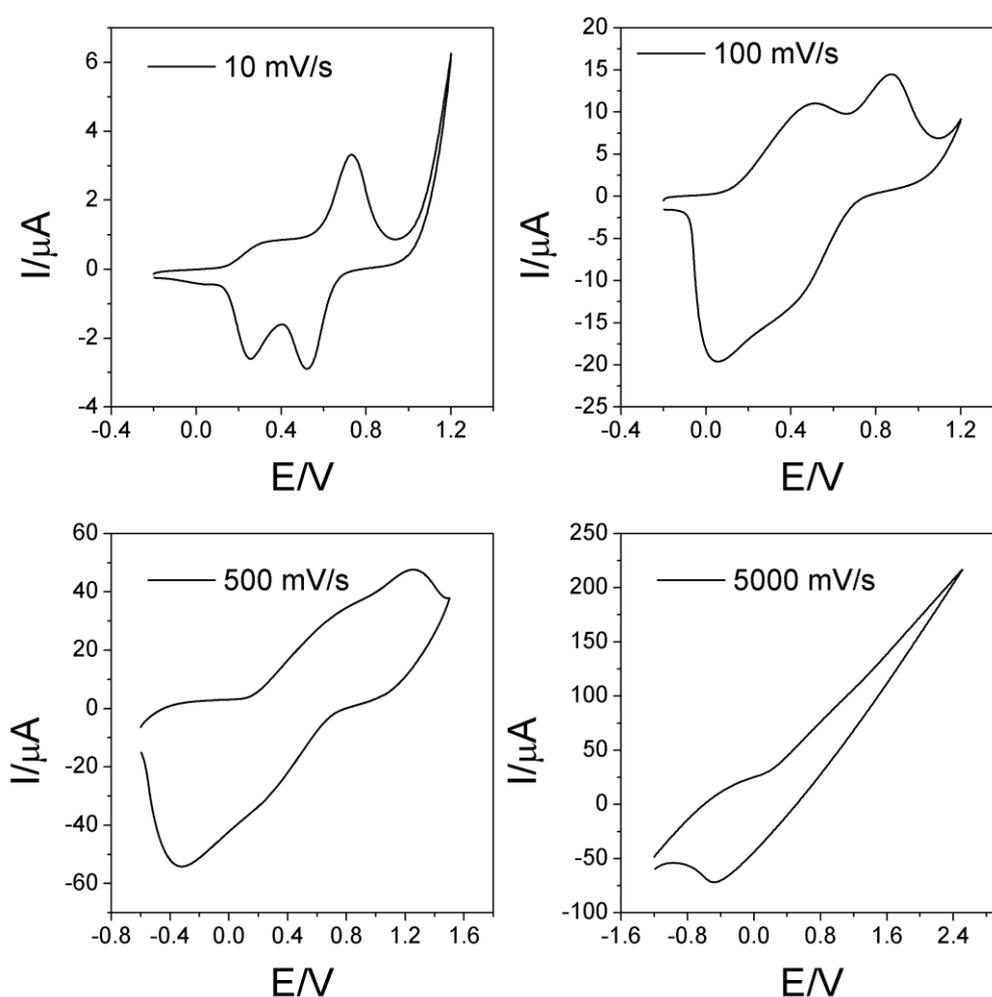


Figura 163- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con electrodos NiHCF/GC en LiClO_4 0.1 M/THF.

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

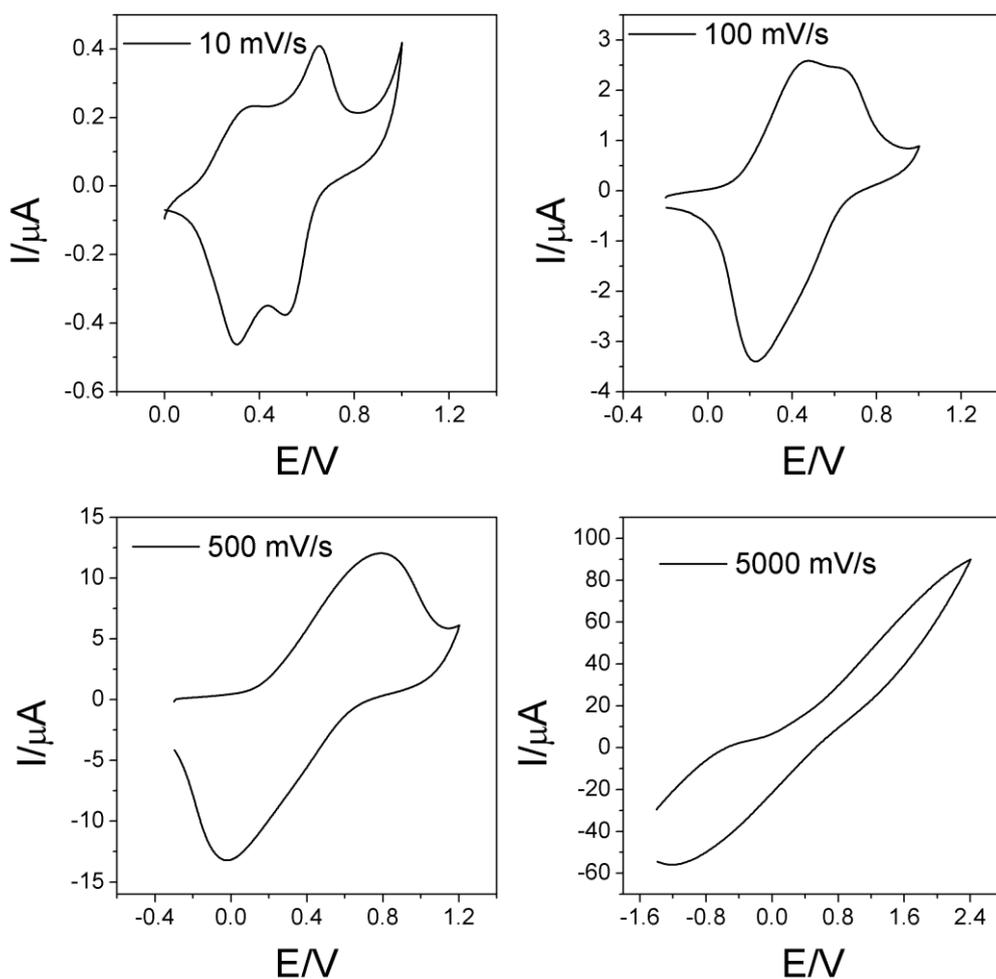


Figura 164- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido con electrodos NiHCF/Au en LiClO₄ 0.1 M /THF.

A modo de comparación en la figura 165 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos a 10 mV/s con un electrodo NiHCF/GC en tres medio distintos (H₂O, CH₃CN, THF). En todos ellos se aprecian los dos procesos característicos, se observa como a medida que desciende la constante dieléctrica del disolvente mayor es la separación de los procesos.

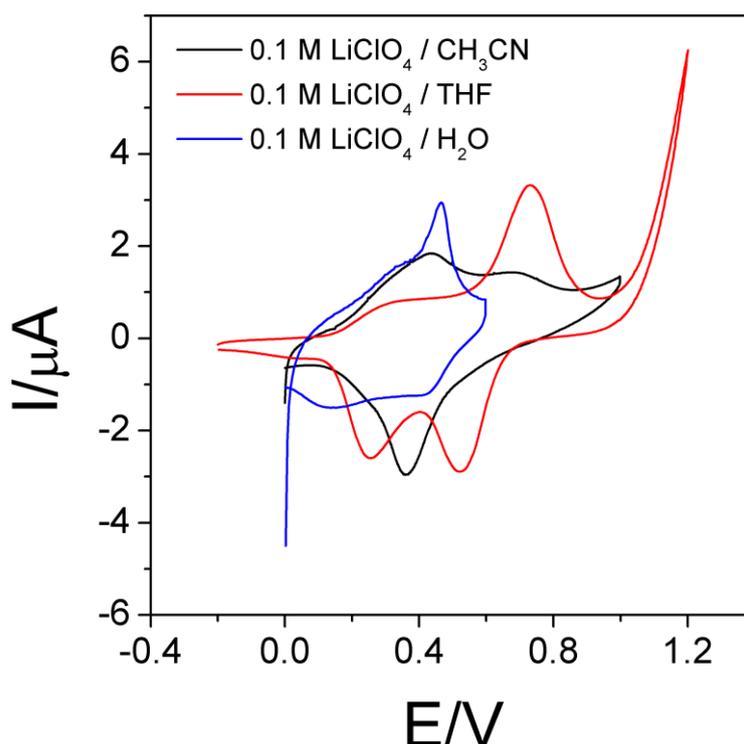


Figura 165- Voltamperogramas cíclicos obtenidos a 10 mV/s con electrodo NiHCF/GC en LiClO_4 0.1 M/ CH_3CN (negro), LiClO_4 0.1 M/ THF (rojo) y LiClO_4 0.1 M/ H_2O (azul).

Al igual que en los casos anteriormente estudiados se realizó un estudio de velocidades de barrido, a partir de los cuales se obtuvieron el coeficiente de transferencia de carga (α) y la constante de transferencia heterogénea de carga (k_s). Estos valores para los dos electrodos estudiados se recogen en la tabla XXIV. Al comparar con los valores de la tabla XXI y la XXIII (en las que se mostraban los valores de α y k_s para los otros dos disolventes estudiados) se comprueba cómo aunque los valores de α siguen siendo en torno a 0.50 (con alguna desviación), los valores de la constante heterogénea de transferencia electrónica k_s desciende conforme lo hace la constante dieléctrica del disolvente empleado. La explicación a este fenómeno a priori puede ser las características inherentes al disolvente, como por ejemplo la movilidad de las especies catiónicas que intervienen en el proceso redox aunque pueden afectar otras no contempladas.

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitores.

Tabla XXIV-Coeficiente de transferencia electrónica (α) y constante de transferencia heterogénea (k_s) obtenidas a partir de estudios de velocidad de barrido de potencial de los distintos electrodos en LiClO_4 0.1 M/THF, aplicando el método descrito por Laviron.

	NiHCF/GC		NiHCF/Au	
	k_s (s^{-1})	α	k_s (s^{-1})	α
$\text{LiClO}_4/\text{THF}$	3.17	0.38	9.05	0.50

Finalmente, con el objetivo de comprobar si este medio es también adecuado para el uso de los electrodos NiHCF/GC y NiHCF/Au como supercapacitores, se probó su estabilidad tras aplicar ciclos de potencial. En la figura 166, puede observarse como, aunque la estabilidad de los voltamperogramas es mucho mejor que en agua, no es tan efectiva como en acetonitrilo, en el que apenas variaba los voltamperogramas tras 10000 ciclos. En este caso, al aplicar 1000 ciclos ya se ve un claro descenso de la intensidad de los pares redox del sistema. Por tanto, usando como disolvente THF el sistema no es del todo satisfactorio para su empleo en el ámbito de los supercapacitores.

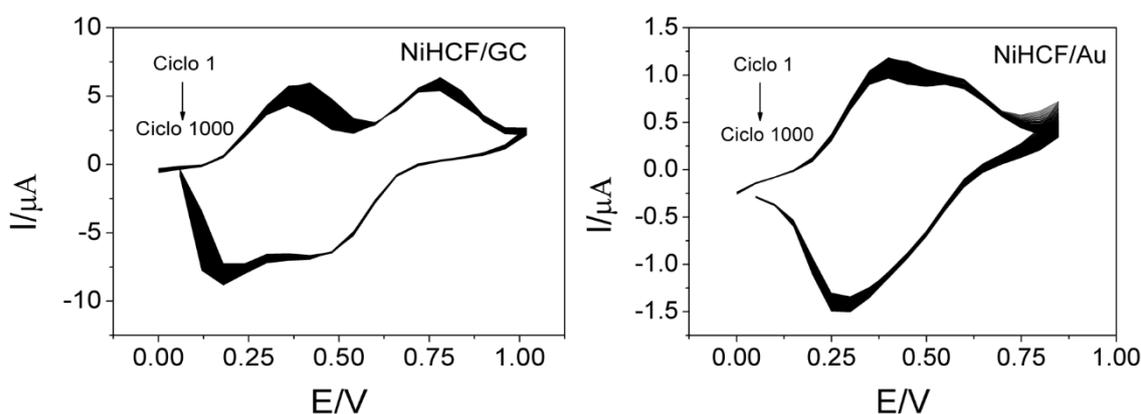


Figura 166- Voltamperogramas cíclicos sucesivos con electrodos NiHCF/GC y NiHCF/Au en de LiClO_4 0.1 M /THF 50 mV/s.

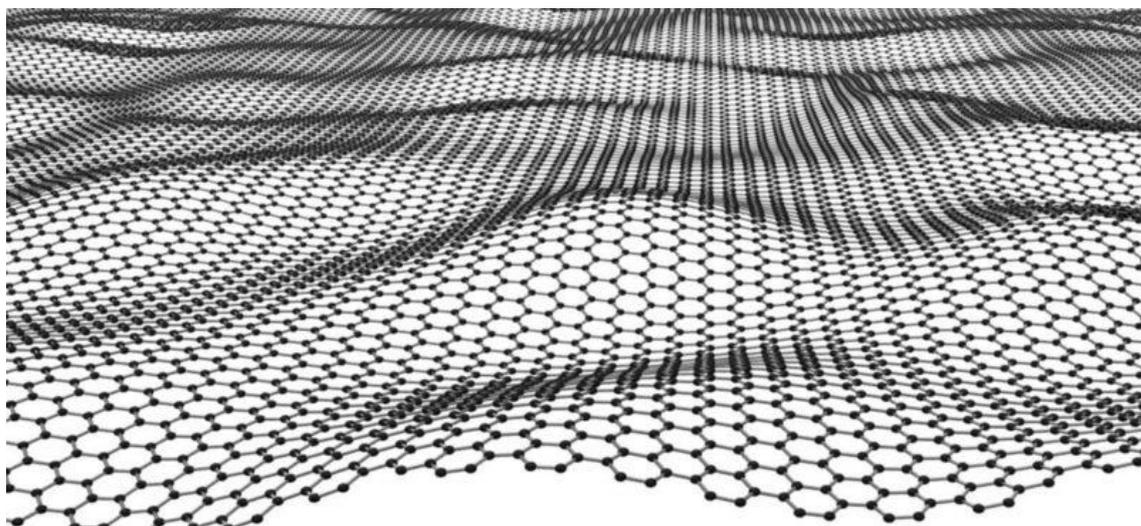
Por tanto se puede concluir que la mejor de las configuraciones estudiadas para el empleo de estos electrodos modificados con nanopartículas del complejo NiHCF en el

ámbito de los capacitadores electroquímicos, sería el uso de disoluciones de LiClO_4 /acetonitrilo como medio para el trabajo de los electrodos, ya que presentan, en estas condiciones, la estabilidad electroquímica requerida para este tipo de sistemas de almacenamiento energético.

Resultados y discusión.

Capítulo V: Formación de complejo de níquel hexacianoferrato (NiHCF) sobre superficies electródicas. Aplicación al desarrollo de supercapacitadores.

Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF- π -extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.



Resultados y discusión.

Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF- π -extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.

La modificación de electrodos es una continua fuente de investigación en la que se trata de modificar superficies electródicas con entidades químicas que presenten un comportamiento específico. Una de las aplicaciones más importante en la modificación de superficies electródicas se encuentra en el ámbito de la funcionalización molecular para (bio)electrocatalisis. En esta las moléculas electroactivas, con propiedades electrocatalíticas, son usadas como mediadores (bio)electroquímicos, de manera que medien reacciones redox sobre la superficie del electrodo. Estas modificaciones electródicas pueden ser de distinta naturaleza química, tanto a través de enlaces covalentes como de interacciones moleculares no covalentes.

La modificación o funcionalización covalente de grafeno se ha conseguido gracias al uso de sales de diazonio^[359-365], sin embargo, estas reacciones suelen ocurrir en los bordes y en los defectos del material^[366, 367], produciendo, en el caso de una elevada funcionalización, la pérdida de las propiedades del grafeno^[368-370]. La funcionalización no-covalente evita la pérdida de estas propiedades, lo cual ha motivado el desarrollo de nuevas estrategias para la generación de monocapas autoensambladas de moléculas electroactivas sobre nanomateriales de grafeno. Entre estas estrategias se encuentra la funcionalización de grafeno con moléculas planas aromáticas, gracias a la interacción del tipo π - π que se establece con el sistema π deslocalizado presente en estos materiales^[360]. Entre las estrategias más utilizadas para la modificación de grafenos de manera no covalente están las que emplean moléculas con grupos pireno, gracias a los cuales se produce la interacción del tipo π - π ^[371-374]. Además del pireno se han usado otro tipo de moléculas aromáticas planas, que se unen por el mismo tipo de interacción, funcionalizadas con perileno^[375, 376], naftaleno^[377], porfirinas^[378, 379], etc.

Con el objetivo de controlar la disposición espacial de las moléculas, de modo que se unan al nanomaterial de grafeno por unas fracciones específicas, como por ejemplo el pireno, y a la vez dejen a libre disposición otras regiones moleculares, por ejemplo un centro electroactivo o un centro electrocatalítico que ha de conjugarse con una enzima, etc., se han diseñado moléculas capaces de unirse y recubrir las superficies electródicas, de materiales grafénicos, con una disposición u orientación específica. Este es el caso de los complejos de cobalto bis-terbipiridina que contienen tres fracciones de pireno, a

modo de pies de anclaje, diseñadas por W. Dichtel y H. Abruña^[128]. De este modo, compuestos capaces de unirse al grafeno de una manera bien definida, a través de múltiples interacciones, pueden generar monocapas bastante estables que permiten posicionar determinadas regiones de la molécula a cierta distancia de la superficie y a la vez libres de interacciones para poder interactuar únicamente con ciertos elementos presentes en la disolución en la que se sumerge el electrodo. A diferencia, las moléculas que tienen una sola fracción por la que interaccionar y unirse con el nanomaterial, presentan una mayor libertad, pudiendo quedar el resto de fracciones por un lado pegadas a la superficie o separadas en función de su mayor o menor afinidad. Las moléculas con tres fracciones a modo de trípode van a presentar una disposición fija sobre la superficie, de modo que la parte electroactiva de la molécula se mantendrá a una distancia constante de la superficie, pudiéndose controlar esta en función de la longitud de las “patas” (longitud de los fragmentos moleculares que unen los pirenos con el resto de fracciones de la molécula). Esta estrategia de uso de tres fracciones a modo de trípode también se ha usado para la unión de determinados anticuerpos^[130] y proteínas^[380] sobre electrodos de grafeno. También se han realizado estudios de la fuerza de interacción de estas monocapas sobre electrodos con diferentes tipos de “pies”, es decir con distinta composición de la fracción responsable de la unión de la molécula al grafeno^[129]. Concretamente el estudio llevado a cabo por W. Dichtel evidencia que el uso de fracciones moleculares más pequeñas para la unión con el grafeno se traduce en un mayor recubrimiento de la superficie, pero una menor estabilidad de la monocapa a los fenómenos de desorción. Este es el caso, por ejemplo, del uso de fracciones de fenantreno o naftaleno (más pequeños), con respecto al pireno. En el trabajo de W. Dichtel y H. Abruña también estudian la movilidad superficial que presentan estas moléculas en láminas de grafeno simples, demostrando que presentaban un alto grado de difusión superficial. Las moléculas no están estáticas sobre su posición, si no que tienen una gran capacidad de movimiento en torno a la superficie de grafeno sobre la que se encuentran^[381].

La molécula de Tetratiofulvaleno con sistemas π extendido (exTTF) ha sido ampliamente usada en estudios de transferencia de carga por efectos de fotooxidación^[382-385]. Se trata

de un buen donador de electrones, siendo fácilmente oxidable a potenciales bajos. Muchos de estos trabajos han sido realizados por el grupo del profesor Nazario Martín de la Universidad Complutense de Madrid, que además ha desarrollado la metodología de síntesis de moléculas con 1 y 3 fracciones de pirenos, en las cuales también está presente una fracción de exTTF^[386]. Son pocos los estudios del comportamiento electroquímico de estos compuestos en disolución. Tan solo se ha estudiado la adsorción de derivados similares (modificados con tioles) en electrodos de Au^[387].

Las interacciones entre las fracciones de pireno de estas moléculas con nanomateriales de carbono como nanotubos se han estudiado mediante técnicas espectroscópicas, comprobándose la efectividad de la interacción a través de los grupos pirenos^[388].

Por ello en la presente tesis se ha abordado el estudio del comportamiento electroquímico de moléculas de exTTF con 1 (exTTF-1-Pi) y con 3 (exTTF-3-Pi) unidades de pireno, así como moléculas sin fracciones de pireno (exTTF) sobre distintos tipos de grafeno. Para ello se han estudiado los procesos de adsorción y desorción de estas moléculas en medio orgánico. En cuanto a las especies de grafeno utilizadas han sido grafeno oxidado (GO), grafeno oxidado electroquímicamente reducido (GO_ER) y grafeno pristino.

La finalidad de estos estudios, además de profundizar en el conocimiento de la interacción de estas moléculas sobre nanomateriales de carbono de tipo grafeno, ha sido la potencial utilidad de estas moléculas de exTTF en el desarrollo de sensores de las configuraciones resultantes. Tema sobre el que hay muy poco descrito en la bibliografía. Sin embargo si se encuentran muchos ejemplos del uso de tetratiofulvaleno (TTF) como mediador electroquímico en la electrooxidación de tioles^[389], como reductor del H₂O₂^[390, 391], y como mediador enzimático de gluconato deshidrogenasa^[392], fructosa deshidrogenasa^[393, 394], malato deshidrogenasa^[395] y peroxidasa de rábano (HRP)^[395].

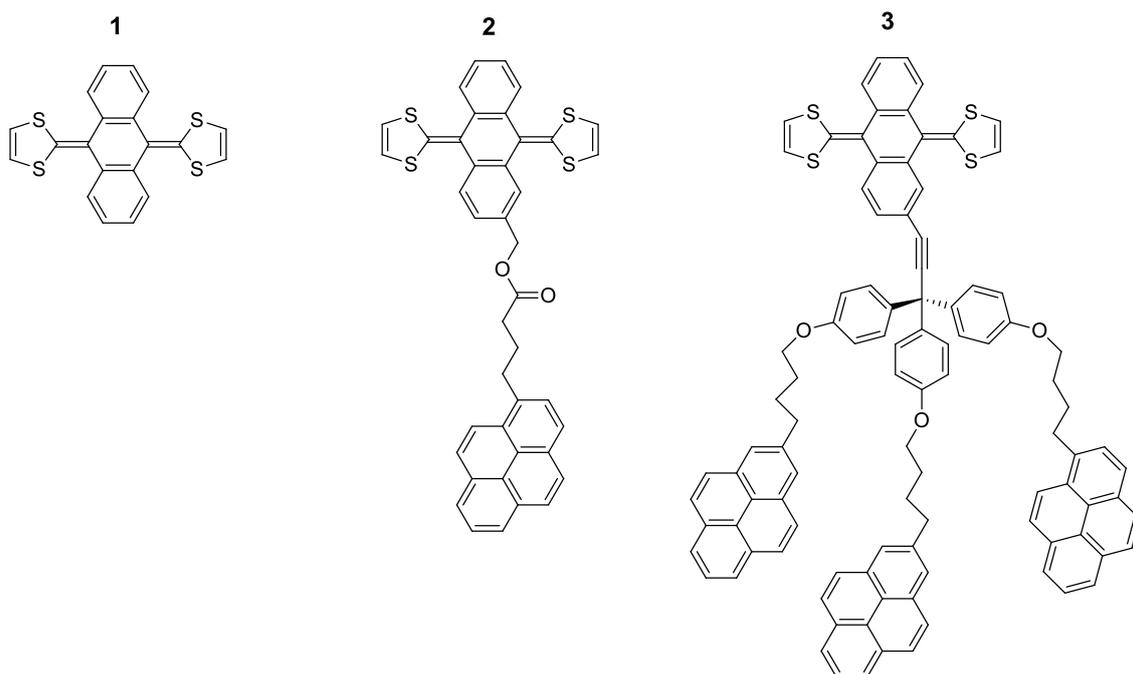


Figura 167-Estructura molecular de los compuestos de tetratiofulvaleno de sistema π extendido (exTTF) con distintas fracciones de pireno en su estructura. (1) Sin pireno (exTTF), (2) una fracción de pireno (exTTF-1-Pi) y (3) tres fracciones de pireno (exTTF-3-Pi).

1. Nanoestructuración de electrodos con grafeno.

En primer lugar antes de comenzar los estudios de adsorción de las moléculas sobre electrodos, o de estudiar la electroquímica en disolución, se realizó un estudio preliminar para establecer las cantidades de grafeno óptimas para la modificación de los electrodos de carbón vítreo (GC).

Los electrodos de carbón vítreo se modificaron con los distintos nanomateriales de grafeno, tal y como se indican en el apartado 3.2.8 de Materiales y Métodos. Se estudió como afectaba al comportamiento electroquímico la cantidad inicial de grafeno oxidado que se depositaba sobre los electrodos de carbón vítreo. Para ello, se depositaron sobre los electrodos cantidades crecientes (2.5, 5 y 10 μL) de una disolución 1 mg/mL de GO en PBS.

A continuación se estudiaron los procesos de adsorción de la molécula de exTTF-1-Pi sobre los electrodos con el nanomaterial de grafeno, sumergiéndolos en las disoluciones que contenía la molécula exTTF-1-Pi con idea de que se adsorbiese gracias a las interacciones tipo π - π entre la nube de electrones del sistema π del grafeno y la fracción de pireno de la molécula. Se ensayaron diferentes tiempos (16 y 64 h) para asegurar que el proceso de adsorción fuese completo y comprobar si existía alguna diferencia. Una vez modificados, se lavaron y se introdujeron en una disolución que contenía el disolvente (dimetilformamida (DMF)) y el electrolito soporte usado (perclorato de tetrabutil amonio (TBAP)) para el estudio de su comportamiento electroquímico.

En la figura 168 se muestran los voltamperogramas registrados entre -0.2 V y 0.8 V a 100 mV/s. En todos los casos se observan el par redox adscrito a la oxidación/reducción de la especie exTTF. Cuando el electrodo se modifica con 5 μL de GO el recubrimiento de material electroactivo es mayor que cuando se usaron 2.5 μL . Cuando se emplearon electrodos modificados con 10 μL de GO la corriente capacitiva crecía enormemente y los procesos faradaico no se detectaban por voltamperometría cíclica probablemente debido a la gruesa capa del nanomaterial depositada. A partir de estos simples experimentos se decidió trabajar con electrodos modificados con 5 μL de GO y así

Resultados y discusión.

Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF- π -extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.

comenzar el estudio caracterizando desde el principio la electroquímica de los compuestos en disolución y posteriormente los procesos de adsorción y desorción.

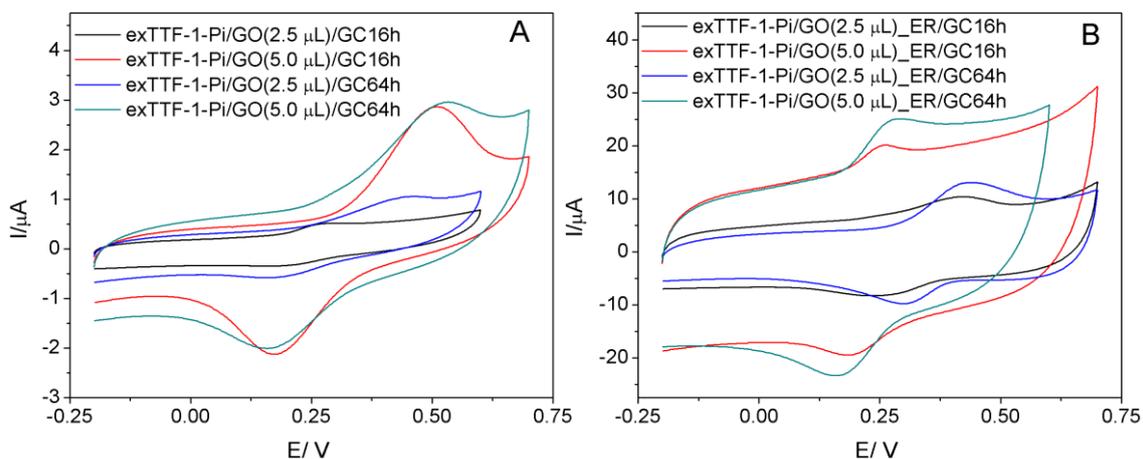


Figura 168- Voltamperogramas cíclicos de (A) electrodo GO/GC y (B) electrodo GO_ER/GC modificados por adsorción de exTTF-1-Pi durante 16 y 48 h en TBAP 0.1 M/DMF a 100 mV/s.

Para usar una cantidad similar de grafeno pristino depositado sobre la superficie de los electrodos de carbón vítreo, se decido usar 50 μL de la dispersión de grafeno pristino en DMF empleada en el estudio, a modo de aproximar estas cantidades con las ya seleccionadas para el caso de GO/GC y GO_ER/GC.

2. Comportamiento electroquímico del exTTF-1-Pi y del exTTF-3-Pi en electrodos nanoestructurados con grafeno.

Se estudió el comportamiento electroquímico del exTTF-1-Pi y del exTTF-3-Pi en electrodos modificados GO/GC, GO_ER/GC y grafeno pristino/GC y se comparó con el comportamiento que muestran las mismas moléculas en un electrodo de carbón vítreo (GC) sin modificar. Estos estudios se han llevado a cabo en disoluciones 0.2 mM de las especies electroactivas (exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi) en TBAP 0.1 M/DMF. En la figura 169 se muestran los voltamperogramas cíclicos de estas moléculas en los diferentes electrodos empleados. En todos los casos se observa un par redox en torno a +0.3 V adscrito a la oxidación del exTTF perdiendo 2 electrones y la consiguiente reducción en el barrido de vuelta de la forma oxidada^[387]. Como se aprecia en las figuras 169A y 169B, los electrodos GO_ER/GC presentan una mayor corriente capacitiva y faradaica. Este hecho indica que la reducción electroquímica del GO (apartado 3.2.8 de Materiales y Métodos) genera un material más conductor (GO_ER), con mejores características para la transferencia electrónica que el grafeno oxidado GO. Resultado que es consistente con la pérdida de grupos oxidados de la superficie del GO tras la reducción electroquímica, generando un material (GO_ER) con un menor número de defectos en su nanoestructura, así como menor número de grupos oxidados, los cuales podrían interrumpir la banda de conducción de dicho material^[396]. Con respecto a los electrodos de Grafeno Pristino/GC muestran una mayor corriente faradaica con respecto al electrodo de carbón vítreo (GC), a la vez que muestran un ligero incremento en la corriente capacitiva, ambos hechos son consistentes con el incremento de la conductividad y el aumento de área electroactiva debido a la presencia del nanomaterial.

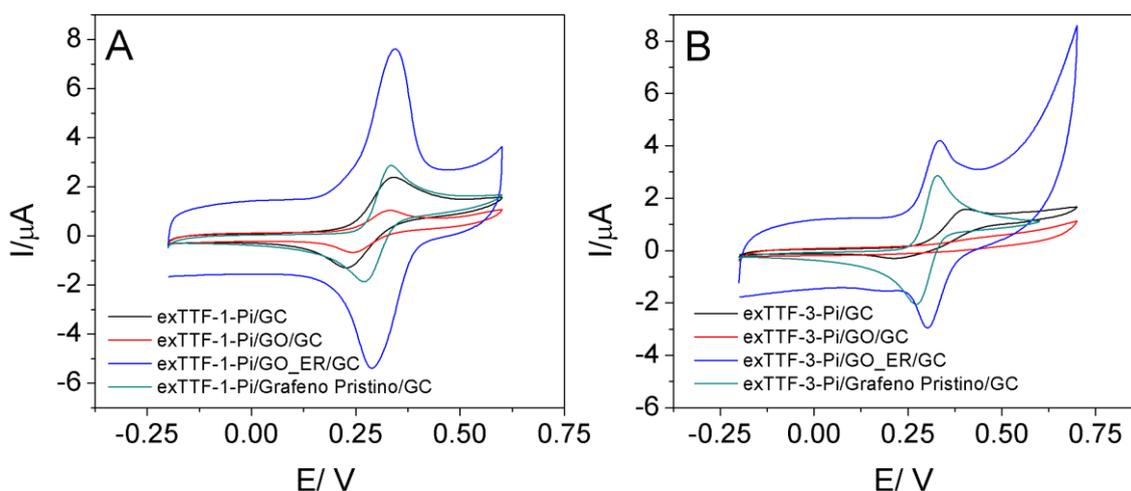


Figura 169- Voltamperogramas cíclicos de electrodos GC (negro) GO/GC (rojo), GO_ER/GC (azul) y Grafeno Pristino/GC (verde) en 0.2 mM exTTF-1-Pi (A) y 0.2mM exTTF-3-Pi (B) en TBAP 0.1 M/DMF a 10 mV/s.

Ya que estos experimentos se realizaron con la especie electroactiva en disolución, se esperaba que la forma de los voltamperogramas fuese la correspondiente a un proceso difusional. Sin embargo, como se puede apreciar en la figura 169, y en los datos de la tabla XXV, en el caso de los electrodos GO_ER/GC y Grafeno Pristino/GC se observa que el proceso electroquímico tiene las características típicas de un proceso redox confinado en la superficie, lo cual es señal de que se está produciendo la adsorción de la molécula electroactiva (exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi) sobre la superficie del electrodo, concretamente sobre el nanomaterial de grafeno. Por otra parte, en el caso de los electrodos GC y GO/GC este proceso no está tan favorecido, y tanto la separación de los picos como la forma de los voltamperogramas son más acorde a un proceso difusional. Esto es debido a una menor interacción del tipo π - π entre el nanomaterial (GO) o el carbón vítreo (GC) con las fracciones de pirenos de las moléculas electroactivas (exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi). Este hecho es una prueba de que el proceso de reducción del grafeno oxidado (GO) a grafeno oxidado electroquímicamente reducido (ER_GO), hace que disminuyan los centros oxidados del nanomaterial, de manera que se recupera la banda de conducción del grafeno, que suele verse interrumpida en el caso de defectos y de grupos oxidados.

Tabla XXV-Separación de picos ($\Delta E_p = E_{an} - E_{ca}$) de la oxidación/reducción de exTTF-1-Pi y de exTTF-3-P en los diferentes electrodos utilizados.

Electrodo	exTTF-1-Pi ΔE_p (mV)	exTTF-3-Pi ΔE_p (mV)
GC	112	198
GO/GC	92	282
GO_ER/GC	57	30
Grafeno Pristino/GC	58	54

3. Comportamiento electroquímico de exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi adsorbido sobre electrodos nanoestructurados con grafeno.

Se estudió el comportamiento electroquímico de los electrodos nanoestructurados con grafeno y modificados con exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi. Se pretendía conocer el efecto que el tipo de grafeno propicia en la funcionalización de estos electrodos por adsorción de las moléculas electroactivas exTTF, exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi. Estos resultados se compararon con la adsorción de estas moléculas sobre electrodos de carbón vítreo sin modificar con grafeno. La funcionalización de los electrodos se llevó a cabo tal como se describe en el apartado 3.2.9 de Materiales y Métodos, es decir por inmersión de los electrodos de grafeno y de GC en disoluciones de las moléculas electroactivas durante un tiempo determinado que asegurase que el recubrimiento de la superficie por adsorción de la especie electroactiva era máximo. Tras la modificación de los electrodos se realizaron las voltamperometrías cíclicas en TBAP 0.1 M/ DMF. Los resultados se muestran en la figura 170. Como se observa en todos los casos el par redox debido a la oxidación/reducción del exTTF es evidente. Sin embargo en el caso del electrodo GO/GC (figura 170A), el par redox se registra débilmente en el caso del exTTF-3-Pi comparado con las respuestas obtenidas para el exTTF y el exTTF-1-Pi. Este hecho puede ser debido a los efectos estéricos causados por las grandes dimensiones de la molécula, que contiene tres “pies” (fracciones de pirenos) con sus respectivas “patas” (cadenas de carbonos por las que se unen a la fracción de exTTF de la molécula), que impide un mayor recubrimiento de la superficie. Además, de este motivo pueden existir otras causas, como el mayor carácter hidrofóbico del exTTF-3-Pi, en comparación con el exTTF y el exTTF-1-Pi, lo cual hace que tenga una menor afinidad por el electrodo modificado con grafeno oxidado (GO/GC), dado el carácter hidrofílico de este material. Los electrodos de grafeno oxidado electroquímicamente reducidos (GO_ER/GC) (figura 170B) presentan un comportamiento diferente. En este caso el carácter hidrofóbico del material GO_ER (con menor contenido en grupos oxigenados) promueve la interacción del tipo π - π entre el nanomaterial de grafeno y las fracciones de pirenos de las moléculas electroactivas exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi, dando lugar a una mayor retención de estas en la superficie electródica, que genera mayores intensidades de corriente en los picos

registrados en el voltamperograma, sobre todo en el caso de la molécula exTTF-3-Pi, a pesar de su mayor tamaño. El hecho de que los electrodos GO_ER/GC modificados con exTTF-1-Pi o exTTF-3-Pi presenten recubrimientos similares para ambas moléculas, a pesar del mayor tamaño de esta última, es debido a que es muy probable que el exTTF-1-Pi pueda anclarse al grafeno no solamente por la fracción de pireno, sino también por la fracción de exTTF (que es un sistema aromático) tal como se representa en el figura 171A. Dada la disposición de los tres pies de pireno, esta adsorción de la fracción exTTF sobre el grafeno no es factible para el caso del exTTF-3-Pi (figura 171B). Resultados similares fueron obtenidos por H. Abruña y W. Ditchel para un complejo de cobalto bis-terpiridina Co(tpy) modificado con uno y tres “pies” de pirenos^[128]. En el caso de electrodos Grafeno Pristino/GC (figura 170C), se observa un comportamiento similar al caso anterior, aunque de manera menos pronunciada. Por ello, se puede asumir que estos electrodos de Grafeno Pristino/GC presentan una configuración intermedia entre los dos casos extremos GO/GC y GO_ER/GC, existiendo por tanto un mayor número de defectos en esta nanoestructura de grafeno que en la de GO_ER, como consecuencia del proceso químico por el que es sintetizado (apartado 1.4.3 de Materiales y Métodos).

A modo de comparación también se ha recogido la respuesta ciclovoltamperométrica del exTTF (sin pireno) en los tres electrodos nanoestructurados con grafeno. Como era de esperar, esta molécula se desorbe rápidamente de la superficie del electrodo en el medio tan polar utilizado (dimetilformamida).

Teniendo en cuenta que el proceso redox que se estudia está confinado en la superficie del electrodo, se determinaron la constante de transferencia de carga (k_s) así como el coeficiente de transferencia de carga (α) a través del método de Laviron^[171]. Los resultados se muestran en la tabla XXVI. Como se puede observar los valores más bajos de la constante de transferencia de carga se observan para el exTTF-3-Pi, pudiendo asociarse este hecho a la mayor distancia al electrodo a la que queda la fracción de exTTF en el exTTF-3-Pi dada la disposición sobre los tres “pies” unidos al grafeno y la fracción electroactiva orientada al exterior, dificultando por tanto la transferencia electrónica con el electrodo.

Resultados y discusión.

Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF- π -extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.

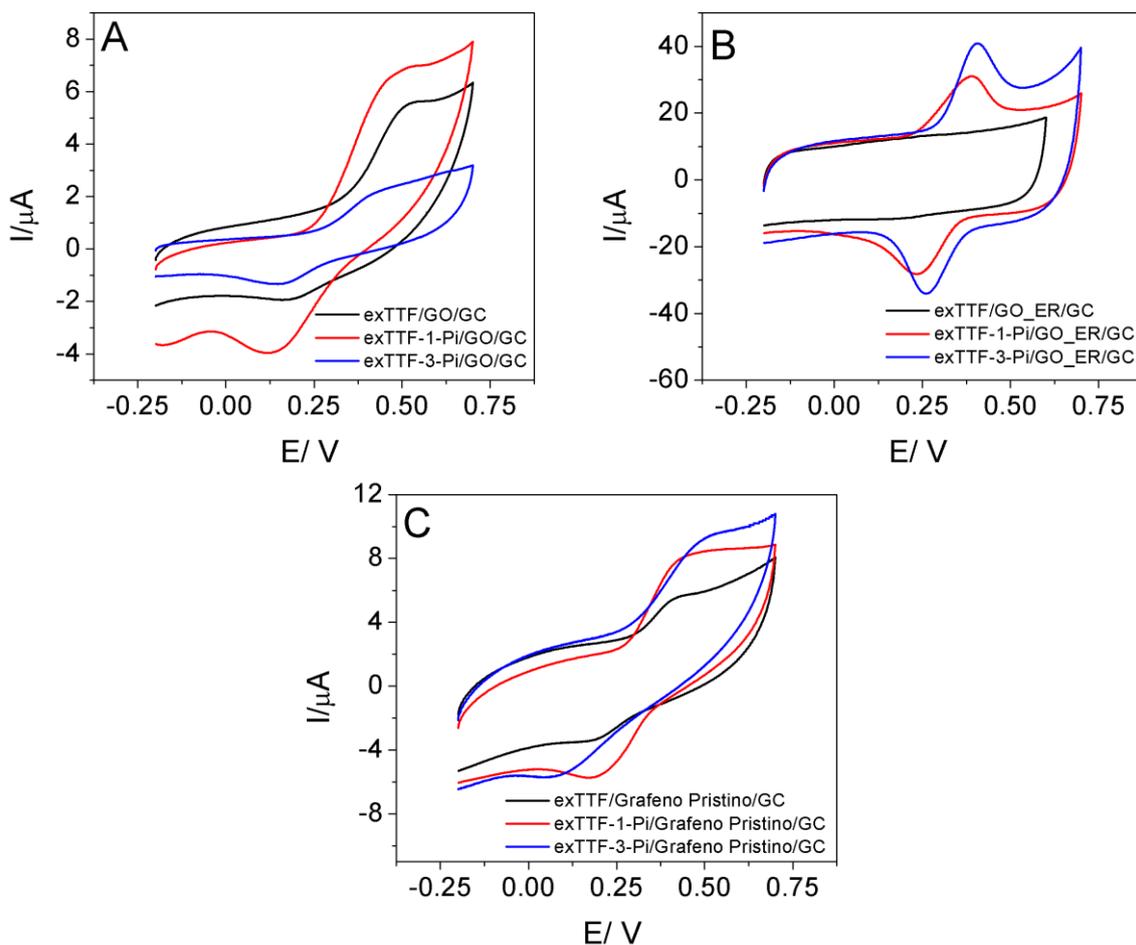


Figura 170- Voltamperogramas cíclicos de electrodo GO/GC(A), electrodo GO_ER/GC (B) y electrodo Grafeno Pristino/GC (C) modificados por adsorción de exTTF (negro), exTTF-1-Pi (rojo) y exTTF-3-Pi (azul) durante 15 h obtenidos en TBAP 0.1 M/DMF a 10 mV/s.

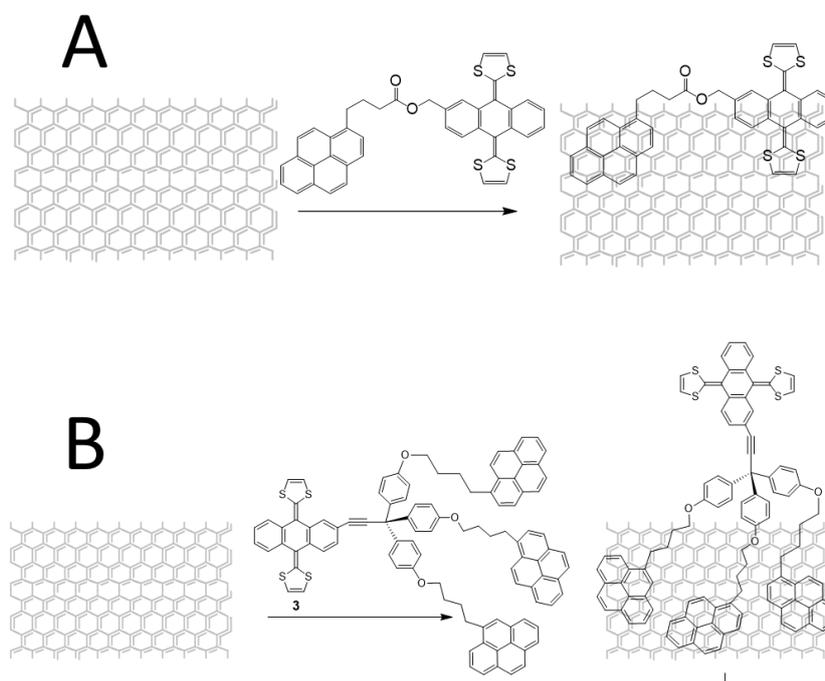


Figura 171-(A) Adsorción molécula exTTF-1-Pi sobre grafeno, (B) Adsorción molécula exTTF-3-Pi sobre grafeno.

Tabla XXVI- Coeficiente de transferencia carga (α), constante de transferencia de carga heterogénea (k_s) y separación de picos anódico/catódico ($\Delta E_p = E_{an} - E_{ca}$)

Electrodos	k_s/s^{-1}	α	$\Delta E_p/mV$
ExTTF-1-Py/GO/GC	4.68	0.659	58
ExTTF-3-Py/GO/GC	3.51	0.388	40
ExTTF-1-Py/GO_ER/GC	9.62	0.506	23
ExTTF-3-Py/GO_ER/GC	6.02	0.667	12
ExTTF-1-Py/Grafeno Pristino/GC	0.78	0.387	85
ExTTF-3-Py/ Grafeno Pristino /GC	0.29	0.652	102

4. Procesos de adsorción-desorción del exTTF-1-Pi y el exTTF-3-Pi en electrodos nanoestructurados con grafeno.

4.1. Efecto del tiempo de adsorción.

Se estudió el efecto del tiempo de adsorción evaluando el recubrimiento de exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi sobre la superficie de los electrodos (GO/GC, GO_ER/GC y Grafeno Pristino/GC). El recubrimiento de exTTF sobre la superficie del electrodo se obtuvo a partir de la carga del pico de oxidación del voltamperograma cíclico obtenido en TBAP 0.1 M/DMF a 10 mV/s, aplicando la ecuación (7) de Materiales y Métodos. Se realizaron tres determinaciones consistentes en las mismas condiciones experimentales, para ver la reproducibilidad del método de modificación. En la figura 172 se muestran la cantidad de moléculas adsorbidas en nanomoles por centímetro cuadrado (nmol/cm²) en función del tiempo durante el cual los electrodos estuvieron inmersos en la disolución de estas moléculas electroactivas. Como se observa se obtienen valores 4 o 5 veces superiores para el caso de los electrodos GO_ER/GC que para los electrodos GO/GC y Grafeno Pristino/GC. Como ya se ha comentado, esto es debido a la mayor afinidad de las fracciones de pireno de las moléculas por el grafeno oxidado electroquímicamente reducido GO_ER, en comparación con los otros dos grafenos, dado que en el GO_ER existen menos defectos y menor número de especies de oxígeno en la nanoestructura del material, lo que implica una mayor continuidad de la banda de conducción del grafeno.

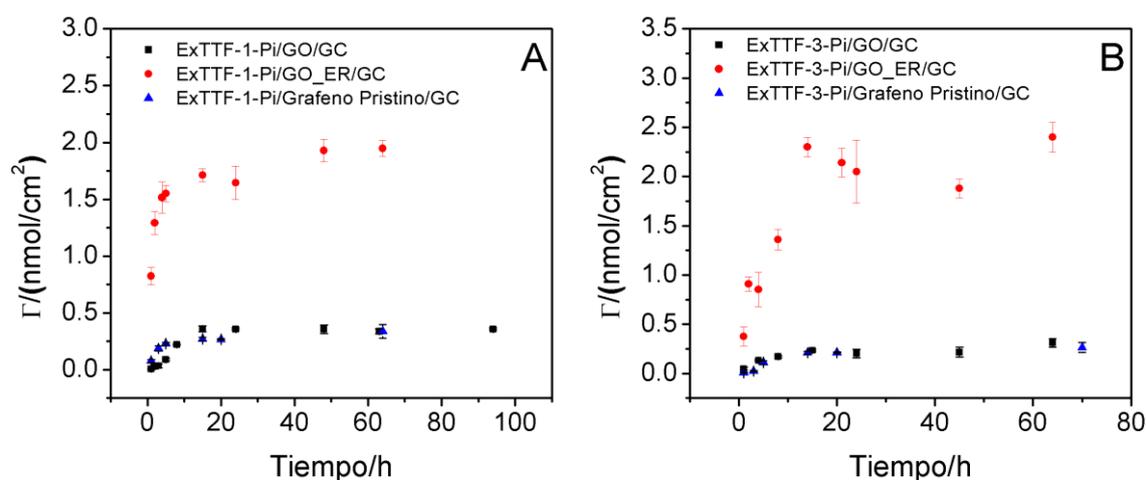


Figura 172-Recubrimiento superficial (Γ) frente a tiempo de adsorción de exTTF-1-Pi (A) y exTTF-3-Pi (B) en los electrodos GO/GC (negro), GO_ER/GC (rojo) y Grafeno Pristino/GC (azul).

En la figura 173 se muestran los recubrimientos de exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi sobre los distintos electrodos, comprobándose que en el caso de los electrodos GO/GC y Grafeno Pristino/GC se obtienen mayores recubrimientos con el exTTF-1-Pi, mientras que para el electrodo GO_ER/GO el recubrimiento es ligeramente superior para la molécula de exTTF-3-Py. Sin embargo las diferencias entre ambas moléculas no son muy elevadas, indicando que a pesar de que la molécula de exTTF-1-Pi es mucho menor no se obtienen recubrimientos mayores que para la molécula de exTTF-3-Pi, lo cual indica que además de por la fracción de pireno, el exTTF-1-Pi pueda ser adsorbido por la fracción de exTTF (figura 173A). Como se puede comprobar en todos los casos, tras 15 horas se alcanza el máximo recubrimiento para ambas moléculas electroactivas en todas las superficies electrónicas.

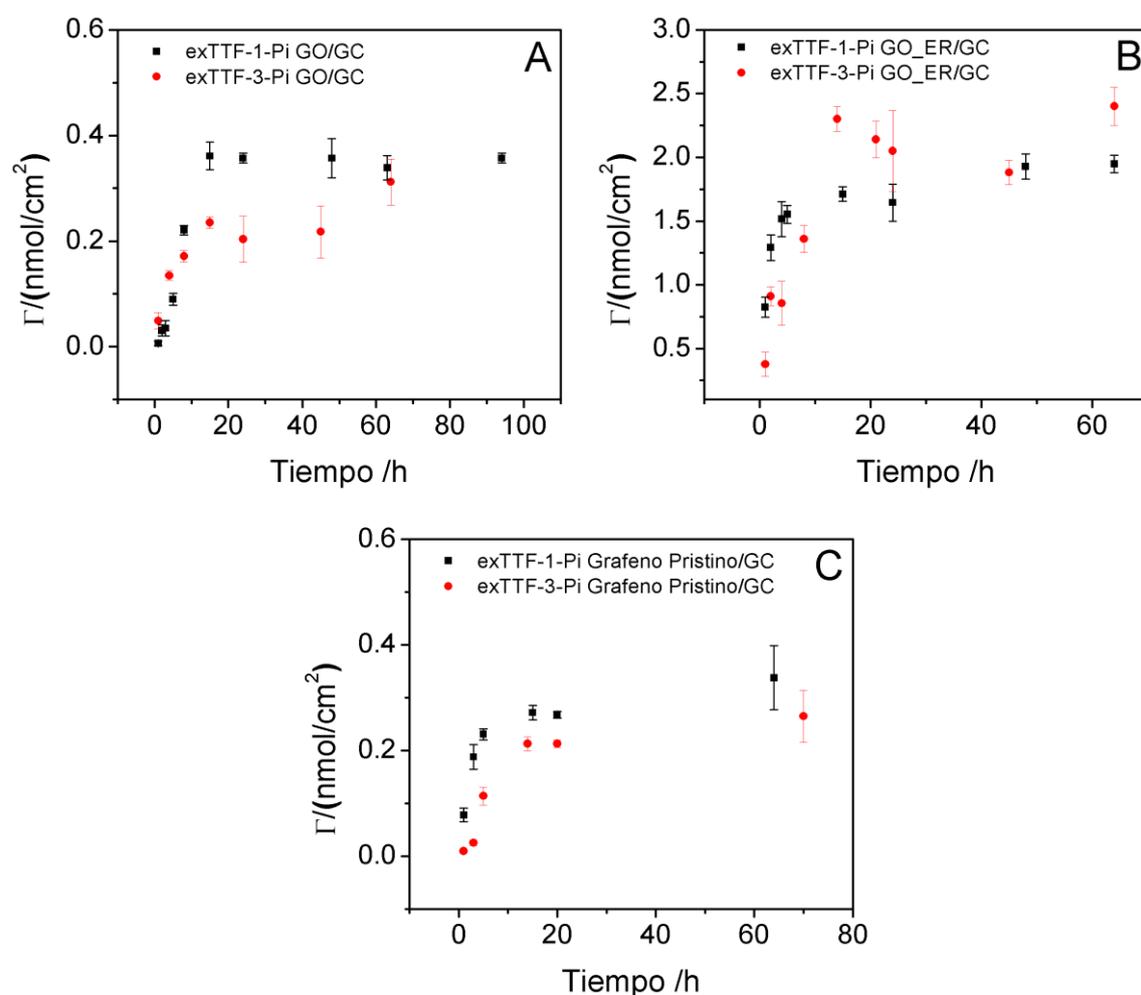


Figura 173- Recubrimiento superficial (Γ) frente a tiempo de adsorción de exTTF-1-Pi (negro) y exTTF-3-Pi (rojo) en electrodos GO/GC (A), GO_ER/GC (B) y Grafeno Pristino/GC (C).

4.2. Isotermas de adsorción.

Se han estudiado los procesos de adsorción en función de la concentración de las moléculas de exTTF-1-Pi y de exTTF-3-Pi para un tiempo fijado de 15 horas, que como se ha podido comprobar en el apartado anterior, es tiempo suficiente para que se alcance el máximo recubrimiento. Al igual que en el caso anterior cada experimento para cada una de las superficies electródicas se repitió un mínimo de tres veces.

Los valores de recubrimiento superficial obtenidos para cada una de las superficies electródicas y cada una de las moléculas se han ajustado a tres modelos habituales de isotermas de adsorción (Langmuir, Freundlich y Sips), tal y como se explican en el

apartado 4.10 de Materiales y Métodos. La figura 174, muestra las isotermas de adsorción y los valores teóricos del ajuste. A partir de estos ajustes se han obtenidos una serie de parámetros que se resumen en la tabla XXVII.

En los mayoría de los casos el mejor ajuste se obtiene para el modelo de Sips, ello es debido a que es un modelo que engloba tanto el modelo de Langmuir como el de Freundlich, conteniendo un mayor número de parámetros para el ajuste. En el caso concreto de los electrodos GO_ER/GC las isotermas de adsorción presentan buenos ajustes para el modelo de Langmuir, lo cual indica que la adsorción sobre este material da lugar a la formación de una monocapa sobre la superficie del nanomaterial. Sin embargo en el caso de los electrodos GO/GC y Grafeno Pristino/GC, las isotermas no se ajustan bien ni con el modelo de Langmuir ni con el de Freundlich, por lo que es necesario el ajuste a un modelo más complejo como el de Sips. Por tanto no se puede suponer que la adsorción de las moléculas electroactivas exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi ocurra mediante la formación de una monocapa sobre la superficie de estos electrodos, sino que probablemente da lugar a la formación de multicapas de distinta configuración. Parece que en este caso, ante la ausencia de un modelo teórico de adsorción que considere la heterogeneidad química/energética de la superficie, así como la actuación conjunta de diferentes mecanismos de adsorción, un modelo como el de Sips, con mayor número de constantes o parámetros ajustables, puede predecir en gran medida el comportamiento del sistema. En el caso de los electrodos GO_ER/GC en el que el modelo de adsorción es el de Langmuir, se han calculado las energías libres del proceso de adsorción una vez llega el sistema al equilibrio, a partir de las constantes de equilibrio que proporciona dicho ajuste. Se han obtenido los valores $\Delta G_{\text{ads exTTF-1-Pi}} = -4.18$ KJ/mol y $\Delta G_{\text{ads exTTF-3-Pi}} = -8.86$ KJ/mol. Lo cual indica que como era de esperar el proceso de adsorción está más favorecido en el caso de la molécula de exTTF-3-Pi ya que tiene un mayor número de posiciones favorables a la adsorción, al contar con los tres pies de pireno. Así mismo se demuestra su mayor estabilidad en el proceso contrario de desorción, ya que habría de aplicar más energía para que este sucediera en comparación con el caso del exTTF-1-Pi.

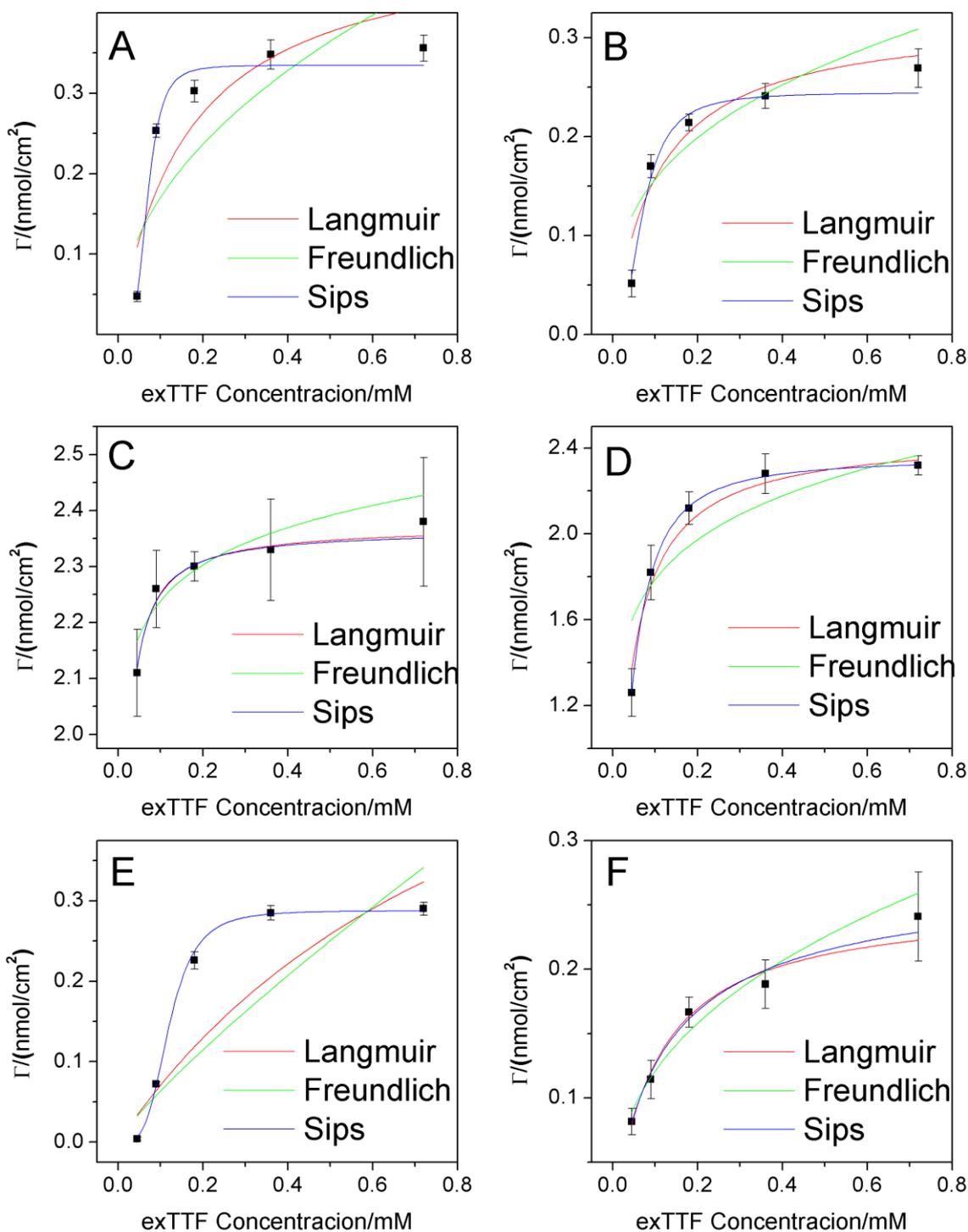


Figura 174-Isotermas de adsorción y su ajuste a los distintos modelos. (A) exTTF-1-Pi GO/GC, (B) exTTF-3-Pi GO/GC, (C) exTTF-1-Pi GO_ER/GC, (D) exTTF-3-Pi GO_ER/GC, (E) exTTF-1-Pi Grafeno Pristino/GC y (F) exTTF-3-Pi Grafeno Pristino/GC.

Tabla XXVII-Parámetros de los modelos de adsorción y bondad del ajuste (R^2).

	Isoterma de Langmuir			Isoterma de Freundlich			Isoterma de Sips			
	$\Gamma_s/(\text{mol}/\text{cm}^2)$	K_a/mM^{-1}	R^2	K_f	n	R^2	$\Gamma_s/(\text{mol}/\text{cm}^2)$	K_a/mM^{-1}	n	R^2
exTTF-1-Pi/GO/GC	4,98E-10	6,142	0,679	5,05E-10	2,1	0,503	3,35E-10	71019,23	0,24	0,985
exTTF-3-Pi/GO/GC	3,23E-10	9,615	0,850	3,45E-10	2,9	0,652	2,44E-10	723,46	0,40	0,943
exTTF-1-Pi/GO_ER/GC	2,37E-09	185,183	0,962	2,46E-09	24,4	0,778	2,36E-09	233,49	0,94	0,944
exTTF-3-Pi/GO_ER/GC	2,46E-09	27,937	0,962	2,48E-09	7,0	0,725	2,35E-09	130,48	0,66	0,999
exTTF-1-Pi/Grafeno Pristino/GC	7,66E-10	1,018	0,768	4,52E-10	1,2	0,719	2,88E-10	3417,21	0,26	0,998
exTTF-3-Pi/Grafeno Pristino/GC	2,53E-10	10,126	0,928	2,94E-10	2,6	0,932	2,77E-10	6,26	1,14	0,970

4.3. Estudio del proceso de desorción.

Se ha evaluado la estabilidad de las moléculas adsorbidas. Para ello se sumergieron los electrodos modificados por adsorción de exTTF-1-Pi o exTTF-3-Pi (0.36 mM 15 h) en una disolución TBAP 0.1 M/DMF y se registraron voltamperogramas cíclicos en determinados momentos desde el instante en el que el electrodo modificado fue transferido a la disolución de TBAP 0.1 M/DMF. Se determinó el recubrimiento del electrodo modificado (ecuación (7) de Materiales y Métodos) en cada momento medido. En la figura 175 se representa el recubrimiento obtenido para cada uno de los electrodos y cada una de las moléculas electroactivas con respecto al tiempo de inmersión durante el que tiene lugar la desorción. Los electrodos GO/GC y Grafeno Pristino/GC (figura 175A y 175C), en los que las isothermas de adsorción no se ajustaban al modelo de Langmuir, muestran comportamientos muy similares en cuanto a la desorción de la molécula de exTTF-1-Pi y la molécula de exTTF-3-Pi, a pesar de la diferencia en el número de fracciones de pirenos, es decir, que el número de estas fracciones no parece afectar a la estabilidad de la molécula sobre la superficie del electrodo. Al tratarse de sistemas con modelos de adsorción complejos, dado la heterogeneidad de la superficie plagada de defectos, que dificulta la interacción con el adsorbato de manera homogénea, no se puede establecer una hipótesis sobre el mecanismo de adsorción de dichas moléculas. Es de esperar que sea a través de las fracciones de pirenos, pero en el caso de la molécula de exTTF-3-Pi, no se puede asegurar si se adsorben todos los pirenos simultáneamente sobre la superficie del nanomaterial.

Sin embargo, en el caso de electrodos GO_ER/GC se puede comprobar en la figura 175B como la desorción de la molécula con un pie de pireno (exTTF-1-Pi) es diferente a la de tres pies (exTTF-3-Pi). En este caso, como se comentó en el apartado anterior, el modelo de adsorción se ajustaba bien al de Langmuir, lo cual permite suponer que la adsorción es a modo de monocapa de moléculas sobre la superficie del nanomaterial. Por lo tanto, la presencia de un mayor número de fracciones de pireno en la molécula de exTTF-3-Pi permite una interacción más fuerte con el nanomaterial de carbono (GO_ER), el cual al

presentar pocos defectos hace que la interacción sea similar para los tres “pies” de pireno, y por tanto se encuentren interaccionando simultáneamente con la superficie. Como consecuencia la estabilidad del recubrimiento es mucho mayor que en el caso de la molécula con un pie de pireno (exTTF-1-Pi). Esta es una prueba evidente de que en este sistema la adsorción si ocurre a través de los “pies” de pireno, y por tanto un mayor número de ellos dan lugar a recubrimiento más estables.

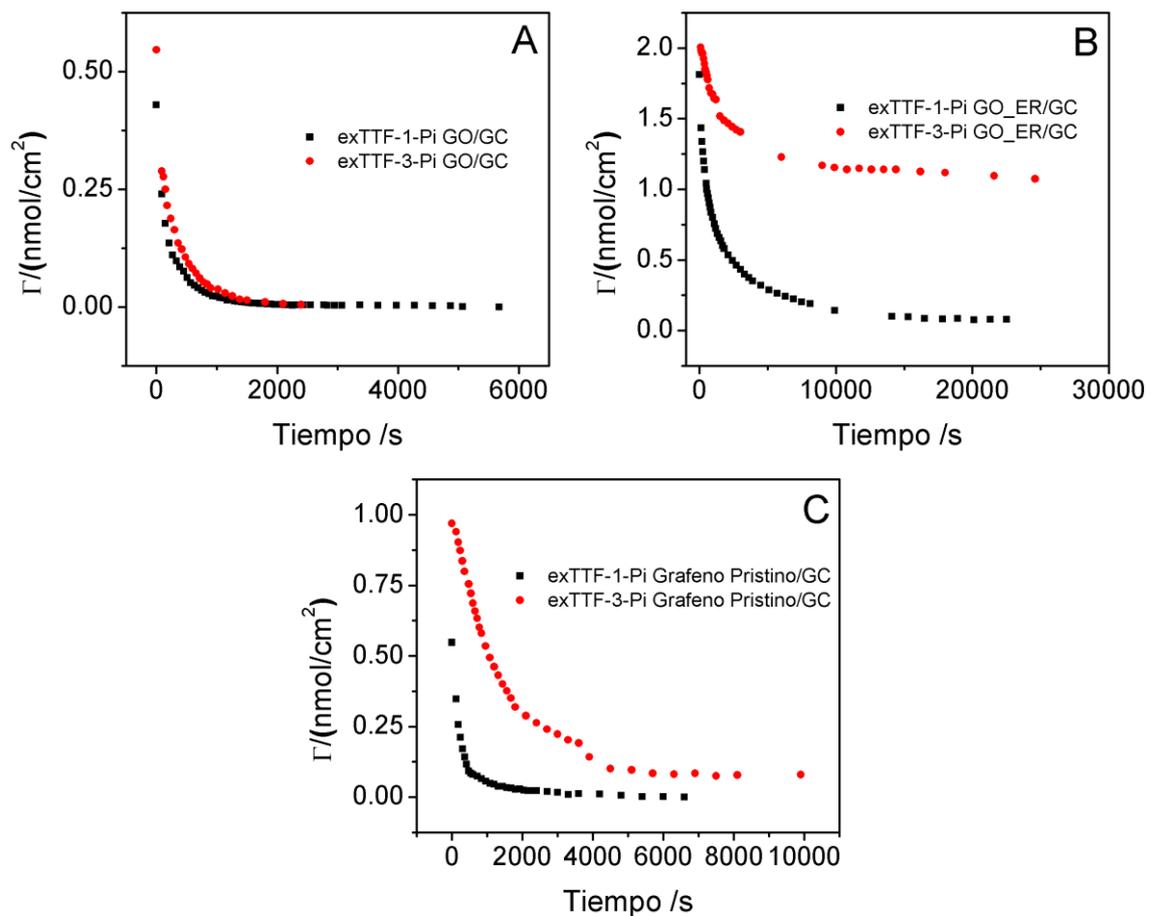


Figura 175-Recubrimiento frente a tiempo de desorción de las moléculas electroactivas exTTF-1-Pi (negro) y exTTF-3-Pi (rojo) en electrodos GO/GC (A), GO_ER/GC (B) y Grafeno Pristino/GC (C).

5. Desarrollo de un biosensor de peróxido de hidrógeno.

El tetratiofulvaleno (TTF) se ha utilizado como mediador redox en muchos procesos, para ayudar a la transferencia de carga. En particular se ha utilizado en combinación con enzimas para formar puentes de transferencia de carga en las reacciones bioelectrocatalíticas en las que están implicadas estas enzimas.

En los primeros trabajos en los que se utilizó TTF este se encontraba formando parte de electrodos de pasta de carbono^[397, 398]. Se ha usado para el desarrollo de biosensores basados en oxidoreductasas^[395, 399], aprovechando su gran insolubilidad en agua para desarrollar electrodos con el mediador inmovilizado en la superficie, lo que es de interés con el fin de desarrollar sensores que no requieran de la adición de reactivos. Con el objetivo de mejorar la transferencia electrónica entre el mediador y la superficie electródica se han buscado formas alternativas de unir el mediador (TTF) al electrodo más allá de una simple deposición sobre la superficie o su inclusión en pastas del material electródico. Hay ejemplos en los que se ha inmovilizado sobre la superficie, por ejemplo formando monocapas tioladas^[387, 394], demostrándose una mejor transferencia electrónica.

En base a estos trabajos previos, se abordó el estudio de la aplicación de los electrodos modificados en este capítulo, en el desarrollo de biosensores mediante la combinación con una peroxidasa. En particular, se realizaron estudios con la peroxidasa de rábano (HRP), para el desarrollo de un biosensor de peróxido de hidrógeno. Para llevar a cabo este estudio se utilizaron los electrodos modificados con GO_ER. Se eligieron estos en base a los mejores resultados obtenidos, ya comentados en los apartados anteriores. Entre las dos moléculas estudiadas exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi, se decidió usar el exTTF-1-Pi, ya que su comportamiento electroquímico en medio acuoso (PBS 0.1 M pH 6.5) es mejor que el del exTTF-3-Pi, mostrando una mejor transferencia electrónica posiblemente debido a que la disposición espacial del exTTF-3-Pi sobre la superficie del electrodo, hace que la fracción de exTTF, que es la electroquímicamente activa, quede más alejada del electrodo bien por su mayor carácter hidrofóbico o bien por la mayor distancia que impone la configuración en forma de trípode.

En primer lugar se estudió el comportamiento de los electrodos modificados exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en PBS pH 0.1 M 7. Se observó el par redox propio del exTTF-1-Pi (figura 176) a un potencial formal de 0.13 V. Seguidamente se comprobó la estabilidad de los electrodos, tras sucesivos barridos cíclicos de potencial, comprobándose como la intensidad del par redox apenas descendía un 3% tras 100 ciclos a 10 mV/s, lo cual demuestra la estabilidad del sistema, y que no existen procesos de desorción ni degradación de la molécula electroactiva.

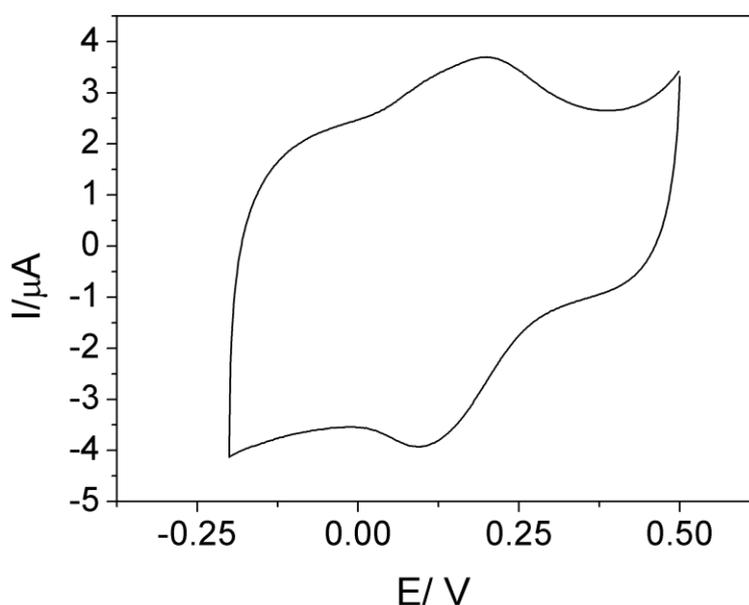


Figura 176- Voltamperograma cíclico de un electrodo exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en 0.1 M PBS pH 6.5 a 10 mV/s.

Se ensayó el funcionamiento del exTTF en el electrodo modificado como mediador de la enzima HRP en disolución, con el fin de no someter a dicha enzima a ningún proceso de inmovilización que pudiese desnaturalizarla o impedir la correcta transferencia electrónica de la enzima con el mediador. Con este propósito se adicionó a la disolución de medida 0.25 mg/mL de la enzima HRP, y se obtuvo la señal ciclo voltamperométrica del electrodo exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en ausencia y en presencia de cantidades crecientes del sustrato de la enzima (H_2O_2). Como se observa en la figura 177, conforme se adicionan cantidades crecientes de peróxido de hidrogeno va aumentando la intensidad del pico catódico, y descendiendo la intensidad del pico anódico, lo que es característico de un proceso catalítico que en este caso correspondería con el representado en la

figura 178. Según el cual el peróxido de hidrógeno se reduce a agua en la reacción catalizada por la peroxidasa (HRP), quedando la enzima en su forma oxidada, la cual es reducida por la transferencia de electrones provenientes del mediador exTTF. El mediador oxidado es entonces reducido de nuevo sobre la superficie del electrodo, de forma que la corriente catalítica medida en la señal del mediador es directamente proporcional a la concentración de peróxido de hidrógeno. Por tanto, la superficie del electrodo es capaz de actuar como mediador redox en la reacción bioelectrocatalítica.

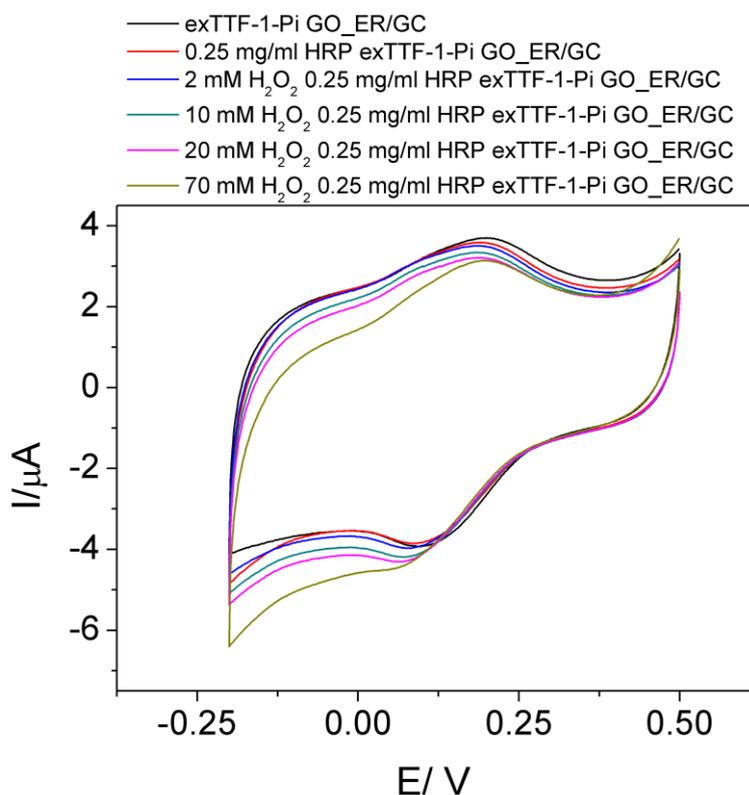


Figura 177- Voltamperogramas cíclicos de un electrodo exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en PBS 0.1 M pH 6.5 ante la presencia en disolución de 0.25 mg/mL HRP y frente a adiciones sucesivas de H₂O₂ a 10 mV/s.

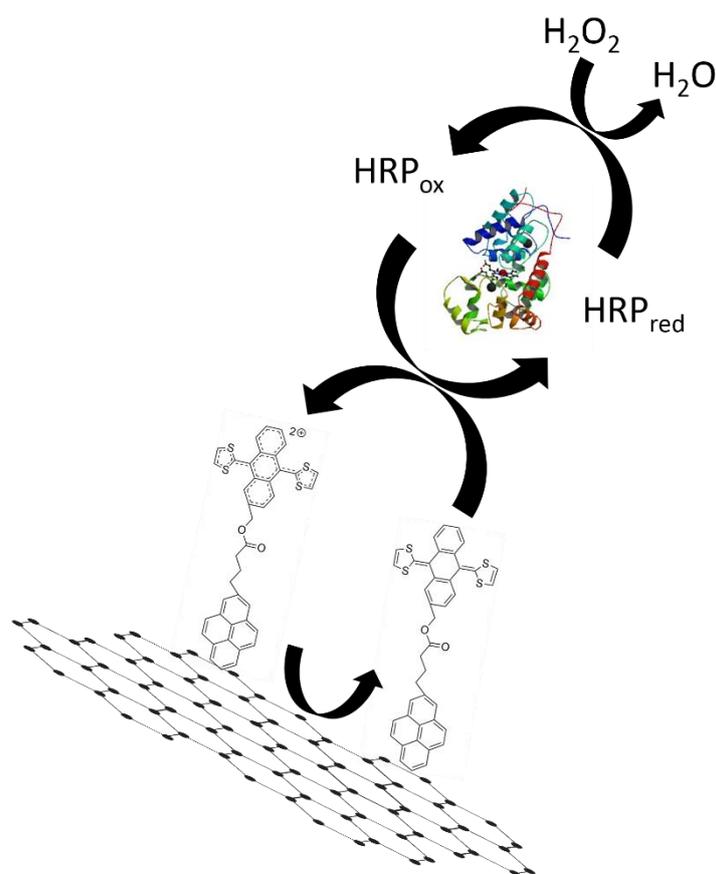


Figura 178- Mecanismo de actuación del biosensor de peróxido de hidrógeno empleando el electrodo exTTF-1-Pi/GO_ER/GC.

El siguiente paso ensayado fue la preparación del biosensor de peróxido. Para ello se procedió a la inmovilización del enzima sobre el electrodo modificado exTTF-1-Pi/GO_ER/GC. La inmovilización se realizó utilizando glutaraldehído como agente entrecruzante según se describe en el apartado 3.2.10 de Materiales y Métodos. Este compuesto es capaz de reaccionar con los aminoácidos de la enzima uniendo diferentes entidades, actuando por lo que se conoce con el término inglés de *cross-linking* o entrecruzamiento. Una vez inmovilizada la enzima (HRP-Glu/exTTF-1-Pi/GO_ER/GC), se estudió la respuesta del biosensor resultante en medio acuoso PBS 0.1 M pH 6,5, y en ausencia y en presencia de cantidades crecientes de peróxido de hidrógeno. La figura 179 muestra los voltamperogramas cíclicos obtenidos. Se observa que conforme aumenta la cantidad de H_2O_2 aumenta la intensidad del pico catódico y desciende el pico anódico del par redox del exTTF. De la misma forma obtenemos los voltamperogramas

Resultados y discusión.

Capítulo VI: Comportamiento electroquímico del TTF- π -extendido y sus derivados sobre electrodos modificados con grafeno: Aplicación al desarrollo de biosensores.

de un electrodo sin modificar con la enzima (exTTF-1-Pi/GO_ER/GC) en ausencia y presencia de H₂O₂. En este caso no se observaron cambios en el voltamperograma, por lo que se deduce que es la enzima la responsable de las corrientes catalíticas, y que por tanto se estaba produciendo la reacción enzimática. Se dedujo por tanto que el mediador (exTTF-1-Pi) es capaz de reducir a la forma oxidada de la enzima inmovilizada, que se genera en la reducción del peróxido de hidrógeno, formándose la forma oxidada del mediador (exTTF-1-Pi), la cual es reducida sobre la superficie del electrodo dando lugar a la corriente bioelectrocatalítica, gracias a la cual se detecta el proceso enzimático y se puede determinar la concentración de H₂O₂ en la disolución.

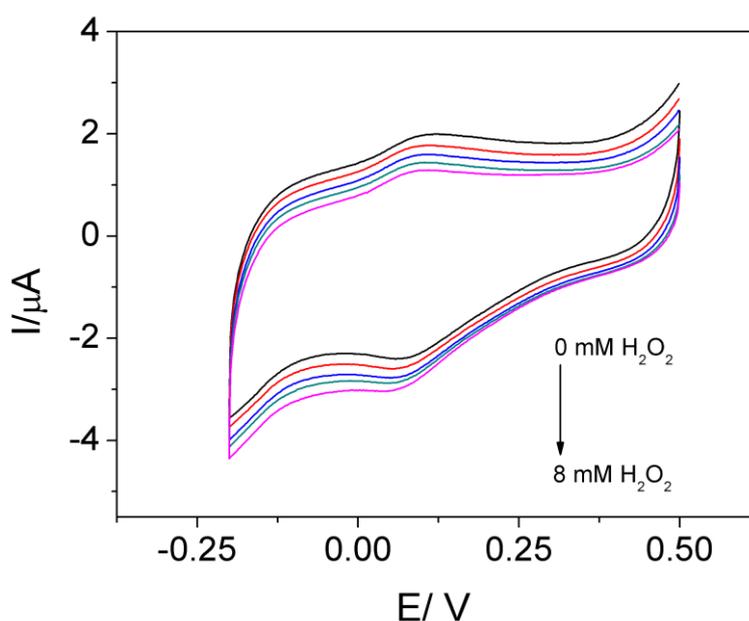


Figura 179- Voltamperogramas cíclicos del biosensor HRP-Glu/exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en 0.1 M PBS pH 6.5 ante la ausencia y la presencia de cantidades crecientes de H₂O₂ a 10 mV/s.

La respuesta del biosensor frente a concentraciones crecientes de H₂O₂ se estudió mediante cronoamperometría en estático a 0.0 V. En la figura 180A se muestra un ejemplo de las cronoamperometrías registradas, adicionando cantidades crecientes de H₂O₂. En la figura 180B se muestra la relación de intensidades registradas frente a la concentración de H₂O₂. Como se observa, el comportamiento del biosensor se ajusta bien a la ecuación de Michaelis-Menten, obteniéndose a partir del ajuste no lineal los parámetros de K_M igual 0.22 mM y una v_{max} igual a 91 nA. El biosensor alcanza la

saturación en torno a 1800 μM , concentración a partir de la cual la intensidad se mantiene constante pese a las adiciones de H_2O_2 , incluso llega un punto en el comienza a descender ligeramente dicha intensidad, por el efecto inhibitor que pueden ocasionar elevadas concentraciones del sustrato. En la figura 180C se muestra la respuesta lineal para concentraciones bajas, así como la ecuación de la curva de calibrado. A partir de esta recta de calibrado, y de los valores de intensidad registrados para el blanco se han calculado los límites de detección y cuantificación como el valor medio de 10 determinaciones del blanco más 3 o 10 veces la desviación estándar del mismo, así como la sensibilidad del sensor obtenida a partir de la pendiente de la recta. El límite de detección calculado es igual a 1.4 μM y el de cuantificación es de 4.2 μM . La sensibilidad del método es de 4.90 $\mu\text{A}/(\text{mM}\cdot\text{cm}^2)$

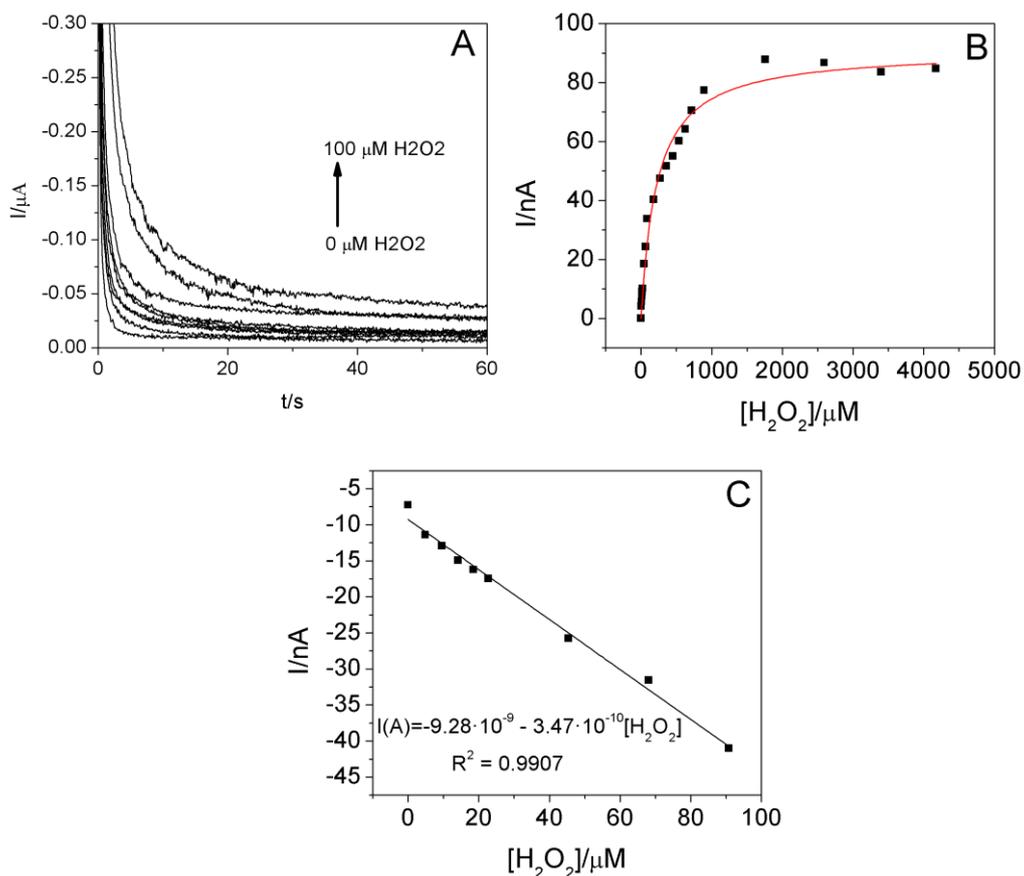
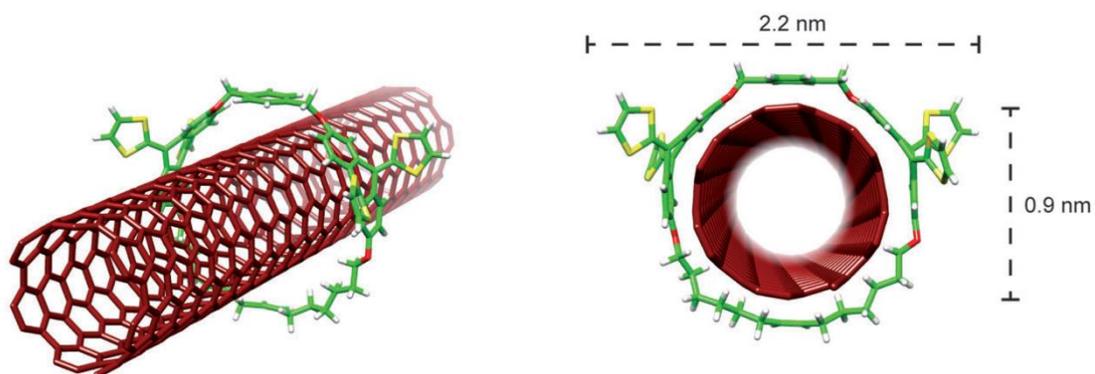


Figura 180-(A) Cronoamperometrías en estático para un biosensor HRP-Glu/exTTF-1-Pi/GO_ER/GC en 0.1 M PBS pH 6.5 ante la adición sucesiva de H_2O_2 aplicando 0.0 V. (B) Relación entre la intensidad de corriente y la concentración de H_2O_2 . (C) Recta de calibrado.

Es de reseñar el potencial tan bajo (0.0 V) al que se está detectando el peróxido de hidrógeno. En lo que respecta al límite de detección y linealidad en la recta del biosensor, se puede afirmar que se ha desarrollado un biosensor de peróxido competitivo en relación a otros biosensores de peróxido existentes.

Es importante destacar que los biosensores capaces de mediar la reducción de peróxido de hidrógeno pueden ser la base de otros desarrollos de biosensores enzimáticos capaces de generar como subproducto de su reacción peróxido de hidrógeno, por lo que esta investigación puede servir de punto de partida para el desarrollo de biosensores por ejemplo de glucosa o de lactato, ya que las respectivas enzimas que catalizan su oxidación, generan en el proceso peróxido de hidrógeno, el cual puede ser detectado con la configuración de biosensor desarrollada.

Capítulo VII: Nanotubos de carbono modificados con rotaxanos (MINTs).



Resultados y discusión.

Capítulo VII: Nanotubos de carbono modificados con rotaxanos (MINTs).

Desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono en 1991 estos han sido foco de investigación dada sus propiedades mecánicas y fisicoquímicas únicas^[400, 401]. Son múltiples las aplicaciones en las que han sido empleados, entre ellas en microelectrónica^[402-404], como dispositivos de almacenamiento de datos^[403] e interruptores moleculares^[404], y como agentes modificantes en electrodos con distintas funciones (sensores^[405, 406], biosensores^[407], supercapacitadores^[408, 409], etc.).

La modificación de nanotubos mediante distintas estrategias ha ido dotando de nuevas e interesantes propiedades a los nanotubos de carbonos. De forma habitual los nanotubos se han modificado bien por estrategias que conllevan enlaces covalentes^[410] o no covalentes^[411]. La modificación covalente resulta ser muy estable, aunque puede modificar las propiedades electrónicas del nanomaterial de carbono al establecer enlaces carbono-carbono entre el nanotubo y la molécula modificante. La modificación no covalente no altera las propiedades electrónicas del nanomaterial, sin embargo presenta en muchas ocasiones el problema de la falta de estabilidad de esta modificación con el tiempo^[412-414]. Una alternativa a estos tipos de modificaciones es la denominada *Mechanical Interlocked* (bloqueo por entrecruzamiento mecánico). Esta implica un tipo de enlace que permite la unión de varias partes o fragmentos debido al bloqueo mecánico por entrecruzamiento que se produce entre los distintos componentes, como los anillos de Borromeo que se muestran en la figura 181. Un ejemplo de estos sistemas a nivel molecular (*Mechanically interlocked molecules* (MIMs)) son los Rotaxanos. Se trata de componentes submoleculares unidos entre sí como consecuencia de su morfología, y sin establecerse entre sí enlaces del tipo covalente^[415]. En la figura 182, se muestra un esquema de MIMs^[416]. Para separar las diferentes regiones submoleculares que constituyen el MIMs es necesario que se rompan enlaces covalentes^[417], en otras palabras se puede decir que la constante de disociación de los dos fragmentos submoleculares es igual a 0. Los rotaxanos están constituidos por un macrociclo, que rodea al componente lineal (fragmento molecular con estructura lineal), el cual presenta en sus extremos grupos sustituyentes que impiden, por repulsiones químicas, la salida del macrociclo por alguno de los extremos. Entre las propiedades más llamativas de estos sistemas está la movilidad que presenta

el macrociclo a lo largo del sistema lineal, lo que ha llamado la atención hacia estos compuestos como posibles componentes de máquinas moleculares artificiales^[417-421].

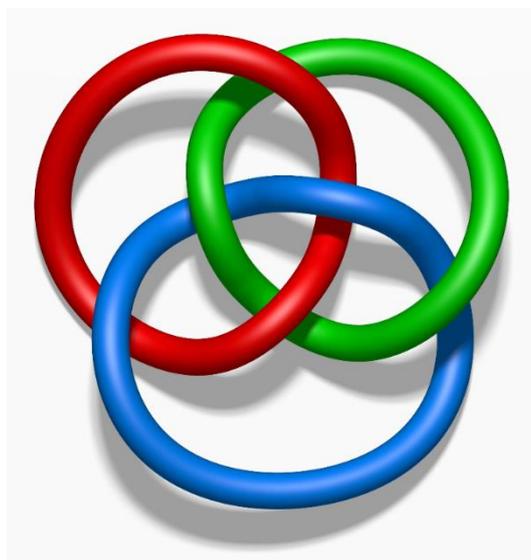


Figura 181-Anillos de Borromeo.

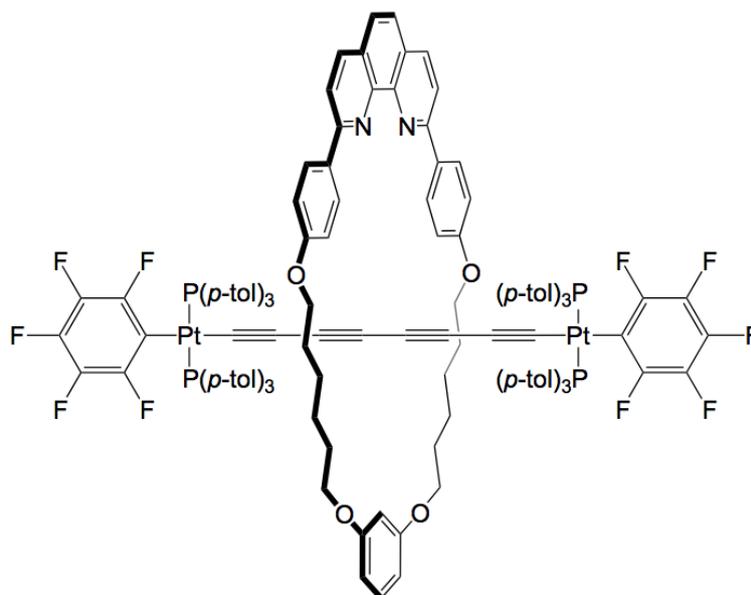


Figura 182-Ejemplo de Mechanically Interlocked Molecule (MIMs).

Como se ha indicado este tipo de uniones no requiere de la formación de enlaces covalentes, entre el macrociclo y el componente lineal, y a la vez es totalmente estable, ya que mediante este tipo de modificación está impedida totalmente la disociación de ambas unidades submoleculares. Por tanto se alcanzan las dos propiedades deseadas

para la modificación de nanotubos, no alteración de sus propiedades y estabilidad del sistema resultante tras la modificación, y es por ello que son grandes las expectativas en el desarrollo de los denominados *Mechanically Interlocked Carbon Nanotubes* (MINTs). Como se puede apreciar en la figura 183, y en la imagen de la portada del capítulo, consisten, al igual que los rotaxanos en un macrociclo en torno a una subunidad lineal, que en este caso, en vez de otra fracción submolecular es un nanotubo de carbono. Como se puede apreciar no existen elementos químicos que impidan la libre circulación del macrociclo a lo largo del nanotubo, sin embargo dada la gran longitud de estos (decenas de micras), frente a los pocos nanómetros del macrociclo es poco probable que se salgan por los extremos del nanotubo. Los MINTs han sido descritos por primera vez por el grupo del investigador Emilio Pérez (Instituto Madrileño De Estudios Avanzados-Nanociencia)^[162]. El trabajo realizado en esta tesis es fruto de una colaboración con dicho grupo, que han realizado la síntesis de estos MINTs, la cual está descrita en la bibliografía^[162].

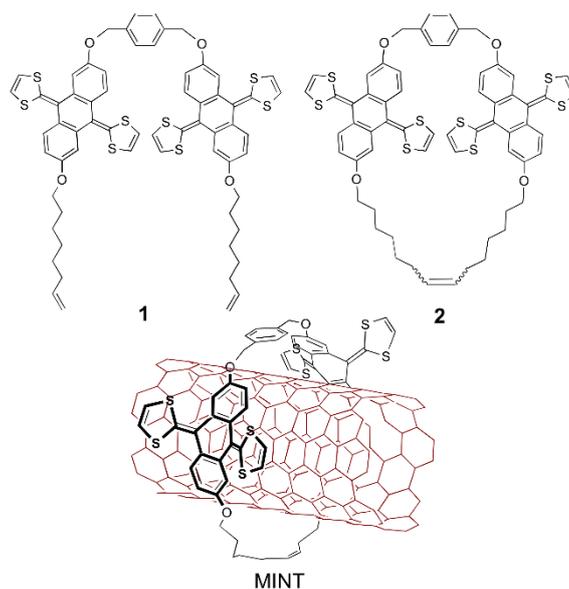


Figura 183- (1) Macrociclo lineal, estructura previa a la reacción que los dispone en torno al nanotubo de carbono. (2) Macrociclo cerrado, tras la reacción que provoca la formación del enlace covalente entre sus extremos. (3) MINTs, nanotubo de carbono modificado con el macrociclo cerrado.

Para la formación de este tipo de estructuras es necesario que exista en primer lugar cierta afinidad (atracción) entre la estructura lineal y el macrociclo. En el caso de la

configuración estudiada en esta tesis, esta afinidad viene dado por las dos fracciones de tetratiofulvaleno π -extendido (exTTF), la cual es capaz de disponerse en torno al nanotubo de forma adecuada para que al cerrarse el macrociclo, el nanotubo quede en el hueco interior. Esta afinidad es debida a la interacción π - π que se establece en la banda de conducción del nanotubo de carbono y la nube aromática del sistema exTTF. Este hecho se ha comprobado experimentalmente, en moléculas similares que contienen fracciones de exTTF, comprobándose la disposición de estas rodeando al nanotubo^[422], y también mediante cálculos teóricos según se recoge en la bibliografía^[162].

Para comprobar la modificación de los nanotubos en la forma comentada, en el trabajo previo^[162], se comprobó mediante una serie de estudio utilizando técnicas como termogravimetría (TGA), resonancia magnética nuclear (RMN), RAMAN, espectroscopía UV-Vis, y mapeado de excitación fotoluminiscente (PLE). Todas ellas aportan cierta evidencia de la modificación del nanotubo con el macrociclo de la manera descrita, sin embargo no fueron del todo concluyentes. Las técnicas electroquímicas pueden ayudar a conocer mejor el proceso de modificación y corroborar si se efectúa en el modo descrito. Con este objetivo se realizó una serie de ensayos con los MINTs.

1. Caracterización electroquímica de los MINTs en suspensión.

El primer objetivo fue caracterizar el comportamiento electroquímico de los MINTs. Para ello se prepararon suspensiones de estos en un disolvente que permitiera una buena dispersión, con el objetivo de asegurar la homogeneidad de la suspensión de medida, y que no se generasen depósitos del nanotubo en la fase líquida. El disolvente elegido fue dimetilformamida (DMF), ya que la experiencia previa en trabajos con este tipo de MINTs dio buenos resultados en este sentido. Se emplearon por tanto suspensiones de MINTs en TBAP 0.1 M/DMF, tal y como se describen en el apartado 1.4.4 de Materiales y Métodos. Además de suspensiones de los MINTs, también se estudiaron suspensiones de nanotubos de carbono (6,5-SWCNT) mezclados con moléculas del macrociclo tanto abierto como cerrado. El objetivo de estas últimas era observar posibles diferencias en el comportamiento electroquímico en función del tipo de interacción existente entre el nanotubo y el macrociclo, es decir observar diferencias para una interacción tipo MINTs y otro tipo de interacciones que se puedan dar a partir de las mezclas de nanotubos con el macrociclo bien interacciones de tipo π - π o de otra naturaleza. En la figura 184 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos en un electrodo de carbón vítreo (GC) sumergido en distintas suspensiones (MINTs, mezcla de macrociclo lineal con nanotubos de carbono (6,5 SWCNT), y mezcla macrociclo cerrado con 6,5 SWCNT) y disoluciones (macrociclo lineal y macrociclo cerrado) en TBAP 0.1 M/DMF. En todos los casos se aprecia un par redox, cuyo potencial formal está en torno a +0.26 V. Este par redox, dado su potencial, se atribuye a la oxidación, perdiendo 2 electrones, de la fracción electroactiva de exTTF y la consecuente reducción en el barrido de vuelta de la especie generada^[387, 423]. En la tabla XXVIII se muestran el potencial de pico anódico (E_a), el potencial de pico catódico (E_c), el potencial formal (E^0) y la separación de picos ($\Delta E_p = E_a - E_c$). La primera observación que se aprecia de los datos de la tabla XXVIII y la figura 184 es que todas las configuraciones presentan el mismo potencial formal, lo cual apoya los resultados de los trabajos previos que por RAMAN y por absorción ultra violeta visible concluían que no había transferencia de carga de las fracciones de exTTF del macrociclo al nanotubo de carbono, y por tanto estas fracciones se mantienen en su estado de oxidación inicial. En los voltamperogramas de las disoluciones de las dos conformaciones del macrociclo se aprecia que el proceso redox se vuelve más

irreversible (mayor valor de ΔE_p) cuando el macrociclo se encuentra cerrado en comparación con su conformación abierta, es decir sin haber reaccionado para formar el ciclo. Este comportamiento también se observa cuando ambas conformaciones del macrociclo simplemente se mezclan con nanotubos de carbono, aunque la separación de pico disminuye en comparación con las disoluciones sin nanotubos, lo cual indica una mejor transferencia electrónica y procesos electroquímicamente más reversibles, debido a la interacción de las especies electroactivas con el nanomaterial de carbono. Se observa que este efecto es mucho más pronunciado en el caso del MINTs, indicando que existe una interacción distinta y más eficiente para la transferencia electrónica, que cuando simplemente se mezclan los macrociclos y los nanotubos dando lugar a una interacción supramolecular entre el macrociclo y el nanotubo de carbono. Además es significativo, las diferencias en la intensidad de corriente de cada una de las configuraciones analizadas. Las mezclas tanto del macrociclo abierto como del macrociclo cerrado con nanotubos de carbono (6,5-SWCNT) presentan menores intensidades de corriente que las disoluciones de ambos componentes sin nanotubos, siendo la concentración del macrociclo igual en todas las disoluciones/suspensiones. A igualdad de concentraciones, la intensidad va a ser proporcional al coeficiente de difusión de las especies, y por tanto, una menor intensidad va a ser debida a un menor coeficiente de difusión, lo que nos indica la existencia de una interacción supramolecular, a modo de adsorción parcial, entre el macrociclo (en cualquiera de sus dos formas) y el nanotubo de carbono. Esta interacción entre ambos va a generar híbridos (nanotubo-macrosciclo) que debido a su mayor tamaño (en comparación con la molécula de macrociclo libre) van a presentar un coeficiente de difusión mayor. De acuerdo con esta observación la intensidad de corriente medida para los MINTs es menor, ya que en este caso todas las moléculas de macrociclo se encuentran interaccionando (asociadas) con el nanotubo de carbono, no hay moléculas libres que difundan hacia la superficie del electrodo.

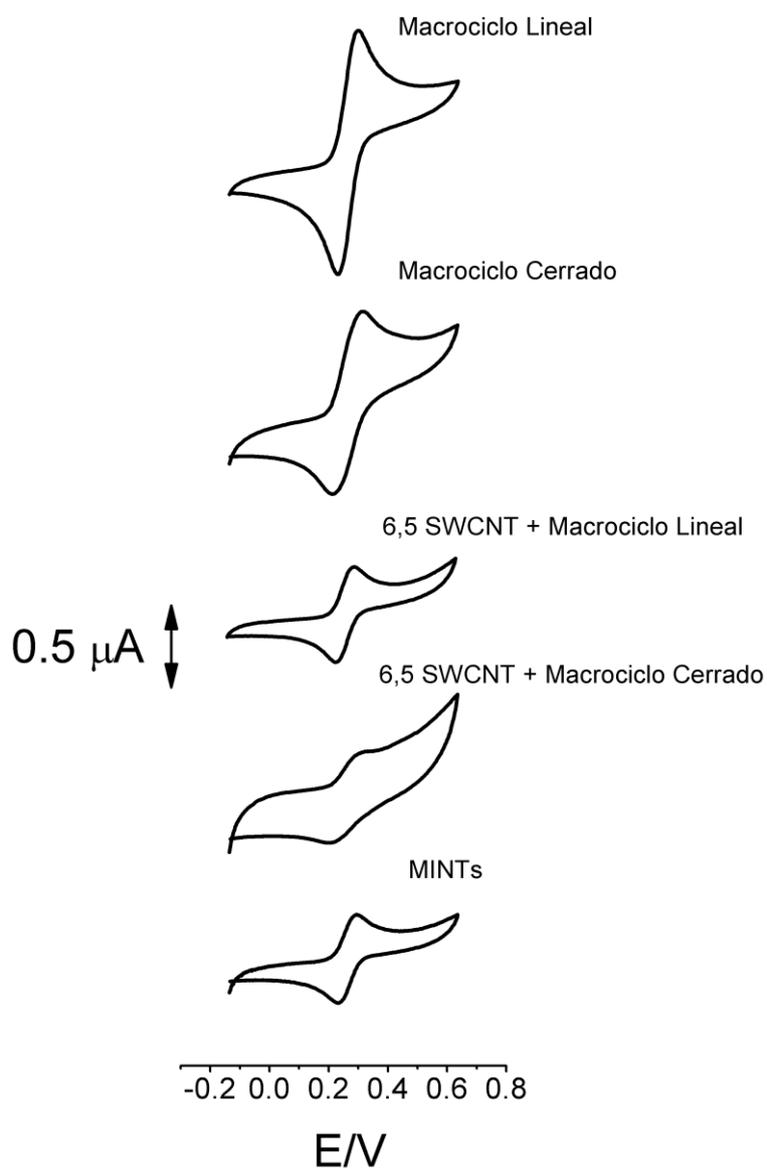


Figura 184-Voltamperogramas cíclicos obtenidos con un electrodo de GC en suspensiones de MINTs, mezcla de macrocielo lineal con nanotubos de carbono (6,5 SWCNT), mezcla macrocielo cerrado con 6,5 SWCNT y disoluciones de macrocielo lineal y de macrocielo cerrado en TBAP 0.1 M/DMF a 10 mV/s.

Tabla XXVIII- Potencial de pico anódico (E_a), potencial de pico catódico (E_c), potencial formal (E^0) y separación de pico ($\Delta E_p = E_a - E_c$) obtenidos de los voltamperogramas de la figura 184.

Muestra	E_a / mV	E_c / mV	E^0 / mV	ΔE_p /mV
Macrociclo Abierto	291	236	264	55
Macrociclo Cerrado	301	221	261	80
Macrociclo Abierto + (6,5)-SWCNT	285	236	261	49
Macrociclo Cerrado + (6,5)-SWCNT	293	219	256	74
MINTs	291	236	264	55

2. Electrodo modificado con MINTs.

Se estudió también los comportamientos electroquímicos de las distintas configuraciones de nanotubos con macrociclo (MINTs, macrociclo abierto + 6,5 SWCNT y macrociclo cerrado + 6,5 SWCNT) inmovilizados en electrodos GC. Para ello se modificaron los electrodos mediante deposición de gota con las suspensiones, y dejando los electrodos secar introduciéndolos en un desecador conectado a una bomba de vacío para acelerar el proceso. Una vez modificados los electrodos se estudió su comportamiento en disoluciones TBAP 0.1 M/DMF mediante voltamperometría cíclica. En la figura 185 se muestran los voltamperogramas, a distintas velocidades de barrido, obtenidos con los electrodos modificados con cada una de las suspensiones estudiadas. En todos los casos los voltamperogramas muestran la forma típica de procesos confinado sobre la superficie del electrodo, con pequeñas variaciones de ΔE_p . Además, muestran un claro comportamiento químico reversible al ser próximo a la unidad la relación de carga del pico anódico y catódico y presentan un comportamiento electroquímico quasi-reversible, como se puede comprobar al aumentar la separación de los picos anódicos y catódicos (tabla XXIX) conforme aumenta la velocidad de barrido de potencial.

Tabla XXIX- Separación de pico ($\Delta E_p = E_a - E_c$) a distintas velocidades de barrido obtenidos de los voltamperogramas figura 185.

Muestra	ΔE_p /mV	ΔE_p /mV	ΔE_p /mV
	(10 mV/s)	(100 mV/s)	(500 mV/s)
Macrociclo Abierto + (6,5)-SWCNT	12	70	202
Macrociclo Cerrado + (6,5)-SWCNT	13	73	225
MINTs	24	64	180

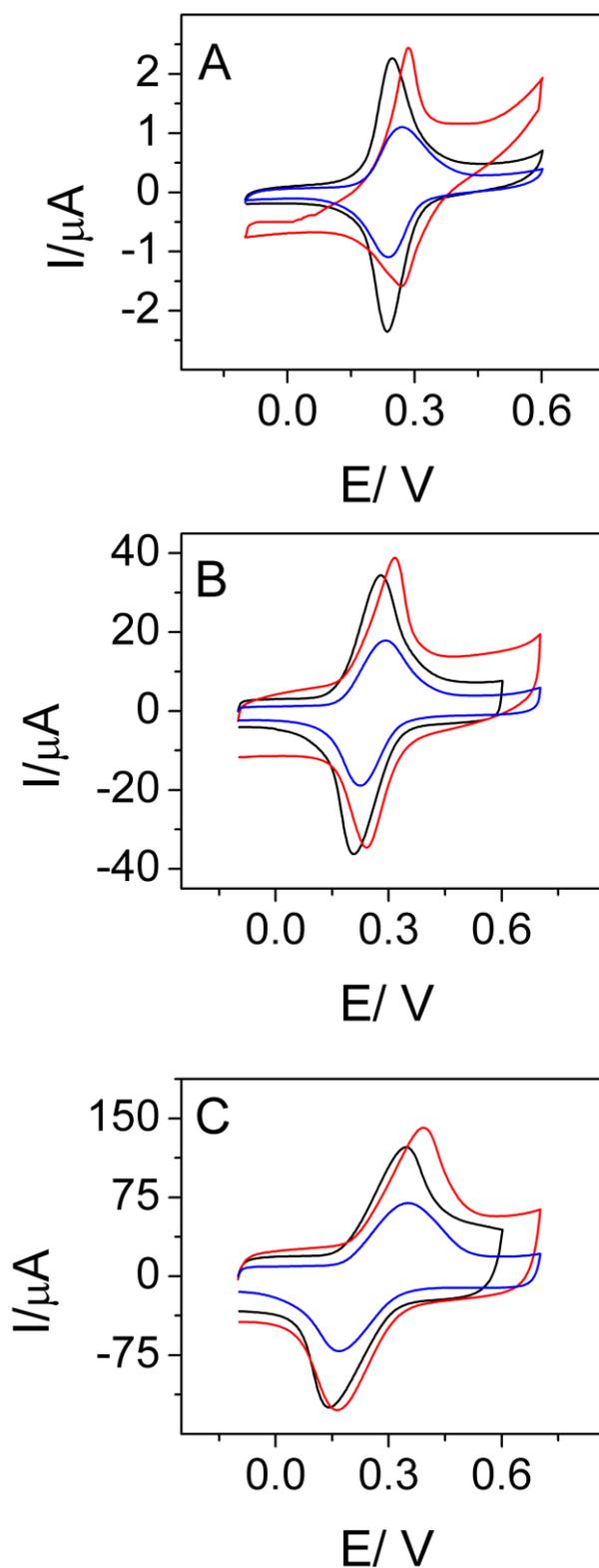


Figura 185-Voltamperogramas cíclicos de electrodos GC modificados por deposición de gota de suspensiones de MINTs (azul), 6,5 SWCNT + macrociclo cerrado (rojo) y 6,5 SWCNT + macrociclo abierto (negro) en TBAP 0.1 M/DMF a 10 mV/s (A), 100 mV/s (B) y 500 mV/s (C).

Se realizó un estudio de Laviron (figura 186) para comprobar cómo afecta a la transferencia electrónica las distintas configuraciones del nanotubo de carbono respecto al macrociclo, es decir para ver si existen diferencias entre el MINTs y la interacción supramolecular entre el nanotubo y el macrociclo tanto en su disposición cerrada como abierta. En todos los electrodos modificados se observa el comportamiento simétrico que presentan los picos anódicos y catódicos al aumentar la velocidad de barrido, así como la similitud de las pendientes de las regiones lineales con respecto al logaritmo de la velocidad de barrido, lo cual sugiere que el coeficiente de transferencia es próximo a 0.5. En la tabla XXX se recogen los valores obtenidos para la constante de transferencia de carga (k_s) así como el coeficiente de transferencia de carga (α). El análisis de los valores obtenidos para las constantes de transferencia electrónica sí muestra diferencias entre las muestras modificadas con MINTs y aquellas modificadas con nanotubos con simple interacción supramolecular del macrociclo. Es decir que el diferente tipo de interacción de la molécula de macrociclo con el nanotubo de carbono afecta a la transferencia de electrones entre la fracción electroactiva del macrociclo (exTTF) y el electrodo. El valor más alto de la constante obtenido para los casos de interacción supramolecular, sugiere que este tipo de interacción, más débil que en el caso MINTs sobre el nanotubo de carbono, da lugar a un aumento de la probabilidad de transferencia de electrones sobre la superficie del electrodo, facilitando la transferencia de electrones. Sin embargo en el MINTs, estos procesos de adsorción sobre la superficie del electrodo están menos favorecidos dada la interacción más fuerte entre el macrociclo y el nanotubo. Por tanto se puede corroborar también a través de su inmovilización sobre electrodos, el diferente comportamiento electroquímico de los MINTs y de aquellas configuraciones en que solamente se producen interacciones supramoleculares entre el macrociclo y el nanotubo de carbono.

Tabla XXX-Valores de constante de transferencia de carga heterogénea (k_s) y de coeficiente de transferencia de carga (α) calculados para los análisis de Laviron de la figura 186.

Muestra	k_s/s^{-1}	α
Macrociclo Abierto + (6,5)-SWCNT	26.1	0.486
Macrociclo Cerrado + (6,5)-SWCNT	26.1	0.516
MINTs	21.4	0.440

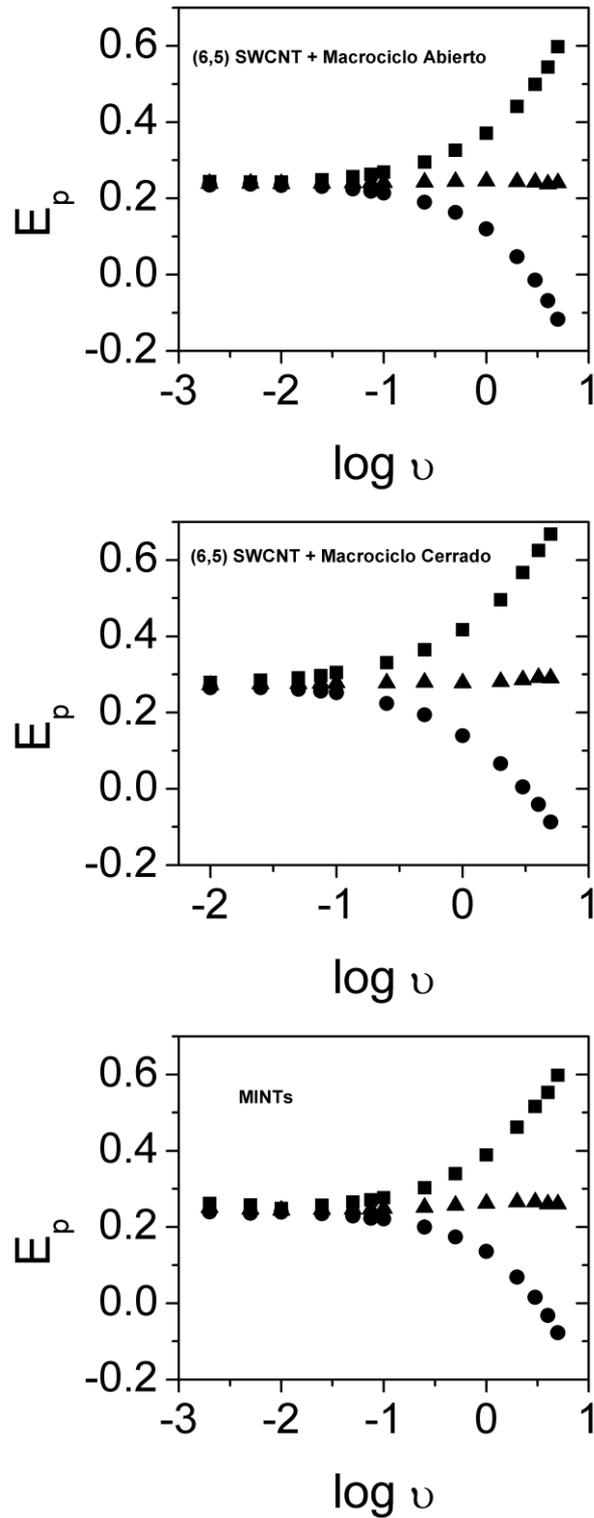


Figura 186-Intensidad de pico anódico (■), catódico (●) y potencial formal (▲) frente al logaritmo de la velocidad de barrido de potencial de electrodos de GC modificados con las suspensiones (1) (6,5)-SWCNT + Macrociclo abierto, (2) (6,5)-SWCNT + Macrociclo cerrado y (3) MINTs por deposición de gota.

3. Determinación de los coeficientes de difusión.

En el apartado 1 de este capítulo se ha comprobado que en los voltamperogramas cíclicos se observaban diferencias en la intensidad de corriente en función del tipo de interacción entre el macrociclo y el nanotubo de carbono cuando estos se encontraban en suspensiones y disoluciones de la misma concentración de la especie electroactiva. Este hecho, se ha explicado en base a las diferencias en el coeficiente de difusión de estas especies en función del tipo de interacción con el nanotubo de carbono. Para corroborar esta suposición se realizaron nuevos estudios para determinar el coeficiente de difusión de las distintas suspensiones/disoluciones utilizando electrodos rotatorios de disco-anilla mediante el método descrito por Chatenet, descrito en el apartado 4.2 de Materiales y Métodos. En este caso se registraron cronoamperometrías en el electrodo de anilla, cuando el potencial aplicado sobre el electrodo de anilla en todo momento fue de +0.4 V, mientras que en el disco en primer lugar se aplicó 0 V hasta la estabilización de la corriente y después +0.4 V, registrándose el tiempo que tarda en cambiar la intensidad de corriente de la cronoamperometría desde el momento en el que se aplica este segundo potencial (tiempo de tránsito, t_s). La representación del tiempo de tránsito frente a la inversa de la velocidad de rotación del electrodo (ω^{-1}) muestra una relación lineal. A partir de la pendiente de la gráfica, utilizando la ecuación (3) de Materiales y Métodos se puede obtener el coeficiente de difusión de la especie analizada. La figura 187 muestra un ejemplo de las cronoamperometrías registradas a distintas velocidades de rotación del electrodo rotatorio.

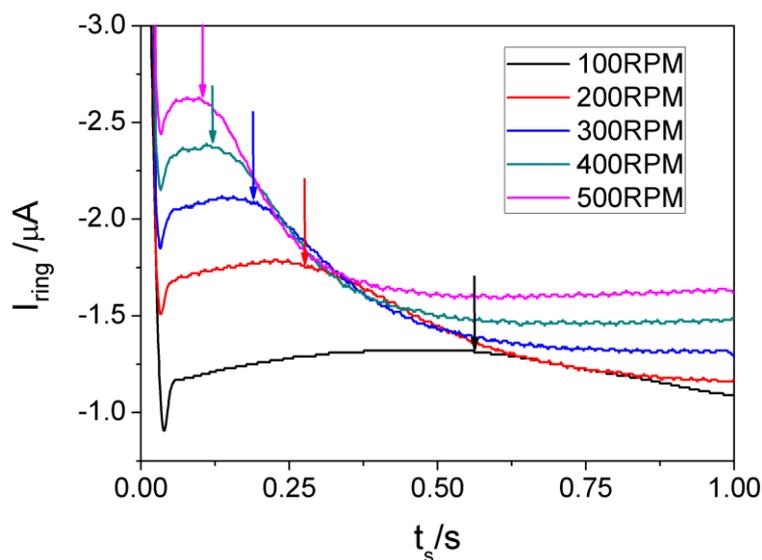


Figura 187-Cronoamperometrías registradas con la anilla del electrodo rotatorio de disco de GC y de anilla de platino desde el momento en el que se aplica el segundo potencial (+0.4 V) a distintas velocidades de rotación del electrodo rotatorio en una disolución de macrociclo lineal en TBAP 0.1 M/DMF. Las flechas indican el tiempo de tránsito (t_s) de cada una de las medidas.

Se midieron mediante este método los coeficientes de difusión de las disoluciones de macrociclo lineal y de macrociclo cerrado. También se midieron los coeficientes de difusión de las suspensiones de MINTs, la mezcla de macrociclo lineal + 6,5-SWCNT, y la mezcla de macrociclo cerrado + 6,5-SWCNT. A partir de las cronoamperometrías registradas para cada una de las configuraciones se obtuvieron las rectas que se muestran en la figura 188. Estas rectas son el valor medio de 3 medidas de cada velocidad de rotación registradas. A partir de estas rectas se determinan los coeficientes de difusión de las especies electroactivas en las diferentes suspensiones/disoluciones mencionadas. En la tabla XXXI se muestran los coeficientes de difusión calculados. En ausencia de nanotubos, el macrociclo presenta un coeficiente de difusión distinto en función de si se encuentra en la configuración abierta o cerrada. Como era de esperar la configuración del macrociclo abierto muestra un mayor coeficiente de difusión, ya que dos de sus dimensiones están reducidas a unos pocos angstroms, por el contrario en la configuración cerrada, dos de sus dimensiones llegan al nanómetro al formar el ciclo, de ahí el menor valor del coeficiente de difusión. En el caso de suspensiones en los que se mezclan los nanotubos de carbono con los macrociclos hay que tener en cuenta que no

todas las moléculas del macrociclo interactúan a la vez con los nanotubos de carbono, por ello la medida del coeficiente de difusión proporciona un valor medio del coeficiente de difusión tanto de las moléculas de macrociclo que están interactuando con el nanotubo, como de aquellas que no lo hacen. Cuando en el medio están presentes los nanotubos de carbono (6,5-SWCNT), el coeficiente de difusión del macrociclo lineal disminuye como consecuencia de su interacción con el nanotubo de carbono. Lo mismo ocurre en el caso de la mezcla del macrociclo cerrado con nanotubos, aunque el descenso es menos acusado en este caso, lo cual es una evidencia de que el macrociclo interactúa con el nanotubo en menor medida en esta disposición que cuando se encuentra en su forma abierta. Finalmente los MINTs dieron el coeficiente de difusión menor, con una diferencia de un orden de magnitud con respecto al macrociclo abierto. Este resultado es una evidencia de que se establece otro tipo de interacción entre el macrociclo y el nanotubo, diferente a una simple interacción supramolecular de adsorción de las moléculas sobre los nanotubos. Además este valor tan bajo, solo se explica como consecuencia de que el MINTs se comporte en sí como un ente molecular de gran tamaño, de forma que para que difunda el macrociclo electroactivo es necesario que se mueva en conjunto todo el nanotubo al que está rodeando. Este resultado es una evidencia más de que la formación de los MINTs, según el procedimiento descrito^[162], tiene lugar, y que no se produce la simple adsorción del macrociclo sobre los nanotubos.

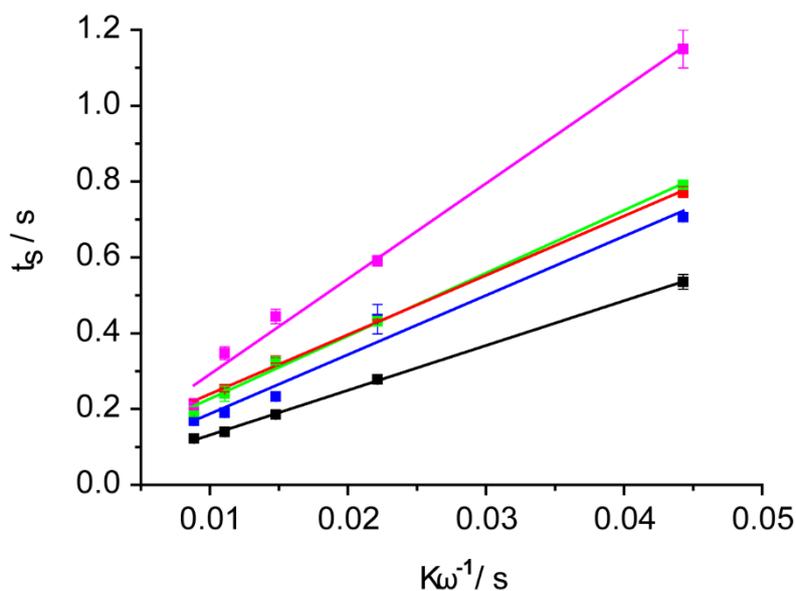


Figura 188-Representación del tiempo de tránsito frente a la relación entre la constante (K) y la velocidad de rotación del electrodo para el macrociclo lineal (negro), el macrociclo cerrado (verde), el macrociclo lineal + 6,5 SWCNT (rojo), el macrociclo cerrado + 6,5 SWCNT (azul) y los MINTs (rosa).

Tabla XXXI- Coeficientes de difusión obtenidos para las especies electroactivas en diferentes disoluciones/suspensiones.

Muestra	$D \cdot 10^6 / \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Macrociclo Abierto	5.73
Macrociclo Cerrado	2.38
Macrociclo Abierto + (6,5) SWCNT	2.29
Macrociclo Cerrado + (6,5) SWCNT	2.01
MINTs	0.58

Resultados y discusión.

Capítulo VII: Nanotubos de carbono modificados con rotaxanos (MINTs).

Resumen/Abstract.

1. Resumen.

En el trabajo de tesis realizado se han abordado dos objetivos principales. El primero ha sido la modificación de superficies electródicas con nanomateriales a partir de diferentes estrategias. Las superficies modificadas resultantes se han caracterizado mediante diversas técnicas y se ha estudiado su comportamiento electroquímico así como su aplicación en el ámbito del electroanálisis y del almacenamiento energético. El segundo objetivo ha comprendido el estudio de nanomateriales de carbono modificados con moléculas electroactivas. Se han estudiado sus propiedades electroquímicas y su potencial aplicación en el desarrollo de sensores y biosensores.

Para alcanzar el primer objetivo se ha desarrollado una metodología para llevar a cabo la electrosíntesis del polímero *yodo diplatino tetraquis (ditioacetato)* $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$ a partir del complejo tipo *Paddle-Wheel diyodo diplatino tetraquis (ditioacetato)* $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$ (monómero oxidado). Para ello en primer lugar se realizó un estudio minucioso del comportamiento electroquímico del monómero oxidado. Estos estudios concluyeron que el proceso a -0.20 V es consecuencia de la reducción de uno de los centros metálicos de platino, el cual se reduce tomando un electrón, de modo que se genera una especie inestable del tipo $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]^-$ capaz de dismutarse. De esta forma, dos unidades de esta especie generan una unidad de monómero oxidado de partida $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$, una unidad de monómero reducido $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$ y dos aniones yoduro. Los yoduros producidos en la reducción se oxidan a $+0.27$ V. Al aplicar barridos cíclicos de potencial sucesivos se producen las proporciones adecuadas de yodo molecular, que reaccionan con el monómero reducido generando nanoesferas del polímero $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$. Estas nanoesferas porosas de 500 nm de diámetro cubren de manera homogénea la superficie electródica y están formadas por cadenas lineales del polímero que se enrollan entre sí formando una especie de madejas de morfología esférica.

Se ha estudiado el comportamiento electroquímico de complejos de níquel, en particular complejos tipo *Paddle-Wheel diníquel tetrakis (monotioacetato)* $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. Estos se oxidan generando sobre la superficie del electrodo el complejo

tipo *Paddle-Wheel diníquel tetrakis (diacetato)* $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$. Hasta la fecha su síntesis no ha sido descrita por ningún método químico o electroquímico. Se ha propuesto un mecanismo para este proceso electroquímico según el cual cada átomo de azufre del precursor se oxida perdiendo un electrón y forman puentes disulfuros entre sí, dando lugar a la especie H_2S_2 . Las posiciones de los azufres que se liberan son ocupadas por átomos de oxígeno de las moléculas de agua que se encuentran hidratando el disolvente, dando lugar al complejo de níquel $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ de tipo *Paddle-Wheel*. Este complejo se electrodeposita sobre el electrodo formando microestructuras, que cuando se someten a un tratamiento electroquímico de ciclado de potencial en medio básico (NaOH 0.1 M) se transforman en nanopartículas de hidróxido de níquel. Se han caracterizado estas nanoestructuras morfológicamente y se ha estudiado su comportamiento electroquímico en medio básico. Los electrodos modificados con estas nanoestructuras se han aplicado a la electrooxidación catalítica de azúcares (glucosa, fructosa, maltosa, lactosa y sacarosa) así como de alcoholes (metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, ciclopentanol y ciclohexanol), y se han desarrollado sensores con buenos límites de detección y cuantificación para ambos tipos de analitos. Este mismo proceso de electrosíntesis del complejo de níquel $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ se ha aplicado a electrodos previamente modificados con una suspensión de nanotubos de carbonos carboxilados de pared múltiple (MWCNT-COOH) y Nafion. Los electrodos modificados resultantes han sido empleados como sensores electroquímicos en la determinación de insulina en muestras reales de plasma humano y de preparados farmacéuticos. También se ha desarrollado una metodología para la modificación de electrodos serigrafiados con el complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$, a partir de una disolución del mismo previamente electrosintetizado sobre un electrodo de oro de gran superficie. Finalmente el complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ se transformó en nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$. Igualmente se modificaron electrodos serigrafiados que contenían nanotubos de carbono. Estos electrodos ($\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{SWCNT}$) se han empleado para la determinación de aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea, y de urea, acoplándolos a un sistema de FIA y HPLC. El sistema se ha aplicado a la determinación de estos aminoácidos en muestras reales de orina y suero humano.

Los electrodos modificados con nanopartículas de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ desarrollados se han utilizado como base para la obtención de electrodos modificados con nanoestructuras de NiHCF. Estos electrodos se han aplicado al desarrollo de supercapacitadores o capacitadores electroquímicos. Aunque no han tenido un comportamiento perfecto para el desarrollo de supercapacitadores, sí que se han sentado las bases de la modificación de electrodos con nanopartículas del complejo NiHCF, cuando la mayoría de métodos descritos da lugar a la formación de películas y no de nanoestructuras.

El segundo objetivo de la tesis ha tratado la modificación de electrodos con distintas formas de grafeno (grafeno oxidado (GO), grafeno oxidado electroquímicamente reducido (GO_ER) y grafeno pristino) y su posterior modificación mediante adsorción de tetratiofulvaleno con sistema π -extendido (exTTF) y sus derivados con fracciones de pireno (exTTF-1-Pi y exTTF-3-Pi). Se ha podido comprobar como los procesos de adsorción se producen de manera diferente, y por tanto se ajustan a modelos de adsorción distintos, en función de las características del nanomaterial de grafeno empleado. La ausencia de defectos y de grupos funcionales con oxígeno favorece la adsorción de las fracciones de pireno, debido a las interacciones del tipo π - π entre la banda de conducción del material y el sistema aromático del pireno. Sin embargo, la presencia de defectos hace que la adsorción sea energéticamente heterogénea, lo que se traduce en un mayor número de impedimentos para el recubrimiento con estas moléculas. Se han observado también diferencias importantes en cuanto a la estabilidad del derivado adsorbido en función del número de fracciones de pireno, obteniéndose recubrimientos mucho más estables cuando el derivado lleva tres fracciones de pireno frente a los que tienen una o ninguna. Sin embargo, el menor tamaño de la moléculas de exTTF-1-Pi comparado con el del exTTF-3-Pi no se traduce en un mayor recubrimiento de la superficie electródica con la especie electroactiva, lo que indica que la molécula no solamente se adsorbe por la fracción de pireno, sino que la fracción electroactiva del exTTF también interviene en la adsorción. Los electrodos modificados con los derivados de exTTF (exTTF-1-Pi/GO_ER/GC) se han empleado para la preparación de un biosensor de peróxido de hidrógeno basado en la enzima peroxidasa de rábano (HRP). Este presenta buenos límites de detección, cuantificación e intervalo lineal, además de detectar la reducción de peróxido de hidrógeno a potenciales tan bajos como 0.0 V.

Finalmente se ha estudiado el comportamiento electroquímico de nanotubos de carbono funcionalizados con rotaxanos (MINTs) y se ha comparado este con el de suspensiones de nanotubos mezclados con las dos configuraciones posibles del macrociclo que forma los MINTs, la configuración abierta y la cerrada, las cuales no reaccionan cerrando el macrociclo en torno al nanotubo de carbono, pero pueden adsorberse sobre la superficie del nanomaterial. Se ha comprobado que los distintos tipos de unión no afectan al potencial formal del proceso redox propio de las fracciones de exTTF que forman el macrociclo. Se ha estudiado también el comportamiento de estas configuraciones inmovilizadas sobre electrodos de carbón vítreo, observándose diferencias en las constantes de transferencia de carga, así como en la separación de los potenciales de pico $\Delta E_{ox/red}$ en función del tipo de interacción del nanomaterial con el macrociclo, según su configuración. Por último se han determinado los coeficientes de difusión de cada una de las configuraciones del macrociclo, con y sin nanotubos, así como de una suspensión de los MINTs, obteniéndose diferencias significativas dependiendo de si estos se encuentran totalmente unidos al nanotubo (caso de los MINTs) o parcialmente adsorbidos sobre su superficie (mezclas de los nanotubos con el macrociclo cerrado y abierto). Este resultado permite afirmar que la electroquímica puede ser una herramienta muy útil para la caracterización de nanoestructuras químicamente modificadas, y para diferenciar el tipo de modificación.

2. Abstract.

This work has focused on two main objectives. The first one has been the modification of a variety of electrode surfaces with nanomaterials, using different strategies. The resulting modified electrodes have been characterized and applied to electroanalysis and energy storage. The second objective has been the study of carbon nanomaterials modified with electroactive molecules. It has been studied the electrochemical properties of these modified nanomaterials, and their applications in biosensor development.

To reach the first objective, it has been developed a method for the electropolymerization of iodine di-platinum tetraquis (dithioacetate) $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}]_n$ from the oxidized monomer Paddle-Wheel complex named di-iodine di-platinum tetraquis (dithioacetate) $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$. The electrochemical behavior of oxidized monomer reveals a redox process at -0.20 V ascribed to the reduction of one of the platinum centers. During this process a non-stable specie is generated $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]^-$, and two of these entities suffer a disproportionation process producing both, the oxidized monomer $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$ and the reduced monomer $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$, and two iodide anions. The iodide anions produced in the reduction process, which are coordinated to the reduced monomer, are oxidized at $+0.27$ V during the oxidation process, when cyclic potential scans are applied, the iodine generated from the oxidation of iodides reacts with the reduced monomer to generate nanospheres of polymer $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}]_n$. This nanospheres are formed by coiled polymer fibers.

It has been also studied the electrochemical behavior of a similar Paddle-Wheel complex named di-nickel tetraquis (monothioacetate) $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. An irreversible oxidation process is detected in the direct anodic scan at $+1.10$ V. During this process four electrons are exchanged and a new Paddle-Wheel complex, di-nickel tetrakis (diacetate) $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$, is generated on the electrode surface as microstructures. As far as we know no chemical or electrochemical methods have been reported for the synthesis of this new complex. An electrochemical mechanism for this process has been proposed. It consists in one electron loss by each sulfur atom and the generation a of disulfide bond

between them, giving H_2S_2 , while each sulfur vacant is occupied by oxygen atoms from water molecules present in the organic solvent. Different electrodes materials have been modified with the $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ microstructures. These microstructures are transformed into $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles when the modified electrodes are immersed in NaOH 0.1 M and cyclic voltammetry scans are applied. $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles modified electrodes have been employed as catalyst in the electro-oxidation of sugars (glucose, fructose, maltose, lactose and sucrose) and also alcohols (methanol, ethanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, cyclopentanol and cyclohexanol). Based on these results we have developed electrochemical sensors for determination of sugars with good detection and quantification limits.

The same $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles electrodeposition method has been applied to carbon nanotubes Nafion modified electrodes, which have been employed as insulin electrochemical sensors. Real human plasma and pharmaceuticals preparation for diabetes patients containing insulin have been analyzed. The satisfactory results obtained evidence the insulin sensor applicability.

A different methodology has been also developed to modify screen printed electrodes with a solution of the complex $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$, previously obtained from a massive electrosynthesis on a gold coil electrode of large surface area. Finally the complex was transformed into $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles. Screen printed electrodes containing single wall carbon nanotubes have been also modified with $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles. These electrodes have been coupled to a flow injection system (FIA) or a high pressure liquid chromatography system (HPLC) and employed in the determination of different amino acids (arginine, ornithine and citrulline) and urea in human serum and urine.

$\text{Ni}(\text{OH})_2$ nanoparticles modified electrodes have been also used as template for obtaining electrodes modified with nickel hexacyanoferrate (NiHCF) nanoparticles. The interest of these modified electrodes is based on its application to the development of supercapacitors or electrochemical capacitors. With this porpoise their electrochemical behavior in aqueous alkaline cations solutions has been studied. The electrochemical behavior of these modified electrodes in organic solvent was also studied. In spite of modified electrodes do not present an ideal behavior to be used as supercapacitors, the modification method employed has stablished the first step to the modification of

electrode surfaces with nanoparticles of the NiHCF complex, instead of films as is usual in most of the methods of NiHCF complex synthesis using metallic nickel as precursor.

The second objective of this thesis (chapter VI), has been focused in the study of the electrode modification with different types of graphene (graphene oxide (GO), graphene oxide electrochemical reduced (GO_ER) and pristine graphene) and the subsequent adsorption of π -extended tetrathiofulvalene derivatized molecules, with one or three pyrene moieties (exTTF-1-Py and exTTF-3-Py). The adsorption process for each type of graphene occurs in a different way, and fits to a different adsorption model. In the case of GO_ER, the absence of defects and oxygen functional groups in its nanostructure, favored the π - π interactions between the pyrene aromatic electrons system and the conduction band of nanomaterials. In the case of GO and pristine graphene, the mayor number of defects and also oxygen functional groups in the nanomaterials lead to an adsorption process energetically heterogeneous, which results in a mayor disability for the surface recovery with the electroactive molecules. It has also observed important differences in the stability of the resulting modified electrodes depending on the pyrene moieties present in the molecule. The molecule with three pyrene moieties is more stable than the molecule with one pyrene moiety. It is also worth to mention that in the case of the small molecule (the one with one pyrene moiety, exTTF-1-Py), not higher surface coverages are obtained as one would expect. This fact suggests that adsorption not only occurs through the pyrene moiety, but also through the exTTF fraction. These modified electrodes have been employed to develop a hydrogen peroxide biosensor, using Horse Radish Peroxidase as enzyme. This biosensor presents good detection and quantification limits and also good linear range. Even more, the hydrogen peroxide can be detected at a low potential as 0.0 V.

Finally, the electrochemical behavior of single wall carbon nanotubes modified in different ways with a macrocycle has been studied. In particular, the simple combination of carbon nanotubes with macrocycle molecules (linear and closed) and mechanically interlocked carbon nanotubes (MINTs). The last are entities with a chemical structure similar to rotaxanes (mechanically interlocked molecules), in which the linear molecule moiety has been substituted by a carbon nanotube surrounded by a macrocycle. In order to identify the different type of interaction, the electrochemical behavior of carbon

nanotubes suspensions mixed with either linear macrocycle or closed macrocycle, and also MINTs suspension were studied. The formal potential of the redox pair, ascribed to the exTTF moieties present in the macrocycle, remains almost constant for the different configurations. So no charge transfer occurs when MINTs is formed. However, a higher heterogeneous electron transfer constant was observed for MINTs compared to the other configurations when suspensions of the three configurations were drop-casted on the electrode surface. The diffusion coefficient of each configuration was determined and compared with those obtained in the absence of carbon nanotubes. MINTs show the lowest value. These data confirm that in MINTs the interaction with carbon nanotubes is not only adsorption, and the applicability of electrochemical techniques as an instrument tool for modified nanotubes characterization.

Conclusiones/Conclusions.

1. Conclusiones.

- Se han modificado superficies electródicas con nanoesferas del polímero $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$ electrogenerado a partir del monómero oxidado $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$ por electrodeposición de fibras del polímero que se enrollan entre sí. Para llevar a cabo el proceso de electrosíntesis son necesarios dos pasos sucesivos, que consisten en primer lugar en la reducción del monómero oxidado $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$, en la que uno de sus centros de platino toma un electrón, y se produce la dismutación de la especie generada, de modo que dos entidades de la misma dan lugar a una entidad de monómero oxidado $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$, una de monómero reducido $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$ y dos aniones yoduros. El segundo paso consiste en la oxidación de los yoduros a yodo, produciéndose entonces la reacción química de éste con el monómero reducido $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$ en las proporciones adecuadas para la formación del polímero $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$.
- Se ha desarrollado un método de electrosíntesis del complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ en forma de microestructuras sobre superficies electródicas a partir del complejo $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$. El método consiste en la oxidación (+1.15 V) del $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$, de forma que cada átomo de azufre pierde un electrón, formándose puentes disulfuros entre sí, dando lugar a la especie H_2S_2 . Las posiciones de cada uno de los azufres eliminados son reemplazados por oxígenos provenientes de moléculas de agua existentes en el medio.
- Las microestructuras de $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ se transforman electroquímicamente en nanopartículas de Ni(OH)_2 , obteniéndose superficies electródicas modificadas con estas nanopartículas en NaOH 0.1 M. Estas superficies modificadas con nanopartículas de Ni(OH)_2 presentan una excelente actividad electrocatalítica frente a azúcares (glucosa, fructosa, maltosa, sacarosa, lactosa) y alcoholes (metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, ciclopentanol, ciclohexanol) en medio básico.
- Se han modificado nanotubos de carbono con nanopartículas de Ni(OH)_2 . Los electrodos modificados resultantes se han empleado con éxito en la determinación de insulina en muestras reales de plasma humano y preparados

farmacéuticos, demostrando el efecto sinérgico de ambos nanomateriales en la electrooxidación eficaz de insulina y evitando el envenenamiento de la superficie electródica.

- Se han modificado electrodos serigrafiados con nanopartículas de Ni(OH)₂ y se han usado como detectores electroquímicos en un sistema HPLC que permite la separación de aminoácidos intermediarios del ciclo de la urea (arginina, ornitina y citrulina) en muestras complejas como orina y suero sanguíneo humano.
- Se han modificado superficies electródicas con nanopartículas del complejo NiHCF utilizando como precursor los electrodos modificados con nanopartículas de Ni(OH)₂, comprobando que la nanoestructura inicial condiciona la nanoestructura del complejo NiHCF. Se han aplicado estos electrodos al desarrollo de supercapacitadores.
- Se han modificado electrodos de carbón vítreo con nanomateriales de grafeno de distinta naturaleza, y se han funcionalizado los mismos, mediante adsorción, con moléculas electroactivas que contienen un grupo exTTF y varias fracciones de pireno. Se ha demostrado cómo influye la nanoestructura del nanomaterial en los procesos de adsorción de estas moléculas y se ha observado una mayor estabilidad de las moléculas adsorbidas en función del número de pirenos.
- Los electrodos modificados con grafeno y con exTTF se han empleado con éxito en la preparación de un biosensor de peróxido de hidrógeno basado en la enzima peroxidasa de rábano. La molécula electroactiva (exTTF-1-Pi) es capaz de reducir la forma oxidada de la enzima, mediando la reacción enzimática de manera eficaz.
- Mediante técnicas electroquímicas se ha estudiado el comportamiento de nanotubos de carbono (SWCNT) modificados con distintas configuraciones de macrociclos electroactivos, derivados del exTTF, capaces de posicionarse rodeando a los nanotubos. Se ha detectado un comportamiento electroquímico diferente entre los nanotubos modificados por simple adsorción del macrociclo, en su configuración abierta o cerrada, o formando los MINTs (entrecruzamiento mecánico del macrociclo con el nanotubo), tanto en dispersión como depositados sobre la superficie del electrodo. También se han observado diferencias en los coeficientes de difusión en función de la distinta interacción

entre el macrociclo y el nanotubo de carbono. Por tanto, en este caso la electroquímica ha sido la herramienta que ha permitido diferenciar el distinto tipo de interacción existente entre el macrociclo y el nanotubo, es decir la adsorción supramolecular del macrociclo sobre el nanotubo o bien la formación del MINTs.

2. Conclusions.

- Electrode surfaces have been modified with $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$ polymer nanospheres using the oxidized monomer as precursor $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$. The nanospheres are formed by polymer fibers coil. This electrosynthesis process occurs in two successive step. The first step involves is the reduction of the oxidized monomer. During the reaction, one of the platinum centers takes one electron, and two entities of the generated specie disproportionate giving one $[\text{Pt(III)Pt(III)(MeCS}_2)_4\text{I}_2]$, one $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$ and two iodide anions. In a second step iodide is oxidized to iodine, which chemically reacts with $[\text{Pt(II)Pt(II)(MeCS}_2)_4]$ in the adequate proportion to generate the polymer $[\text{Pt(II)Pt(III)(MeCS}_2)_4]_n$.
- The complex $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ has been electrosynthesized as microstructures onto the electrode surface using the complex $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ as precursor. The method consists on the oxidation of the complex $[\text{Ni}_2(\text{MeCOS})_4]$ at a constant potential. In the oxidation process each sulfur atom lose one electron forming disulfide bonds, generating H_2S_2 . Then, each sulfur atom is replaced by an oxygen atom from water molecules present in the solvent.
- Electrogenerated $[\text{Ni}_2(\text{MeCO}_2)_4]$ microstructures are electrochemically converted into Ni(OH)_2 nanoparticles in NaOH 0.1 M. Hence, Ni(OH)_2 nanoparticles modified electrodes have been prepared.
- Ni(OH)_2 nanoparticles modified electrodes show excellent electrocatalytic activity towards the electro-oxidation of sugars (glucose, fructose, maltose, lactose and sucrose) and alcohols (methanol, ethanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, cyclopentanol and cyclohexanol) in basic media.
- Carbon nanotubes have been decorated with Ni(OH)_2 nanoparticles in the same way, and they have been successfully employed for insulin determination in human plasma and pharmaceutical drugs, showing the synergic effect of the two nanomaterials and the effective electro-oxidation of insulin, avoiding fouling electrode surfaces.
- Screen printed electrodes have been modified with Ni(OH)_2 nanoparticles and have been successfully employed as electrochemical detector in a HPLC system,

which allows urea cycle amino acids (arginine, ornithine and citrulline) to be separated and determined in urine and blood human serum samples.

- Electrode surfaces have been modified with nanoparticles of nickel hexacyanoferrate (NiHCF) using Ni(OH)₂ nanoparticles as precursors. It has been proved that the Ni(OH)₂ nanostructure template determine the NiHCF nanostructure. These modified electrodes have been applied in supercapacitors development.
- Glassy carbon electrodes have been modified with different type of graphene nanomaterials functionalized, by adsorption, with electroactive molecules (containing exTTF) derivatized with one or three pyrene moieties. It have been demonstrated that the adsorption process depends on the type of graphene and the stability of the resulting modified electrodes on the number of pyrene moieties. These modified electrodes have been successfully employed in the development of a hydrogen peroxide biosensor, using horse radish peroxidase.
- Electrochemical techniques have been employed to study the electrochemical behavior of different configurations of electroactive macrocycle bonded to carbon nanotubes. Mechanically interlocked carbon nanotubes (MINTs) have showed different behavior compared to simple adsorption of linear or close macrocycle on carbon nanotubes either in suspensions or deposited onto electrode surfaces. The diffusion coefficient is also different for the different type of interaction between macrocycle and carbon nanotubes. So electrochemistry can be used as a tool to differentiate modes of macrocycle-CNT interactions.

Bibliografía.

- 1 Magnussen, O. M. *Interface, The electrochemical Society*. **2006**, *15*, 23.
- 2 Gewirth, A. A.; Niece, B. K. *Chem.Rev.* **1997**, *97*, 1129-1162.
- 3 Itaya, K. *Prog Surf Sci.* **1998**, *58*, 121-247.
- 4 Mirkin, M. V. *Anal.Chem.* **1996**, *68*, 177A-182A.
- 5 *Synchrotron Techniques in Interfacial Electrochemistry*, Melendres, C.A.;Tadjeddine, A. ed.; Springer Netherlands:**1994**.
- 6 Schumacher, R. *Electrochemical Interfaces. Modern Techniques for in-Situ Interface Characterization.* ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH:New York; **1992**.
- 7 Osawa, M. *Bull.Chem.Soc.Jpn.* **1997**, *70*, 2861-2880.
- 8 Schmickler, W. *Annu.Rep.Prog.Chem., Sect.C: Phys.Chem.* **1999**, *95*, 117-162.
- 9 Guidelli, R.; Schmickler, W. *Electrochim.Acta.* **2000**, *45*, 2317-2338.
- 10 Krischer, K.; Mazouz, N.; Grauel, P. *Angewandte Chemie International Edition.* **2001**, *40*, 850-869.
- 11 Nicholson, R. S.; Shain, I. *Anal.Chem.* **1964**, *36*, 706-723.
- 12 Kudirka, P. J.; Nicholson, R. S. *Anal.Chem.* **1972**, *44*, 1786-1794.
- 13 Nicholson, R. S.; Shain, I. *Anal.Chem.* **1965**, *37*, 178-190.
- 14 Olmstead, M. L.; Nicholson, R. S. *Anal.Chem.* **1969**, *41*, 862-864.
- 15 Yu, Y.; Sun, T.; Mirkin, M. V. *Anal.Chem.* **2015**, *87*, 7446-7453.
- 16 Shervedani, R. K.; Rezvaninia, Z.; Sabzyan, H.; Zali Boeini, H. *Anal.Chim.Acta.* **2014**, *825*, 34-41.
- 17 Casero, E.; Parra-Alfambra, A. M.; Petit-Domínguez, M. D.; Pariente, F.; Lorenzo, E.; Alonso, C. *Electrochemistry Communications.* **2012**, *20*, 63-66.

- 18 Tarájbek, J.; Kolivoska, V.; Gál, M.; Pospíšil, L.; Valásek, M.; Kaminsky, J.; Hromadová, M. *J.Phys.Chem.C* **2015**, *119*, 18056-18065.
- 19 Yao, Y.; Chen, W.; Du, Y.; Tao, Z.; Zhu, Y.; Chen, Y. *J.Phys.Chem.C* **2015**, *119*, 22452-22459.
- 20 Hajova, H.; Kominkova, Z.; Santidrian, A.; Frank, O.; Kubac, L.; Josefik, F.; Kalbac, M. *J.Phys.Chem.C* **2015**, *119*, 21538-21546.
- 21 Silberstein, K. E.; Lowe, M. A.; Richards, B.; Gao, J.; Hanrath, T.; Abruña, H. D. *Langmuir* **2015**, *31*, 2028-2035.
- 22 Silberstein, K. E.; Pastore, J. P.; Zhou, W.; Potash, R. A.; Hernandez-Burgos, K.; Lobkovsky, E. B.; Abruña, H. D. *Phys.Chem.Chem.Phys* **2015**, *17*, 27665-27671.
- 23 Chao, Y.; Liu, C.; Pan, L.; Lee, C. *Electrochim.Acta* ,
- 24 Liu, X. H.; Huang, J. Y. *Energy Environ.Sci* **2011**, *4*, 3844-3860.
- 25 Wen, R.; Byon, H. R. *Chem.Commun* **2014**, *50*, 2628-2631.
- 26 Lane, R. F.; Hubbard, A. T. *J.Phys.Chem* **1973**, *77*, 1401-1410.
- 27 Lane, R. F.; Hubbard, A. T. *J.Phys.Chem* **1973**, *77*, 1411-1421.
- 28 Moses, P. R.; Wier, L.; Murray, R. W. *Anal.Chem* **1975**, *47*, 1882-1886.
- 29 Watkins, B. F.; Behling, J. R.; Kariv, E.; Miller, L. L. *J.Am.Chem.Soc* **1975**, *97*, 3549-3550.
- 30 Malinauskas, A. *Synth.Met* **1999**, *107*, 75-83.
- 31 Situmorang, M.; Gooding, J. J.; Hibbert, D. B. *Anal.Chim.Acta* **1999**, *394*, 211-223.
- 32 Imisides, M. D.; John, R.; Riley, P. J.; Wallace, G. G. *Electroanalysis* **1991**, *3*, 879-889.

- 33 Wang, J. *Electroanalysis*. **1991**, 3, 255-259.
- 34 Arico, A. S.; Bruce, P.; Scrosati, B.; Tarascon, J.; van Schalkwijk, W. *Nat Mater*. **2005**, 4, 366-377.
- 35 Song, M.; Park, S.; Alamgir, F. M.; Cho, J.; Liu, M. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. **2011**, 72, 203-252.
- 36 Marković, N. M.; Ross Jr., P. N. *Surface Science Reports*. **2002**, 45, 117-229.
- 37 Zhi, M.; Xiang, C.; Li, J.; Li, M.; Wu, N. *Nanoscale*. **2013**, 5, 72-88.
- 38 Mathiyarasu J.; Pathak S. S.; Yegnaraman V. *Corr.Rev*. **2011**, 24, 307.
- 39 Ybarra, G.; Moina, C.; Florit, M. I.; Posadas, D. *Electrochim.Acta*. **2008**, 53, 3955-3959.
- 40 Haick, H.; Cahen, D. *Prog Surf Sci*. **2008**, 83, 217-261.
- 41 Adams, D. M.; Brus, L.; Chidsey, C. E. D.; Creager, S.; Creutz, C.; Kagan, C. R.; Kamat, P. V.; Lieberman, M.; Lindsay, S.; Marcus, R. A.; Metzger, R. M.; Michel-Beyerle, M.; Miller, J. R.; Newton, M. D.; Rolison, D. R.; Sankey, O.; Schanze, K. S.; Yardley, J.; Zhu, X. *J Phys Chem B*. **2003**, 107, 6668-6697.
- 42 DURST, R. A.; BAUMNER, A. J.; MURRAY, R. W.; BUCK, R. P.; ANDRIEUX, C. P. *Pure Appl. Chem*. **1997**, 69, 1007-1014.
- 43 Fernández-García, M.; Martínez-Arias, A.; Hanson, J. C.; Rodriguez, J. A. *Chem.Rev*. **2004**, 104, 4063-4104.
- 44 Gleiter, H. *Progress in Materials Science*. **1989**, 33, 223-315.
- 45 He, G.; Eckert, J.; Loser, W.; Schultz, L. *Nat Mater*. **2003**, 2, 33-37.
- 46 Kumar, K. S.; Van Swygenhoven, H.; Suresh, S. *Acta Materialia*. **2003**, 51, 5743-5774.

- 47 Meyers, M. A.; Mishra, A.; Benson, D. J. *Progress in Materials Science*. **2006**, *51*, 427-556.
- 48 Li, C. M.; Hu, W. *J Electroanal Chem*. **2013**, *688*, 20-31.
- 49 Musick, M. D.; Peña, D. J.; Botsko, S. L.; McEvoy, T. M.; Richardson, J. N.; Natan, M. J. *Langmuir*. **1999**, *15*, 844-850.
- 50 Patolsky, F.; Gabriel, T.; Willner, I. *J Electroanal Chem*. **1999**, *479*, 69-73.
- 51 Shipway, A. N.; Katz, E.; Willner, I. *ChemPhysChem*. **2000**, *1*, 18-52.
- 52 Walcarius, A.; Minteer, S. D.; Wang, J.; Lin, Y.; Merkoci, A. *J.Mater.Chem.B*. **2013**, *1*, 4878-4908.
- 53 Schuhmann, W. *Reviews in Molecular Biotechnology*. **2002**, *82*, 425-441.
- 54 Zayats, M.; Willner, B.; Willner, I. *Electroanalysis*. **2008**, *20*, 583-601.
- 55 Hasan, K.; Patil, S.; Leech, D.; Hägerhäll, C.; Gorton, L. *Biochem.Soc.Trans*. **2012**, *40*, 1330-1335.
- 56 Wang, J. *Analyst*. **2005**, *130*, 421-426.
- 57 Sarma, A. K.; Vatsyayan, P.; Goswami, P.; Minteer, S. D. *Biosensors and Bioelectronics*. **2009**, *24*, 2313-2322.
- 58 Guo, S.; Wang, E. *Anal.Chim.Acta*. **2007**, *598*, 181-192.
- 59 José M Pingarrón, Villalonga, R. and Paloma Yáñez-Sedeño. In Anonymous ; Pan Stanford Publishing:2014; pp 47-87.
- 60 Rao, C. N. R.; Satishkumar, B. C.; Govindaraj, A.; Nath, M. *ChemPhysChem*. **2001**, *2*, 78-105.
- 61 Wang, J. *Electroanalysis*. **2005**, *17*, 7-14.

- 62 Ojeda, I.; Garcinuño, B.; Moreno-Guzmán, M.; González-Cortés, A.; Yudasaka, M.; Iijima, S.; Langa, F.; Yáñez-Sedeño, P.; Pingarrón, J. M. *Anal.Chem.* **2014**, *86*, 7749-7756.
- 63 Pacios, M.; Yilmaz, N.; Martín-Fernández, I.; Villa, R.; Godignon, P.; Del Valle, M.; Bartrolí, J.; Esplandiu, M. J. *Sensors Actuators B: Chem.* **2012**, *162*, 120-127.
- 64 Chen, Y.; Tan, C.; Zhang, H.; Wang, L. *Chem.Soc.Rev.* **2015**, *44*, 2681-2701.
- 65 Vashist, S. K.; Luong, J. H. T. *Carbon.* **2015**, *84*, 519-550.
- 66 Ping, J.; Zhou, Y.; Wu, Y.; Papper, V.; Boujday, S.; Marks, R. S.; Steele, T. W. J. *Biosensors and Bioelectronics.* **2015**, *64*, 373-385.
- 67 Fang, Y.; Wang, E. *Chem.Commun.* **2013**, *49*, 9526-9539.
- 68 Ambrosi, A.; Chua, C. K.; Bonanni, A.; Pumera, M. *Chem.Rev.* **2014**, *114*, 7150-7188.
- 69 Yu, Y.; Chen, Z.; He, S.; Zhang, B.; Li, X.; Yao, M. *Biosensors and Bioelectronics.* **2014**, *52*, 147-152.
- 70 Freeman, R. G.; Grabar, K. C.; Allison, K. J.; Bright, R. M.; Davis, J. A.; Guthrie, A. P.; Hommer, M. B.; Jackson, M. A.; Smith, P. C.; Walter, D. G.; Natan, M. J. *Science.* **1995**, *267*, 1629-1632.
- 71 Gómez-Anquela, C.; Revenga-Parra, M.; Abad, J. M.; Marín, A. G.; Pau, J. L.; Pariente, F.; Piqueras, J.; Lorenzo, E. *Electrochim.Acta.* **2014**, *116*, 59-68.
- 72 Ding, L.; Li, W.; Sun, Q.; He, Y.; Su, B. *Chemistry A European Journal.* **2014**, *20*, 12777-12780.
- 73 Arias de Fuentes, O.; Ferri, T.; Frasconi, M.; Paolini, V.; Santucci, R. *Angewandte Chemie International Edition.* **2011**, *50*, 3457-3461.
- 74 Bravo, I.; García-Mendiola, T.; Revenga-Parra, M.; Pariente, F.; Lorenzo, E. *Sensors Actuators B: Chem.* **2015**, *211*, 559-568.

- 75 Arduini, F.; Forchielli, M.; Amine, A.; Neagu, D.; Cacciotti, I.; Nanni, F.; Moscone, D.; Palleschi, G. *Microchimica Acta*. **2015**, *182*, 643-651.
- 76 García, M.; García-Carmona, L.; Escarpa, A. *Microchimica Acta*. **2015**, *182*, 745-752.
- 77 Gomez, F.; Martín, A.; Silva, M.; Escarpa, A. *Microchimica Acta*. **2015**, *182*, 1925-1931.
- 78 Briones, M.; Casero, E.; Petit-Domínguez, M. D.; Ruiz, M. A.; Parra-Alfambra, A. M.; Pariente, F.; Lorenzo, E.; Vázquez, L. *Biosensors and Bioelectronics*. **2015**, *68*, 521-528.
- 79 Batalla, P.; Martín, A.; López, M. A.; González, M. C.; Escarpa, A. *Anal.Chem.* **2015**, *87*, 5074-5078.
- 80 Choi, K. *Dalton Trans.* **2008**, 5432-5438.
- 81 Liu, H.; Tian, Y.; Xia, P. *Langmuir*. **2008**, *24*, 6359-6366.
- 82 Bu, Y.; Lee, S. *Microchimica Acta*. **2015**, *182*, 1313-1321.
- 83 Darabizad, G.; Rahmanifar, M. S.; Mousavi, M. F.; Pendashteh, A. *Mater.Chem.Phys.* **2015**, *156*, 121-128.
- 84 Han, Y. J.; Zhang, X.; Leach, G. W. *Langmuir*. **2014**, *30*, 3589-3598.
- 85 Lv, Z.; Mei, L.; Chen, W.; Feng, J.; Chen, J.; Wang, A. *Sensors Actuators B: Chem.* **2014**, *201*, 92-99.
- 86 Liu, H.; Wang, H.; Chu, T.; Yu, M.; Yang, Y. *J.Mater.Chem.C*. **2014**, *2*, 8683-8690.
- 87 Doménech, A.; García, H.; Doménech-Carbó, M. T.; Llabrés-i-Xamena, F. *Electrochemistry Communications*. **2006**, *8*, 1830-1834.
- 88 Li, M.; Dincaj, M. *J.Am.Chem.Soc.* **2011**, *133*, 12926-12929.

- 89 Jamil Elias, Magdalena Gizowska, Pierre Brodard, Roland Widmer, Yoram deHazan, Thomas Graule, Johann Michler, Laetitia Philippe. *Nanotechnology*. **2012**, *23*, 255705.
- 90 Yamashita, M. and Okamoto, H. *Material Designs and New Physical Properties in MX- and MMX-Chain Compounds*, ed.; Springer-Verlag:Wien; **2013**.
- 91 Kitagawa, H.; Onodera, N.; Sonoyama, T.; Yamamoto, M.; Fukawa, T.; Mitani, T.; Seto, M.; Maeda, Y. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 10068-10080.
- 92 Mitsumi, M.; Murase, T.; Kishida, H.; Yoshinari, T.; Ozawa, Y.; Toriumi, K.; Sonoyama, T.; Kitagawa, H.; Mitani, T. *J.Am.Chem.Soc.* **2001**, *123*, 11179-11192.
- 93 Mitsumi, M.; Kitamura, K.; Morinaga, A.; Ozawa, Y.; Kobayashi, M.; Toriumi, K.; Iso, Y.; Kitagawa, H.; Mitani, T. *Angewandte Chemie International Edition*. **2002**, *41*, 2767-2771.
- 94 Li, S.; Gong, J. *Chem.Soc.Rev.* **2014**, *43*, 7245-7256.
- 95 Martin, C. R. *Science*. **1994**, *266*, 1961-1966.
- 96 Ameen, S.; Akhtar, M. S.; Seo, H.; Shin, H. S. *Applied Catalysis B: Environmental*. **2014**, *144*, 665-673.
- 97 Sulka, G. D.; Hnida, K.; Brzózka, A. *Electrochim.Acta*. **2013**, *104*, 536-541.
- 98 Ding, L.; Li, W.; Wang, Q.; Sun, Q.; He, Y.; Su, B. *Chemistry A European Journal*. **2014**, *20*, 1829-1833.
- 99 Kashyap, D.; Yadav, R. S.; Gohil, S.; Venkateswaran, P.; Pandey, J. K.; Kim, G. M.; Kim, Y. H.; Dwivedi, P. K.; Sharma, A.; Ayyub, P.; Goel, S. *Electrochim.Acta*. **2015**, *167*, 213-218.
- 100 Dong, J.; Ren, L.; Zhang, Y.; Cui, X.; Hu, P.; Xu, J. *Talanta*. **2015**, *132*, 719-726.
- 101 Debgupta, J.; Devarapalli, R.; Rahman, S.; Shelke, M. V.; Pillai, V. K. *Nanoscale*. **2014**, *6*, 9148-9156.

- 102 Brumlik, C. J.; Menon, V. P.; Martin, C. R. *J.Mater.Res.* **1994**, *9*, 1174-1183.
- 103 Shin, C.; Shin, W.; Hong, H. *Electrochim.Acta.* **2007**, *53*, 720-728.
- 104 Guo, Y.; Zhang, H.; Hu, J.; Wan, L.; Bai, C. *Thin Solid Films.* **2005**, *484*, 341-345.
- 105 Sides, C.; Martin, C. *Adv Mater.* **2005**, *17*, 125-128.
- 106 Li, N.; Martin, C. R. *Journal of The Electrochemical Society.* **2001**, *148*, A164-A170.
- 107 Attard, G. S.; Corker, J. M.; Göltner, C. G.; Henke, S.; Templer, R. H. *Angewandte Chemie International Edition in English.* **1997**, *36*, 1315-1317.
- 108 Imokawa, T.; Williams, K.; Denuault, G. *Anal.Chem.* **2006**, *78*, 265-271.
- 109 Bender, F.; Mankelov, R.; Hibbert, D.; Gooding, J. *Electroanalysis.* **2006**, *18*, 1558-1563.
- 110 Nelson, P. A.; Elliott, J. M.; Attard, G. S.; Owen, J. R. *Chem.Mater.* **2002**, *14*, 524-529.
- 111 Bartlett, P. N.; Birkin, P. N.; Ghanem, M. A.; de Groot, P.; Sawicki, M. *Journal of The Electrochemical Society.* **2001**, *148*, C119-C123.
- 112 Bender, F.; Chilcott, T. C.; Coster, H. G. L.; Hibbert, D. B.; Gooding, J. J. *Electrochim.Acta.* **2007**, *52*, 2640-2648.
- 113 Evans, S. A. G.; Elliott, J. M.; Andrews, L. M.; Bartlett, P. N.; Doyle, P. J.; Denuault, G. *Anal.Chem.* **2002**, *74*, 1322-1326.
- 114 Bartlett, P. N.; Baumberg, J. J.; Birkin, P. R.; Ghanem, M. A.; Netti, M. C. *Chem.Mater.* **2002**, *14*, 2199-2208.
- 115 Gamero, M.; Sosna, M.; Pariente, F.; Lorenzo, E.; Bartlett, P. N.; Alonso, C. *Talanta.* **2012**, *94*, 328-334.
- 116 Sun, F.; Cai, W.; Li, Y.; Jia, L.; Lu, F. *Adv Mater.* **2005**, *17*, 2872-2877.

- 117 Sayıklı Şimşek, Ç; Nur Sonuç Karaboğa, M.; Sezgintürk, M. K. *Talanta*. **2015**, *144*, 210-218.
- 118 Mulas, A.; Hervault, Y.; He, X.; Di Piazza, E.; Norel, L.; Rigaut, S.; Lagrost, C. *Langmuir*. **2015**, *31*, 7138-7147.
- 119 García, T.; Revenga-Parra, M.; Abruña, H. D.; Pariente, F.; Lorenzo, E. *Anal.Chem.* **2008**, *80*, 77-84.
- 120 García Raya, D.; Silien, C.; Blázquez, M.; Pineda, T.; Madueño, R. *J.Phys.Chem.C*. **2014**, *118*, 14617-14628.
- 121 Hosseini, M.; Rivera-Nazario, D.; Echegoyen, L. A. *ACS Appl.Mater.Interfaces*. **2014**, *6*, 3712-3720.
- 122 Luczak, T.; Bulat, K. *Electroanalysis*. **2015**, *27*, 1-8.
- 123 Burgi, T. *Nanoscale*. **2015**, *7*, 15553-15567.
- 124 Pal, S.; Bhand, S. *Microchimica Acta*. **2015**, *182*, 1643-1651.
- 125 Kim, Y.; Kim, M.; Jung, H.; Choi, Y.; Kang, C.; Yoon, T.; Lee, H. *BioChip Journal*. **2014**, *8*, 275-281.
- 126 Saner, C. K.; Lu, L.; Donghui, Z.; Garno, J. C. *Nanotechnology Reviews*. **2015**, *4*, 129.
- 127 Geissler, M.; McLellan, J. M.; Chen, J.; Xia, Y. *Angewandte Chemie International Edition*. **2005**, *44*, 3596-3600.
- 128 Mann, J. A.; Rodríguez-López, J.; Abruña, H. D.; Dichtel, W. R. *J.Am.Chem.Soc.* **2011**, *133*, 17614-17617.
- 129 Mann, J. A.; Dichtel, W. R. *ACS Nano*. **2013**, *7*, 7193-7199.

- 130 Mann, J. A.; Alava, T.; Craighead, H. G.; Dichtel, W. R. *Angewandte Chemie International Edition*. **2013**, *52*, 3177-3180.
- 131 Revenga-Parra, M.; Gómez-Anquela, C.; García-Mendiola, T.; Gonzalez, E.; Pariente, F.; Lorenzo, E. *Anal.Chim.Acta*. **2012**, *747*, 84-91.
- 132 Pérez-Ràfols, C.; Serrano, N.; Manuel Díaz-Cruz, J.; Ariño, C.; Esteban, M. *Talanta*. **2015**, *144*, 569-573.
- 133 Sharma, D.; Lim, Y.; Lee, Y.; Shin, H. *Anal.Chim.Acta*. **2015**, *889*, 194-202.
- 134 Cincotto, F. H.; Martínez-García, G.; Yáñez-Sedeño, P.; Canevari, T. C.; Machado, S. A. S.; Pingarrón, J. M. *Talanta*. **2016**, *147*, 328-334.
- 135 Narayanan, J.; Sharma, M. K.; Ponmariappan, S.; Sarita; Shaik, M.; Upadhyay, S. *Biosensors and Bioelectronics*. **2015**, *69*, 249-256.
- 136 Gómez-Anquela, C.; Revenga-Parra, M.; Abad, J. M.; Marín, A. G.; Pau, J. L.; Pariente, F.; Piqueras, J.; Lorenzo, E. *Electrochim.Acta*. **2014**, *116*, 59-68.
- 137 Abruña, H. D. *J.Chem.Educ*. **2013**, *90*, 1411-1413.
- 138 Liu, N.; Li, W.; Pasta, M.; Cui, Y. *Frontiers of Physics*. **2014**, *9*, 323-350.
- 139 Maier, J. *Nat Mater*. **2005**, *4*, 805-815.
- 140 Chan, C. K.; Peng, H.; Liu, G.; McIlwrath, K.; Zhang, X. F.; Huggins, R. A.; Cui, Y. *Nat Nano*. **2008**, *3*, 31-35.
- 141 Guo, Y.; Hu, J.; Wan, L. *Adv Mater*. **2008**, *20*, 2878-2887.
- 142 Hu, Y. -.; Kienle, L.; Guo, Y. -.; Maier, J. *Adv Mater*. **2006**, *18*, 1421-1426.
- 143 Balaya, P. *Energy Environ.Sci*. **2008**, *1*, 645-654.
- 144 Kaskhedikar, N. A.; Maier, J. *Adv Mater*. **2009**, *21*, 2664-2680.

- 145 Hall, P. J.; Mirzaeian, M.; Fletcher, S. I.; Sillars, F. B.; Rennie, A. J. R.; Shitta-Bey, G.; Wilson, G.; Cruden, A.; Carter, R. *Energy Environ.Sci.* **2010**, *3*, 1238-1251.
- 146 Winter, M.; Brodd, R. J. *Chem.Rev.* **2004**, *104*, 4245-4270.
- 147 Miller, J. R.; Simon, P. *Science.* **2008**, *321*, 651-652.
- 148 Simon, P.; Gogotsi, Y. *Nat Mater.* **2008**, *7*, 845-854.
- 149 Hu, C.; Chang, K.; Lin, M.; Wu, Y. *Nano Lett.* **2006**, *6*, 2690-2695.
- 150 Subramanian, V.; Hall, S. C.; Smith, P. H.; Rambabu, B. *Solid State Ionics.* **2004**, *175*, 511-515.
- 151 Lee, H. Y.; Goodenough, J. B. *Journal of Solid State Chemistry.* **1999**, *144*, 220-223.
- 152 Yu, Z.; Tetard, L.; Zhai, L.; Thomas, J. *Energy Environ.Sci.* **2015**, *8*, 702-730.
- 153 Lisowska-Oleksiak, A.; Nowak, A. P. *J.Power Sources.* **2007**, *173*, 829-836.
- 154 Chen, J.; Huang, K.; Liu, S.; Hu, X. *J.Power Sources.* **2009**, *186*, 565-569.
- 155 Safavi, A.; Kazemi, S. H.; Kazemi, H. *Electrochim.Acta.* **2011**, *56*, 9191-9196.
- 156 Zamponi, S.; Berrettoni, M.; Kulesza, P. J.; Miecznikowski, K.; Malik, M. A.; Makowski, O.; Marassi, R. *Electrochim.Acta.* **2003**, *48*, 4261-4269.
- 157 Chen, J.; Huang, K.; Liu, S. *Electrochemistry Communications.* **2008**, *10*, 1851-1855.
- 158 Piovesana, O.; Bellitto, C.; Flamini, A.; Zanazzi, P. F. *Inorg.Chem.* **1979**, *18*, 2258-2265.
- 159 Bellitto, C.; Flamini, A.; Gastaldi, L.; Scaramuzza, L. *Inorg.Chem.* **1983**, *22*, 444-449.

- 160 Melson, G. A.; Greene, P. T.; Bryan, R. F. *Inorg.Chem.* **1970**, *9*, 1116-1122.
- 161 Canevet, D.; Gallego, M.; Isla, H.; de Juan, A.; Pérez, E. M.; Martín, N. *J.Am.Chem.Soc.* **2011**, *133*, 3184-3190.
- 162 de Juan, A.; Pouillon, Y.; Ruiz-González, L.; Torres-Pardo, A.; Casado, S.; Martín, N.; Rubio, Á; Pérez, E. M. *Angewandte Chemie International Edition.* **2014**, *53*, 5394-5400.
- 163 Hummers, W. S.; Offeman, R. E. *J.Am.Chem.Soc.* **1958**, *80*, 1339-1339.
- 164 Xu, Y.; Bai, H.; Lu, G.; Li, C.; Shi, G. *J.Am.Chem.Soc.* **2008**, *130*, 5856-5857.
- 165 Hernandez, Y.; Nicolosi, V.; Lotya, M.; Blighe, F. M.; Sun, Z.; De, S.; McGovern, T.; Holland, B.; Byrne, M.; Gun'Ko, Y. K.; Boland, J. J.; Niraj, P.; Duesberg, G.; Krishnamurthy, S.; Goodhue, R.; Hutchison, J.; Scardaci, V.; Ferrari, A. C.; Coleman, J. N. *Nat Nano.* **2008**, *3*, 563-568.
- 166 Sabatani, E.; Rubinstein, I.; Maoz, R.; Sagiv, J. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry.* **1987**, *219*, 365-371.
- 167 McQuillan, A. J. *Notes and Records of the Royal Society.* **2009**, *63*, 105-109.
- 168 Bard, A. and Faulkner, L. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, ed.; John Wiley & Sons, Inc:2001.
- 169 Bruckenstein, S.; Feldman, G. A. *Journal of Electroanalytical Chemistry (1959).* **1965**, *9*, 395-399.
- 170 Chatenet, M.; Molina-Concha, M. B.; El-Kissi, N.; Parrou, G.; Diard, J. -. *Electrochim.Acta.* **2009**, *54*, 4426-4435.
- 171 Laviron, E. *J Electroanal Chem.* **1979**, *101*, 19-28.
- 172 Galus, Z. **1994**, , - 520 pp.

- 173 Koutecky, J.; Levich, V. G. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. **1958**, *32*, 1565.
- 174 Bret, M. A. and Bret, A. M. O. *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*. ed.; Oxford Science Publications.:1993.
- 175 Sauerbrey, G. *Zeitschrift für Physik*. **1959**, *155*, 206-222.
- 176 Langmuir, I. *J.Am.Chem.Soc.* **1918**, *40*, 1361-1403.
- 177 Freundlich, H. *Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide*. **1907**, *2*, 65-70.
- 178 Oubagaranadin, J. U. K.; Murthy, Z. V. P. *Ind Eng Chem Res*. **2009**, *48*, 10627-10636.
- 179 Sips, R. *J.Chem.Phys.* **1948**, *16*, 490-495.
- 180 Kitagawa, S.; Kitaura, R.; Noro, S. *Angewandte Chemie International Edition*. **2004**, *43*, 2334-2375.
- 181 Yaghi, O. M.; O'Keeffe, M.; Ockwig, N. W.; Chae, H. K.; Eddaoudi, M.; Kim, J. *Nature*. **2003**, *423*, 705-714.
- 182 Tanaka, D.; Nakagawa, K.; Higuchi, M.; Horike, S.; Kubota, Y.; Kobayashi, T.; Takata, M.; Kitagawa, S. *Angewandte Chemie International Edition*. **2008**, *47*, 3914-3918.
- 183 Carne, A.; Carbonell, C.; Imaz, I.; MasPOCH, D. *Chem.Soc.Rev.* **2011**, *40*, 291-305.
- 184 Amo-Ochoa, P.; Welte, L.; Gonzalez-Prieto, R.; Sanz Miguel, P. J.; Gomez-Garcia, C.; Mateo-Marti, E.; Delgado, S.; Gomez-Herrero, J.; Zamora, F. *Chem.Commun.* **2010**, *46*, 3262-3264.
- 185 Bauer, T.; Zheng, Z.; Renn, A.; Enning, R.; Stemmer, A.; Sakamoto, J.; Schlüter, A. D. *Angewandte Chemie International Edition*. **2011**, *50*, 7879-7884.
- 186 Mas-Balleste, R.; Gomez-Herrero, J.; Zamora, F. *Chem.Soc.Rev.* **2010**, *39*, 4220-4233.

- 187 Oh, M.; Mirkin, C. A. *Nature*. **2005**, *438*, 651-654.
- 188 Coronado, E.; Galán-Mascarós, J.; Monrabal-Capilla, M.; García-Martínez, J.; Pardo-Ibáñez, P. *Adv Mater*. **2007**, *19*, 1359-1361.
- 189 Imaz, I.; Hernando, J.; Ruiz-Molina, D.; Maspocho, D. *Angewandte Chemie International Edition*. **2009**, *48*, 2325-2329.
- 190 Cotton, F. A., Murillo, C. A. and Walton, R. A. *Multiple Bonds between Metal Atoms*, ed.; Springer Science and Business Media Inc:New York; 2005.
- 191 Bera, J. K.; Dunbar, K. R. *Angewandte Chemie International Edition*. **2002**, *41*, 4453-4457.
- 192 Welte, L.; Calzolari, A.; Di Felice, R.; Zamora, F.; Gomez-Herrero, J. *Nat Nano*. **2010**, *5*, 110-115.
- 193 Hermosa, C.; Vicente Álvarez, J.; Azani, M.; Gómez-García, C. J.; Fritz, M.; Soler, J. M.; Gómez-Herrero, J.; Gómez-Navarro, C.; Zamora, F. *Nat Commun*. **2013**, *4*, 1709.
- 194 Gentili, D.; Givaja, G.; Mas-Balleste, R.; Azani, M.; Shehu, A.; Leonardi, F.; Mateo-Marti, E.; Greco, P.; Zamora, F.; Cavallini, M. *Chem.Sci*. **2012**, *3*, 2047-2051.
- 195 Guijarro, A.; Castillo, O.; Welte, L.; Calzolari, A.; Miguel, P. J. S.; Gómez-García, C. J.; Olea, D.; di Felice, R.; Gómez-Herrero, J.; Zamora, F. *Advanced Functional Materials*. **2010**, *20*, 1451-1457.
- 196 Welte, L.; García-Couceiro, U.; Castillo, O.; Olea, D.; Polop, C.; Guijarro, A.; Luque, A.; Gómez-Rodríguez, J. M.; Gómez-Herrero, J.; Zamora, F. *Adv Mater*. **2009**, *21*, 2025-2028.
- 197 Mitsumi, M.; Ueda, H.; Furukawa, K.; Ozawa, Y.; Toriumi, K.; Kurmoo, M. *J.Am.Chem.Soc*. **2008**, *130*, 14102-14104.
- 198 Bond, G. C.; Thompson, D. T. - *Catalysis Reviews*. **1999**, *41*, 319.

-
- 199 Burda, C.; Chen, X.; Narayan, R.; El-Sayed, M. A. - *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1025.
- 200 Daniel, M. C.; Astruc, D. - *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293.
- 201 Li, H.; Li, H.; Deng, J. - *Catalysis Today.* **2002**, *74*, 53-63.
- 202 Vassal, N.; Salmon, E.; Fauvarque, J. -. *Journal of The Electrochemical Society.* **1999**, *146*, 20-26.
- 203 Palacin, M. R. - *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2565.
- 204 Kiani, M. A.; Mousavi, M. F.; Ghasemi, S. *J. Power Sources.* **2010**, *195*, 5794-5800.
- 205 Berger, R. J.; Doesburg, E. B. M.; van Ommen, J. G.; Ross, J. R. H. *Applied Catalysis A: General.* **1996**, *143*, 343-365.
- 206 Schäfer, H. J.; Schneider, R. *Tetrahedron.* **1991**, *47*, 715-724.
- 207 Sawaby, A.; Selim, M. S.; Marzouk, S. Y.; Mostafa, M. A.; Hosny, A. *Physica B: Condensed Matter.* **2010**, *405*, 3412-3420.
- 208 Vidotti, M.; Córdoba de Torresi, S. I. *Electrochim. Acta.* **2009**, *54*, 2800-2804.
- 209 Liang, Z.; Zhu, Y.; Hu, X. *J Phys Chem B.* **2004**, *108*, 3488-3491.
- 210 Li, Y.; Tan, B.; Wu, Y. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 567-576.
- 211 Wang, D.; Song, C.; Hu, Z.; Fu, X. *J Phys Chem B.* **2005**, *109*, 1125-1129.
- 212 Duan, G.; Cai, W.; Luo, Y.; Sun, F. *Advanced Functional Materials.* **2007**, *17*, 644-650.
- 213 Yang, D.; Wang, R.; Zhang, J.; Liu, Z. *J Phys Chem B.* **2004**, *108*, 7531-7533.
- 214 Yang, D.; Wang, R.; He, M.; Zhang, J.; Liu, Z. *J Phys Chem B.* **2005**, *109*, 7654-7658.
- 215 Cao, M.; He, X.; Chen, J.; Hu, C. *Crystal Growth & Design.* **2007**, *7*, 170-174.

- 216 Yuanyuan Luo and Guanghai Li and Guotao Duan and, Lide Zhang. *Nanotechnology*. **2006**, *17*, 4278.
- 217 Cai, F.; Zhang, G.; Chen, J.; Gou, X.; Liu, H.; Dou, S. *Angewandte Chemie International Edition*. **2004**, *43*, 4212-4216.
- 218 Tan, Y.; Srinivasan, S.; Choi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3596-3604.
- 219 Li, M.; Dincaj, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12926-12929.
- 220 Fleischmann, M.; Korinek, K.; Pletcher, D. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. **1971**, *31*, 39-49.
- 221 Jafarian, M.; Forouzandeh, F.; Danaee, I.; Gobal, F.; Mahjani, M. G. *Journal of Solid State Electrochemistry*. **2009**, *13*, 1171-1179.
- 222 Salimi, A.; Roushani, M. *Electrochemistry Communications*. **2005**, *7*, 879-887.
- 223 Zhao, C.; Shao, C.; Li, M.; Jiao, K. *Talanta*. **2007**, *71*, 1769-1773.
- 224 Casella, I. G.; Desimoni, E.; Cataldi, T. R. I. *Anal. Chim. Acta*. **1991**, *248*, 117-125.
- 225 Cataldi, T. R. I.; Desimoni, E.; Ricciardi, G.; Lelj, F. *Electroanalysis*. **1995**, *7*, 435-441.
- 226 Reim, R. E.; Van Effen, R. M. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 3203-3207.
- 227 Jafarian, M.; Babaei, M.; Gobal, F.; Mahjani, M. G. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, *652*, 8-12.
- 228 Ourari, A.; Nora, H.; Noureddine, C.; Djouhra, A. *Electrochim. Acta*. **2015**, *170*, 311-320.
- 229 Shamsipur, M.; Najafi, M.; Milani Hosseini, M. *J. Appl. Electrochem.* **2013**, *43*, 1027-1033.

- 230 Hutton, L. A.; Vidotti, M.; Patel, A. N.; Newton, M. E.; Unwin, P. R.; Macpherson, J. V. *J.Phys.Chem.C*. **2011**, *115*, 1649-1658.
- 231 Casella, I. G.; Desimoni, E.; Salvi, A. M. *Anal.Chim.Acta*. **1991**, *243*, 61-63.
- 232 Uchikado, R.; Rao, T. N.; Tryk, D. A.; Fujishima, A. *Chem.Lett*. **2001**, *30*, 144-145.
- 233 Moulder, J. F., Stickle, W. F., Sobol, P. E. and Bomben, K. D. *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy: A Reference Book of Standard Spectra for Identification and Interpretation of XPS Data*. ed.; Perkin-Elmer Corporation, Physical Electronics Division, Eden Prairie, Minnesota, EEUU; 1992.
- 234 De Jesús, J. C.; González, I.; Quevedo, A.; Puerta, T. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. **2005**, *228*, 283-291.
- 235 Deng, J.; Yi, Y.; Xiong, Z.; Yuan, L.; Mei, G. *Acta Crystallographica Section E*. **2009**, *65*, m1484.
- 236 Dan, M.; Rao, C. N. R. *Angewandte Chemie International Edition*. **2006**, *45*, 281-285.
- 237 Mas-Balleste, R.; Guijarro, A.; Gonzalez-Prieto, R.; Castillo, O.; Sanz Miguel, P. J.; Zamora, F. *Dalton Trans*. **2010**, *39*, 1511-1518.
- 238 Siiman, O. *Inorg.Chem*. **1980**, *19*, 2889-2894.
- 239 Bishop, D. W.; Thomas, P. S.; Ray, A. S. *Mater.Res.Bull*. **2000**, *35*, 1123-1128.
- 240 Datta, M.; Brown, D. H.; Smith, W. E. *Spectrochim.Acta, Pt.A: Mol.Spectrosc*. **1983**, *39*, 37-41.
- 241 Bickley, R. I.; Edwards, H. G. M.; Rose, S. J.; Gustar, R. *J.Mol.Struct*. **1990**, *238*, 15-26.
- 242 Fehér, F.; Baudler, F. M. *Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie*. **1941**, *47*, 844-848.

- 243 Revenga-Parra, M.; García, T.; Lorenzo, E.; Pariente, F. *Sensors Actuators B: Chem.* **2008**, *130*, 730-738.
- 244 Pasquini, F.; Tissot, P. *J.Appl.Electrochem.* **1996**, *26*, 211-215.
- 245 Vukovia, M. *J.Appl.Electrochem.* **1994**, *24*, 878-882.
- 246 Ida, S.; Shiga, D.; Koinuma, M.; Matsumoto, Y. *J.Am.Chem.Soc.* **2008**, *130*, 14038-14039.
- 247 Li, H. B.; Yu, M. H.; Wang, F. X.; Liu, P.; Liang, Y.; Xiao, J.; Wang, C. X.; Tong, Y. X.; Yang, G. W. *Nat Commun.* **2013**, *4*, 1894.
- 248 Chigane, M.; Ishikawa, M. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1998**, 3665-3670.
- 249 Deki, S.; Hosokawa, A.; Béléké, A. B.; Mizuhata, M. *Thin Solid Films.* **2009**, *517*, 1546-1554.
- 250 McIntyre, N. S.; Cook, M. G. *Anal.Chem.* **1975**, *47*, 2208-2213.
- 251 Vidotti, M.; Cerri, C. D.; Carvalhal, R. F.; Dias, J. C.; Mendes, R. K.; Córdoba de Torresi, S. I.; Kubota, L. T. *J Electroanal Chem.* **2009**, *636*, 18-23.
- 252 Cheung, K.; Wong, W.; Ma, D.; Lai, T.; Wong, K. *Coord.Chem.Rev.* **2007**, *251*, 2367-2385.
- 253 Quintino, M. d. S. M.; Winnischofer, H.; Nakamura, M.; Araki, K.; Toma, H. E.; Angnes, L. *Anal.Chim.Acta.* **2005**, *539*, 215-222.
- 254 García, M.; Escarpa, A. *Biosensors and Bioelectronics.* **2011**, *26*, 2527-2533.
- 255 Cheng, X.; Zhang, S.; Zhang, H.; Wang, Q.; He, P.; Fang, Y. *Food Chem.* **2008**, *106*, 830-835.
- 256 Zhang, W.; Zhang, X.; Zhang, L.; Chen, G. *Sensors Actuators B: Chem.* **2014**, *192*, 459-466.

- 257 Zheng, L.; Zhang, J.; Song, J. *Electrochim.Acta.* **2009**, *54*, 4559-4565.
- 258 Yousef Elahi, M.; Heli, H.; Bathaie, S. Z.; Mousavi, M. F. *Journal of Solid State Electrochemistry.* **2007**, *11*, 273-282.
- 259 Wang, B.; Li, S.; Liu, J.; Yu, M. *Mater.Res.Bull.* **2014**, *49*, 521-524.
- 260 Ciszewski, A.; Stepniak, I. *Electrochim.Acta.* **2013**, *111*, 185-191.
- 261 Gao, Z.; Guo, J.; Shrestha, N. K.; Hahn, R.; Song, Y.; Schmuki, P. *Chemistry A European Journal.* **2013**, *19*, 15530-15534.
- 262 Safavi, A.; Maleki, N.; Farjami, E. *Biosensors and Bioelectronics.* **2009**, *24*, 1655-1660.
- 263 Li, X.; Yao, J.; Liu, F.; He, H.; Zhou, M.; Mao, N.; Xiao, P.; Zhang, Y. *Sensors Actuators B: Chem.* **2013**, *181*, 501-508.
- 264 Yang, J.; Cho, M.; Lee, Y. *Sensors Actuators B: Chem.* **2016**, *222*, 674-681.
- 265 Ji, S.; Yang, Z.; Zhang, C.; Miao, Y.; Tjiu, W.; Pan, J.; Liu, T. *Microchimica Acta.* **2013**, *180*, 1127-1134.
- 266 Martins, P. R.; Aparecida Rocha, M.; Angnes, L.; EisiToma, H.; Araki, K. *Electroanalysis.* **2011**, *23*, 2541-2548.
- 267 Liu, S.; Yu, B.; Zhang, T. *Electrochim.Acta.* **2013**, *102*, 104-107.
- 268 Yang, J.; Cho, M.; Pang, C.; Lee, Y. *Sensors Actuators B: Chem.* **2015**, *211*, 93-101.
- 269 Zhang, Y.; Xu, F.; Sun, Y.; Shi, Y.; Wen, Z.; Li, Z. *J.Mater.Chem.* **2011**, *21*, 16949-16954.
- 270 Abdel Hameed, R. M. *Biosensors and Bioelectronics.* **2013**, *47*, 248-257.
- 271 Jiang, Y.; Yu, S.; Li, J.; Jia, L.; Wang, C. *Carbon.* **2013**, *63*, 367-375.

- 272 García, M.; Alonso-Fernández, J. R.; Escarpa, A. *Anal.Chem.* **2013**, *85*, 9116-9125.
- 273 Ciszewski, A. *Electroanalysis.* **1995**, *7*, 1132-1135.
- 274 Cox, P.; Pletcher, D. *J.Appl.Electrochem.* **1990**, *20*, 549-554.
- 275 Lo, Y. L.; Hwang, B. J. *Journal of The Electrochemical Society.* **1995**, *142*, 445-450.
- 276 Pletcher, D. *J.Appl.Electrochem.* **1984**, *14*, 403-415.
- 277 Amini, N.; Gholivand, M. B.; Shamsipur, M. *J Electroanal Chem.* **2014**, *714–715*, 70-75.
- 278 Rafiee, B.; Fakhari, A. R. *Biosensors and Bioelectronics.* **2013**, *46*, 130-135.
- 279 Yang, S.; Li, G.; Wang, G.; Zhao, J.; Hu, M.; Qu, L. *Sensors Actuators B: Chem.* **2015**, *208*, 593-599.
- 280 Govindhan, M.; Amiri, M.; Chen, A. *Biosensors and Bioelectronics.* **2015**, *66*, 474-480.
- 281 Arvinte, A.; Sesay, A.; Virtanen, V. *Talanta.* **2011**, *84*, 180-186.
- 282 Zhang, M.; Mullens, C.; Gorski, W. *Anal.Chem.* **2005**, *77*, 6396-6401.
- 283 Arvinte, A.; Westermann, A. C.; Sesay, A. M.; Virtanen, V. *Sensors Actuators B: Chem.* **2010**, *150*, 756-763.
- 284 Wang, J.; Tangkuaram, T.; Loyprasert, S.; Vazquez-Alvarez, T.; Veerasai, W.; Kanatharana, P.; Thavarungkul, P. *Anal.Chim.Acta.* **2007**, *581*, 1-6.
- 285 Sanger, J. *Biochemical Journal.* **1945**, *39*, 507-515.
- 286 Chen, Z.; Caulfield, M. P.; McPhaul, M. J.; Reitz, R. E.; Taylor, S. W.; Clarke, N. J. *Clinical Chemistry.* **2013**, *59*, 1349-1356.
- 287 Ortmeier, H. K.; Bodkin, N. L.; Hansen, B. C. *Diabetologia.* **1994**, *37*, 127-133.

- 288 Lindsay, J. R.; McKillop, A. M.; Mooney, M. H.; O'Harte, F. P. M.; Bell, P. M.; Flatt, P. R. *Diabetologia*. **2003**, *46*, 475-478.
- 289 Moriyama, S.; Swanson, P.; Nishii, M.; Takahashi, A.; Kawauchi, H.; Diekhoff, W. W.; Plisetskaya, E. M. *Gen.Comp.Endocrinol.* **1994**, *96*, 149-161.
- 290 Wang, Y.; Gao, D.; Zhang, P.; Gong, P.; Chen, C.; Gao, G.; Cai, L. *Chem.Commun.* **2014**, *50*, 811-813.
- 291 Zhang, X.; Zhu, S.; Deng, C.; Zhang, X. *Chem.Commun.* **2012**, *48*, 2689-2691.
- 292 Schultz, N. M.; Huang, L.; Kennedy, R. T. *Anal.Chem.* **1995**, *67*, 924-929.
- 293 Moein, M. M.; Javanbakht, M.; Akbari-adergani, B. *Talanta*. **2014**, *121*, 30-36.
- 294 Gorski, W.; Aspinwall, C. A.; Lakey, J. R. T.; Kennedy, R. T. *J Electroanal Chem.* **1997**, *425*, 191-199.
- 295 Salimi, A.; Hallaj, R. *Journal of Solid State Electrochemistry*. **2012**, *16*, 1239-1246.
- 296 Pikulski, M.; Gorski, W. *Anal.Chem.* **2000**, *72*, 2696-2702.
- 297 Pumera, M. *Chemistry A European Journal*. **2009**, *15*, 4970-4978.
- 298 Vidotti, M.; Cerri, C. D.; Carvalhal, R. F.; Dias, J. C.; Mendes, R. K.; Córdoba de Torresi, S. I.; Kubota, L. T. *J Electroanal Chem.* **2009**, *636*, 18-23.
- 299 Lin, Y.; Hu, L.; Li, L.; Wang, K. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 46208-46213.
- 300 Shaidarova, L. G.; Gedmina, A. V.; Chelnokova, I. A.; Artamonova, M. L.; Budnikov, H. C. *Journal of Analytical Chemistry*. **2013**, *68*, 536-544.
- 301 Chen, Z.; Nai, J.; Ma, H.; Li, Z. *Electrochim.Acta.* **2014**, *116*, 258-262.
- 302 Roushani, M.; Shamsipur, M.; Pourmortazavi, S. *J.Appl.Electrochem.* **2012**, *42*, 1005-1011.

- 303 Dai, W.; Li, M.; Li, H.; Yang, B. *Sensors Actuators B: Chem.* **2014**, *201*, 31-36.
- 304 Babu, S. V. S.; Shareef, M. M.; Shetty, A. P.; Shetty, K. T. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* **2002**, *17*, 7-26.
- 305 Chen, B.; Xia, L.; Liang, S.; Chen, G.; Deng, F.; Zhang, W.; Tao, L. *Anal.Chim.Acta.* **2001**, *444*, 223-227.
- 306 Piraud, M.; Vianey-Saban, C.; Bourdin, C.; Acquaviva-Bourdain, C.; Boyer, S.; Elfakir, C.; Bouchu, D. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* **2005**, *19*, 3287-3297.
- 307 Casella, I. G.; Gatta, M. *Electroanalysis.* **2001**, *13*, 549-554.
- 308 Kano, K.; Takagi, K.; Inoue, K.; Ikeda, T.; Ueda, T. *Journal of Chromatography A.* **1996**, *721*, 53-57.
- 309 Reim, R. E.; Van Effen, R. M. *Anal.Chem.* **1986**, *58*, 3203-3207.
- 310 Ueda, T.; Mitchell, R.; Kitamura, F.; Nakamoto, A. *Journal of Chromatography A.* **1992**, *592*, 229-237.
- 311 Hanko, V. P.; Rohrer, J. S. *Anal.Biochem.* **2004**, *324*, 29-38.
- 312 Hutton, L. A.; Vidotti, M.; Patel, A. N.; Newton, M. E.; Unwin, P. R.; Macpherson, J. V. *J.Phys.Chem.C.* **2011**, *115*, 1649-1658.
- 313 Stradiotto, N.; Toghill, K.; Xiao, L.; Moshar, A.; Compton, R. *Electroanalysis.* **2009**, *21*, 2627-2633.
- 314 Deo, R. P.; Lawrence, N. S.; Wang, J. *Analyst.* **2004**, *129*, 1076-1081.
- 315 Guo, W.; Li, H.; Li, M.; Dai, W.; Shao, Z.; Wu, X.; Yang, B. *Carbon.* **2014**, *79*, 636-645.

- 316 Brusilow, S. W. and Horwich, A. L. In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* Beaudet, A. L., W. S. Sly, D. Valle, B. Childs, K. W. Kinzler, B. Vogelstein; Scriver CR: New York, 2001; pp 1909-1963.
- 317 Leonard, J. V. In *Inborn Metabolic Diseases*. Fernandes, J., J. M. Saudubray, G. Van den Berghe; Springer: Berlin, 2000; pp 213-222.
- 318 Nassogne, M. C.; Håron, B.; Touati, G.; Rabier, D.; Saudubray, J. M. *J. Inherit. Metab. Dis.* **2005**, *28*, 407-414.
- 319 Batshaw, M. L.; Tuchman, M.; Summar, M.; Seminara, J. *Mol. Genet. Metab.* **2014**, *113*, 127-130.
- 320 Brusilow, S. W.; Danney, M.; Waber, L. J.; Batshaw, M.; Burton, B.; Levitsky, L.; Roth, K.; McKeethren, C.; Ward, J. *N. Engl. J. Med.* **1984**, *310*, 1630-1634.
- 321 Yazaki, M.; Hineno, A.; Matsushima, A.; Ozawa, K.; Kishida, D.; Tazawa, K.; Fukushima, K.; Urata, K.; Ikegami, T.; Miyagawa, S.; Ikeda, S. *Hepatology Research.* **2012**, *42*, 934-939.
- 322 Cederbaum, S. D.; Yu, H.; Grody, W. W.; Kern, R. M.; Yoo, P.; Iyer, R. K. *Mol. Genet. Metab.* , *81*, 38-44.
- 323 Jain-Ghai, S.; Nagamani, S. C. S.; Blaser, S.; Siriwardena, K.; Feigenbaum, A. *Mol. Genet. Metab.* **2011**, *104*, 107-111.
- 324 Caldovic, L.; Morizono, H.; Panglao, M.; Cheng, S.; Packman, S.; Tuchman, M. *Hum. Genet.* **2003**, *112*, 364-368.
- 325 Duran, M. In Blau, N., Marinius Duran, K. Michael Gibson; Springer Berlin Heidelberg: 2008; pp 53-89.
- 326 Haviv, R.; Zeharia, A.; Belaiche, C.; Haimi Cohen, Y.; Saada, A. *Eur. J. Pediatr.* **2014**, *173*, 243-245.

- 327 Quinonez, S. C.; Seeley, A. H.; Seeterlin, M.; Stanley, E.; Ahmad, A. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*. **2014**, *1*, 345-349.
- 328 Barness, L.,A. *Am.J.Med.Genet*. **1996**, *66*, 87-87.
- 329 Enns, G. M.; Berry, S. A.; Berry, G. T.; Rhead, W. J.; Brusilow, S. W.; Hamosh, A. *N.Engl.J.Med*. **2007**, *356*, 2282-2292.
- 330 Qu, Y.; Slocum, R. H.; Fu, J.; Rasmussen, W. E.; Rector, H. D.; Miller, J. B.; Coldwell, J. G. *Clinica Chimica Acta*. **2001**, *312*, 153-162.
- 331 Majdi, S.; Jabbari, A.; Heli, H.; Moosavi-Movahedi, A. A. *Electrochim.Acta*. **2007**, *52*, 4622-4629.
- 332 Hasanzadeh, M.; Karim-Nezhad, G.; Shadjou, N.; Hajjizadeh, M.; Khalilzadeh, B.; Saghatforoush, L.; Abnosi, M. H.; Babaei, A.; Ershad, S. *Anal.Biochem*. **2009**, *389*, 130-137.
- 333 Yang, Y.; Hao, Y.; Wang, X.; Yan, Q.; Yuan, J.; Shao, Y.; Niu, L.; Huang, S. *Electrochim.Acta*. **2015**, *167*, 364-371.
- 334 Ghasemi, S.; Hosseini, S. R.; Asen, P. *Electrochim.Acta*. **2015**, *160*, 337-346.
- 335 Wang, Y.; Yang, Y.; Zhang, X.; Liu, C.; Hao, X. *Journal of Solid State Electrochemistry*. **2015**, , 1-12.
- 336 Wang, Z.; Sun, S.; Hao, X.; Ma, X.; Guan, G.; Zhang, Z.; Liu, S. *Sensors Actuators B: Chem*. **2012**, *171–172*, 1073-1080.
- 337 Jiang, H.; Xu, Y.; Wang, T.; Zhu, P.; Yu, S.; Yu, Y.; Fu, X.; Sun, R.; Wong, C. *Electrochim.Acta*. **2015**, *166*, 157-162.
- 338 Tsai, T.; Chen, T.; Chen, S. *Electroanalysis*. **2010**, *22*, 1655-1662.
- 339 Hao, X.; Yan, T.; Wang, Z.; Liu, S.; Liang, Z.; Shen, Y.; Pritzker, M. *Thin Solid Films*. **2012**, *520*, 2438-2448.

- 340 Mashhadizadeh, M. H.; Yousefi, T.; Nozad Golikand, A. *Electrochim.Acta.* **2012**, *59*, 321-328.
- 341 Chen, T.; Tsai, T.; Chen, S. *ECS Transactions.* **2010**, *33*, 141-146.
- 342 Lin, Y.; Cui, X. *J.Mater.Chem.* **2006**, *16*, 585-592.
- 343 Qin Kong and Xingguo Chen and Jinli Yao and, Desheng Xue. *Nanotechnology.* **2005**, *16*, 164.
- 344 Wessells, C. D.; Peddada, S. V.; Huggins, R. A.; Cui, Y. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 5421-5425.
- 345 Bagkar, N.; Ganguly, R.; Choudhury, S.; Hassan, P. A.; Sawant, S.; Yakhmi, J. V. *J.Mater.Chem.* **2004**, *14*, 1430-1436.
- 346 Cataldi, T. R. I.; De Benedetto, G.; Bianchini, A. *J Electroanal Chem.* **1999**, *471*, 42-47.
- 347 Eftekhari, A. *Journal of The Electrochemical Society.* **2004**, *151*, E297-E301.
- 348 de Tacconi, N. R.; Rajeshwar, K.; Lezna, R. O. *Chem.Mater.* **2003**, *15*, 3046-3062.
- 349 Wilamowska, M.; Lisowska-Oleksiak, A. *J.Power Sources.* **2009**, *194*, 112-117.
- 350 Kulesza, P. J.; Miecznikowski, K.; Malik, M. A.; Galkowski, M.; Chojak, M.; Caban, K.; Wieckowski, A. *Electrochim.Acta.* **2001**, *46*, 4065-4073.
- 351 Lisowska-Oleksiak, A.; Wilamowska, M.; Jasulaitiené, V. *Electrochim.Acta.* **2011**, *56*, 3626-3632.
- 352 Tientong, J.; Garcia, S.; Thurber, C. R.; Golden, T. D. *Journal of Nanotechnology.* **2014**, *2014*, 6.
- 353 Chen, W.; Xia, X. *Advanced Functional Materials.* **2007**, *17*, 2943-2948.

- 354 Robinson, R. A. and Stokes, R. H. *Electrolyte Solutions*, ed.; Butterworths:London; 1955.
- 355 Carpani, I.; Berrettoni, M.; Giorgetti, M.; Tonelli, D. *J Phys Chem B*. **2006**, *110*, 7265-7269.
- 356 Haight, S. M.; Schwartz, D. T.; Lilga, M. A. *Journal of The Electrochemical Society*. **1999**, *146*, 1866-1872.
- 357 Jeerage, K. M.; Steen, W. A.; Schwartz, D. T. *Chem.Mater.* **2002**, *14*, 530-535.
- 358 Denisevich, P.; Willman, K. W.; Murray, R. W. *J.Am.Chem.Soc.* **1981**, *103*, 4727-4737.
- 359 Gómez-Anquela, C.; Revenga-Parra, M.; Abad, J. M.; Marín, A. G.; Pau, J. L.; Pariente, F.; Piqueras, J.; Lorenzo, E. *Electrochim.Acta*. **2014**, *116*, 59-68.
- 360 Georgakilas, V.; Otyepka, M.; Bourlinos, A. B.; Chandra, V.; Kim, N.; Kemp, K. C.; Hobza, P.; Zboril, R.; Kim, K. S. *Chem.Rev.* **2012**, *112*, 6156-6214.
- 361 Johns, J. E.; Hersam, M. C. *Acc.Chem.Res.* **2013**, *46*, 77-86.
- 362 Park, J.; Yan, M. *Acc.Chem.Res.* **2013**, *46*, 181-189.
- 363 Paulus, G. L. C.; Wang, Q. H.; Strano, M. S. *Acc.Chem.Res.* **2013**, *46*, 160-170.
- 364 Kuila, T.; Bose, S.; Mishra, A. K.; Khanra, P.; Kim, N. H.; Lee, J. H. *Progress in Materials Science*. **2012**, *57*, 1061-1105.
- 365 Hirsch, A.; Englert, J. M.; Hauke, F. *Acc.Chem.Res.* **2013**, *46*, 87-96.
- 366 Lim, H.; Lee, J. S.; Shin, H.; Shin, H. S.; Choi, H. C. *Langmuir*. **2010**, *26*, 12278-12284.
- 367 Sun, Z.; Kohama, S.; Zhang, Z.; Lomeda, J.; Tour, J. *Nano Research*. **2010**, *3*, 117-125.

- 368 Bissett, M. A.; Tsuji, M.; Ago, H. *J.Phys.Chem.C*. **2013**, *117*, 3152-3159.
- 369 Guryel, S.; Hajgato, B.; Dauphin, Y.; Blairon, J.; Edouard Miltner, H.; De Proft, F.; Geerlings, P.; Van Lier, G. *Phys.Chem.Chem.Phys*. **2013**, *15*, 659-665.
- 370 Yu, D. S.; Kuila, T.; Kim, N. H.; Khanra, P.; Lee, J. H. *Carbon*. **2013**, *54*, 310-322.
- 371 Xu, Y.; Bai, H.; Lu, G.; Li, C.; Shi, G. *J.Am.Chem.Soc*. **2008**, *130*, 5856-5857.
- 372 Jaegfeldt, H.; Kuwana, T.; Johansson, G. *J.Am.Chem.Soc*. **1983**, *105*, 1805-1814.
- 373 Wang, Y.; Chen, X.; Zhong, Y.; Zhu, F.; Loh, K. P. *Appl.Phys.Lett*. **2009**, *95*, 063302.
- 374 An, X.; Butler, T. W.; Washington, M.; Nayak, S. K.; Kar, S. *ACS Nano*. **2011**, *5*, 1003-1011.
- 375 Wang, Q. H.; Hersam, M. C. *Nat Chem*. **2009**, *1*, 206-211.
- 376 Wang, X.; Tabakman, S. M.; Dai, H. *J.Am.Chem.Soc*. **2008**, *130*, 8152-8153.
- 377 Cheng, H.; Shiue, R.; Tsai, C.; Wang, W.; Chen, Y. *ACS Nano*. **2011**, *5*, 2051-2059.
- 378 Tu, W.; Lei, J.; Zhang, S.; Ju, H. *Chemistry A European Journal*. **2010**, *16*, 10771-10777.
- 379 Zhang, S.; Tang, S.; Lei, J.; Dong, H.; Ju, H. *J Electroanal Chem*. **2011**, *656*, 285-288.
- 380 Alava, T.; Mann, J. A.; Thaodore, C.; Benitez, J. J.; Dichtel, W. R.; Parpia, J. M.; Craighead, H. G. *Anal.Chem*. **2013**, *85*, 2754-2759.
- 381 Rodríguez-López, J.; Ritzert, N. L.; Mann, J. A.; Tan, C.; Dichtel, W. R.; Abruña, H. D. *J.Am.Chem.Soc*. **2012**, *134*, 6224-6236.
- 382 Giacalone, F.; Segura, J. L.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J.Am.Chem.Soc*. **2004**, *126*, 5340-5341.
- 383 Martin, N.; Sanchez, L.; Guldi, D. M. *Chem.Commun*. **2000**, , 113-114.

- 384 Sánchez, L.; Pérez, I.; Martín, N.; Guldi, D. M. *Chemistry A European Journal*. **2003**, *9*, 2457-2468.
- 385 Wenger, S.; Bouit, P.; Chen, Q.; Teuscher, J.; Censo, D. D.; Humphry-Baker, R.; Moser, J.; Delgado, J. L.; Martín, N.; Zakeeruddin, S. M.; Gratzel, M. *J.Am.Chem.Soc.* **2010**, *132*, 5164-5169.
- 386 Herranz, M. A.; Ehli, C.; Campidelli, S.; Gutiérrez, M.; Hug, G. L.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S.; Prato, M.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J.Am.Chem.Soc.* **2008**, *130*, 66-73.
- 387 Herranz, M. A.; Yu, L.; Martín, N.; Echegoyen, L. *J.Org.Chem.* **2003**, *68*, 8379-8385.
- 388 Ehli, C.; Guldi, D. M.; Angeles Herranz, M.; Martin, N.; Campidelli, S.; Prato, M. *J.Mater.Chem.* **2008**, *18*, 1498-1503.
- 389 Asturias-Arribas, L.; Asunción Alonso-Lomillo, M.; Domínguez-Renedo, O.; Julia Arcos-Martínez, M. *Talanta*. **2013**, *111*, 8-12.
- 390 Molinero-Abad, B.; Alonso-Lomillo, M. A.; Domínguez-Renedo, O.; Arcos-Martínez, M. J. *Anal.Chim.Acta.* **2014**, *812*, 41-44.
- 391 Jia, W.; Bandodkar, A. J.; Valdés-Ramírez, G.; Windmiller, J. R.; Yang, Z.; Ramírez, J.; Chan, G.; Wang, J. *Anal.Chem.* **2013**, *85*, 6553-6560.
- 392 Román, L. d. T.; Alonso-Lomillo, M. A.; Domínguez-Renedo, O.; Jaureguibeitia, A.; Arcos-Martínez, M. J. *Sensors Actuators B: Chem.* **2014**, *192*, 56-59.
- 393 Manso, J.; Mena, M. L.; Yáñez-Sedeño, P.; Pingarrón, J. M. *Anal.Biochem.* **2008**, *375*, 345-353.
- 394 Campuzano, S.; Escamilla-Gómez, V.; Herranz, M. Á.; Pedrero, M.; Pingarrón, J. M. *Sensors Actuators B: Chem.* **2008**, *134*, 974-980.
- 395 Gamella, M.; Campuzano, S.; Conzuelo, F.; Curiel, J. A.; Muñoz, R.; Reviejo, A. J.; Pingarrón, J. M. *Talanta*. **2010**, *81*, 925-933.

- 396 Le Goff, A.; Reuillard, B.; Cosnier, S. *Langmuir*. **2013**, *29*, 8736-8742.
- 397 Bifulco, L.; Cammaroto, C.; Newman, J. D.; Turner, A. P. F. *Anal.Lett.* **1994**, *27*, 1443-1452.
- 398 Pandey, P. C.; Upadhyay, S.; Upadhyay, B. *Anal.Biochem.* **1997**, *252*, 136-142.
- 399 Gamella, M.; Campuzano, S.; Reviejo, A. J.; Pingarrón, J. M. *Anal.Chim.Acta.* **2008**, *609*, 201-209.
- 400 Iijima, S. *Nature*. **1991**, *354*, 56-58.
- 401 Popov, V. N. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. **2004**, *43*, 61-102.
- 402 Bansal, M.; Srivastava, R.; Lal, C.; Kamalasanan, M. N.; Tanwar, L. S. *Nanoscale*. **2009**, *1*, 317-330.
- 403 Lu, X. B.; Dai, J. Y. *Appl.Phys.Lett.* **2006**, *88*, 113104.
- 404 Martins, T. B.; Fazio, A.; da Silva, Antonio J. R. *Phys.Rev.B.* **2009**, *79*, 115413.
- 405 Gao, C.; Guo, Z.; Liu, J.; Huang, X. *Nanoscale*. **2012**, *4*, 1948-1963.
- 406 Mazloum-Ardakani, M. and M.A. Sheikh-Mohseni. In Anonymous ; 2011;
- 407 Rivas, G. A.; Rubianes, M. D.; Rodríguez, M. C.; Ferreyra, N. F.; Luque, G. L.; Pedano, M. L.; Miscoria, S. A.; Parrado, C. *Talanta*. **2007**, *74*, 291-307.
- 408 Fan, Z.; Yan, J.; Zhi, L.; Zhang, Q.; Wei, T.; Feng, J.; Zhang, M.; Qian, W.; Wei, F. *Adv Mater.* **2010**, *22*, 3723-3728.
- 409 Chen, S.; Zhitomirsky, I. *Mater Lett.* **2014**, *135*, 47-50.
- 410 Singh, P.; Campidelli, S.; Giordani, S.; Bonifazi, D.; Bianco, A.; Prato, M. *Chem.Soc.Rev.* **2009**, *38*, 2214-2230.
- 411 Zhao, Y.; Stoddart, J. F. *Acc.Chem.Res.* **2009**, *42*, 1161-1171.

- 412 Gao, J.; Loi, M. A.; de Carvalho, Elton José Figueiredo; dos Santos, M. C. *ACS Nano*. **2011**, *5*, 3993-3999.
- 413 Llanes-Pallas, A.; Yoosaf, K.; Traboulsi, H.; Mohanraj, J.; Seldrum, T.; Dumont, J.; Minoia, A.; Lazzaroni, R.; Armaroli, N.; Bonifazi, D. *J.Am.Chem.Soc.* **2011**, *133*, 15412-15424.
- 414 Clavé, G.; Delport, G.; Roquelet, C.; Lauret, J.; Deleporte, E.; Vialla, F.; Langlois, B.; Parret, R.; Voisin, C.; Roussignol, P.; Joussetme, B.; Gloter, A.; Stephan, O.; Filoramo, A.; Derycke, V.; Campidelli, S. *Chem.Mater.* **2013**, *25*, 2700-2707.
- 415 Breault, G. A.; Hunter, C. A.; Mayers, P. C. *Tetrahedron*. **1999**, *55*, 5265-5293.
- 416 Weisbach, N.; Baranova, Z.; Gauthier, S.; Reibenspies, J. H.; Gladysz, J. A. *Chem.Commun.* **2012**, *48*, 7562-7564.
- 417 Stoddart, J. F. *Chem.Soc.Rev.* **2009**, *38*, 1802-1820.
- 418 Kay, E.; Leigh, D.; Zerbetto, F. *Angewandte Chemie International Edition*. **2007**, *46*, 72-191.
- 419 Berné José; Giovanni, B.; Leigh, D. A.; Pérez, E. M. *Pure and Applied Chemistry*. **2007**, *79*, 39.
- 420 Cheng, C.; McGonigal, P. R.; Schneebeli, S. T.; Li, H.; Vermeulen, N. A.; Ke, C.; Stoddart, J. F. *Nat Nano*. **2015**, *10*, 547-553.
- 421 Lewandowski, B.; De Bo, G.; Ward, J. W.; Pappmeyer, M.; Kuschel, S.; Aldegunde, M. J.; Gramlich, P. M. E.; Heckmann, D.; Goldup, S. M.; D'Souza, D. M.; Fernandes, A. E.; Leigh, D. A. *Science*. **2013**, *339*, 189-193.
- 422 Romero-Nieto, C.; García, R.; Herranz, M. A.; Ehli, C.; Ruppert, M.; Hirsch, A.; Guldi, D. M.; Martín, N. *J.Am.Chem.Soc.* **2012**, *134*, 9183-9192.
- 423 Liu, S.; Pérez, I.; Martín, N.; Echegoyen, L. *J.Org.Chem.* **2000**, *65*, 9092-9102.

**Publicaciones y
comunicaciones a
congresos.**

1. Publicaciones.

1. Martínez-Periñán E, Azani M, Abad JM, et al. Electrochemically generated nanoparticles of halogen-bridged mixed-valence binuclear metal complex chains. *Chemistry, An European Journal*. 2014; 20 (23):7107-7115.
2. Martínez-Periñán E, Gennari M, Revenga-Parra M, et al. Highly dense nickel hydroxide nanoparticles catalyst electrodeposited from a novel Ni(II) paddle-wheel complex. *Journal of Catalysis*. 2015; 329:22-31.
3. Martínez-Periñán E, Gennari M, Revenga-Parra M, et al. Insulin Sensor Based on Nanoparticle-Decorated Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Electrodes. *Sensors and Actuators B*. 2016; 222: 331–338.
4. Emiliano Martínez-Periñán, Alberto de Juan, Yann Pouillon, Christoph Schierl, Volker Strauss, Ángel Rubio, Dirk M. Guldi, Emilio M. Pérez, and Encarnación Lorenzo. Mechanical interlocking of carbon nanotubes: diameter-selective functionalization and effects on physical properties. Enviado a publicar a *Journal of American Chemical Society*.
5. Emiliano Martínez-Periñán, Mónica Revenga-Parra, Félix Pariente, Encarnación Lorenzo. Ni(OH)₂/CNT modified electrodes as HPLC electrochemical detector to determine arginine, ornithine and citrulline in human serum and urine. Enviado a *Analytica Chimica Acta*.

2. Comunicaciones a congresos.

- 3rd Early Stage Researchers Workshop-IMDEA Nanociencia 2013. Madrid, España. (Oral).
- VI Workshop en Nanociencia y Nanotecnología Analíticas. NyNA 2013 Alcalá de Henáres, Madrid, España. (Comunicación oral corta).
- 4th Early Stage Researchers Workshop-IMDEA Nanociencia 2014. Madrid, España. (Oral).
- 15th International Conference on Electroanalysis, European Society for Electroanalytical Chemistry (ESEAC) 2014 Malmö, Suecia. (Oral).
- 5th Early Stage Researchers Workshop-IMDEA Nanociencia 2015. Madrid, España. (Poster).
- XX Reunión Sociedad Española de Química Analítica (SEQA) 2015 Santiago de Compostela, La Coruña, España. (Poster).