



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

TRANSPORTE DE CARGA Y PROPIEDADES ELECTRO-CATALÍTICAS DE COMPLEJOS DE Ru INSERTADOS EN EL POLÍMERO NAFIÓN-TMS

TESIS

**PRESENTADA POR
DORA ANDREA DURÁN TLACHINO**

**PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA**

**DIRECTORES DE TESIS
DRA. ROCÍO AGUILAR SÁNCHEZ
DR. JOSÉ ANTONIO MÉNDEZ BERMÚDEZ**

**PUEBLA, MÉXICO
ENERO 2018**

Agradecimientos

Este trabajo de tesis se realizó en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas y el Instituto de Física con financiamiento de CONACyT-México a través de los proyectos: 220624, 104361, 243030, y con financiamiento de PRODEP a través del Plan de Trabajo CA-40 2016-2017. Agradezco a CONACyT por la beca otorgada (25308) a través del proyecto 220624 y a VIEP-BUAP 2016 (198) y 2017 (306).

Dios
Directora, Asesor
Familia
Profesores, Amigos
Instituciones, Facultad
Conacyt
Viep

A MIS AMADOS

PADRES

Transporte de carga y propiedades electrocatalíticas de complejos de Ru insertados en el polímero Nafión-TMS

Resumen

En este trabajo de tesis se reportan las propiedades electrocatalíticas y de transporte de carga del polímero *Nafion-trimetilsililado* (Naf-TMS) y de éste con *complejos de Rutenio* ($[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$). El transporte de carga y la electrocatálisis se estudian a través de la detección electroquímica de los *neurotransmisores* adrenalina (AD) y dopamina (DA) en diferentes medios de reacción. En la primera etapa del trabajo, se introduce un procedimiento para la disolución del polímero Naf-TMS y la incrustación e inmovilización de los catalizadores electroactivos de rutenio. Estos catalizadores pueden actuar como mediadores e incrementar la velocidad de transporte de carga entre la solución y la superficie del electrodo. Se prepararon membranas poliméricas de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos y se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja (IR), espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis) y microscopia de fuerza atómica (AFM). Para los estudios electroanalíticos, los polímeros se depositaron en superficies de carbón vítreo (GC). Se realizaron estudios para la detección de AD y DA empleando éstos electrodos modificados con Naf-TMS (GC/Naf-TMS) y con Naf-TMS/Ru-complejos (GC/Naf-TMS/ $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ y GC/Naf-TMS/ $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$) a diferentes valores de pH y en presencia de neurotransmisores. Se encontró que los sistemas presentan buenas propiedades de *transporte de carga*. Se propone que el posible mecanismo por el cual Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejo, oxidan fácilmente a los neurotransmisores pueden involucrar *interacciones hidrofóbicas* y *electrostáticas* lo que permite modular las propiedades de las membranas para posibles aplicaciones analíticas.

Contenido

1. Introducción	1
1.1. Hipótesis	8
1.2. Objetivos	8
2. Experimentación	9
2.1. Reactivos y sustancias.....	9
2.2. Disolución de Nafión-TMS.....	9
2.3. Técnicas de caracterización	10
2.4. Modificación de electrodos	13
2.5. Estudios electroquímicos	13
3. Resultados y Discusión	14
3.1. Espectroscopia IR de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos	14
3.2. Espectrofotometría UV-Visible de Naf-TMS/Ru-complejos	16
3.3. Caracterización superficial empleando microscopia de fuerza atómica (AFM) de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos	18
3.4. Estudios electroquímicos con electrodos GC modificados con Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos.....	20
3.4.1. Detección electroquímica en medio ácido de los neurotransmisores adrenalina (AD) y dopamina (DA) en electrodos GC modificados con Naf-TMS a pH 1	20
3.4.2. Efecto de los catalizadores de rutenio en la reacción de oxidación de neurotransmisores en electrodos GC/Naf-TMS/Ru-complejo en medio ácido pH 1	24
3.4.3. Detección electroquímica de AD y DA en electrodos modificados GC/Naf-TMS y GC/Naf-TMS/Ru-complejo a pH 7.2	26
3.4.4. Dependencia del pH en el comportamiento analítico de adrenalina en electrodos modificados con Naf-TMS.....	30
3.4.5. Comportamiento analítico de AD y DA a diferentes valores de pH en electrodos modificados GC/Naf-TMS y GC/Naf-TMS/Ru-complejo	31
4. Conclusiones	34
Referencias	35

Capítulo 1

Introducción

1.1 Procesos de transferencia electrónica (reacciones redox)

Una gran variedad de fenómenos físicos y químicos en la naturaleza están relacionados con procesos de transporte de carga tanto iónica como electrónica. Procesos tales como la fotosíntesis, la combustión, la respiración celular o la transformación de la glucosa en energía, son fenómenos naturales con implicaciones químicas y biológicas muy importantes. Estudiando los procesos de transferencia electrónica y adquiriendo conocimiento de las propiedades fundamentales de los entes químicos y biológicos microscópicos que hacen las funciones en la naturaleza, uno puede ser capaz de transformar o imitar procesos naturales para reproducir sus funciones en aplicaciones tecnológicas, tales como celdas de combustible, celdas solares, fotosíntesis artificial y sensores químico-biológicos. Para estudiar las propiedades de transferencia electrónica, los sistemas químicos se deben acoplar a un transductor que permita una conexión entre su mundo microscópico y el nuestro (macroscópico). El mundo de las moléculas y los sistemas biológicos es generalmente líquido y el de los transductores, es sólido (metales, semiconductores), por lo que la *electroquímica* en interfaces sólido/líquido es una de las herramientas más poderosas para investigar las propiedades de transferencia electrónica y sus posibles aplicaciones. Investigaciones experimentales y estudios teóricos han mostrado que la velocidad de los procesos de transferencia electrónica puede ser afectada enormemente por el uso de superficies modificadas [1].

La modificación de superficies de electrodo puede realizarse empleando diversos métodos físicos y químicos.

1.2 Modificación de superficies de electrodo

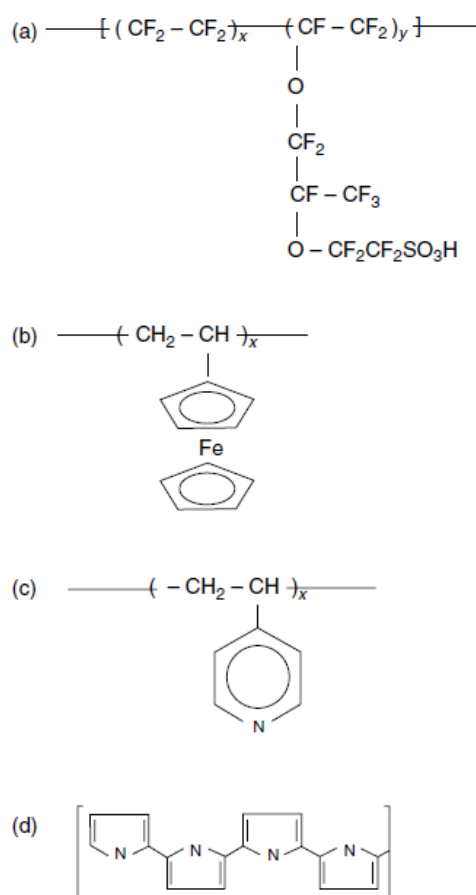
Entre los métodos físicos de modificación se encuentran la anodización de superficies de electrodo por aplicación de voltajes muy anódicos, pulido y activación con radiación laser [2]. Entre los métodos químicos se encuentra uno de los más versátiles, que es el uso de polímeros depositados sobre las superficies de electrodo, los cuales a su vez pueden estar modificados con electrocatalizadores y en general especies químicas con determinadas propiedades ópticas, catalíticas o eléctricas.

En general, los electrodos modificados químicamente consisten en la inmovilización de una especie química sobre una superficie de electrodo, para impartir las propiedades de esa entidad química a la superficie modificada. La alteración deliberada de las superficies de electrodo puede satisfacer las necesidades de muchos problemas electroanalíticos y constituir la base para nuevas aplicaciones y diferentes dispositivos de detección. Existen diferentes modos por los cuales los electrodos modificados pueden beneficiar las aplicaciones analíticas. Estos incluyen aceleración de las reacciones de transferencia electrónica, acumulación y preconcentración preferencial, entre otras. Dichas etapas pueden impartir mayor selectividad, sensibilidad o estabilidad en dispositivos electroquímicos sensores de sustancias. Otras aplicaciones importantes incluyen liberación controlada de fármacos, electrocatálisis y electrosíntesis.

Los electrodos modificados con polímero se preparan a menudo por la deposición de una solución que contiene el polímero disuelto, sobre la superficie del electrodo y permitiendo que el disolvente se evapore. También se puede hacer un revestimiento por inmersión o centrifugado, o por electropolimerización en presencia del monómero disuelto en una celda electroquímica. Este último método ofrece un control preciso del espesor de la película (y a menudo de la morfología), y es particularmente atractivo en relación con superficies de sensores miniaturizadas. La estructura química de algunos revestimientos poliméricos comunes se muestra en el Esquema 1.

Entre los materiales poliméricos más estudiados se encuentra el Nafion[®] (Dupont), que es un polímero perfluorosulfonado intercambiador de cationes (Esquema 1a). El Nafion[®] se ha utilizado ampliamente como modificador de electrodos debido a sus excelentes propiedades de permeabilidad iónica, alta conductividad de protones, selectividad, de intercambio iónico, resistencia mecánica, química y térmica y es inerte biológicamente. Ha sido ampliamente utilizado como una membrana de intercambio de protones en celdas de combustible, detectores electroquímicos, baterías [3], síntesis

electroorgánica [4] y en sistemas electroanalíticos como sensor químico-biológico debido a que muestra una gran afinidad por cationes orgánicos e inorgánicos [5]. Además ha sido usado como modelo para entender los procesos fotoquímicos en vesículas y membranas biológicas [6]. La estructura química del polímero consiste de un esqueleto hidrofóbico de tetrafluoroetileno (del tipo Teflon[®]) combinado con zonas hidrofílicas del polímero que contienen un grupo sulfónico unido a una especie catiónica, ya sea protón (Esquema 1a) o un ion alcalinotérreo. Esta parte permite el proceso de intercambio iónico por lo que el Nafión[®] puede extraer y *preconcentrar* grandes cationes orgánicos e inorgánicos, desde un medio acuoso con el cual se encuentre en contacto, y subsecuentemente la concentración de estos cationes es medida por su respuesta electroquímica a un barrido o paso de potencial.

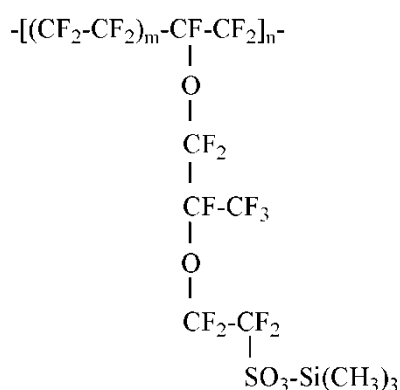


Esquema 1. Estructura de recubrimientos poliméricos comunes: (a) Nafion[®], (b) polivinilferroceno; (c) polivinilpiridina; (d) polipirrol.

Debido al fenómeno de intercambio iónico, el Nafion[®] puede anclar grandes cantidades de cationes orgánicos e inorgánicos en la superficie de un electrodo. Los iones

preconcentrados en la película son oxidados o reducidos y la corriente resultante se registra y relaciona directamente con la concentración de iones en solución acuosa. Las ventajas ofrecidas por el fenómeno de preconcentración, mediante interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas, pueden ser observadas solo al establecerse un equilibrio, el cual depende de factores como; el tamaño, carga, concentración y fuerza iónica del analito. Sin embargo, el fenómeno de preconcentración puede tornarse en una desventaja cuando se requieren tiempos de respuesta rápidos del electrodo (por ejemplo en estudios *in vivo* de sustancias neurotransmisoras). Por lo que es deseable eliminar el grupo funcional que posee las propiedades de intercambio catiónico y por lo tanto de preconcentración.

En la matriz de Nafión[®] se han distinguido tres regiones las cuales incluyen porciones semicristalinas combinadas con áreas no cristalinas en donde los grupos sulfónicos aniónicos están agregados [7], [8]. Se ha mostrado que el Nafión[®] en la forma de hidrógeno es un catalizador sólido “superácido” muy efectivo [9] para una variedad de reacciones orgánicas [10]. El grupo sulfónico altamente ácido de Nafión[®] es muy reactivo lo que hace que sea un buen sitio de reacción donde se pueden crecer fases inorgánicas [11]. En 1980 Murata y Noyori modificaron el Nafion[®] a través de una sililación de la que obtuvieron el Nafión-trimetilsililado (Naf-TMS) [12] (Esquema 2). Aunque muchos estudios e investigaciones se han dedicado a Nafión[®], a la fecha solo se ha reportado un trabajo [13] acerca de las propiedades químicas, físicas y analíticas del Naf-TMS, entre las cuales se encuentra una respuesta rápida para las reacciones de transferencia electrónica.



Esquema 2. Estructura química del polímero Naf-TMS [12]

Por otro lado, las características benéficas de las membranas poliméricas pueden ser mejoradas mediante la inmovilización de catalizadores químicos en su interior. Los modificadores más interesantes y estudiados son aquellos que poseen actividad electroquímica y que pueden ser inmovilizados fácilmente a través de diversos mecanismos de acción como interacciones de tipo electrostático o covalente. La incorporación de centros redox en membranas poliméricas, es un enfoque muy prometedor para mejorar el transporte de carga y producir materiales funcionales con propiedades ópticas, catalíticas y redox deseables. La inmovilización de materiales tales como el Ru(II) y Ru(III) en superficies de electrodos modificados, ha encontrado como posibles aplicaciones sensores electroluminiscentes altamente sensibles y selectivos [14 y 15], biosensores de glucosa [16] y sensores bioquímicos, además de que han sido introducidos como receptores de luz en materiales híbridos para aplicaciones fotovoltaicas [17]. Asimismo, las resinas poliméricas modificadas han mostrado posibles aplicaciones como electrolitos sólidos. En sensores electroquímicos, la introducción del analito en la película polimérica es un proceso muy importante y fundamental. En estas aplicaciones es compulsorio contar con un transporte rápido tanto de carga como de masa para un trabajo eficiente. Como se ha demostrado antes [13], el Naf-TMS es capaz de inmovilizar catalizadores de Ru a través de interacciones de tipo hidrofóbico mediante las cuales su inmovilización es uniforme en la película y con eso se espera encontrar un transporte de analito y de carga eficiente a través de la película.

1.3 Detección de sustancias biológicas empleando electrodos modificados

Debido a que una gran variedad de sistemas biológicos son fácilmente oxidables o reducibles, los métodos electroquímicos presentan muchas ventajas para la determinación cuantitativa de estas sustancias debido a su rapidez, bajo costo, alta sensibilidad y bajo límite de detección. Sin embargo, en electrodos sin modificar los productos de oxidación generalmente se adsorben fuertemente en el electrodo bloqueando su superficie y generando señales distorsionadas que no sólo dependen de la cantidad de sustancia en la solución, razón por la cual se emplean preferentemente electrodos modificados para la detección de sustancias de interés biológico.

Entre los sistemas biológicos más importantes, se encuentran los neurotransmisores, los cuales son moléculas que controlan el comportamiento y las condiciones fisiológicas regulando la comunicación entre las redes neuronales. Estas

moléculas están involucradas en una gran variedad de procesos neurofisiológicos como el ciclo del sueño, el aprendizaje, la memoria y el apetito. Daños en la secreción o absorción de estas sustancias pueden resultar en enfermedades neurodegenerativas (mal de Parkinson), adicción a las drogas de abuso, esquizofrenia y síndrome de depresión [18].

La epinefrina, también conocida como adrenalina (AD) es un neurotransmisor del tipo catecolamina muy importante en el sistema nervioso central. Fue descubierta por Takamine y Aldrich en 1902 y sintetizada por Stolz y Dalkin en 1904 [19]. Es una hormona sintetizada, secretada y liberada por la medula de las glándulas adrenales y estimula una serie de acciones del sistema nervioso simpático llamadas respuestas “lucha o corre”. La AD controla el comportamiento del sistema nervioso y niveles anormales en su concentración afectan la regulación de la presión sanguínea, el ritmo cardíaco y el metabolismo del glicógeno. La AD junto con la noradrenalina es responsable de incrementar el ritmo cardíaco, regula la presión sanguínea, dilata las pupilas, controla el paso de aire en los pulmones y estrecha los vasos sanguíneos [20]. Usualmente la AD se libera por estrés físico (como el ejercicio) o emocional (conmoción) que pueden activar el sistema simpático-adrenal seguido por un incremento en la concentración de AD en la sangre y orina. La AD actúa como un mensajero químico celular y muchas enfermedades están relacionadas con su concentración. Actualmente se piensa que algunos fenómenos de salud como un incremento en la incidencia y desarrollo de cáncer, está relacionado con la presencia de adrenalina en la sangre en la cual su concentración varía usualmente entre 0 y 5 nM [21]. También se han encontrado niveles anormales de concentración de AD en pacientes con enfermedad de Parkinson. Anormalidades en la concentración de AD causados por una disfunción metabólica puede generar varias condiciones patológicas como: deficiencias en la hormona tiroidea, paro cardíaco y arritmias.

Otro de los neurotransmisores más importantes es la dopamina (DA). Esta sustancia fue descubierta a finales de los 50's en una región del cerebro conocida como “núcleo caudado”, a una concentración grande (50 nmol/g). Más adelante, se encontró que las personas con enfermedad de Parkinson tenían una concentración muy baja (casi nula) de DA en esta región del cerebro. También se descubrió que las drogas de abuso tales como la cocaína y las anfetaminas pueden inhibir el proceso de absorción de la DA; esta acción celular se correlaciona con cambios en el comportamiento inducido por estas drogas. Adicionalmente se ha encontrado una correlación entre el enlazamiento de

drogas antipsicóticas con los receptores de dopamina y su eficacia para controlar los síntomas de la esquizofrenia.

Tanto la AD como la DA existen como cationes orgánicos [22] a pH's fisiológicos. Ambos neurotransmisores se encuentran en niveles bajos de concentración en suero humano (nanomoles y micromoles por litro respectivamente). La determinación de los niveles de AD, junto con los de dopamina (DA) es importante en el diagnóstico de varias enfermedades neurodegenerativas y otros desórdenes mentales [23] La AD se ha usado como medicamento, por ejemplo para tratamiento de shock analéptico, asma y enfermedades del corazón y la DA para tratar el mal de Parkinson. Por lo tanto, la detección y análisis cuantitativo de AD y DA a pHs fisiológicos, es de importancia significativa puesto que están involucrados en el estudio de las funciones fisiológicas y/o diagnóstico de algunas enfermedades. Para cumplir con estos objetivos analíticos, se han empleado varios sistemas modificadores de electrodos entre los que se encuentran, nanopartículas de oro electrodepositadas en polipirrol [24], ácido caféico [25] y monocapas autoensambladas [26]. También se han empleado materiales compositos poliméricos de nanotubos de carbón/Nafion-[Ru(bpy)₃]²⁺ [27] para mejorar la detección electroquímica de analitos biológicos.

En este trabajo de Tesis se pretende investigar las propiedades analíticas del polímero Naf-TMS y Naf-TMS modificado con catalizadores de Ru(II) para la detección de sustancias neurotransmisoras como la adrenalina y la dopamina.

1.1. Hipótesis

Basados en resultados previos [13] y en las características que presentan las membranas perfluorosulfonadas como Nafion[®], estudiaremos las propiedades analíticas de Nafion-Trimetilsililado esperando encontrar que los mecanismos que gobiernan el transporte de carga dentro de estas membranas sea a través de interacciones del tipo electrostático e hidrofóbico, que pueden mejorar la detección de sustancias neurotransmisoras. La subsecuente modificación con catalizadores de rutenio permitirá mejorar las características analíticas de las membranas poliméricas para la detección de adrenalina y dopamina.

1.2. Objetivos

Objetivo general

Preparar y caracterizar superficies de electrodo modificadas, así como membranas preparadas a partir del polímero *Naf-TMS* y *Naf-TMS/Ru-complejos*. Se planean estudios electroquímicos con electrodos de carbón y caracterización espectroscópica y superficial.

Objetivos particulares

- Establecer la metodología de preparación y control de los parámetros experimentales para la deposición de las películas poliméricas de *Naf-TMS* sobre las superficies de electrodo.
- Caracterizar las membranas de *Naf-TMS* y *Naf-TMS* modificadas con complejos de rutenio: ($[Ru(phen)_3]^{2+}$ y $[Ru(bpy)_3]^{2+}$).
- Estudiar las propiedades analíticas y de transporte de carga de *Naf-TMS* y *Naf-TMS/Ru-complejos* empleando técnicas de caracterización espectrofotométricas, superficiales y electroquímicas.

Capítulo 2

Parte experimental

La metodología de investigación comprende la disolución de la resina Naf-TMS, su posterior modificación con catalizadores de rutenio y su caracterización para investigar las propiedades de transporte de carga iónica y electrónica sobre electrodos de carbón vítreo. Se establecen las estrategias de preparación de las membranas poliméricas y se investigan sus propiedades físicas, químicas y analíticas empleando métodos de caracterización óptica, estudios físicos y electroquímicos.

2.1. Reactivos y sustancias

Todos los reactivos: Naf-TMS (sigma-aldrich), Dopamina (sigma), Adrenalina (sigma), los complejos de rutenio $-C_{36}H_{24}Cl_2N_6Ru \cdot xH_2O$ ($[Ru(phen)_3]^{2+}$, dichlorotris (1,10-phenanthroline) ruthenium(II) hydrate, 98 %), $C_{30}H_{24}Cl_2N_6Ru \cdot 6H_2O$ ($[Ru(bpy)_3]^{2+}$ Tris (2,2'-bipyridyl) ruthenium(II) chloride hexahydrate, 98%)- se compraron en Sigma-Aldrich.

Etanol (Baker), H_2SO_4 , $H_2NaPO_4 \cdot H_2O$ y $HNa_2PO_4 \cdot 12H_2O$ se compraron en casa comercial Merck. Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada (Milli-Q, 18.2 M Ω) antes de cada experimento. Las diferentes concentraciones del analito fueron preparadas por dilución. El Naf-TMS se compró como una resina en forma de perlas, las cuales fueron disueltas según se describe abajo.

2.2. Disolución de Nafión-TMS

El Naf-TMS es una resina polimérica muy resistente al ataque químico, incluso a oxidantes fuertes y solventes orgánicos. Los polímeros perfluorosulfonados interactúan más fuertemente con sistemas binarios de solventes [14]. En este trabajo, disolvimos el Naf-TMS en una mezcla etanol-agua (50%:50%). Para la preparación de una solución de 1% peso/vol, se colocó la cantidad necesaria de Naf-TMS a un reactor resistente a

alta presión, que contenía la mezcla etanol-agua. El reactor fue purgado con Ar y calentado a 250 °C por 2 horas. La solución obtenida fue ligeramente viscosa y transparente. Para la incorporación de los complejos, se empleó el mismo método pero se adicionó la cantidad correspondiente del compuesto de rutenio a la mezcla etanol-agua/Naf-TMS que se encontraba en el reactor. Las soluciones obtenidas, se emplearon para la modificación de los electrodos y su respectiva caracterización.

2.3. Técnicas de caracterización

2.3.1 Caracterización de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos por espectroscopia infrarroja

Se mezcló KBr (Merck, grado espectroscópico de IR) con soluciones de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos y se secó a 90° C durante 24 h. La técnica utilizada para el análisis de la muestra fue transmisión. Los estudios espectroscópicos se realizaron en un espectrofotómetro de la marca Varian Digilab.



Fig. 2.1. Espectrofotómetro de infrarrojo Digilab.

2.3.2 Espectrofotometría UV-Visible de muestras de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos

Los estudios espectrofotométricos se llevaron a cabo en una celda de cuarzo y todas las medidas se realizaron a temperatura ambiente. El equipo empleado para los análisis

de absorción de UV-Vis fue un espectrofotómetro Cary-5000, marca Varian (Figura 2.2).



Fig. 2.2 Espectrofotómetro UV-Visible Cary-5000 Varian.

2.3.3 Microscopia de fuerza atómica de muestras de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos

La Microscopia de Fuerza Atómica (AFM por sus siglas en inglés) es una técnica muy útil e importante en el estudio de la microestructura de materiales. El microscopio de fuerza atómica usa una punta muy aguda (de silicio), unida a una ménsula (palanca) flexible, la cual se mueve a lo largo y ancho de la superficie de la muestra con ayuda de un escáner piezoeléctrico (Figura 2.3.A). Conforme la punta se aproxima a la muestra, las fuerzas de atracción de corto alcance entre la punta y la muestra, causan que la micropalanca se doble hacia la superficie. Conforme la palanca se acerca aún más a la muestra, hasta que incluso haga contacto, las fuerzas de repulsión causan que la ménsula se doble hacia fuera de la muestra. El AFM tiene un escáner x - y que mueve la muestra hacia atrás y hacia adelante por debajo de la punta y un escáner z que mueve la palanca hacia arriba y hacia abajo. La interacción local entre la punta y la muestra causa una deflexión de la ménsula, la cual es monitorizada y traducida a una imagen tridimensional en escalas de micro- y nanómetros a través de un sensor de posición. Este sensor, que es un foto-diodo, rastrea un láser que es reflejado desde la parte superior de la punta. Cualquier flexión de la palanca hacia la muestra o lejos de esta, causa cambios en la dirección del haz reflejado los cuales son registrados por el detector. Entonces, sí la punta del AFM pasa por una característica elevada de la superficie, la flexión (doblamiento) de la palanca, y el subsecuente cambio en la

dirección del haz reflejado, se registra por el sensor de posición. Se pueden captar imágenes de la superficie de la muestra escaneando la ménsula sobre la región de interés. Las hendiduras y las elevaciones de la muestra influyen la deflexión de la palanca, por lo tanto controlando la altura de la punta sobre la superficie, el AFM genera un mapa topográfico exacto de la muestra.

La topografía y caracterización estructural de las películas Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos se realizó empleando microscopia de fuerza atómica (AFM). Los estudios se realizaron en modo de contacto con un microscopio de fuerza atómica Nanosurf Naio-AFM (Figura 2.3.B) con puntas de carburo de silicio empleadas como sonda. Para estudiar las características microscópicas de las superficies, se monitorizaron secciones de 50, 10 y 5 μm de las películas depositadas sobre vidrio y removidas en agua una vez formadas.

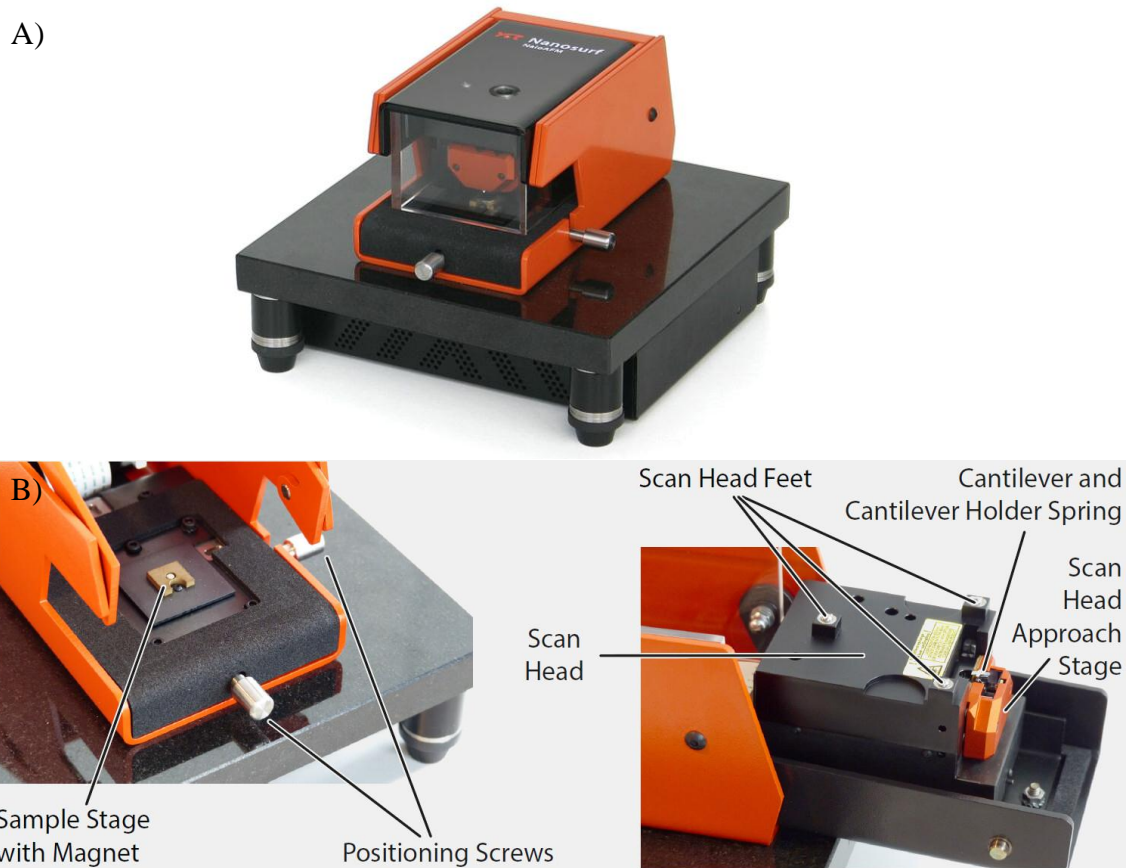


Fig. 2.3. A) Microscopio de Fuerza Atómica Nanosurf (Naio-AFM). B) Vista superior del AFM.

2.4. Modificación de electrodos

Se emplearon electrodos de carbón vítreo (GC, por sus siglas en inglés) como sustrato para depositar los polímeros correspondientes. Previo a la deposición, el electrodo se pulió sucesivamente con alúmina de 0.1 y 0.04 μM de diámetro. Posteriormente se lavó varias veces con acetona y agua desionizada en un baño ultrasónico. La modificación consistió en la deposición de una alícuota de la solución (etanol-agua) correspondiente de polímero (Naf-TMS o Naf-TMS/complejo Ru) sobre el electrodo, el cuál se dejó secar a temperatura ambiente durante 16 horas.

2.5. Estudios electroquímicos

Los estudios electroquímicos se realizaron en una celda electroquímica de tres electrodos. Como electrodos de trabajo se emplearon: GC desnudo, GC/Naf-TMS, y GC/Naf-TMS/Ru-complejo. Como contraelectrodo se empleó un alambre de platino y como electrodo de referencia Ag/AgCl saturado. Los estudios se realizaron con un potenciostato-galvanostato Epsilon (Bioanalytical Systems) y se empleó el software BASi-Epsilon EC (v. 2.13.77) para la adquisición y control de datos (Figura 2.4).



Fig. 2.4. Celda Electroquímica de tres electrodos y Potenciostato – Galvanostato Epsilon (Bioanalytical Systems), BASi-Epsilon EC (v. 2. 13. 77).

Capítulo 3

Resultados y Discusión

Las propiedades de las membranas Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos, fueron estudiadas empleando técnicas de caracterización espectroscópica (IR), espectrofotométrica UV-Visible, Refractometría) y de caracterización superficial (Microscopia de Fuerza Atómica, AFM).

3.1. Espectroscopia IR de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos

Para mostrar la preservación del polímero Naf-TMS después del proceso de disolución, y demostrar la presencia de los complejos de Ru en el polímero, se llevaron a cabo estudios de espectroscopia infrarroja (IR). Los espectros infrarrojo de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejo se muestran en la figura 3.1.

El espectro infrarrojo de la figura 3.1.A, correspondiente a Naf-TMS, es muy semejante al que se ha reportado para Nafión en su forma K^+ [28, 29]. En el intervalo entre 1,400 y 500 cm^{-1} , se pudieron observar varias bandas de vibración. Aproximadamente a 1,230 cm^{-1} , se puede observar una banda que puede atribuirse al estiramiento asimétrico C-F, mientras que la banda a 1,154 cm^{-1} se puede atribuir al estiramiento simétrico C-F [29]. Estas dos bandas son anchas y parecen solapar otras bandas. Lo anterior sugiere que hay varias transiciones provenientes del enlace C-F incrustado en diferentes entornos estructurales [29]. En la región entre 1,100 y 500 cm^{-1} , aparece una banda muy aguda en aproximadamente 980 cm^{-1} . De acuerdo a las referencias [29] y [30], estas bandas surgen del estiramiento C-F de los grupos $-(CF-CF(R)-CF_3)-$. También se pudo observar una banda muy intensa en $\sim 1,060$ cm^{-1} . De acuerdo a reportes previos, esta banda se puede asignar a la absorción de estiramiento del grupo $-S-O$ [28]. La banda en 636 cm^{-1} se debe al estiramiento de los grupos C-S de acuerdo a las referencia [31]. Por lo tanto, el polímero Naf-TMS mantiene sus propiedades químicas después del proceso de disolución.

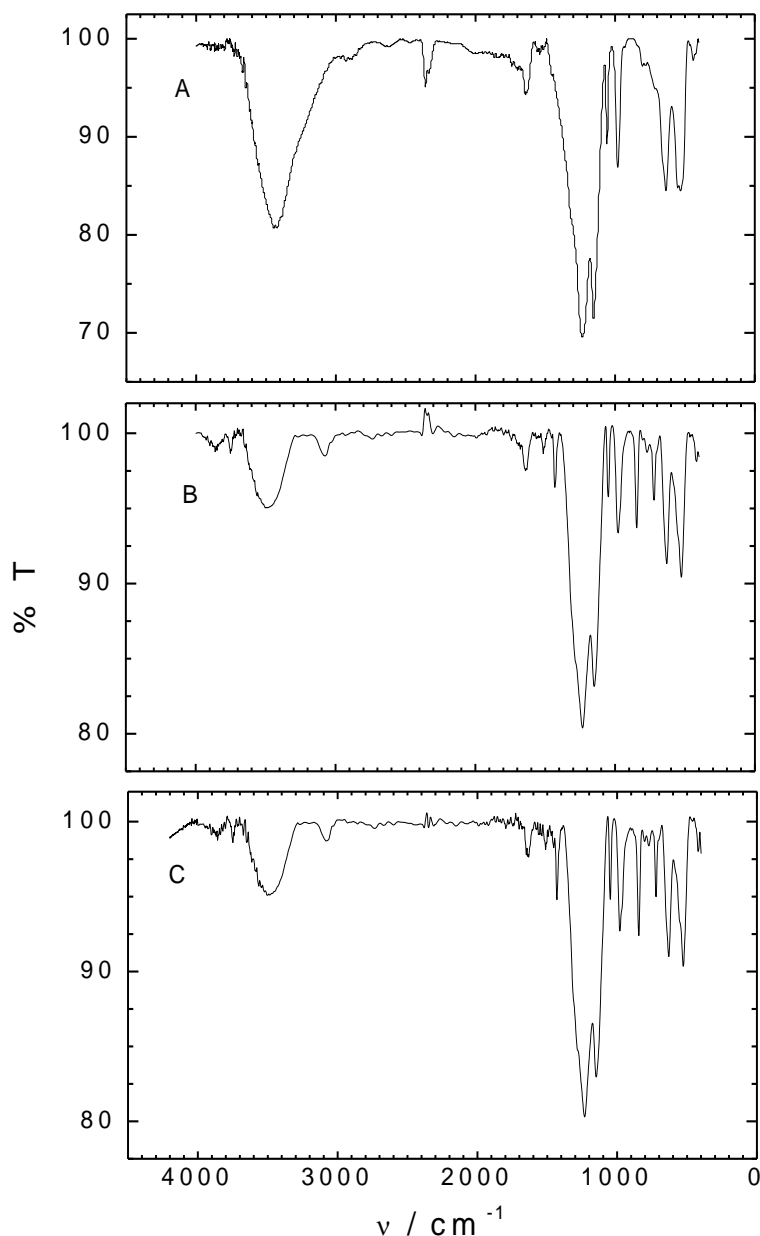


Figura 3.1 Espectro infrarrojo de: A) Naf-TMS, B) Naf-TMS/[Ru(phen)₃]²⁺ y C) Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺

En el espectro infrarrojo de Naf-TMS/Ru[(phen)₃]²⁺ seco, mostrado en la figura 3.1B, se pueden observar las bandas de absorción características para el modo de vibración de estiramiento de C-F. Se puede ver coincidencias en varias bandas con el espectro de Nafión-TMS (Fig. 3.1.A). En la región de las huellas dactilares (1,300 – 1,800 cm⁻¹), el espectro infrarrojo mostró una pequeña absorción en aproximadamente 1,430 cm⁻¹. Tal banda corresponde a las bandas de estiramiento de los grupos C=C y C=N del ligante fenantrolina [32]. Las bandas adicionales (~ 848 y 721 cm⁻¹) se deben

principalmente a vibraciones del ligante perturbadas ligeramente por el ambiente de coordinación.

El espectro infrarrojo de Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺ se muestra en la Figura 3.1.C y conserva las mismas características de Naf-TMS/Ru(phen)₃²⁺. En la región de las huellas dactilares el espectro infrarrojo mostró una señal en aproximadamente 1,430 cm⁻¹. Esta banda corresponde al estiramiento de los grupos C=N del ligante piridina.

3.2 Espectrofotometría UV-Visible de Naf-TMS/Ru-complejos

Una de las propiedades que presentan algunos de los electrocatalizadores de rutenio insertados en la matriz de Naf-TMS es la absorción de la luz, cómo es el caso del [Ru(phen)₃]²⁺ y [Ru(bpy)₃]²⁺.

Recordemos que el Ru es un metal de transición del grupo VIII B que puede formar un complejo hexacoordinado de geometría octaédrica (Oh). Esas seis posiciones pueden ser ocupadas por seis ligantes iguales o distintos, o bien por ligantes en los que alguno de ellos esté coordinado por más de una posición (ligante polidentado). Los grupos que coordinan bien al Ru son grupos electrodonantes como nitrilos, heterociclos como la piridina y las diiminas que tienen 2 grupos N donantes, tal es el caso de la fenantrolina y el bipyridil, presentes en los complejos de estudio [33].

El complejo [Ru(phen)₃]²⁺ emite color amarillo-naranja bajo luz visible, es de esperarse que este absorba luz en un intervalo de longitud de onda de 400-490 nm y el [Ru(bpy)₃]²⁺ se aprecia de color naranja intenso, por lo tanto se espera que absorba luz visible dentro del rango 430-490 nm por lo que un estudio por espectrofotometría UV-vis permite investigar la inserción de los catalizadores de rutenio a la red de Naf-TMS se puede estudiar a través de la evolución de las bandas de absorción óptica observadas en estos intervalos de longitud de onda.

El estudio se realizó con una membrana de Naf-TMS inmersa durante diferentes tiempos en una solución que contenía 0.1 mM de los complejos de rutenio. En la Figura 3.2 se muestra la incorporación del complejo de rutenio la cual se puede observar a través del incremento en la intensidad de la banda de absorción de los espectros UV-vis. En los gráficos de absorción obtenidos para Naf-TMS en presencia de 0.1 mM de [Ru(bpy)₃]²⁺ (Figura 3.2.A), se observa una banda ancha intensa en aproximadamente 450 nm, la cual incrementa en intensidad con el tiempo de inmersión en la solución. El valor máximo de absorbancia se alcanza a los 60 minutos. Para Naf-TMS inmerso en

0.1 mM $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ (Figura 3.2.B), la banda se observa en aproximadamente 443 nm lo cual indica un desplazamiento hipsocrómico en comparación con $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y el máximo en la intensidad de la banda de absorción no se alcanza en un tiempo de 60 minutos y su intensidad es más pequeña comparada con la registrada para $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Ambas bandas observadas se deben a la transición $d \rightarrow \pi^*$ de transferencia de carga metal-ligando (MLCT, por sus siglas en inglés), por el cual la carga electrónica se transfiere parcialmente del metal (Ru) al ligando (bipiridil ó fenantrolina). El nuevo estado excitado puede presentar diversas relajaciones. Cuando su energía es suficiente se puede poblar otro estado excitado en el cual la carga electrónica está principalmente centrada en el metal central Ru (MC o estado d-d) que al ser no enlazante respecto de los ligandos conduce a la disociación de estos [34].

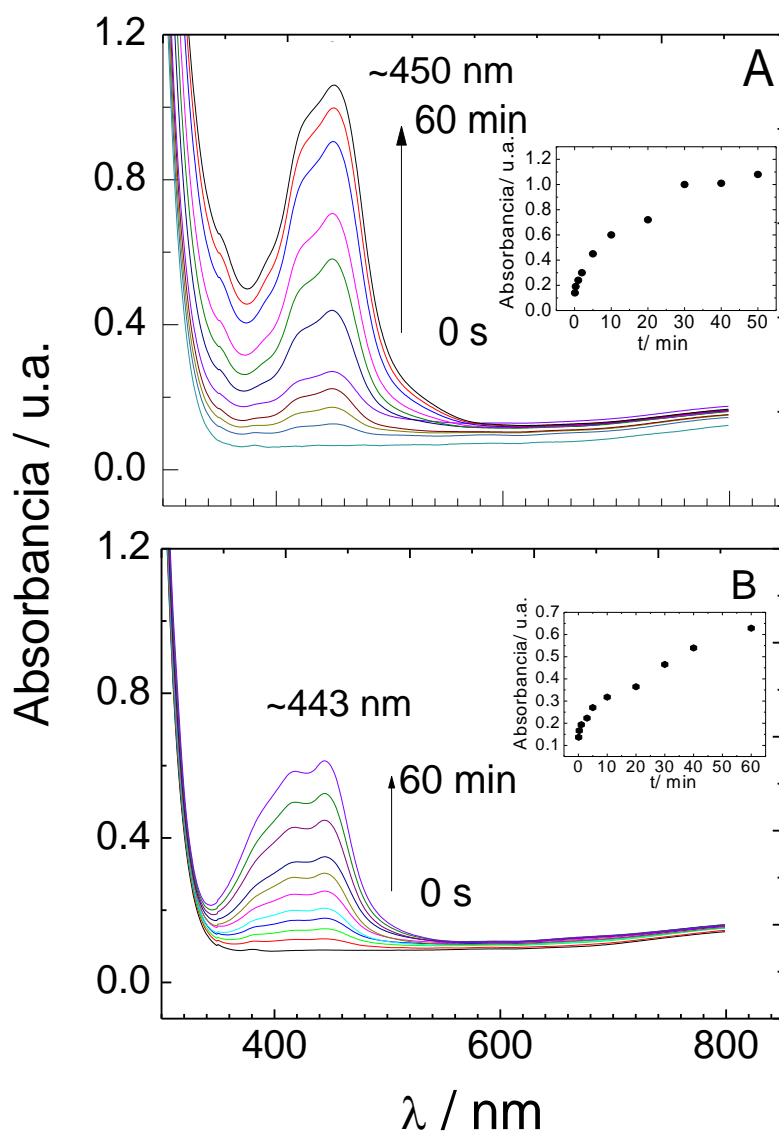


Figura 3.2. Espectros de Absorción UV-Vis registrados a diferentes tiempos de inmersión para Naf-TMS en 0.1 mM del complejo correspondiente; A) 0.1 mM $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, B) 0.1 mM

[Ru(phen)₃]²⁺. Recuadro: Dependencia de la intensidad de la banda de absorción como función del tiempo de inmersión en la solución correspondiente.

La incorporación de [Ru(bpy)₃]²⁺ (recuadro 3.2.A) es notablemente más rápida que la observada para [Ru(phen)₃]²⁺ (recuadro 3.2.B). El incremento observado de la absorbancia para ambos complejos, está relacionado directamente con la concentración dentro del polímero mediante la Ley de Beer-Lambert (Ecuación 3.1).

$$A = \epsilon lc \quad (3.1)$$

Estudios electroquímicos reportados [13], confirman que la incorporación de [Ru(phen)₃]²⁺ en Naf-TMS es más lenta en comparación con [Ru(bpy)₃]²⁺, en donde se encontró que esta especie electroactiva se incorporó en aproximadamente 2 minutos de inmersión aplicando un barrido de potencial lineal. Esto a su vez permite suponer que las interacciones de tipo hidrofóbico juegan un papel importante en la introducción de especies químicas al polímero Naf-TMS. A medida que el ligando del complejo se vuelven más hidrófobo, interactúa más fuertemente con Naf-TMS y por consiguiente se difunde más lentamente a través de la película. La incorporación más lenta del complejo [Ru(phen)₃]²⁺ en la película, en comparación con el [Ru(bpy)₃]²⁺, se correlaciona bien con su tamaño, forma [35, 36] y la hidrofobicidad [37].

3.3 Caracterización superficial empleando microscopia de fuerza atómica (AFM) de Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos

La microscopía de fuerza atómica (AFM) se ha convertido en una técnica estándar para la imagen con alta resolución de la topografía de las superficies. Esta técnica opera midiendo la fuerza entre la sonda (una punta metálica) y las muestras. Permite estudiar las características superficiales micro y nanoscópicas de los materiales. En la Figura 3.3 se muestra la topografía de una película de Naf-TMS en un área de 10 μm². Se puede observar que el polímero forma una conformación estriada de cadenas que siguen una alineación casi paralela entre ellas. Una imagen a mayor resolución muestra que las cadenas consisten de aglomerados formados de pequeños glóbulos (aprox. 100 nm) unidos entre sí. La formación de estas cadenas es consistente con estudios de NMR en donde se demuestra una estructura estriada tipo hélice similar al del polímero

politetrafluoroetileno (PTFE) [38] y que puede deberse a una separación entre la parte hidrofílica e hidrofóbica del polímero. Para demostrar esta hipótesis es necesario realizar experimentos en presencia de diversos solventes.

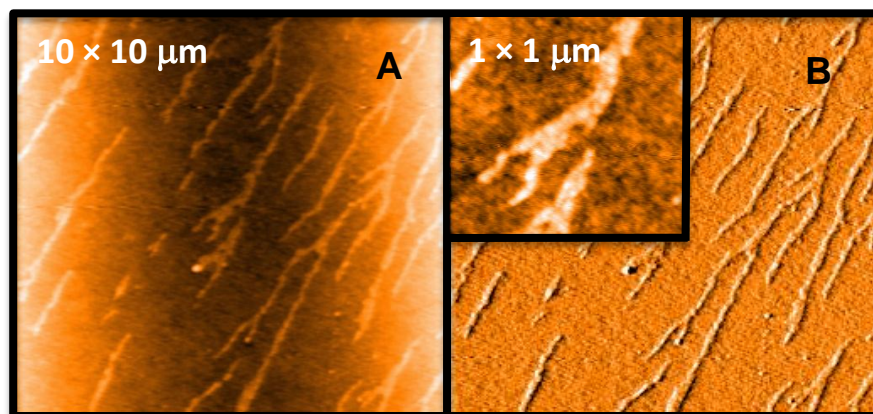


Fig. 3.3 Imágenes por AFM de una membrana formada con el polímero Naf-TMS registrada en un área cuadrada de $10 \mu\text{m}^2$. A) Representación en el eje Z y B) representación en el modo de deflexión.

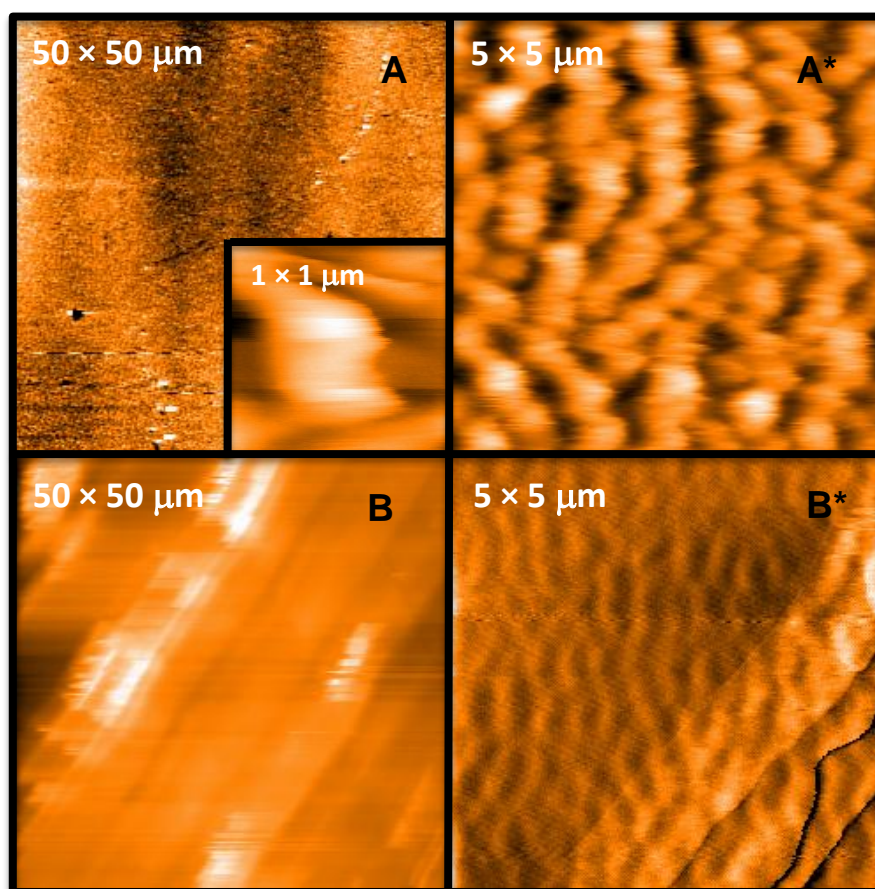


Fig. 3.4 Imágenes por AFM a diferentes magnificaciones con representación en el eje Z, de membranas A), A*) Naf-TMS/[Ru(bpy) $_3$] $^{2+}$ y B), B*) Naf-TMS/[Ru(phen) $_3$] $^{2+}$. El recuadro en la

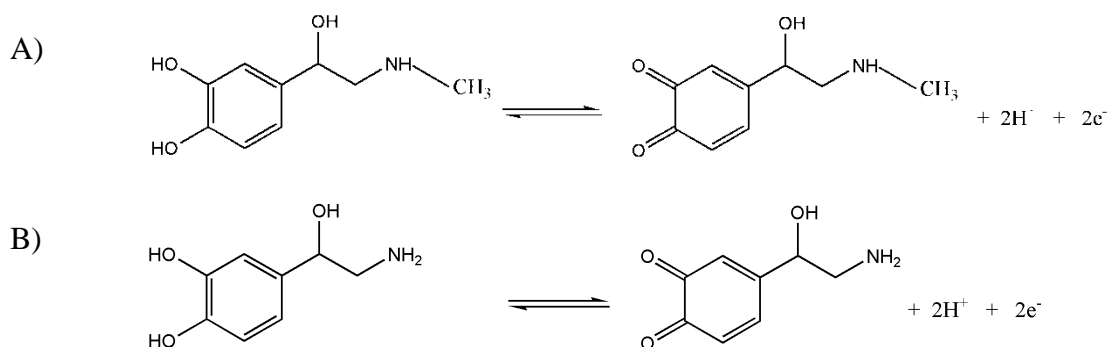
figura A) es una imagen de alta resolución donde se muestra el detalle de un aglomerado del complejo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ insertado en la membrana polimérica.

La figura 3.4 muestra como cambia la estructura del polímero Naf-TMS cuando se insertan los catalizadores de rutenio. Cuando el polímero se modifica con $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ se observa que la estructura estriada cambia a una estructura uniforme, la cual consiste de pequeños aglomerados distribuidos a lo largo de cadenas alineadas entre sí. Un estudio a alta resolución permite determinar el tamaño de los aglomerados el cual fue de aproximadamente 700 nm.

3.4 Estudios electroquímicos con electrodos GC modificados con Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos.

3.4.1 Detección electroquímica en medio ácido de los neurotransmisores adrenalina (AD) y dopamina (DA) en electrodos GC modificados con Naf-TMS a pH 1

Las propiedades analíticas de electrodos modificados con Naf-TMS, se evaluaron midiendo la corriente como una función de la concentración de los neurotransmisores adrenalina y dopamina empleados como sonda redox. La Figura 3.5.A muestra el primer barrido de una serie de voltamperogramas diferenciales de pulso registrados con un electrodo GC/Naf-TMS para un intervalo de concentraciones de neurotransmisor entre 20 nanomol/L y 20 micromol/L en 0.1 H_2SO_4 . Se puede observar una señal aguda a aproximadamente 550 ± 4 mV y 500 ± 3 mV para adrenalina y dopamina respectivamente, los cuales corresponden a la reacción de oxidación de los neurotransmisores. Ambas sustancias sufren una oxidación que involucra la transferencia de dos electrones y la participación de dos protones como se muestra en el esquema 3.1.



Esquema 3.1. Reacción de oxidación electroquímica de A) adrenalina [39] y B) dopamina.

En el recuadro de la Fig. 3.5.A, se muestra la respuesta lineal de la corriente de pico con la concentración de AD. La sensibilidad obtenida a partir de la pendiente fue $0.74 \pm 0.03 \mu\text{A}/\mu\text{M}$, y considerando una razón señal-ruido ($3 \times \text{ruido}/\text{sensibilidad}$), el límite de detección fue de $0.04 \pm 0.01 \mu\text{M}$, el cual es similar a electrodos modificados con Nafion después de la preconcentración de un analito [40].

También se examinó la respuesta analítica del electrodo GC/Naf-TMS en presencia de varias concentraciones de DA. La señal obtenida es aguda y presenta una dependencia lineal con la concentración del analito, como se puede observar en el recuadro de la figura 3.5.B. El electrodo GC/Naf-TMS fue ligeramente más sensible para censar dopamina que adrenalina según el valor calculado de sensibilidad que fue de $0.82 \pm 0.02 \mu\text{A}/\mu\text{M}$. El ruido obtenido en la detección electroquímica fue de aprox. $0.006 \mu\text{A}$ y por lo tanto el límite de detección fue de $0.02 \pm 0.005 \mu\text{M}$.

El mecanismo por el cual el Naf-TMS oxida fácilmente a los neurotransmisores, aún no está definido. Sin embargo, a diferencia del Nafion, el Naf-TMS no es una resina de intercambio catiónico, y por lo tanto no puede ser éste el mecanismo que facilite la reacción de oxidación de los analitos. Por otro lado, se ha demostrado previamente [41] que las interacciones de tipo hidrofóbico juegan un papel fundamental para facilitar la reacción de electro-oxidación. Las interacciones de éste tipo han sido muy bien documentadas [41] y se ha encontrado que la adsorción de catecolaminas está favorecida en las regiones hidrofóbicas de los polímeros incrementando la corriente de oxidación. Además sí consideramos que la introducción del grupo trimetilsilil incrementa la hidrofobicidad de la película, es de esperarse que un ambiente hidrofóbico facilite aún más la oxidación de la adrenalina y dopamina. Sin embargo, es importante señalar que no se puede descartar la posible existencia de interacciones de tipo electrostático, puesto que el grupo altamente ácido del grupo sulfónico del Naf-TMS podría alojar parte de las catecolaminas catiónicas a éste pH. Esta suposición la demostraremos más adelante con un estudio a diferentes valores de pH.

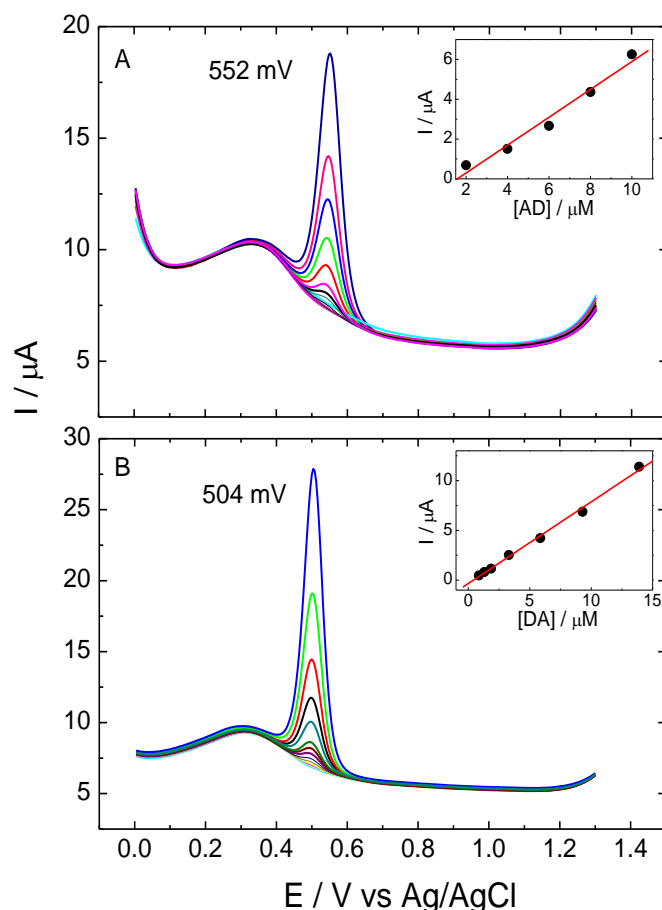


Fig. 3.5. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos para A) AD y B) DA en 0.1 M H₂SO₄ registrados en electrodos GC/Naf-TMS en un intervalo de concentraciones entre 0.02 y 20 μM. Recuadro: Curva de calibración mostrada en el intervalo de concentraciones de micromoles por litro. Velocidad de barrido: 20 mV s⁻¹, amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

TABLA 1. Parámetros electroquímicos obtenidos para AD y DA en un intervalo de concentraciones de 0.02 – 20 μM en 0.1 M H₂SO₄ a una velocidad de barrido: 20mV s⁻¹.

Electrodo	Analito	E / mV	I / μA	Sensibilidad μA / μM	L. D. / μM
GC/Naf-TMS	AD	552	10	0.6±0.4	0.03
	DA	504	20	0.8±0.02	0.02

La etapa determinante en la reacción de oxidación de los neurotransmisores se investigó a través de un estudio de Randles – Sevcik a diferentes velocidades de barrido, y realizado a una concentración determinada de adrenalina. Puesto que el comportamiento electroquímico para dopamina fue similar al obtenido para adrenalina, en la figura 3.6 se muestran solo los voltamperogramas cíclicos obtenidos para adrenalina en un

intervalo de velocidades de 10 – 500 mV s⁻¹. La intensidad de corriente registrada en el electrodo GC/Naf-TMS, mostró una respuesta cuasi-reversible con un ΔE de aproximadamente 312±10 mV, el cual en presencia de los catalizadores de Ru, disminuye por más de 100 mV en el caso del complejo [Ru(bpy)₃]²⁺, y en aprox. 100 mV para [Ru(phen)₃]²⁺ (Tabla 1). La disminución considerable del ΔE indica que el transporte electrónico se ve incrementado en presencia de los catalizadores. El proceso a través del cual sucede lo anterior, se supone que sucede a través de un incremento en el transporte de carga mediante un mecanismo de saltos entre los diferentes sitios redox dentro del polímero [42]. En los tres electrodos modificados con Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos, se encontró una muy buena dependencia lineal entre la intensidad de corriente y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, lo que hace suponer que el proceso imperante en la reacción de oxidación de los neurotransmisores es el proceso de difusión, el cual depende enormemente de las especies alojadas en la película polimérica y de sus propiedades de transporte de carga.

TABLA 2. Parámetros electroquímicos obtenidos para 200 μ M AD en 0.1 M H₂SO₄ a una velocidad de barrido de 100 mV s⁻¹ según la figura 3.6.

Electrodo	ΔE / mV	I_a/I_c	D / cm² s⁻¹
GC/Naf-TMS	312±10	1.6	1.3×10 ⁻³
GC/Naf-TMS/[Ru(bpy) ₃] ²⁺	178±5	1.4	7.3×10 ⁻⁴
GC/Naf-TMS/[Ru(phen) ₃] ²⁺	225±7	1.4	8.4×10 ⁻⁴

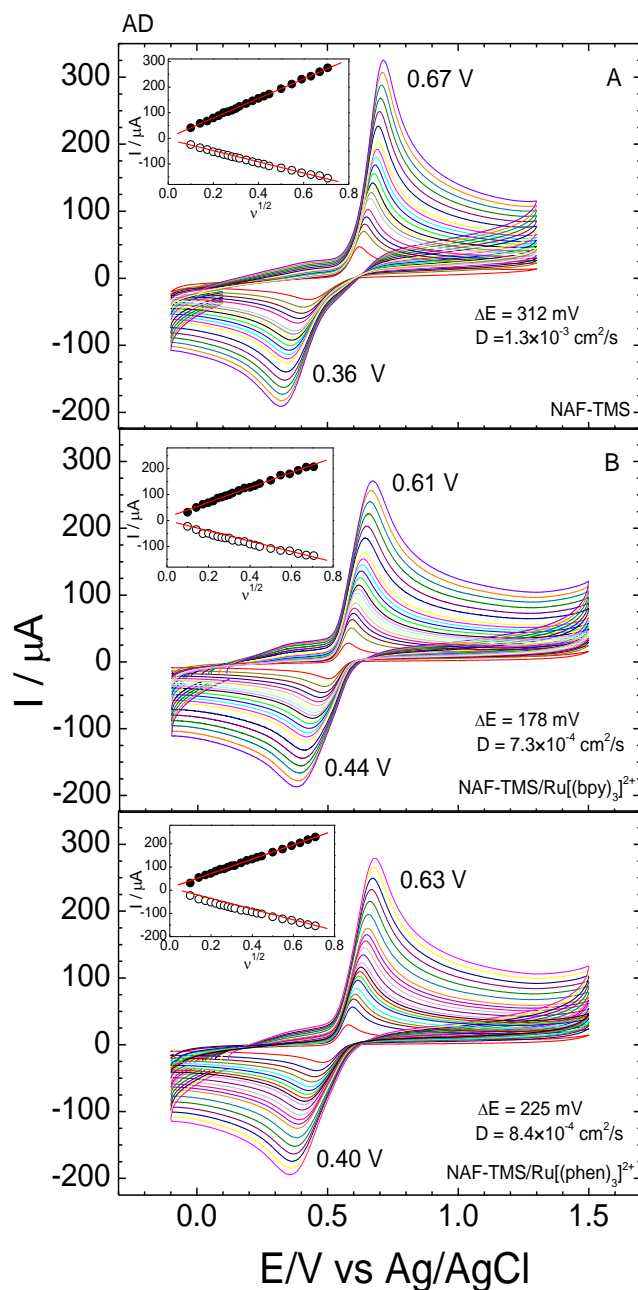


Fig. 3.6. Voltamperogramas cíclicos a diferentes velocidades de barrido (10 a 500 mV s^{-1}) registrados para 200 μM AD en 0.1 M H_2SO_4 empleando un electrodo A) GC/Naf-TMS, B) GC/Naf-TMS/[$\text{Ru}(\text{bpy})_3$] $^{2+}$, C) GC/Naf-TMS/[$\text{Ru}(\text{phen})_3$] $^{2+}$. Recuadro: Dependencia lineal de la corriente anódica y catódica con la velocidad de barrido.

3.4.2 Efecto de los catalizadores de rutenio en la reacción de oxidación de neurotransmisores en electrodos GC/Naf-TMS/Ru-complejo en medio ácido pH 1

El efecto de los catalizadores de rutenio insertados en el polímero Naf-TMS, se estudió a través de la respuesta en corriente para la oxidación de AD y DA como analitos redox a varias concentraciones en solución. La figura 3.7 muestra el primero de una serie de voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos con electrodos GC/Naf-

TMS/Ru[(bpy)₃]²⁺ y GC/Naf-TMS/Ru[(phen)₃]²⁺ en un intervalo de concentraciones entre 0.02 – 20 μM para AD y DA en 0.1 M H₂SO₄. La respuesta lineal de la corriente medida con respecto a la concentración de los analitos se muestra en el recuadro correspondiente. A partir de ésta dependencia lineal y considerando una razón señal-ruido (3×ruido/sensibilidad), se obtuvieron los parámetros analíticos como la sensibilidad del método y límites de detección, los cuales se pueden leer en la tabla 3.1, para los dos neurotransmisores en los electrodos modificados. La presencia del electrocatalizador disminuye el potencial requerido para inducir la reacción de oxidación de AD, mientras que para DA no se observó ningún efecto en el potencial. En cambio para la DA, la señal de corriente obtenida a una determinada concentración fue más aguda y de mayor intensidad a la obtenida para AD. La mejora observada en presencia del catalizador puede deberse a una mayor eficiencia en el transporte de carga a través de los centros redox de rutenio dentro del polímero Naf-TMS.

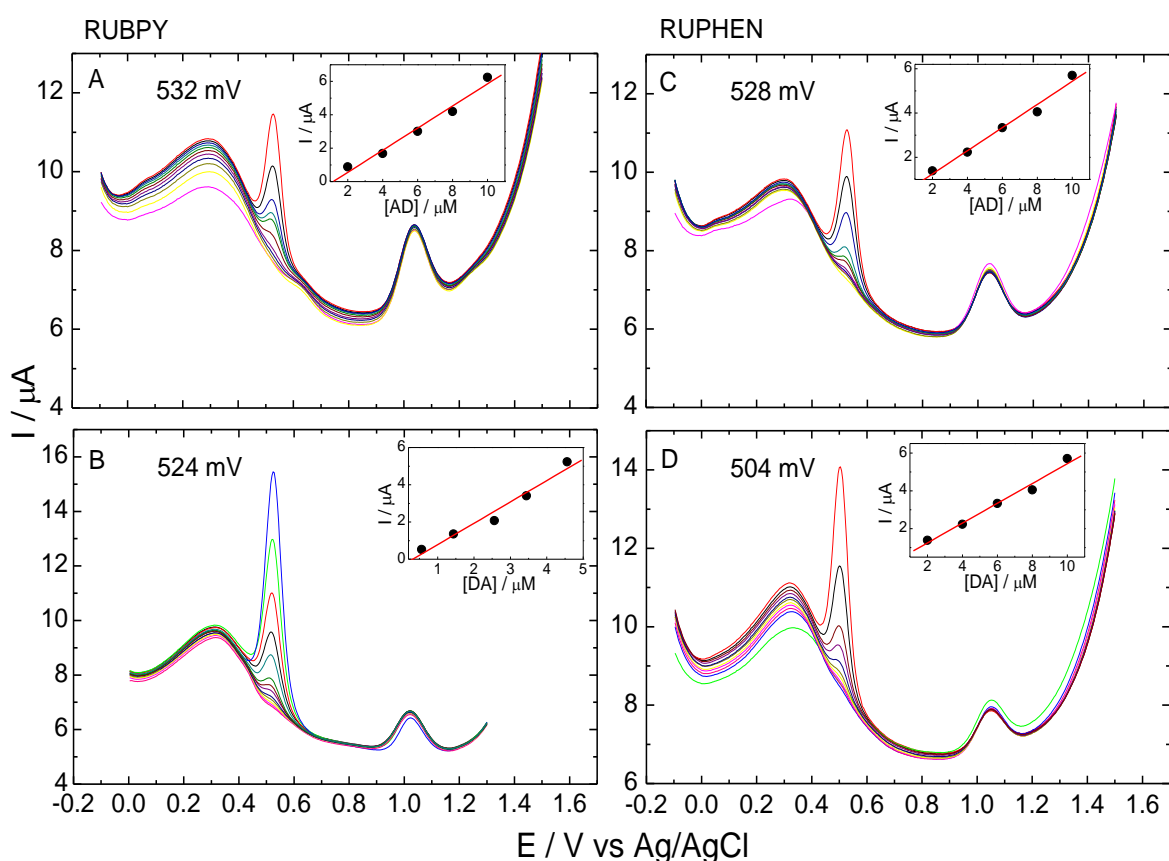


Fig. 3.7. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a diversas concentraciones (0.02 – 20 μM) de A) y C) adrenalina y B), D) dopamina en 0.1 M H₂SO₄ registrados con electrodos modificados GC/Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺ (paneles A y B, izquierda) y GC/Naf-TMS/[Ru(phen)₃]²⁺ (paneles C y D, derecha). Recuadro: Curva de calibración mostrada en el intervalo de concentraciones de micromoles por litro. Velocidad de barrido: 20 mV s⁻¹, amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

TABLA 3. Parámetros electroquímicos obtenidos para un intervalo de concentraciones de 0.02 – 20 μM de AD y DA en 0.1 M H_2SO_4 a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} .

Electrodo	Analito	E* / mV	I* / μA	Sensibilidad $\mu\text{A} / \mu\text{M}$	L. D. / μM
GC/Naf-TMS/[Ru(bpy) $_3$] $^{2+}$	AD	532	11.3	0.6 \pm 0.3	0.03
	DA	524	8.0	1.14 \pm 0.4	0.01
GC/Naf-TMS/[Ru(phen) $_3$] $^{2+}$	AD	528	7.9	0.52 \pm 0.2	0.04
	DA	504	17.7	0.52 \pm 0.2	0.04

* Valores determinados a una concentración de 20 μM del neurotransmisor.

3.4.3. Detección electroquímica de AD y DA en electrodos modificados GC/Naf-TMS y GC/Naf-TMS/Ru-complejo a pH 7.2

Las características electroquímicas de sondas redox del tipo catecolamina como la adrenalina y la dopamina son dependientes del pH. Este fenómeno surge de condiciones de tipo termodinámico y también refleja el tipo de interacciones involucradas en la oxidación de DA y AD. En esta sección se presentan los resultados obtenidos en el estudio de la reacción de electrooxidación de los neurotransmisores a pH 7.2.

En la figura 3.8 se muestra una serie de voltamperogramas diferenciales de pulso realizados a diversas concentraciones de AD empleando los diferentes electrodos modificados como se indica en la figura. Empleando el electrodo modificado con Naf-TMS (Fig. 3.8.A), se observan dos señales anchas pero bien definidas que se atribuyen a la oxidación de AD y al par redox AD-quinona [43]. En concordancia con la ecuación de Nernst, el potencial de oxidación para las catecolaminas se recorre hacia valores negativos a valores altos de pH. En la figura 3.8.A, se observa que el potencial de oxidación de AD registrado en GC/Naf-TMS fue de 218 mV, mientras que en 0.1 M H_2SO_4 fue de \sim 550 mV a una concentración de 20 μM , lo que indica que se requiere de menor energía para inducir la reacción de oxidación en medio neutro que a pH's ácidos. Por otro lado, la intensidad de la corriente registrada para AD a la misma concentración, es más baja que la registrada en medio ácido. En el recuadro correspondiente se muestra la dependencia de la intensidad de corriente obtenida con la concentración de AD, la cual es lineal en un intervalo de concentraciones del orden de micromolar.

En el caso de la DA en pH 7.2, se observan las mismas características registradas con la AD; el potencial de oxidación se recorre hacia valores más negativos y la intensidad de corriente registrada disminuye comparada con un medio ácido (Fig. 3.9.A). Lo anterior

permite suponer que se pueden realizar mediciones analíticas con los neurotransmisores a pH fisiológico empleando los electrodos modificados con Naf-TMS, ya que éstos se encuentran en un orden de concentración micromolar en los sistemas biológicos.

El efecto de los electrocatalizadores $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ en la reacción de oxidación de AD no es muy significativo (Tabla 4), lo que probablemente esté asociado con la oxidación de la AD-quinona la cual sufre una reacción de ciclización que a su vez experimenta una reducción para generar el leucoadrenalinocromo [43]. El potencial de oxidación de la AD es muy similar al obtenido en los electrodos modificados solo con Naf-TMS y la señal de corriente obtenida también es muy análoga (Fig. 3.8B y C, Tabla 4).

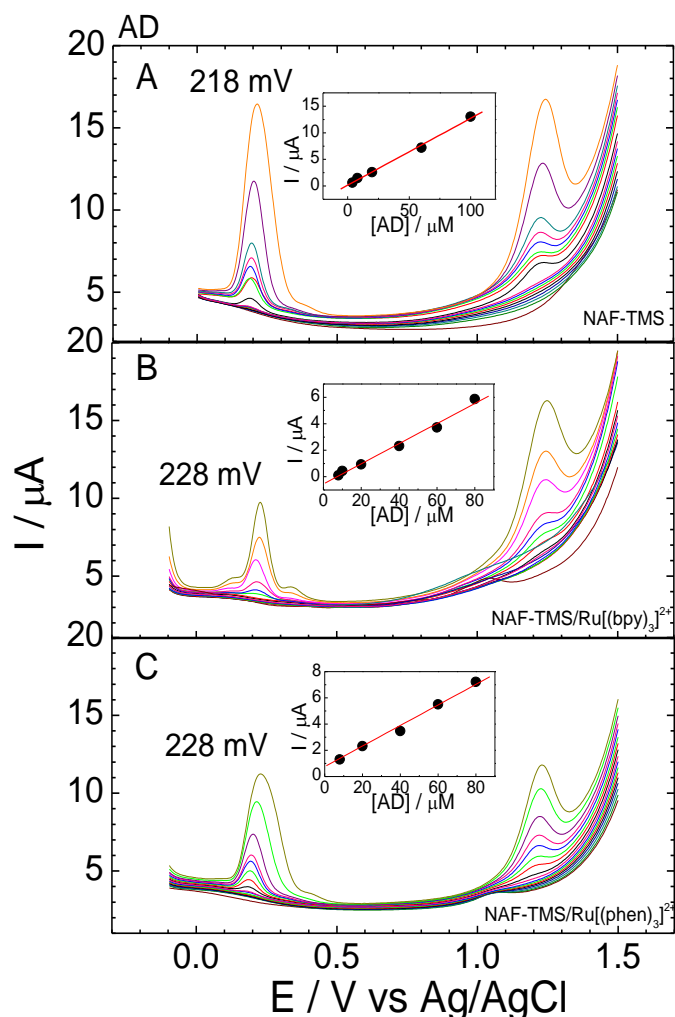


Fig. 3.8. Voltamperogramas diferenciales de pulso registrados sobre electrodos modificados A) GC/Naf-TMS, B) GC/Naf-TMS/ $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, C) GC/Naf-TMS/ $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ obtenidos a un intervalo de concentraciones de AD entre 0.02 y 80 μM en solución buffer de fosfatos (PBS) pH 7.2. Recuadro: Curva de calibración mostrada en el intervalo de concentraciones de micromoles por litro. Velocidad de barrido: 20 mV s^{-1} , amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

Para el caso de la DA, el efecto de los electrocatalizadores si es significativo. Las capacidades analíticas de los electrodos modificados con Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos, se calcularon midiendo la intensidad de corriente del pico como una función de la concentración del analito, que resultó ser mucho mayor para los electrodos modificados con los electrocatalizadores. Los voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a diversas concentraciones a pH 7.2 con electrodos GC/Naf-TMS, GC/Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺ y GC/Naf-TMS/[Ru(phen)₃]²⁺ se muestran en la figura 3.9.A-C, respectivamente. Los parámetros analíticos comparados para los tres electrodos se muestran en la tabla 4. Las curvas de calibración se presentan en los recuadros correspondientes y muestran una respuesta lineal de la corriente ($r=0.99\pm 0.012$) con la concentración de los neurotransmisores. Para los electrodos modificados con Ru, la corriente detectada fue aproximadamente 6 veces mayor que la registrada con GC/Naf-TMS. La sensibilidad obtenida para la curva de calibración obtenida con el electrodo GC/Naf-TMS/[Ru(phen)₃]²⁺ fue de $0.83\pm 0.02 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ y para el electrodo GC/Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺ fue de $0.78 \pm 0.02 \mu\text{A}/\mu\text{M}$. Los límites de detección obtenidos fueron 13 ± 2 y 15 ± 3 nM respectivamente. Claramente se obtiene una mejora en la sensibilidad y el límite de detección disminuye en un orden de magnitud. Estos valores son similares a los que se han reportado para otros electrodos modificados [13]. A través de la inserción de complejos de rutenio en la película de Naf-TMS, se puede incrementar la sensibilidad y el límite de detección para DA, la cual se puede atribuir a un incremento en la eficiencia de transporte de carga por “saltos”, debido a los centros catalíticos de Ru y permite detectar concentraciones muy bajas de DA en el orden de 14 ± 1 nM.

Como es sabido [44] a un pH entre 1 y 7, la AD y la DA se encuentran en forma catiónica. Puesto que [Ru(phen)₃]²⁺ y [Ru(bpy)₃]²⁺ también lo son, una interacción de tipo electrostático no explica la mejora en los parámetros analíticos obtenidos. En lugar de esto, suponemos que las interacciones de tipo hidrofóbico así como la mejora en el transporte electrónico a través de un mecanismo de saltos (“hopping”) [42a] entre los catalizadores de rutenio y el analito, son los responsables de mejorar las características analíticas. En [Ru(bpy)₃]²⁺ y [Ru(phen)₃]²⁺ la esfera de coordinación (que interactúa con las moléculas de solvente) es hidrofóbica, lo cual favorece este tipo de interacciones. Como ya se ha demostrado antes, las fuerzas hidrofóbicas son suficientemente fuertes como para compensar las repulsiones electrostáticas [28, 29].

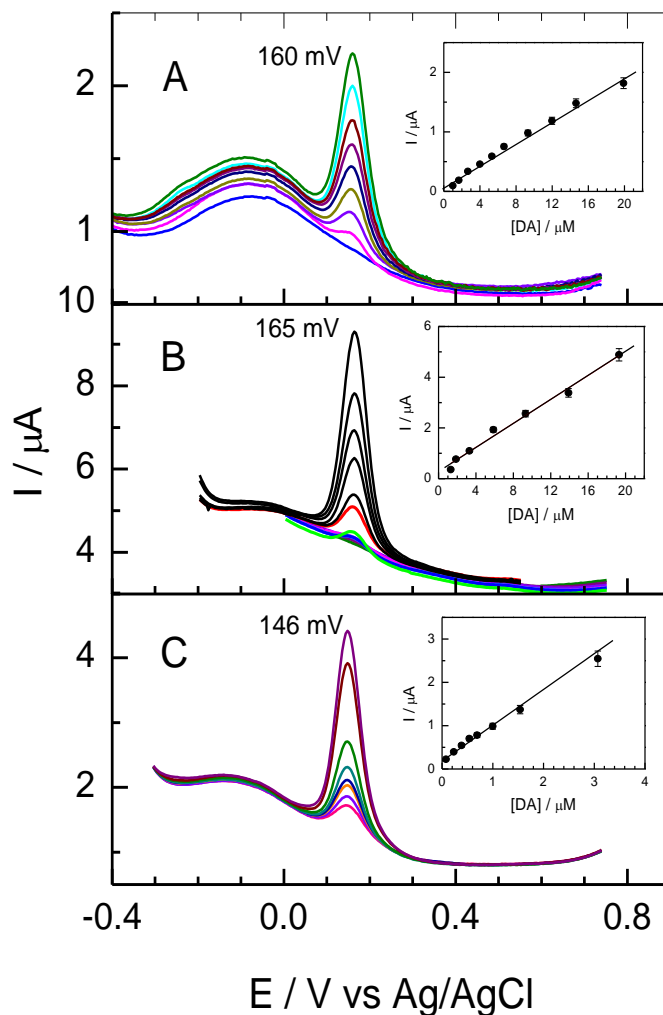


Fig. 3.9. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a diversas concentraciones de DA en PBS pH 7.2 registrados sobre electrodos de carbón vítreo modificados A) GC/Naf-TMS (1 – 20 μ M), B) GC/Naf-TMS/[Ru(bpy)₃]²⁺ (0.07 μ M – 20 μ M), C) GC/Naf-TMS/[Ru(phen)₃]²⁺ (0.07 μ M – 3 μ M). Recuadro: Curva de calibración mostrada en el intervalo de concentraciones de micromoles por litro. Velocidad de barrido: 20 mV s⁻¹, amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

TABLA 4. Parámetros electroquímicos obtenidos para un intervalo de concentraciones de 0.02 – 80 μ M AD y de 0.07 – 20 μ M de DA en PBS pH 7.2 a una velocidad de barrido: 20 mV s⁻¹.

Electrodo	Analito	E / mV	I / μ A	Sensibilidad μ A / μ M	L. D / μ M
GC/Naf-TMS	AD	218	1.6	0.12 \pm 0.4	0.16
	DA	160	2.1	0.1 \pm 0.01	0.1
GC/Naf-TMS/[Ru(bpy) ₃] ²⁺	AD	228	1.4	0.07 \pm 0.2	0.27
	DA	165	4.8	0.78 \pm 0.02	0.015
GC/Naf-TMS/[Ru(phen) ₃] ²⁺	AD	228	1.4	0.09 \pm 0.9	0.21
	DA	146	3.1	0.83 \pm 0.02	0.013

3.4.4. Dependencia del pH en el comportamiento analítico de adrenalina en electrodos modificados con Naf-TMS.

Las características electroquímicas de sondas redox del tipo catecolamina dependen del pH, de modo que para encontrar las condiciones analíticas óptimas para la detección electroquímica de los neurotransmisores a partir de su reacción de oxidación, se estudia el efecto del pH en la respuesta electroanalítica. En esta sección solo se discuten las características analíticas de la AD a diferentes pH's puesto que, a diferencia de la DA, la química redox es más complicada y la de DA ya se ha reportado previamente [13].

En la figura 3.10 se muestra el estudio por voltamperometría diferencial de pulsos a diferentes pH's (3 - 11) en presencia de 20 μ M AD empleando electrodos GC/Naf-TMS. Como se puede observar, a partir de pH 3 en solución buffer de fosfatos, se encontraron dos picos de oxidación, uno en 0.2 V y otro en 1.230 V los cuales a un pH de 11 desaparecen completamente. El primero se recorre hacia valores más negativos de potencial con la disminución del pH presentando una dependencia lineal del potencial de pico con respecto al pH y mostrando una pendiente de -62 ± 2 mV por unidad de pH como se muestra en el recuadro de la figura 3.11.A. Lo que implica que la transferencia de electrones es de tipo Nernstiano y está acompañada e influenciada por la transferencia de protones en el mecanismo de oxidación. Este fenómeno surge de condiciones puramente termodinámicas y también refleja el tipo de interacciones involucradas en la oxidación de AD. El pico en 1.230 V, se hace visible a partir de una concentración de 4 μ mol/L AD y casi no varía en su posición, por lo que se puede decir que la oxidación de esta especie no depende del pH. Este fenómeno se observó en un intervalo de pH 3 a 9 siendo más importante a un pH de 7 correspondiendo muy bien con los datos reportados en la literatura cuando la forma no protonada de la adrenalinaquinona se presenta (usualmente arriba de un pH 3) y permite la reacción de ciclización para formar el adrenocromo [43]. Se encontró que a valores extremos de pH (muy ácidos (Fig. 3.5.A) o muy básicos (Fig. 3.10)) el pico a potenciales de 1.230 V, desaparece completamente.

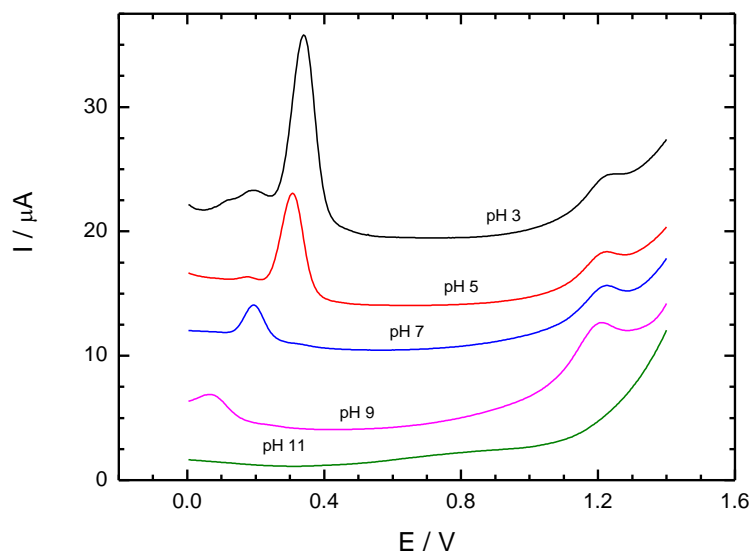


Figura 3.10. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a una concentración de 20 μM AD y registrados a varios valores de pH (3-11) usando electrodos de carbón vítreo modificados con Naf-TMS. Velocidad de barrido: 20 mV s^{-1} , amplitud de pulso: 50 mV, duración del pulso: 200 ms.

3.4.5. Comportamiento analítico de AD y DA a diferentes valores de pH en electrodos modificados GC/Naf-TMS y GC/Naf-TMS/Ru-complejo

Es bien sabido que la determinación de compuestos electroactivos en electrodos no modificados algunas veces es difícil debido a la ausencia de efecto electrocatalítico y del modificador apropiado. Además la elección del electrolito de soporte es muy importante en estudios electroanalíticos porque su composición y pH influyen las propiedades de la solución a analizar, así como de la interface electrodo/solución, modificando la termodinámica y la cinética del proceso de transferencia de carga. En esta sección, se evalúan los factores analíticos como el pH y el efecto de los catalizadores a diversos pH, los cuales influyen la respuesta en corriente obtenida para AD y DA. De este modo se pretende conocer las condiciones que permitan obtener el mejor comportamiento analítico ya que éste depende grandemente del pH para moléculas del tipo catecolamina. Los electrodos modificados con Naf-TMS mostraron una buena sensibilidad y límite de detección pequeño para los neurotransmisores en medio ácido. Sin embargo, a pH's fisiológicos la respuesta para la reacción de oxidación de AD muestra dos señales (Fig. 3.10), lo que afecta su detección electroquímica.

En las figuras 3.11 se muestra una serie de voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a diversas concentraciones de AD (Fig. 3.11.A) y DA (Fig. 3.11.B)

registrados con electrodos modificados con Naf-TMS. En ambos casos se observó un desplazamiento del potencial de pico anódico hacia valores menos positivos cuando el pH se incrementa. Este desplazamiento está regido por la ecuación de Nernst y es de tipo termodinámico. La intensidad de corriente de la señal disminuye a valores más altos de pH. Considerando que a pH's ácidos no se observó el pico de la especie a 1.1 V y además la señal obtenida es más grande. Podemos concluir que las mejores condiciones de análisis en muestras estándar es a pHs ácidos.

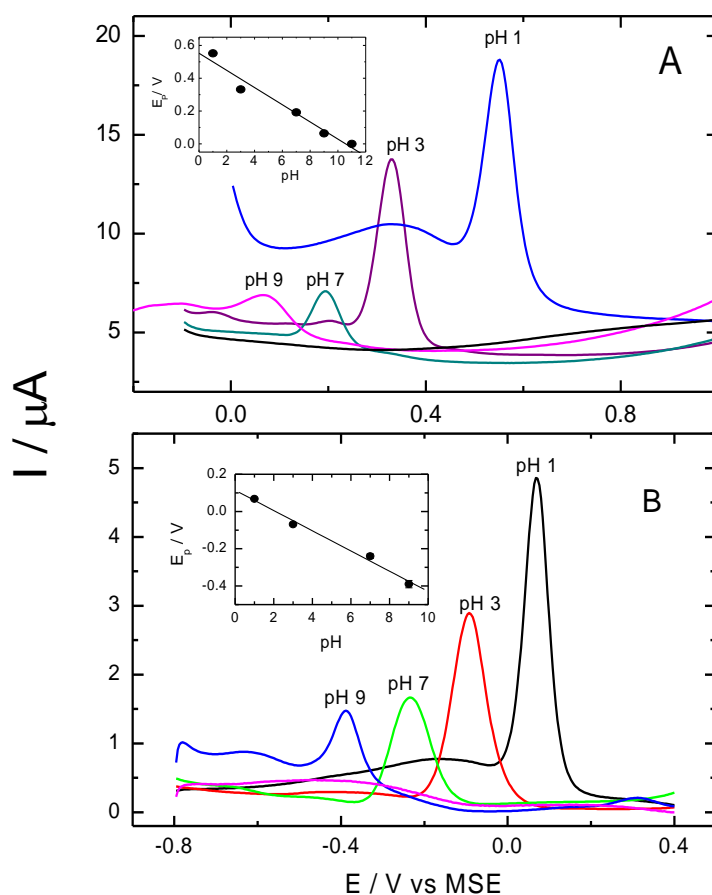


Figura 3.11. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a una concentración de $20 \mu M$ A) AD y B) DA registrados a varios valores de pH (1-11) usando electrodos de carbón vítreo modificados con Naf-TMS. Velocidad de barrido: 20 mV s^{-1} , amplitud de pulso: 50 mV , duración del pulso: 200 ms . Electrodo de referencia: A) $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{sat})}$, B) $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4(\text{sat})$

El efecto de los electrocatalizadores para la reacción de oxidación de AD y DA se estudió a diferentes valores de pH. La figura 3.12.A muestra los voltamperogramas diferenciales de pulso registrados a $20 \mu M$ AD y DA a varios valores de pH usando electrodos modificados con los complejos de rutenio $\text{Ru}[(\text{bpy})_3]^{2+}$ y $\text{Ru}[(\text{phen})_3]^{2+}$, (Fig 3.12.A y 3.12.B respectivamente). Como se puede observar, al igual que los electrodos modificados con solo Naf-TMS, el potencial de pico de la oxidación de los

neurotransmisores presenta una dependencia con el pH. Conforme el pH se incrementa, se observa un desplazamiento del potencial hacia valores más negativos siguiendo una dependencia lineal del potencial de pico con respecto al pH (recuadros mostrados en la figura A y B) con una pendiente de -61mV/pH . De la ecuación de Nernst uno debería esperar una pendiente de -59 mV/pH en un gráfico E vs pH . Este resultado proporciona una idea de que las interacciones electrostáticas también están implicadas en la reacción de oxidación de los neurotransmisores. Por ahora se está investigando el papel de sustancias interferentes, así como los mecanismos de transporte de carga más eficientes en los sistemas poliméricos modificados con electrocatalizadores.

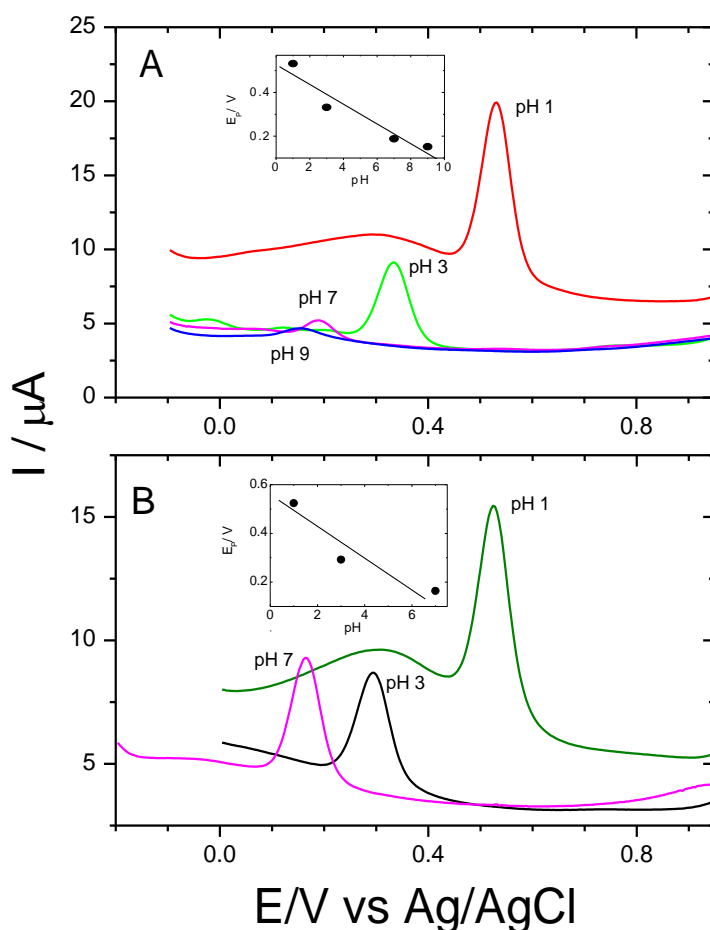


Figura 3.12. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos a una concentración de $20\ \mu\text{M}$ A) AD y B) DA registrados a varios valores de pH (1-11) usando electrodos de carbón vítreo modificados con $\text{Naf-TMS/Ru}[(\text{bpy})_3]^{2+}$. Velocidad de barrido: $20\ \text{mV s}^{-1}$, amplitud de pulso: $50\ \text{mV}$, duración del pulso: $200\ \text{ms}$.

Conclusiones

1. Los estudios de las propiedades analíticas de electrodos de carbón modificados con Naf-TMS y Naf-TMS/Ru-complejos mostraron que el proceso de transferencia de carga puede involucrar interacciones hidrofóbicas y electrostáticas las cuales permiten modular las propiedades de las membranas para posibles aplicaciones analíticas.
2. La modificación de Naf-TMS con complejos de rutenio, incrementan la velocidad del proceso de transferencia de carga y disminuyen la barrera de energía para detectar neurotransmisores (AD, DA).
3. Los resultados encontrados pueden contribuir a un mayor uso del Naf-TMS como modificador de electrodos en aplicaciones electroquímicas y amplía el conocimiento acerca de interacciones no-covalentes de especies orgánicas e híbridas dentro de películas poliméricas.
4. El efecto de los catalizadores $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{+2}$ y $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{+2}$ inmovilizados en Naf-TMS, es más significativo para la reacción de oxidación de DA que para la reacción de AD.
5. La determinación cuantitativa y cualitativa de los neurotransmisores depende fuertemente del pH. Esto permite modular las condiciones experimentales de modo que se puedan obtener las mejores propiedades analíticas de los sistemas.
6. Como trabajo a futuro se pretende estudiar a fondo el fenómeno de transporte electrónico mejorado en estos sistemas que al parecer es a través de “saltos” de carga.

Bibliografía

- [1] R.W. Murray R. W., *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 13 (Ed: A.J. Bard), Marcel Dekker, New York 1984, p. 191.
- [2] C.A. Allred and R. L. McCreery. *Anal. Chemistry* 64 (1992) 448, R. L. McCreery. *Carbón electrodes: structural effects on electron transfer kinetics in Electroanalytical Chemistry*, A. J. Bard Ed. Dekker New York 1991, vol 17 pp 221-374.
- [3] J. Wang. *Analytical Electrochemistry*. Wiley-VCH, Hoboken, New Jersey (2006).
- [4] (a) H. S. Sodaye, P. K. Pujari, A. Goswami, S. B. Manohar, J. Radioanal. Nucl. Chem. 214 (1996) 399, (b) C. Heitner-Wirguin, J. Membr. Sci. 120 (1996) 1, (c) J. K. Hurst, R. F. Khairutdinov, *In Electron Transfer in Chemistry*; Wiley-VCH: New York, 2001; Vol. 4, p 578.
- [5] In Perfluorinated ionomer membranes; A. Eisenberg, H. L. Yeager Eds. ACS Symposium series No. 180, American Chemical Society, Washington, (1982).
- [6] C. R. Martin and H. Freiser, *Anal. Chem.* 53, 902–904 (1981).
- [7] H. L. Yeager and A. Steck, *J. Electrochem Soc.* 128, 1880-1884 (1981).
- [8] Richard S. Yeo and Howard L. Yeager, *In Modern Aspects of Electrochemistry*, B. E. Conway, R. E. White, J. O'M Bockris Eds.; Plenum Press, New York, 1985.
- [9] V. Semmer, P. Batamack, C. Dorémieux-Morin and J. Fraissard, *Topics Catal.* 6, 119-125 (1998).
- [10] Sukanta Bhattacharyya, *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 3 (2000) 65-92, M. Ali Zolfigol, Iraj Mohammadpoor-Baltork, Davood Habibi, Bibi F. Mirjalili and A. Bamoniri, *Tetrahed. Lett.* 44, 8165-8167 (2003).
- [11] Q. Deng, R. B. Moore, K. A. Mauritz, *J. Appl. Polym. Sci.* 68 (1998) 747-763, K. A. Mauritz, J. T. Payne, *J. Membr. Sci.* 168, 39-51 (2000), R. A. Zoopi, I. V. P. Yoshida and S. P. Nunes, *Polymer*, 39, 1309-1315 (1997).
- [12] S. Murata and R. Noyori, *Tetrahed. Lett.* 21, 767-768 (1980).
- [13] R. Aguilar-Sánchez, R. J. Díaz-Caballeros, J. A. Méndez-Bermúdez, J. L. Gárate-Morales, G. Domínguez-Meneses. *J. Solid State Electrochem.* 16, 2867–2876 (2012).
- [14] I. Rubinstein, C. R. Martin, A. J. Bard. *Anal. Chem.* 55, 1580-1582 (1983).
- [15] S. Wang, J. Milam, A. C. Ohlin, V. H. Rambaran, E. Clark, W. Ward, L. Seymour, W. H. Casey, A. A. Holder, W. Miao. *Anal. Chem.* 81, 4068-4075 (2009).
- [16] J. M. Zen, A. S. Kumar, C. R. Chung. *Anal. Chem.* 75, 2703-2709 (2003).
- [17] Z. Feng, J. Zhou, Y. Xi, B. Lan, H. Guo, H. Chen, Q. Zhang, Z. Lin. *J. Power Sources*. 194, 1142-11499 (2009).
- [18] S. Sheikh, H. Safia, M. Ejazul, S. Snober. *J. Neurodegenerative Diseases*. 2013, ID: 563481, R. E. Özel, A. Hayat, and S. Andreescu. *Anal Lett.* 48, 1044–1069 (2015).
- [19] Sanchez, H. P., Paton, I. & Hernandez, F. *Talanta* 46, 985–99 (1998).

- [20] P. Rosy, S.K. Yadav, B. Agrawal, M. Oyama, R. N. Goyal. *Electrochimica Acta* 125, 622–629 (2014).
- [21] L. Hoellein, U. Holzgrabe, *Int. J. Pharm.* 434, 468–480 (2012).
- [22] Rosy, P., Yadav, S. K., Agrawal, B., Oyama, M. & Goyal, R. N. *Electrochimica Acta* 125, 622–629 (2014).
- [23] Razavia, A. S. et al. *Microchim Acta* 604, 1284–1288 (2014).
- [24] U. Yogeswaran, S. Thiagarajan, S.M. Chen, *Anal. Biochem.* 365 (2007) 122], [J. Li, X.Q. Lin, *Anal. Chim. Acta* 596, 222 (2007).
- [25] W. Ren, H.Q. Luo, N.B. Li, *Biosens. Bioelectron.* 21, 1086 (2006).
- [26] L. Wang, J. Bai, P. Huang, H. Wang, L. Zhang, Y. Zhao, *Electrochem Commun.* 8, 1035-1040 (2006).
- [27] Z. Guo, S. Dong, *Electroanalysis* 17, 607 (2005).
- [28] S. R. Lowry, K. A. Mauritz. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 4665–67 (1980).
- [29] M. Laporta, M. Pegoraro, L. Zanderighi. *Phys. Chem.* 1, 4619-28 (1999).
- [30] J. Ostrowska, A. Narebska, *Colloid & Polymer Sci.* 261, 93-98 (1983).
- [31] C. Heitner-Wirguin. *Polymer.* 20, 371–74 (1979).
- [32] K. M. Omberg, J. R. Schoonover, S. Bernhard, J. A. Moss, J. A. Treadway, E. M. Kober, R. B. Dyer, T. J. Meyer. *Inorg. Chem.* 37, 3505-08 (1998).
- [33] F. A. Cotton, R. N. Grimes, G. Wilkinson, M. Bochman, C. Murillo. *Advanced Inorganic Chemistry*. Wiley, John & Sons, Incorporated, (1999).
- [34] D. V. Pinnick, B. Durham. *Inorg.Chem.* 23, 1440 (1984).
- [35] J. K. Barton, J. M. Goldberg, C. V. Kumar, N. J. Turro. *J. Am. Chem. Soc.* 108, 2081–2088 (1986).
- [36] E. H. Yonemoto, G. B. Saupe, R. H. Schmech, S. M. Hubig, R. L. Riley, B. L. Iverson, T. E. Mallouk. *J Am Chem Soc.* 116, 4786–4795 (1994).
- [37] Y. Jenkins, A. E. Friedman, N. J. Turro, J. K. Barton. *Biochem.* 31, 10809–10816] (1992).
- [38] M. Kimmig, G. Strobol, B. Stuhn. *Macromolec.* 27 (1994) 2481-2495.
- [39] L. G. Pelichy, E.T. Smith, *Chem Educ* 2, 1-13 (1997).
- [40] G. Nagy, GAG Oke, M. E. Rice, R. N. Adams, R. B. Moore, M. N. Szentirmay, C. R. Martin. *J Electroanal. Chem.* 188, 85–94(1985).
- [41] S.S. Kumar, J. Mathiyarasu, K.L. Phani. *J Electroanal Chem* 578, 95–103 (2005).
- [42] ^aH. Shiroishi, K. Ishikawa, K. Hirano and M. Kaneko, *Polym. Adv. Technol.* 12 (2001) 237-243. ^bM. Kaneko *Prog. Polym. Sci* 26, 1101-1137 (2001).
- [43] M. E. Ghica and C.M. A. Brett, *Analytical Letters*, 46, 1379–1393 (2013).
- [44] A. N. Khramov, M. M. Collinson. *Anal. Chem.* 72, 2943-2948 (2002).

Presentación del trabajo en congresos:

1. Congreso Nacional de Química Analítica, Villahermosa, Tabasco 2016.
2. Congreso Nacional de Química Analítica, León, Guanajuato 2017.

Premios obtenidos:

1. Primer lugar en el Concurso de Carteles Estudiantiles del XXIX Congreso Nacional de Química Analítica, 28 Junio – 1 Julio 2016, Villahermosa, Tabasco, México.