

Universidad de Huelva

Departamento de Ingeniería Química, Química Física y
Ciencias de los Materiales



Detectores espectroelectroquímicos en flujo : aplicaciones analíticas al estudio de medios contaminados

Memoria para optar al grado de doctora
presentada por:

Lara León Gómez

Fecha de lectura: 27 de julio de 2015

Bajo la dirección del doctor:

Juan Daniel Mozo Llamazares

Huelva, 2015





**Universidad
de Huelva**



UNIVERSIDAD DE HUELVA

FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

Dpto. de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica

Detectores espectroelectroquímicos en flujo:

Aplicaciones analíticas al estudio de medios contaminados.

Lara León Gómez

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por la Universidad de Huelva

DIRECTOR:

Juan Daniel Mozo Llamazares

JUAN DANIEL MOZO LLAMAZARES

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Detectores espectroelectroquímicos en flujo: Aplicaciones analíticas al estudio de medios contaminados.**”, presentada por D^a Lara León Gómez para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Huelva se ha realizado bajo su dirección en el Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica de la Universidad de Huelva.

Fdo: **Juan Daniel Mozo Llamazares.**

Profesor Titular del Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica.

JOSÉ MARÍA FRANCO GÓMEZ, Catedrático de Universidad y Director del Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica de la Universidad de Huelva,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Detectores espectroelectroquímicos en flujo: Aplicaciones analíticas al estudio de medios contaminados.**”, presentada por D^a Lara León Gómez para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Huelva, se ha realizado en el laboratorio del Grupo de Investigación de Electroquímica Aplicada, situado en el Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica de dicha universidad, bajo la dirección del profesor D. Juan Daniel Mozo Llamazares.

Huelva, 4 de Mayo de 2015

Fdo: José María Franco Gómez.

*A mis abuelas, Conchita y Dolor, que desaparecieron de
mi vida pero siempre vivirán en mi corazón.*

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han participado, de una u otra manera, en el desarrollo de esta tesis. Por esta razón, quisiera, antes que nada, pedir disculpas si algunas de ellas no se encuentran aquí mencionadas, ya que me es imposible incluirlas a todas en este pequeño espacio.

En primer lugar me gustaría transmitir mi gratitud a mi director de tesis, Juan Daniel Mozo, por guiar mis primeros pasos en el mundo de la investigación con gran dedicación y paciencia. También, agradecer a los profesores Joaquín Maraver, Manuel López y Pepe Carbajo el cariño y la formación recibida en todo el tiempo que llevo formando parte del grupo de investigación de Electroquímica Aplicada. No puedo olvidar tampoco dar las gracias a mis compañeros de laboratorio Javier Martín y Cristina Mozo, que han participado en el desarrollo experimental de este trabajo.

En un plano más personal, me gustaría dar las gracias a mi novio, Antonio, por compartir conmigo esta etapa tan importante en mi vida y por tener siempre una palabra amable y un gesto de cariño en los momentos más complicados.

Por último, el agradecimiento más grande, sincero e importante es para mis padres y mi hermano, que siempre han creído en mí y me han enseñado que podía conseguir todo lo que me propusiera en la vida. Gracias también mi abuelo y a toda mi familia porque sin vuestro apoyo incondicional nada de esto hubiera sido posible.

RESUMEN

La sociedad actual demanda continuamente el desarrollo de nuevos métodos de análisis, cada vez más precisos, sensibles y fiables en un intento por controlar la calidad de los alimentos, los fármacos, el agua y el aire, los procesos productivos y el control de los vertidos que la vida civilizada genera. Además, se requiere que estos métodos sean fáciles de implantar, que baste con pulsar un botón para obtener el resultado, de manera que un técnico con formación básica sea capaz de procesar las muestras necesarias.

Un factor que ha permitido avanzar en esta dirección ha sido la automatización de las medidas gracias al uso de ordenadores y microprocesadores, que evitan al investigador la mayor parte de las tareas tediosas de cálculo y atención al experimento, entre otras, y lo deja libre para el trabajo, más creativo, que requiere inapelablemente su presencia.

Un conjunto de técnicas analíticas que permiten su automatización con gran facilidad son las técnicas en flujo, entre las que destacan los métodos cromatográficos y las técnicas de inyección en flujo (FIA). Ambas precisan de dispositivos sensores que detectan la presencia de las especies químicas de interés gracias a la medida de alguna propiedad característica de las mismas mientras que éstas circulan por el sistema. Además la propiedad medida debe ser proporcional a su concentración para permitir su cuantificación.

La espectroelectroquímica es una técnica híbrida que combina la electroquímica y la espectroscopía para obtener información química. Una característica esencial de esta técnica es que las dos medidas se obtienen de forma simultánea y no secuencialmente, como ocurre con otras técnicas híbridas. De esta forma, se pueden estudiar fácilmente los procesos no estacionarios que ocurren cerca del electrodo. También se obtienen ventajas analíticas ya que, al medir a la vez dos propiedades, es más difícil que se produzcan interferencias.

A pesar del uso extendido de la espectroelectroquímica en un gran número de laboratorios, aún no existe mucha instrumentación comercial, y la combinación de

aparatos electroquímicos y espectroscópicos se hace de diferente forma en cada laboratorio. La celda espectroelectroquímica es la interfase entre ambas técnicas y, a pesar de que se ha descrito como construirlas, hasta el momento no hay un modelo estándar que sea utilizado por la mayor parte de la comunidad científica.

En esta tesis se describe el diseño y la fabricación de una celda espectroelectroquímica de flujo muy simple, de fácil construcción y de gran versatilidad configuracional. Se ha comprobado la posibilidad de emplear la misma como detector espectroelectroquímico determinando el ferricianuro potásico generado tras la inyección de muestras de ferrocianuro potásico en un sistema de flujo. Además, se ha demostrado que este tipo de sensores proporcionan mayores niveles de sensibilidad que cuando se emplea una secuencia de dos detectores.

Para demostrar la aplicabilidad este sensor en estudios relacionados con el medio ambiente se han desarrollado dos métodos de análisis, uno para especiación de cobre inorgánico soluble en muestras de agua y otro para la determinación del herbicida imazapir en disoluciones acuosas.

El método propuesto para la especiación de Cu(I) y Cu(II) demuestra que el uso de un detector mixto permite cuantificar de forma independiente los dos estados de oxidación del cobre a través de dos técnicas diferentes: la determinación espectrofotométrica de Cu(II) con cuprizona y la detección amperométrica de Cu(I).

Para la determinación de imazapir se ha propuesto un método espectroelectroquímico de flujo por espectrofotometría en la zona UV. La sensibilidad de este método se mejora considerablemente gracias a la polarización del electrodo presente en la celda de flujo construida, permitiendo alcanzar niveles de detección adecuados para los niveles de tolerancia máxima establecidos por la EPA, evitando etapas previas de extracción y/o preconcentración.

Today's society constantly demands the development of new analytical methods, more accurate, sensitive and reliable in an attempt to control the quality of food, drugs, water and the air we breathe, the productive processes and waste generated by our civilized way of life. In addition, it is required that these methods are easy to implement, it only suffices to press a button to get the result, so that a technician with basic training is able to process the necessary samples.

A factor that has led to progress significantly in this direction has been the automation of the measures through the use of computers and microprocessors, which prevent the investigator the most tedious tasks of calculation and experiment care, among others, and frees him for more creative work, which requires his presence without appeal.

Types of analytical techniques that can be easily automated are flow techniques, among which, chromatographic methods and flow injection analysis (FIA) techniques stand out. Both require sensing devices that detect the presence of chemical species of interest by measuring a characteristic property while circulating through the system. The measured property should be, if possible, a distinctive feature of the analyte with respect to the other species present in the sample, to avoid interference, and also it must be proportional to its concentration to allow quantification.

The spectro-electrochemistry is a hybrid technique that combines two classic methods, electrochemistry and spectroscopy for chemical information. An essential feature of this technique is that both measures are obtained simultaneously and not sequentially, as with other hybrid techniques. Thus, non-stationary processes occurring near the electrode can be easily studied. Analytical advantages are also obtained, since by measuring two properties simultaneously, interference is more difficult to happen.

Despite the widespread use of spectro-electrochemistry in many laboratories, it doesn't have much commercial instrumentation yet. Therefore, the combination of

electrochemical and spectroscopic apparatus is made, differently, in each laboratory. The spectro-electrochemical cell is the interface between techniques, although it has been described how to build them, but, until now, there is no standard model used by most of the scientific community.

This thesis describes how to design and manufacture a simple spectro-electrochemical flow cell, easy to build and with highly configurational versatility. It has been proven the possibility of using it as a spectro-electrochemical detector for determining electro-generated potassium ferricyanide by injection of potassium ferrocyanide samples at a flow system. Furthermore, it has been shown that this type of mixed sensors provides higher sensitivity levels than when two detectors sequentially-arranged are used.

To demonstrate the applicability of this sensor in environmental-related studies, two analytical methods have been developed, one for speciation of inorganic soluble copper in water samples and one for determination of imazapyr herbicide in aqueous solutions.

The proposed speciation method of Cu(I) and Cu(II) shows how the use of a mixed detector independently quantifies both copper oxidation states through two different techniques: spectrophotometric determination of Cu(II) with cuprizone, and amperometric detection of Cu(I). Both measures are synchronized to prevent interference between them.

Moreover, a spectro-electrochemical flow method is also proposed for the determination of imazapyr by spectrophotometry in the UV wavelength. The sensitivity of this method is greatly enhanced by the electrochemical polarization of the working electrode present in the flow-cell, reaching adequate levels of detection for maximum tolerance levels set by EPA and FDA, without previous extraction and/or preconcentration stages.

ÍNDICES

OBJETIVOS GENERALES Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

CAPÍTULO 1: Introducción y antecedentes _____ **1**

CAPÍTULO 2: Construcción, optimización y evaluación de la celda. Demostración del concepto con el par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$ _____ **181**

CAPÍTULO 3: Determinación secuencial de Cu(I) y Cu(II) en agua mediante Análisis por Inyección en Flujo _____ **219**

CAPÍTULO 4: Determinación de imazapir por espectrofotometría UV mejorada mediante polarización electroquímica _____ **245**

CONCLUSIONES FINALES

APENDICES

CAPÍTULO 1
Introducción y antecedentes

1. ELECTROQUÍMICA Y ESPECTROSCOPIA	3
2. ESPECTROELECTROQUÍMICA	5
2.1. <i>Ventajas e inconvenientes de las técnicas espectroelectroquímicas</i>	6
2.2. <i>Sincronización entre ambas técnicas</i>	8
2.3. <i>Aplicaciones de la espectroelectroquímica</i>	9
3. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS USADAS EN ESPECTROELECTROQ.	13
3.1. <i>Espectroscopía UV-visible</i>	18
3.2. <i>Espectroscopía IR</i>	21
3.3. <i>Elipsometría</i>	24
3.4. <i>Dicroísmo circular</i>	26
3.5. <i>Espectroscopía Raman</i>	28
3.6. <i>Métodos basados en el uso de rayos X</i>	33
3.7. <i>Técnicas de resonancia de espín electrónico</i>	37
3.8. <i>Técnicas de resonancia magnética nuclear</i>	40
3.9. <i>Espectroscopía de luminiscencia</i>	44
3.10. <i>Otras técnicas analíticas</i>	47
4. TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS USADAS EN ESPECTROELECTROQ.	48
4.1. <i>Técnicas potenciométricas</i>	51

4.2. Técnicas amperométricas	55
4.3. Técnicas columbimétricas	56
4.4. Técnicas voltamétricas	66
4.5. Cronotécnicas	83
5. CELDAS ESPECTROELECTROQUÍMICAS	92
5.1. Celdas espectroelectroquímicas para UV-visible	92
5.2. Celdas espectroelectroquímicas para IR	105
5.3. Celdas espectroelectroquímicas para Raman	113
5.4. Celdas espectroelectroquímicas para rayos X	116
5.5. Celdas espectroelectroquímicas para RMN	122
5.6. Celdas espectroelectroquímicas para microscopía	124
5.7. Celdas espectroelectroquímicas para luminiscencia	126
5.8. Celdas espectroelectroquímicas para EPR	128
5.9. Otras celdas espectroelectroquímicas	129
6. ANÁLISIS MEDIANTE INYECCIÓN EN FLUJO (FIA)	131
6.1. Componentes básicos de un sistema FIA	132
6.2. La señal FIA	135
6.3. Características generales del FIA	135
6.4. Otras técnicas asociadas	137
6.5. FIA y espectroelectroquímica	139
7. BIBLIOGRAFÍA	140

CAPÍTULO 2

**Construcción, optimización y evaluación de la celda.
Demostración del concepto con el par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$**

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	183
2. FABRICACIÓN DE LA CELDA	188
2.1. <i>Diseño inicial</i>	189
2.2. <i>Introducción de nuevos electrodos</i>	193
2.3. <i>Diseño final optimizado</i>	195
3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN	196
3.1. <i>Reactivos y disoluciones</i>	196
3.2. <i>Instrumentación</i>	197
4. ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DEL ELECTRODO DE ITO	198
5. EVALUACIÓN DE LA CELDA	202
5.1. <i>Evaluación espectroscópica</i>	203
5.2. <i>Evaluación electroquímica</i>	205
5.3. <i>Evaluación espectroelectroquímica</i>	208
5.4. <i>Estudio de la influencia de la velocidad de flujo en la calibración</i>	211
5.5. <i>Recopilación de datos</i>	212
6. CONFIGURACIÓN MIXTA FRENTE A CONFIGURACIÓN SECUENCIAL	213
7. CONCLUSIONES	214
8. BIBLIOGRAFÍA	216

CAPÍTULO 3

**Determinación secuencial de Cu(I) y Cu(II) en agua mediante
Análisis por Inyección en Flujo**

1. INTRODUCCIÓN	221
2. OBJETIVOS	223
3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN	224
3.1. <i>Reactivos y disoluciones</i>	224
3.2. <i>Instrumentación</i>	225
4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	225
5. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROSCÓPICO PARA LA DETERMINACIÓN DE Cu(II)	227
5.1. <i>Corrección del efecto Schlieren</i>	227
5.2. <i>Velocidad de flujo</i>	229
5.3. <i>Volumen de inyección</i>	230
5.4. <i>Longitud del segmento de reacción</i>	231
5.5. <i>pH</i>	231
5.6. <i>Parámetros finales</i>	232
6. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ELECTROQUÍMICO PARA LA DETERMINACIÓN DE Cu(I)	232
7. RESULTADOS ANALÍTICOS	234
7.1. <i>Determinación espectroscópica de Cu(II)</i>	234
7.2. <i>Determinación amperométrica de Cu(I)</i>	235

8. ESPECIACIÓN DE COBRE EN MEZCLAS	236
9. CONCLUSIONES	239
10. BIBLIOGRAFÍA	241

CAPÍTULO 4

Determinación de imazapir por espectrofotometría UV mejorada mediante polarización electroquímica

1. INTRODUCCIÓN	247
2. OBJETIVOS	250
3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN	251
3.1. <i>Reactivos y disoluciones</i>	251
3.2. <i>Instrumentación</i>	252
4. ESTUDIOS PARA LA ELECCIÓN DEL ELECTRODO DE TRABAJO	253
4.1. <i>Fabricación de los electrodos sólidos</i>	254
4.2. <i>Determinación de la ventana de potencial para cada metal o aleación</i>	257
4.3. <i>Electrodeposición de diferentes metales y aleaciones sobre el electrodo plano de acero inoxidable</i>	259
4.4. <i>Elección del material electródico</i>	265
5. ESTUDIO DE IMAZAPIR SOBRE ELECTRODO MASIVO DE PLOMO	266

6. FABRICACIÓN DEL ELECTRODO TUBULAR DE ACERO RECUBIERTO DE PLOMO	270
7. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	278
7.1. <i>Optimización del potencial de trabajo</i>	278
7.2. <i>Optimización de la longitud de onda de trabajo</i>	280
7.3. <i>Optimización de los parámetros de flujo</i>	283
8. RESULTADOS ANALÍTICOS	284
9. CONCLUSIONES	285
10. BIBLIOGRAFÍA	286

APENDICES

ANEXO 1. PLANOS DE LA CELDA ESPECTROELECTROQUÍMICA DE FLUJO

ANEXO 2. PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DE LA TESIS

CAPÍTULO 1
Introducción y antecedentes

Figura 1. *Esquema que distingue entre catálisis por transferencia electrónica y reacción electrocatalítica* _____10

Figura 2. *Configuraciones ópticas comunes para celdas espectroelectroquímicas. La línea gruesa representa el haz de luz incidente y la línea delgada representa la luz detectada en transmisión normal al electrodo (a), transmisión paralela al electrodo (b), reflexión externa (c) e interna (d). La línea discontinua muestra la interfase electrodo/disolución y el prisma representa la cámara de muestra donde está contenida la disolución de estudio* _____15

Figura 3. *Configuración óptica común para celdas espectroelectroquímicas de Raman. La línea gruesa representa el haz de luz incidente y la línea delgada representa la luz dispersada. La línea discontinua muestra la interfase electrodo/disolución y el prisma representa la cámara de muestra donde está contenida la disolución de estudio* _____16

Figura 4. *Esquema de los diferentes métodos espectroscópicos usados en espectroelectroquímica* _____17

Figura 5. *Esquema del dispositivo experimental para experimentos espectroelectroquímicos de transmisión* _____19

Figura 6. *Esquema de la configuración de reflexión externa para espectroelectroquímica de infrarrojo* _____22

Figura 7. Polarización elíptica resultante de un desplazamiento de fase entre la componente perpendicular y la paralela _____25

Figura 8. Esquema de dicroísmo circular en el que se mide la diferencia en absorción _____27

Figura 9. Esquema de la dispersión Raman donde se muestra la excitación (E) a un estado virtual no estacionario, seguida de la dispersión Rayleigh (R') sin cambio en la energía, o la dispersión Raman (R1 y R2) con cambios cuantizados de energía. La figura (a) muestra el efecto Raman normal, con excitación en una región no absorbente, y la figura (b) muestra el efecto Raman de resonancia, que incluye la excitación muy cerca de una transición permitida _____29

Figura 10. Representación esquemática del proceso de emisión de electrones____34

Figura 11. Fundamentos de un experimento ESR. (a) Diagrama de niveles de energía de un electrón desapareado situado en un campo magnético. (b) Gráfico de absorción ESR vs campo magnético. (c) Derivada de la señal ESR obtenida tras la fase de detección _____38

Figura 12. Esquema de cómo se comportan los espines nucleares en ausencia o presencia de un campo magnético _____41

Figura 13. Diagrama que muestra el aumento de la diferencia de energía entre los estados de espín con el aumento de la fuerza del campo magnético _____42

Figura 14. Resumen de los métodos electroquímicos más comunes. Se han resaltado las técnicas más usadas en experimentos espectroelectroquímicos _____48

Figura 15. Montaje potencióstático para coulombimetría a potencial controlado. EA, electrodo auxiliar en espiral de Pt; EW, electrodo de trabajo de gran superficie (malla de Pt); ER, electrodo de referencia (Ag/AgCl, KCl sat.); P, puente salino de agar-agar y A, agitador magnético _____61

Figura 16. Esquema general de la instrumentación empleada en una valoración coulombimétrica con detección electroquímica del punto final. El potencióstato no es absolutamente necesario _____ 64

Figura 17. Barrido lineal de potencial comenzando en E_i y acabando en E_f _____ 66

Figura 18. Voltamperograma de barrido lineal sobre un electrodo estacionario de Pt para Fe^{2+} 1 mM en medio HCl 1 M. La línea discontinua corresponde al voltamperograma de la disolución de HCl 1 M sin Fe^{2+} ; $v=1$ V/s _____ 67

Figura 19. Señal de excitación potencial-tiempo triangular utilizada en voltamperometría cíclica _____ 69

Figura 20. Voltamperograma cíclico de Fe^{2+} en medio H_2SO_4 1 M _____ 70

Figura 21. a) Programa de potencial en función del tiempo utilizado en polarografía diferencial de pulsos para varias gotas; b) potencial y corrientes medidas en una sola gota _____ 72

Figura 22. Polarograma diferencial de pulsos de Cd^{2+} 1 μ M en HCl 0,01 M _____ 73

Figura 23. Voltamperometría diferencial de pulsos de sulfamerazina 0,6 μ M sobre un electrodo estático de carbono vitrificado; $v=10$ mV/s; $\Delta E=50$ mV _____ 75

Figura 24. Fundamento esquemático de la voltamperometría de redisolución anódica. Los valores mostrados corresponden al análisis de Cu^{2+} _____ 78

Figura 25. Curva potencial-tiempo para un HDME en una disolución de NaCl 0,5 M conteniendo Zn(II), Cd(II), Pb(II) y Cu(II) 1,5 μ M y Hg(II) 0,5 mM; $t_d=3$ min; $E_d=-1,25$ V _____ 79

Figura 26. *Curvas de redisolución potenciométrica para una disolución de Cd (II), 250 ng/L, Pb (II), 250 ng/L y Cu (II), 125 ng/L, a) registro convencional; b) registro computarizado registrado a una velocidad 1000 veces menor que en a); $t_d=4$ min* 80

Figura 27. *Señal de excitación empleada en las técnicas de salto de potencial* 84

Figura 28. *a) Señal de excitación utilizada en un experimento cronoamperométrico básico; b) perfiles de concentración para varios tiempos en el experimento; c) respuesta corriente-tiempo (cronoamperograma)* 85

Figura 29. *Cronoamperograma de doble salto de potencial* 86

Figura 30. *Forma de una curva cronocoulombimétrica para la reducción de un analito* 89

Figura 31. *Efecto de la adsorción de especies electroactivas en un experimento cronocoulombimétrico. Se muestran las curvas cronocoulombimétricas para los componentes individuales que contribuyen a la carga total* 89

Figura 32. *Señal de excitación de corriente y señal de respuesta del potencial frente al tiempo en un experimento cronopotenciométrico* 90

Figura 33. *Perfiles de concentración-distancia durante la reducción de la especie oxidada provocada por una señal de excitación de corriente constante* 91

Figura 34. *Esquema de un electrodo basado en una red microscópica de Au* 95

Figura 35. Ilustración esquemática de una celda espectroelectroquímica de capa fina que utiliza un electrodo de trabajo basado en una malla de Pt. La vista frontal (en el centro) muestra la forma de aplicación de vacío mientras que la vista de la cara izquierda (a la izquierda) muestra la celda en modo de desoxigenación. Las partes de la celda son: a) anchura y b) longitud del electrodo de Pt; c) cámara de muestra; d) anchura de la cámara de muestra; e) filtro de Pt para operaciones de vacío y filtro de asbesto para operaciones regulares; f) ventana óptica; g) electrodo de malla de Pt; h) hilo de acero inoxidable; i) película protectora; j) hueco para la ventana óptica; k) agitador magnético _____ 96

Figura 36. Vista esquemática de un electrodo de Au microestructurado _____ 96

Figura 37. Esquema de una celda espectroelectroquímica que emplea electrodos serigrafiados _____ 97

Figura 38. Diagrama de la celda espectroelectroquímica basada en un OTE. El tamaño de todos los componentes se ha exagerado para una mayor claridad del diseño _____ 99

Figura 39. Diagrama esquemático de la celda de capa fina. (a) Vista lateral del despiece de todos los componentes de la celda, incluidos los separadores para controlar el espesor (ts), placa trasera (pb), pie para posicionar los electrodos (f), espaciadores posicionales (ps), electrodo de película fina (TFE) y muelle de compresión. (b) Vista superior que muestra todos los componentes, incluyendo los electrodos de referencia y auxiliar, anclados dentro de la cubeta _____ 100

Figura 40. Detalle de una celda espectroelectroquímica para experimentos de reflexión interna _____ 101

Figura 41. Diagrama del dispositivo experimental para medidas de reflexión UV-visible en dirección normal al electrodo de disco rotatorio _____ 102

Figura 42. Diagrama de la celda espectroelectroquímica de rayo incidente paralelo. a) electrodo auxiliar, b) electrodo de referencia, c) electrodo de trabajo, d) soporte de metacrilato, e) solución saturada de KCl, f) celda de cuarzo, g) camino óptico, h) altura del rayo de luz _____ 103

Figura 43. Diagramas esquemáticos (3D, vista frontal y vista lateral) de la celda de capa fina usada en los experimentos de espectroelectroquímica bidimensional. (a) Electrodo de trabajo de Au, (b) pieza de resina epoxi, (c) espaciadores, (d) sujeciones de resina epoxi, (e) ventana óptica circular, (f) electrodo de referencia, (g) electrodo auxiliar, (N) normal y (P) paralelo, referidos a la posición del haz de luz con respecto al electrodo de trabajo _____ 103

Figura 44. Vista esquemática de una celda espectroelectroquímica fabricada a partir de fibras ópticas _____ 104

Figura 45. Diagrama de una celda espectroelectroquímica para medidas en flujo y en estático _____ 104

Figura 46. Configuración de una de las primeras celdas espectroelectroquímicas de IR en configuración de reflexión externa _____ 105

Figura 47. Esquema que muestra una vista del ensamblaje de la celda espectroelectroquímica (superior). Los esquemas inferiores muestran las vistas frontal y trasera de la celda _____ 107

Figura 48. Esquema simplificado de una celda de flujo de capa fina para experimentos de reflexión externa en espectroelectroquímica de IR _____ 108

Figura 49. Diagrama de la celda espectroelectroquímica de transmisión para IR. $I_{entrada}$ e I_{salida} se refieren a la intensidad del rayo de IR antes y después de atravesar la celda, respectivamente _____ 109

Figura 50. (a) visión lateral, y (b) visión frontal de una celda espectroelectroquímica de transmisión de capa fina para medidas en IR fabricada en vidrio con ventanas de sílice. (A) hueco para el electrodo de trabajo (OTE), (B) hueco para el electrodo de referencia y el contraelectrodo (calomelanos y Pt, respectivamente), (C) ventana de sílice, (D) pieza de teflón, (E) dirección del haz incidente _____ 110

Figura 51. Representación esquemática de la cabeza del dispositivo situado al final de la fibra óptica. La porción mostrada se sumerge en la disolución de electrolisis, y la disolución entra a la cámara de muestra a través de los huecos realizados en las paredes de acero inoxidable _____ 111

Figura 52. Esquema simplificado de una celda espectroelectroquímica de IR con configuración de reflexión total atenuada _____ 112

Figura 53. Electrodo de oro en espiral con poros a escala nanométrica realizados mediante anodización a diferentes pH _____ 112

Figura 54. Esquema de una celda espectroelectroquímica de capa fina para medidas de espectroscopía Raman _____ 113

Figura 55. Esquema de una celda con electrodo rotatorio para Raman. A, cuerpo de nylon; B, junta cónica; C, hueco para el giro del electrodo; D, eje para el electrodo rotatorio; E, bolas de rodamiento; F, junta de PTFE; G, electrodo de trabajo; H, anillo colector; I, cepillo de carbono; J, conexión del motor _____ 114

Figura 56. Esquema de una celda espectroelectroquímica de flujo para Raman. WE, electrodo de trabajo; C, contacto eléctrico para el electrodo de trabajo; SP, bomba de flujo; M, imán; CE, electrodo auxiliar; PE, electrodo potenciométrico; RE, electrodo de referencia; PV, vycor para aislar los electrodos; V, válvula; FO, fibra óptica; FL, lente; W, ventana de cuarzo; RC, capilar _____ 114

Figura 57. Dispositivo para espectroelectroquímica Raman con un eje excéntrico de rotación de la celda. El electrodo de trabajo se coloca fuera del eje del motor _____ 115

Figura 58. Celda espectroelectroquímica basada en un electrodo de carbón vítreo reticulado para medidas de rayos X _____ 116

Figura 59. Celda espectroelectroquímica para estudios superficiales de rayos X en electrodos modificados. A, electrodo de trabajo (disco de Pt); B, electrodo auxiliar de Pt; C, hueco para el electrodo de referencia; D, huecos para el electrolito; E, disco de viton; F, cuerpo de teflón; G, goniómetro; H, ventana óptica _____ 117

Figura 60. Celda para medidas espectroelectroquímicas de rayos X. A, electrodo de trabajo; B, electrodo auxiliar; C, electrodo de referencia; D, separador; E, bolsa de polietileno; F, ensamblaje; G, haz de rayos X _____ 119

Figura 61. Celda espectroelectroquímica basada en un electrodo de disco rotatorio. A, electrodo de trabajo de disco rotatorio; B, electrodo auxiliar (hilo de Au); C, electrodo de referencia (Pd-H); D, haz de rayos X; E, ensamblaje para el electrodo rotatorio _____ 119

Figura 62. Celda de transmisión para estudios espectroelectroquímicos de rayos X. A, electrodo de trabajo; B, electrodo auxiliar; C, electrodo de referencia; D, colector de corriente; E, separador; F, juntas; G, ventana; H, electrolito _____ 120

Figura 63. Celda espectroelectroquímica para experimentos XANES. El electrodo de trabajo (W) es una red de Pt, mientras que el electrodo auxiliar (A) es un hilo de Pt. El electrodo de referencia es Ag/AgCl. La celda tiene una entrada de N₂ para facilitar la mezcla _____ 121

Figura 64. Vista esquemática de una celda diseñada para estudios de dispersión de rayos X. A, electrodo de trabajo de disco de cristal único; B, electrodo auxiliar de Pt; C, electrodo de referencia de Ag/AgCl; D, ventana óptica; E, disolución de electrolito; F, entrada de la disolución de electrolito; G, salida de la disolución de electrolito; H, cuerpo de la celda; I, micrómetro; J, carcasa del electrodo; K, cámara exterior _ 121

Figura 65. (a) Fotografía real de la celda y (b) zoom de la celda para observar la disposición de los electrodos. La línea roja indica la circulación de la disolución de electrolito _____ 122

Figura 66. Esquema de la primera celda espectroelectroquímica para estudios de RMN _____ 123

Figura 67. Esquema del ensamblaje coaxial de tres electrodos insertado en un tubo de muestra de RMN. a, capilar que actúa como electrodo de referencia; b, contraelectrodo cilíndrico compuesto de una red de Pt; c, agujeros para conectar los diferentes compartimentos de los electrodos; d, tapones de teflón; e, electrodo de trabajo tubular compuesto de una lámina de Au; f, bobina receptora _____ 124

Figura 68. Esquema de la celda empleada para estudios espectroelectroquímicos de microscopía en una configuración de reflexión interna _____ 125

Figura 69. Celda espectroelectroquímica para medidas de microscopía. A la izquierda, vista superior (A) y frontal (B). A la derecha, fotografía de la situación de la membrana sobre el cuerpo de la celda. Los dos lados de la membrana disponen de puertos de entrada y salida de disolución así como de un electrodo de Ag/AgCl _ 126

Figura 70. Celda espectroelectroquímica de capa fina para medidas de luminiscencia. A, cuerpo de la celda; B, membrana de polietileno; C, cristal; D, electrodo de trabajo basado en una red de Pt; E, válvula; F, salida; G, tornillo; H, capa fina; I, reserva de disolución; J, tope de goma; K, electrodo de referencia; L, electrodo auxiliar de Pt; M, conexión de Pt _____ 127

Figura 71. Celda espectroelectroquímica para medidas de EPR _____ 128

Figura 72. Celda espectroelectroquímica para medidas de resonancia paramagnética de espín en las bandas Q y W _____ 129

Figura 73. Diagrama funcional de la celda a la izquierda e imagen virtual de la misma a la derecha. *wec*, compartimento del electrodo de trabajo; *cec*, compartimento para el electrodo auxiliar; *j*, junta; *m*, membrana; *we*, electrodo de trabajo; *ce*, electrodo auxiliar; *re*, electrodo de referencia; *s*, muelle ; *ss*, soporte para el muelle _____ 130

Figura 74. Diagrama esquemático de la celda espectroelectroquímica. El inserto muestra la distribución del campo eléctrico sobre la estructura _____ 131

Figura 75. Componentes básicos de un sistema FIA _____ 132

Figura 76. Diagrama _____ 135

Figura 77. Diagrama esquemático de los diferentes sistemas de flujo. A) SFA; B) FIA; C) SIA; D) MSFIA; E) MPFIA; F) MCFIA. *PP*, bomba peristáltica; *A*, aire; *S*, muestra; *R*, reactivo; *MC*, bucle de mezcla; *DB*, desburbujeador; *D*, detector; *W*, residuo; *CA*, disolución portadora; *SP*, bomba de jeringa; *HC*, bucle de muestra; *MV*, válvula multipuertos; *RC*, bucle de reacción; *MSP*, bomba multijeringa; *SV*, válvula de solenoide; *CF*, interfase de control; *MP*, microbomba _____ 137

CAPÍTULO 2

Construcción, optimización y evaluación de la celda. Demostración del concepto con el par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$

Figura 1. Esquema de la celda espectroelectroquímica. A) Despiece de la celda. B) Vista a través de la ventana óptica de la celda. C) Esquema de la situación del flujo a su paso por la celda _____ 190

Figura 2. Esquema de los terminales roscados que se fabricaron para evitar las fugas en los tubos de entrada y salida de fluido _____ 192

Figura 3. Esquema de la celda tras la introducción de las agujas de acero inoxidable _____ 194

Figura 4. Corte transversal de la celda donde se muestran los cambios realizados en los canales para entrada y salida de flujo. La línea continua muestra el estado final del canal, mientras que la línea discontinua muestra cómo era antes de su procesado _____ 195

Figura 5. Diseño final de la celda espectroelectroquímica de flujo. A la izquierda, esquema 3D del detector; y a la derecha, fotografía real de la celda _____ 196

Figura 6. Voltagramas cíclicos de ferrocianuro potásico 1 mM en una disolución acuosa 0.1 M en NaCl. Los barridos se hicieron entre 1500 y -900 mV vs Ag/AgCl a 200 mV/s utilizando diferentes tiras de ITO, previamente acondicionadas en diversos medios, como electrodo de trabajo _____ 199

Figura 7. Detalle de los voltagramas de la Figura 6 en los que se observa la zona donde aparece la onda debida a la oxidación del ferrocianuro potásico _____ 200

Figura 8. Fotografía del estado de los diferentes electrodos de ITO tras 60 minutos de electrolisis a un potencial constante de -1000 mV en diferentes pHs. La tira 1 estuvo sumergida en buffer a pH 3.4, la tira 2 a pH 4.9, la tira 3 a pH 9.7 y la tira 4 a pH 7.0. En rojo se ha marcado la zona sumergida en la disolución durante el periodo de electrolisis _____ 201

Figura 9. Diagrama del dispositivo FIA empleado para la evaluación de la nueva celda _____ 203

Figura 10. Espectro de absorción de una disolución acuosa 1 mM de ferricianuro potásico _____ 203

Figura 11. Respuesta espectroscópica del sistema FIA para inyecciones de 1 mL de ferricianuro potásico a diferentes concentraciones. INSERTO: Representación de la ley de Beer y respuesta lineal _____ 204

Figura 12. VPD hidrodinámico para una disolución de ferrocianuro potásico 1 mM y 0.1M en NaCl en un electrodo de ITO _____ 205

Figura 13. Respuesta espectroscópica a 420 nm del sistema FIA para inyecciones de 1 mL de ferricianuro potásico 2 mM en NaCl 0.1 M cuando el electrodo de acero inoxidable está polarizado a diferentes valores de potencial. Flujo de 3 mL/min _ 206

Figura 14. Respuesta amperométrica del sensor cuando se realizan inyecciones de 1 mL de disoluciones de ferrocianuro potásico a diferentes concentraciones, mientras que el electrodo de acero inoxidable se encuentra polarizado a 350 mV _____ 207

Figura 15. Respuesta amperométrica del sensor cuando se realizan inyecciones de 1 mL de disoluciones de ferrocianuro potásico con el electrodo de ITO polarizado a 420 mV. El valor de cada punto es el promedio de tres medidas _____ 208

Figura 16. Respuesta óptica obtenida para la inyección de 1 mL de disoluciones con diferentes concentraciones de ferrocianuro, tras su oxidación in situ a ferricianuro, usando un electrodo de acero inoxidable polarizado a 350 mV _____ 209

Figura 17. Respuesta óptica obtenida para la inyección de 1 mL de disoluciones con diferentes concentraciones de ferrocianuro, tras su oxidación in situ a ferricianuro, usando un electrodo de ITO polarizado a 420 mV _____ 210

Figura 18. Diferentes configuraciones para detectores secuenciales o mixtos en sistemas cromatográficos _____ 213

Figura 19. Comparación de los resultados obtenidos para inyecciones de 1 mL de ferrocianuro potásico 1.6×10^{-4} M en un detector espectroelectroquímico mixto (trazo azul) o usando un electrolizador seguido de un detector óptico (trazo rojo). Todos los parámetros analíticos se mantienen constantes en ambos experimentos _____ 214

CAPÍTULO 3

Determinación secuencial de Cu(I) y Cu(II) en agua mediante Análisis por Inyección en Flujo

Figura 1. A) Esquema FIA utilizado para el método analítico. B) Diagrama de tiempo para la determinación sincronizada de Cu(I) y Cu(II) _____ 226

Figura 2. Comparación de las señales ópticas obtenidas para las diferentes composiciones de la disolución portadora y de la disolución de inyección. a) Disolución portadora: Cu(II) acuoso; Inyección: cuprizona en búfer. b) Disolución portadora: Cu(II) acuoso + búfer; Inyección: Cuprizona. c) Disolución portadora: Cu(II) acuoso + búfer + EtOH; Inyección: Cuprizona. Otras condiciones de operación son: pH 9.5; segmento de reacción de 5.7 m; volumen de inyección = 25 μ L; flujo = 3 mL/min y [Cu(II)] = 2 μ g/mL _____ 229

Figura 3. Efecto de la velocidad de flujo en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μ L, segmento de reacción de 5.7 m, pH = 9.5 y [Cu(II)] = 2 μ g/mL _____ 230

Figura 4. Efecto del volumen de inyección en la absorbancia. Otras condiciones: segmento de reacción de 5.7 m, velocidad de flujo = 0.5 mL/min, pH = 9.5 y [Cu(II)] = 2 μ g/mL _____ 230

Figura 5. Efecto de la longitud del segmento de reacción en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μ L, velocidad de flujo = 0.5 mL/min, pH = 9.5 y [Cu(II)] = 2 μ g/mL _____ 231

Figura 6. Efecto del pH en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μL , longitud del segmento de reacción = 5.7 m, velocidad de flujo = 0.5 mL/min y $[\text{Cu(II)}] = 2 \mu\text{g/mL}$ _____ 232

Figura 7. VPD hidrodinámico para una disolución tamponada de Cu (I) de 30 $\mu\text{g/mL}$ sobre un electrodo de acero inoxidable. Las otras condiciones experimentales se encuentran recogidas en el texto _____ 233

Figura 8. Respuesta óptica obtenida a 595 nm tras la inyección de cuprizona a disoluciones con diferentes concentraciones de Cu (II). Cada punto representa el promedio de tres medidas _____ 235

Figura 9. Respuesta amperométrica del sensor cuando se toma el valor de corriente límite en el estado estacionario para disoluciones de Cu(I) de diferentes concentraciones con el electrodo de acero inoxidable polarizado a 700 mV. El valor de cada punto es el promedio de tres medidas _____ 236

Figura 10. Estudio de las interferencias debidas a la presencia de ambos analitos en la disolución portadora. A) Respuesta electroquímica para una concentración de 0.4 $\mu\text{g/mL}$ de Cu (I) y diferentes concentraciones de Cu (II). B) Respuesta óptica para una concentración de 0.4 $\mu\text{g/mL}$ de Cu(II) y diferentes concentraciones de Cu(I) _____ 237

CAPÍTULO 4

Determinación de imazapir por espectrofotometría UV mejorada mediante polarización electroquímica

Figura 1. Molécula de imazapir _____ 247

Figura 2. A) Jeringa de 1 mL empleada para realizar la funda exterior de los electrodos sólidos. B) Cilindros de los diferentes materiales electródicos. C) Detalle de la forma puntiaguda tallada en la barra de acero inoxidable para realizar el contacto con el cilindro metálico. D) Unión de la barra de acero inoxidable y el cilindro del metal correspondiente _____ 254

Figura 3. Diagrama de los electrodos sólidos pulidos fabricados con diferentes materiales metálicos _____ 255

Figura 4. Barras de los diferentes metales y aleaciones obtenidas tras verter granalla fundida en un molde tallado sobre un ladrillo refractario _____ 256

Figura 5. Barra de acero inoxidable empleada en la fabricación de los electrodos en los que se realizarán las pruebas de electrodeposición _____ 257

Figura 6. Electrodo de acero inoxidable para pruebas de recubrimiento a alta temperatura _____ 257

Figura 7. Voltagramas de pulso diferencial obtenidos con electrodos de trabajo masivos de diferentes metales o aleaciones en una disolución de búfer HAc/NaAc a pH 3.3 _____ 259

Figura 8. Fotografías que muestran el estado de la superficie de acero inoxidable tras el proceso de pulido. La imagen de la derecha muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces _____ 260

Figura 9. Fotografías que muestran el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición con $Pb(NO_3)_2$. La imagen de la derecha muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces _____ 261

Figura 10. Fotografías que muestran el estado de la superficie de estaño tras el proceso de electrodeposición. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces _____ 262

Figura 11. Fotografías que muestran el estado de la superficie de zinc tras el proceso de electrodeposición. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces _____ 263

Figura 12. *Voltagramas de pulso diferencial obtenidos con electrodos de diferentes metales electrodepositados sobre acero inoxidable en una disolución de búfer HAc/NaAc a pH 3.3* _____ 265

Figura 13. *VPD de una disolución tampón NaAc/HAc cuyo pH se ha ajustado a 0.5 mediante la adición de HCl concentrado (línea celeste) y de imazapir 1 mM en dicho fondo (línea azul) sobre un electrodo masivo de Pb/PbCl* _____ 267

Figura 14. *Representación del potencial de pico frente al pH de la disolución para la reducción del IZP en un electrodo masivo de Pb/PbCl₂. La serie roja se corresponde con la posición del primer pico de reducción y la serie azul con la posición del segundo pico* _____ 268

Figura 15. *Voltagramas sucesivos de pulso diferencial de una disolución de IZP 1 mM en HCl 0.3 M (pH 0.5) sobre un electrodo masivo de Pb/PbCl₂* _____ 269

Figura 16. *Voltagramas de pulso diferencial de una disolución de HCl 0.3 M a pH 0.5 (celeste) y de una disolución de IZP 1 mM en el mismo fondo (azul) sobre un electrodo de Pb/PbCl₂ depositado sobre acero inoxidable* _____ 274

Figura 17. *Fotografía que muestra el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición en el que se emplea ácido cítrico como aditivo para mejorar la calidad de la superficie electródica. La imagen muestra un aumento de 50 veces el tamaño real* _____ 275

Figura 18. *Fotografía que muestra el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición en el que se emplea gelatina comestible como aditivo para mejorar la calidad de la superficie. La imagen muestra un aumento de 80 veces el tamaño real* _____ 276

Figura 19. *Fotografía que muestra el montaje empleado para las primeras pruebas de electrodeposición en la superficie interna de la aguja de acero inoxidable. Las flechas rojas indican el sentido del flujo* _____ 277

Figura 20. Diagrama que muestra la disposición geométrica de los electrodos en la celda de flujo y la forma en la que se deposita el plomo sobre el electrodo de trabajo (en rojo) _____ 277

Figura 21. Diagrama del dispositivo FIA. A, disolución portadora; B, muestras o disoluciones estándares; C, bomba peristáltica; D, válvula de inyección de seis vías; E, celda electroquímica; F, potencióstato; G, ordenador; H, espectrofotómetro; I, residuos _____ 278

Figura 22. Dependencia de la intensidad de pico con el potencial aplicado. Cada punto representa el valor medio de tres inyecciones de 500 μL de imazapir 1 mM en una disolución portadora de HCl 0.3 M a pH 0.5 que fluye a 2 mL/min. Inserto: respuesta electroquímica del sistema FIA cuando se aplica un potencial de -610 mV _____ 279

Figura 23. Respuesta óptica a 390 nm obtenida tras dos inyecciones de 500 μL de imazapir 1 mM en HCl 0.3 M a pH 0.5. Flujo: 2 mL/min, E = -610 mV _____ 280

Figura 24. Espectro UV del seguimiento de la electrolisis a -610 mV de una disolución 2×10^{-5} M de imazapir. La disolución de imazapir se ha realizado en HCl 0.3 M a pH 0.5. El flujo de la disolución de electrolisis es 2 mL/min y el tiempo entre medidas espectrofotométricas es 5 minutos _____ 282

Figura 25. Curva de calibración para la determinación de imazapir. Potencial de electrolisis: -610 mV; longitud de onda: 242 nm; velocidad de flujo: 1 mL/min; volumen inyectado: 200 μL ; disolución portadora: disolución de HCl 0.3 M con fuerza iónica 0.6 M y pH 0.5 _____ 284

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Introducción y antecedentes

Tabla 1. *Algunos ejemplos de valoración coulombimétrica* _____ 62

CAPÍTULO 2

Construcción, optimización y evaluación de la celda. Demostración del concepto con el par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$

Tabla 1. *Diferentes experiencias para determinar la composición óptima de la pintura conductora* _____ 192

Tabla 2. *Resumen de los resultados analíticos* _____ 212

CAPÍTULO 3

Determinación secuencial de Cu(I) y Cu(II) en agua mediante Análisis por Inyección en Flujo

Tabla 1. *Resumen de los diferentes ensayos realizados para la corrección del efecto Schlieren* _____ 228

Tabla 2. *Métodos para la determinación de cobre presentes en la bibliografía* 240

CAPÍTULO 4

Determinación de imazapir por espectrofotometría UV mejorada mediante polarización electroquímica

Tabla 1. *Algunas propiedades físicas de los diferentes metales y aleaciones empleados* _____ 256

Tabla 2. *Resumen de ensayos realizados para la electrodeposición modulada* 271

Tabla 3. *Resumen de ensayos realizados para la electrodeposición dinámica* 272

*OBJETIVOS GENERALES Y
ORGANIZACIÓN DE LA TESIS*

OBJETIVOS GENERALES Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

Esta tesis se ha dividido en cuatro capítulos, de acuerdo con los objetivos que se pretenden alcanzar en la misma:

- En el primer capítulo, se pretende hacer un recorrido por las diferentes publicaciones científicas relacionadas con el mundo de la espectroelectroquímica que hay hasta el momento. De esta forma, se pretende tener una visión general del desarrollo de este campo de investigación, conociendo aspectos como sus ventajas e inconvenientes, sus aplicaciones, las técnicas electroquímicas y espectroscópicas que se han utilizado o las consideraciones hechas comúnmente para el diseño de celdas espectroelectroquímicas. Además, se incluirá un apartado final donde se hablará del análisis mediante inyección en flujo y su posible acoplamiento a las técnicas espectroelectroquímicas. Teniendo en cuenta todo lo tratado en dicho capítulo, estaremos en condiciones de establecer los objetivos que se pretenden alcanzar y marcar la línea de trabajo a desarrollar.

- El segundo capítulo se centra en el diseño y la fabricación de una celda espectroelectroquímica de flujo con las dimensiones adecuadas para su utilización en instrumentación comercial. Una vez fabricada, se comprobará su correcto funcionamiento como detector espectroelectroquímico al emplearse en un método de análisis mediante inyección en flujo para un sistema electroquímico de referencia. Los experimentos realizados servirán, además, para comprobar las ventajas que ofrece el uso de un detector espectroelectroquímico frente a una configuración en tándem de un derivatizador electroquímico y un detector espectroscópico.

- En los capítulos 3 y 4 se mostrarán las ventajas que presentan el empleo de un detector mixto para la detección y cuantificación de algunos analitos de interés medioambiental. En concreto, se presentará un método para la especiación de

Cu(I) y Cu(II) y otro para la determinación del herbicida imazapir. Ambos métodos están basados en el acoplamiento de las técnicas FIA con la espectroelectroquímica, algo que muy pocos autores han publicado.

- En el capítulo 3 se describe un método secuencial para la especiación de iones solubles de cobre en agua. Esta metodología se basa en el análisis espectrofotométrico de Cu(II) gracias a la detección de su complejo con cuprizona, y la determinación electroquímica de Cu(I). Ambas medidas se han sincronizado para evitar interferencias entre ambas.

- Con el método anterior se pretende demostrar que utilizando un detector mixto es posible llevar a cabo la detección y cuantificación eficiente de dos o más analitos presentes en una muestra, evitando las interferencias entre los mismos y acelerando y simplificando el método analítico.

- En el capítulo 4 se desarrolla un método para la determinación espectrofotométrica del herbicida imazapir en el rango ultravioleta. Además, se muestra cómo es posible aumentar la sensibilidad de la detección si ésta se lleva a cabo en un entorno electroquímico, originado por la polarización del electrodo de trabajo presente en el dispositivo sensor.

- Con este método se pretende demostrar que el empleo de un detector mixto puede mejorar el rendimiento de otros métodos analíticos más simples, alcanzando características que los hacen competitivos frente a otros métodos que requieren instrumentación más costosa y condiciones de trabajo más restrictivas como por ejemplo los cromatográficos.

CAPÍTULO 1

Introducción y antecedentes



1. ELECTROQUÍMICA Y ESPECTROSCOPIA

De forma muy simple, se puede definir la electroquímica como la combinación de la química con la electricidad en la que las reacciones químicas tienen lugar en disolución, en contacto con un electrodo, que se denomina electrodo de trabajo. Ambos componentes, electrodo y disolución, forman un circuito eléctrico [1]. Así, la electroquímica es una disciplina científica esencial para muchos trabajos de investigación relacionados con la transformación de materiales, la transferencia de información y la conversión y almacenamiento de energía [2]. Además, los procesos electroquímicos constituyen un amplio grupo de reacciones químicas tanto en laboratorios como a escala industrial [3].

En una de las obras claves de la electroquímica moderna [4], Bockris y Reddy dividen esta disciplina en dos partes: electroquímica iónica y electroquímica electródica. La electroquímica iónica es aquella parte de la electroquímica que trata del transporte de las especies cargadas en el seno de las disoluciones de electrolitos, mientras que la electroquímica electródica es la que trata de las transformaciones químicas que sufren las sustancias como consecuencia del intercambio de electrones a través de la interfase electrodo/disolución.



La electroquímica electródica es, sin ninguna duda, el aspecto más importante de la electroquímica, y a ella pertenecen tanto la química electroanalítica como el análisis instrumental electroquímico. Esta parte de la electroquímica proporciona excelentes métodos para la determinación de concentraciones, la obtención de parámetros termodinámicos a través de potenciales redox y la elucidación de mecanismos de reacción formales mediante análisis cinéticos.

La electroquímica electródica, a su vez, puede dividirse en electroanálisis y electroquímica fundamental [5]. La diferencia entre ellas consiste en que el electroanálisis se encarga de obtener información analítica, cualitativa y cuantitativa de las señales electroquímicas (potencial o corriente electródica), mientras que la electroquímica fundamental obtiene una información más básica acerca de los fenómenos que pudieran tener lugar en las interfases electrodo/disolución, como fenómenos de adsorción, cinéticos, catalíticos, de corrosión o de pasivación, entre otros.

Sin embargo, a pesar de que se dispone de una gran cantidad de técnicas electroquímicas [6][7], en general, éstas no permiten la identificación inequívoca de las especies electroactivas que intervienen en dichas reacciones [8][9], y la identidad molecular de las mismas debe intuirse a partir de la medida de diferentes propiedades físicas de sistemas de referencia establecidos. Por tanto, la electroquímica proporciona información limitada e indirecta de los cambios estructurales que acompañan a las transferencias electrónicas, lo que limita su aplicación para explorar reacciones de transferencia electrónica complejas [10]. Esta información debe completarse a través de medidas complementarias de separación e identificación química, normalmente de tipo espectroscópico.

Por tanto, aunque las medidas electroquímicas son las que aportan la información general en la investigación de procesos redox, resulta imprescindible el uso de técnicas espectroscópicas que proporcionen detalles estructurales del sistema electroquímico [11].

La aplicación de métodos ópticos en electroquímica puede dividirse en dos casos generales [12][13]:



- *Métodos ex situ (off-line)*: Realización de la medida espectroscópica fuera de la celda electroquímica, en un dispositivo externo. Estos métodos pertenecen a las técnicas instrumentales y químicas tradicionales para el estudio de materiales electródicos, electrodos y productos de una reacción electroquímica. Son útiles para un número muy limitado de sistemas electroquímicos, cuyos componentes no cambian sus propiedades ni durante ni después de su transferencia desde el entorno electroquímico hasta el dispositivo de medida.

- *Métodos in situ (on-line)*: Realización de la medida dentro del propio experimento electroquímico, en el mismo sistema electródico. Este tipo de acoplamiento se conoce con el nombre de Espectroelectroquímica.

2. ESPECTROELECTROQUÍMICA

La espectroelectroquímica es una técnica híbrida que combina dos métodos clásicos, la espectroscopía y la electroquímica, para obtener información química. La característica esencial de esta técnica es que las dos medidas se obtienen de forma simultánea y no de forma secuencial [14], evitando así una mala interpretación de los resultados electroquímicos debido a que la situación real en el electrodo es diferente [15].

A pesar de que existe un gran número de publicaciones sobre espectroelectroquímica desde su aparición en 1946 con la introducción de la elipsometría en un experimento electroquímico [16], no fue hasta finales de la década de 1960 cuando el término “espectroelectroquímica” fue introducido por Kuwana [17][18], quien denominó así al campo que englobaba las actividades que su grupo de investigación estaba desarrollando desde 1962.

Desde esos primeros artículos, se ha conseguido un importante desarrollo de la espectroelectroquímica, dando lugar a interesantes combinaciones que permiten el estudio de muchos tipos de sistemas químicos [19][20][21]. Tanto es así que en las últimas décadas se ha publicado un gran número de artículos en los que las técnicas espectroelectroquímicas no sólo son ampliamente utilizadas para estudios



de reacciones de transferencia electrónicas [22][23], sino que también aportan una opción prometedora para la detección química en ambientes complicados [24].

2.1. Ventajas e inconvenientes de las técnicas espectroelectroquímicas

Las técnicas espectroelectroquímicas presentan numerosas ventajas, entre las que se pueden citar las siguientes [12]:

- Acceso directo a parámetros cinéticos de las reacciones electródicas.
- Información cualitativa y cuantitativa del estado de la interfase bajo determinadas condiciones electroquímicas.
- Rápida obtención de gran cantidad de datos experimentales bajo diferentes condiciones.
- Rápida repetición de experimentos en diferentes condiciones, incluyendo la evaluación computacional de los datos.
- Adquisición simultánea de datos de diferentes técnicas en un experimento único, lo que aumenta la selectividad y la sensibilidad [25]. Este hecho se pone de manifiesto en los sensores espectroelectroquímicos basados en el cambio en la absorción óptica sensible al analito en respuesta a los cambios electroquímicos [24]. De esta forma, es posible distinguir los espectros solapados de compuestos que produzcan interferencias, por lo que se obtiene una alta selectividad [26][27][28].
- Separación de las contribuciones farádicas y no farádicas de un experimento mediante la identificación cuantitativa de los productos de reacción en el electrodo.

Las técnicas espectroelectroquímicas también presentan una serie de problemas o desventajas que deben ser considerados [12]:



- La baja concentración de los productos de las reacciones electroquímicas requiere de métodos espectroscópicos de alta sensibilidad. Todo lo contrario se requiere para la muestra, que puede ser perturbada por cambios irreversibles en la superficie electródica. Por tanto, las concentraciones deben ser mayores a las necesarias en medidas electroquímicas por razones de insuficiencia en la intensidad de las bandas. Mientras que lo adecuado para una buena respuesta espectroscópica es una concentración superior a 0.05 M, las medidas típicas de voltametría cíclica emplean concentraciones en torno a 0.001 M. Estas diferencias pueden llevar a inconsistencias, especialmente, en procesos que incluyan reacciones químicas [2].

- Estos métodos consumen mucho tiempo a la hora de poner a punto el dispositivo experimental, adquirir datos y evaluar los mismos.

- Para la obtención de propiedades no eléctricas de los sistemas electroquímicos se requieren celdas especiales, con diseños que se ajusten a los requerimientos de los métodos espectroscópicos, pudiendo contradecir los requerimientos electroquímicos en cuanto a geometría de los electrodos, composición del electrolito, volumen, etc.

- La selección de disolventes, electrolitos soporte y materiales electródicos está muy limitada por los requerimientos de la técnica espectroscópica. A veces, es necesario utilizar materiales que presenten menos ventajas electroquímicas. La elección de disolventes es relativamente sencilla para medidas en la región UV-visible. La mayor parte de los disolventes usados en electroquímica (agua, alcoholes, cetonas, nitrilos, amidas, hidrocarburos clorados, éteres cíclicos, etc.) pueden ser utilizados. Sin embargo, las fuertes bandas de absorción de estos disolventes limitan su uso en espectroscopía infrarroja.

- El método espectroscópico aplicado puede ocasionar un consumo energético en la celda, provocando cambios en la reacción electroquímica o en el equilibrio del sistema, ocasionando cambios estructurales en el mismo.



- El método espectroscópico aplicado puede requerir la incorporación de otros reactivos al medio de reacción, pudiendo ocasionar cambios en la reacción de transferencia electrónica.

2.2. Sincronización entre ambas técnicas

La instrumentación comercial disponible para realizar experimentos, tanto mediante técnicas electroquímicas como espectroscópicas, suelen carecer de facilidades para la sincronización de las medidas con eventos ajenos al propio instrumento. Este hecho se pone aún más de manifiesto cuando se utiliza instrumentación de gama media-baja.

En la mayoría de los casos, la sincronización entre ambas técnicas es del todo imposible, y cuando existe algún equipamiento destinado a tal efecto, éste suele consistir únicamente en una señal de entrada o salida, ya sea analógica o digital, que el investigador debe ser capaz de utilizar de alguna forma, para conseguir la sincronización deseada. Más aún, aunque ambos instrumentos comerciales utilizados para el método espectroelectroquímico dispongan de facilidades de sincronización, el que puedan ponerse de acuerdo sus protocolos es una tarea complicada, sobre todo si se tiene en cuenta que los fabricantes de instrumentos electroquímicos rara vez se dedican a la comercialización de instrumentación espectroscópica, y viceversa.

En la práctica totalidad de los casos se carece de cualquier tipo de sistema de control (ya sea programado o instrumental) que se encargue de realizar la sincronización y éste debe ser diseñado expresamente para la técnica y la instrumentación a utilizar.

Los requerimientos de sincronismo son muy variables en función de la técnica espectroscópica utilizada y del tratamiento que los datos adquiridos requieran posteriormente, en un intento por maximizar la relación señal/ruido y de aumentar la sensibilidad de la técnica.

La situación menos exigente es la que consiste en polarizar el electrodo con un potencial adecuado y realizar un único experimento espectroscópico mientras se



mantiene el potencial del electrodo de trabajo; pero incluso en este caso, es útil disponer de sistemas de sincronización para facilitar la automatización de experimentos.

Actualmente, sólo es posible encontrar en el mercado un instrumento diseñado para realizar estudios de espectroelectroquímica combinando en un solo equipo una fuente de luz, un bipotenciostato/galvanostato y un espectrómetro. Se trata del SPELEC [29], un instrumento desarrollado por DropSens que incluye funciones como control experimental, tratamiento de gráficos y archivos sincronizados de las medidas ópticas y electroquímicas, entre otras.

2.3. Aplicaciones de la espectroelectroquímica

Las técnicas espectroelectroquímicas permiten conocer in situ las características espectroscópicas de compuestos electrogenerados, lo que permite el estudio de especies con un tiempo de vida corto, así como conocer la reversibilidad química de estas reacciones. Además, proporcionan información sobre las especies que se adhieren o se sueltan de un catalizador o de una superficie electródica [30]. Este hecho permite elaborar, comprobar y refinar mecanismos de reacción proporcionando el conocimiento de la estructura de los intermedios [11].

Las aplicaciones más simples de las técnicas espectroelectroquímicas son las que incluyen el estudio de pares electroquímicamente reversibles, donde la especie reducida y la oxidada son estables al menos durante el tiempo del experimento. Dependiendo de las especies, hay que poner atención en el control del disolvente, el electrolito soporte y la concentración de soluto, además de la eliminación de oxígeno y la elección y preparación de los electrodos. Incluso en los casos en los que se obtiene una respuesta electroquímica reversible, las técnicas espectroelectroquímicas pueden dar lugar a cambios espectrales importantes que indican la implicación de un gran número de especies, dificultando la obtención del espectro del compuesto de interés cuando se aplica el potencial adecuado. En estos



casos, es importante considerar las diferentes escalas de tiempo y los perfiles de concentración.

Las técnicas espectroelectroquímicas también son adecuadas para el estudio de reacciones químicas activadas por una transferencia electrónica, ya que permiten la identificación de los intermedios formados durante la misma. Estos intermedios de reacción podrían ser identificados por técnicas puramente electroquímicas sólo en el caso en que su respuesta coincida con la de un compuesto conocido. En todos los demás casos, es necesario el empleo de una técnica espectroelectroquímica para este fin.

Otro tipo de reacciones para las que es útil la espectroelectroquímica son las reacciones catalíticas, que, generalmente, son de dos tipos: por un lado la catálisis por transferencia electrónica (ETC) y, el caso más común, la reacción electroquímica, lenta desde el punto de vista cinético, que es acelerada por la presencia de un segundo par redox (EC'). La distinción entre ambos casos se basa en si la reacción global incluye o no un cambio en el estado de oxidación (Figura 1).

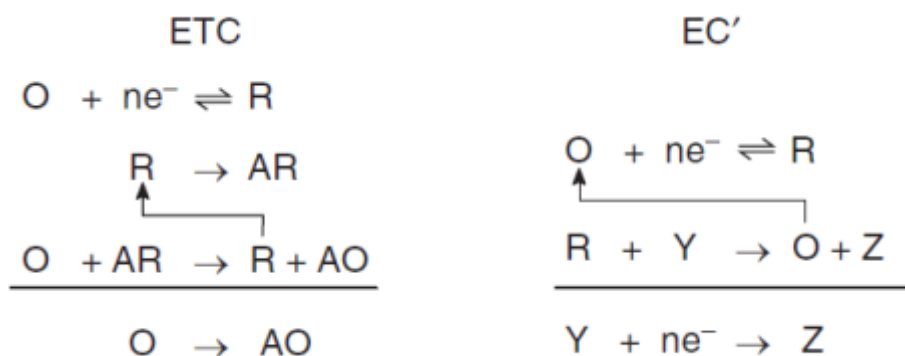


Figura 1. Esquema que distingue entre catálisis por transferencia electrónica y reacción electrocatalítica [11].

Para el primer caso, las reacciones ETC, debe ser suficiente una pequeña inyección de carga en la disolución para llevar a cabo la conversión total del compuesto inicial. Es importante destacar que la reacción debe llevarse a cabo bajo condiciones donde el tiempo de vida de la especie reactiva sea suficiente para que la reacción química sea competitiva frente a otros modos de desactivación. Los



espectros pueden usarse para identificar la presencia de bajas concentraciones de especies formadas tras la activación por transferencia electrónica. Los perfiles de concentración de los intermedios estables son la clave para determinar el mecanismo de estas reacciones.

Por el contrario, en el caso de las reacciones EC', la inyección de una sustancial carga en la disolución puede dar lugar a cambios espectrales mínimos. Las técnicas espectroelectroquímicas permiten distinguir dos tipos de reacciones EC': aquellas que incluyen un estado de reposo del complejo (lo que conlleva unos cambios espectrales mínimos o inexistentes), y aquellas en las que el complejo de partida es un precursor de las especies implicadas en el ciclo catalítico. Además, cuando se examinan con cuidado los cambios espectrales registrados durante la electrocatálisis, a pesar de ser muy sutiles, éstos proporcionan una fuente de conocimiento sobre las especies con periodos de vida largos que se forman durante el ciclo catalítico.

Las simulaciones electroquímicas proporcionan una idea de la composición de los productos intermedios formados durante el ciclo catalítico, junto con estimaciones sobre las constantes de velocidad y de equilibrio. La información espectroscópica puede ser de gran ayuda para la elucidación de los detalles moleculares de estas reacciones; sin embargo, para una deducción fiable de la estructura es necesaria la incorporación de información estructural y computacional. El rápido avance de la informática y la aplicación de conocimientos teóricos permite una aproximación más cuantitativa para la evaluación de las estructuras propuestas tras estudiar la información espectroscópica y las energías relativas de las especies propuestas [31] [32].

Las técnicas espectroelectroquímicas también juegan un papel importante en los casos donde el tiempo de vida del producto inicial de la reacción redox es relativamente corto. Además, cuando la velocidad para generar una cantidad de producto espectroscópicamente significativa es demasiado lenta, es más adecuado el uso de técnicas de flujo interrumpido o de flujo continuo. Sin embargo, el uso de una técnica espectroelectroquímica tiene la ventaja de que es posible controlar el potencial de oxidación o reducción, lo que permite, a su vez, la reversibilidad



química de la reacción de estudio. Aún así, el estudio de los intermedios de reacción es mucho más sencillo si es posible aumentar su tiempo de vida, y en muchos casos, esto puede llevarse a cabo prestando atención a la química del sistema o reduciendo la temperatura.

Otra situación donde son muy útiles las técnicas espectroelectroquímicas es en aquellos casos donde las especies electrogeneradas no pueden ser aisladas. En estos casos, es difícil asignar a las mismas un estado de carga. Para especies electrogeneradas con tiempos de vida relativamente largos, la respuesta electroquímica tras una etapa de potencial puede correlacionarse con los datos espectroscópicos para dar una estimación suficientemente buena de la carga transferida por cada molécula.

Hasta aquí se han enumerado las situaciones más favorables para el uso de técnicas espectroscópicas en la elucidación de mecanismos de reacciones redox. Sin embargo, estas técnicas también son adecuadas en otras situaciones donde entran en juego procesos de oxidación/reducción, como los estudios de corrosión.

El daño por corrosión tiene un impacto financiero del 4% del PIB [33]. Esta es la principal motivación para el desarrollo de recubrimientos de protección avanzados para varios metales y aleaciones y de técnicas analíticas avanzadas para el estudio de los cambios que se producen en las estructuras metálicas durante ataques de corrosión forzados [34].

Algunas investigaciones siguen in situ los cambios que se producen durante el proceso de corrosión en condiciones húmedas [35] o en disolución [36]. Sin embargo, son pocas las publicaciones sobre acoplamientos de técnicas de corrosión electroquímica forzada y técnicas analíticas adecuadas para su estudio. Las técnicas espectroelectroquímicas [37][38][39][40] están ganando importancia en este aspecto, ya que son adecuadas para el seguimiento simultáneo o posterior de procesos de corrosión que tienen lugar en la superficie de los metales o en la estructura de películas de protección.

También, las técnicas espectroelectroquímicas están encontrando numerosas aplicaciones puramente analíticas, como es el caso del desarrollo de sensores



espectroelectroquímicos para la detección química gracias a la combinación de técnicas espectroscópicas y electroquímicas. Esta técnica se basa en el cambio de alguna propiedad óptica en respuesta a un cambio electroquímico, por lo que puede distinguirse entre los diferentes compuestos interferentes, y se puede obtener una alta selectividad [26][27][28]. Al aplicar un potencial determinado, se produce la reducción u oxidación de un analito concreto, que además, absorberá o emitirá a una longitud de onda específica. De esta forma, al fijar estos dos parámetros es posible reducir al máximo el número de interferencias en la medida.

Una de las más recientes incorporaciones a esta área ha sido un grupo de artículos publicados por Heineman y su grupo de investigación, donde se describen varios aspectos analíticos de un sensor espectroelectroquímico [41].

3. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS USADAS EN ESPECTROELECTROQUÍMICA

La investigación moderna en espectroelectroquímica se caracteriza por la combinación de diferentes métodos espectroscópicos para el estudio detallado de mecanismos de reacciones electroquímicas o complejos sistemas electródicos [15].

Si se considera la reacción de un sistema redox orgánico neutro, se empieza con la transferencia de un electrón, lo que da lugar a un radical iónico. La técnica espectroscópica que debería utilizarse para comprobar la existencia de una estructura paramagnética es la resonancia de espín electrónico (ESR) [42]. Sin embargo, a la hora de elegir el método espectroscópico más adecuado, el factor más importante es la facilidad de aplicación del mismo [43]. Así, aunque el electrón desapareado puede ser caracterizado por esta técnica, la disponibilidad de la misma y los requerimientos de los sistemas electroquímicos restringen su aplicabilidad a muy contadas ocasiones.

Por esta razón, es necesario emplear otro método espectroscópico para detectar estos intermedios, como la espectroscopía UV-visible o de infrarrojo (IR), que ofrecen una mejor resolución.



Además de los métodos espectroscópicos ya mencionados, existen otros que proporcionan una información estructural más detallada. Entre los candidatos, la espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) es el método más extendido y con celdas más eficientes, mientras que la resonancia magnética nuclear (RMN) es imprescindible para conocer detalles estructurales de moléculas y sólidos, aunque tiene una baja aplicabilidad. Por otro lado, la espectroscopía Raman se ha convertido en una herramienta poderosa, especialmente para el estudio de nanoestructuras [12][44].

La incidencia de la luz en una interfase dieléctrica puede dar lugar a varios procesos, entre los que se encuentran la reflexión, la absorción o la dispersión [45]. En un experimento espectroscópico, la intensidad de la luz que incide sobre una superficie, I_0 , es comparada con la que se transmite a través del medio ($T = \frac{I_0}{I_T}$), la que es dispersada ($S = \frac{I_0}{I_S}$) o reflejada por el mismo ($R = \frac{I_0}{I_R}$).

Los procesos más importantes de interacción de la luz con la interfase son la reflexión, la transmisión y la dispersión elástica de la luz. La dispersión inelástica, como es el caso de la dispersión Raman, es un fenómeno menos importante, aunque también muy utilizado.

De forma general, los métodos espectroscópicos más usados en espectroelectroquímica [2][46][47] incluyen la espectroscopía de absorción en el ultravioleta (UV), el visible [48], el infrarrojo cercano (NIR) [49] o la zona de IR [50][51]. La espectroscopía Raman [52] o las técnicas de resonancia magnética [53] también son utilizadas en espectroelectroquímica. Mientras que las dos últimas técnicas están restringidas a especies con electrones desapareados, los otros métodos espectroscópicos exploran las transiciones electrónicas y vibracionales.

Menos común, pero también utilizadas en espectroelectroquímica, se pueden citar la resonancia magnética nuclear (RMN) [13][54], la espectroscopía de absorción de rayos X (XAS) [55] y la luminiscencia en UV-visible [56], entre otras.

La Figura 2 muestra geometrías ópticas comunes utilizadas para medidas de transmisión y reflexión en espectroelectroquímica.

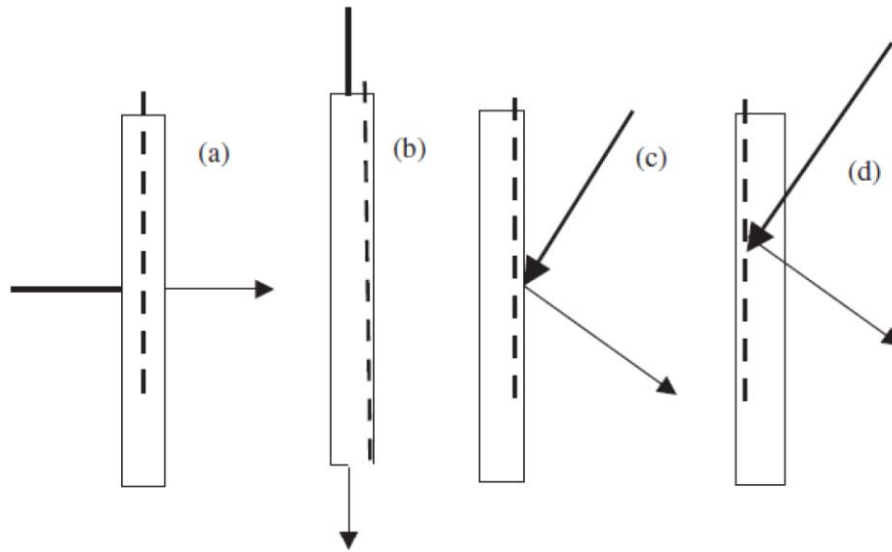


Figura 2. Configuraciones ópticas comunes para celdas espectroelectroquímicas. La línea gruesa representa el haz de luz incidente y la línea delgada representa la luz detectada en transmisión normal al electrodo (a), transmisión paralela al electrodo (b), reflexión externa (c) e interna (d). La línea discontinua muestra la interfase electrodo/disolución y el prisma representa la cámara de muestra donde está contenida la disolución de estudio [45].

Los experimentos de transmisión óptica son los más comunes. Se basan en la medida de la disminución de la intensidad de la luz incidente, I_0 , provocada por el paso de la misma a través de un medio absorbente [57] [58]. Esta disminución de la intensidad depende de la longitud de onda en la que se mida. En un experimento convencional, la disposición óptica minimiza la contribución de la dispersión y la reflexión por la muestra, por lo que la principal contribución a la disminución de I_0 proviene de la absorción, por lo tanto, la absorbancia se puede definir con la fórmula $A = -\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\log T$.

En los experimentos de transmisión o absorción en espectroelectroquímica es importante minimizar la reflexión y la dispersión para obtener una buena relación señal/ruido. Esto es bastante difícil de conseguir, ya que, generalmente, el electrodo de trabajo presenta una superficie refractaria, provocando distorsiones en las señales ópticas obtenidas en el experimento. El uso de electrodos ópticamente transparentes de forma que el haz de luz incidente sea perpendicular a la superficie electródica (Figura 2A) reduce significativamente estas



interferencias. Una alternativa a esta configuración sitúa el haz de luz de forma paralela al electrodo (Figura 2B).

En los experimentos de reflexión interna (Figura 2D), el rayo de luz pasa a través de la disolución y se refleja sobre la superficie electródica para volver a la disolución [47]. Por el contrario, los experimentos de reflexión externa (Figura 2C) se basan en hacer incidir el rayo de luz sobre la cara exterior del electrodo en un ángulo tal que permita la reflexión total del mismo [59]. Los cambios espectrales que se producen cerca del electrodo se observan gracias a la penetración del vector de campo eléctrico en la disolución [60]. La sensibilidad para ambos tipos de reflexión puede ser incrementada con sucesivas reflexiones.

Las técnicas espectroscópicas de dispersión y luminiscencia también han sido acopladas con la electroquímica. En las técnicas de dispersión Raman (Figura 3), la excitación es llevada a cabo por un láser que incide directamente sobre la disolución que se encuentra en contacto con el electrodo, observándose la dispersión del haz de luz [61].

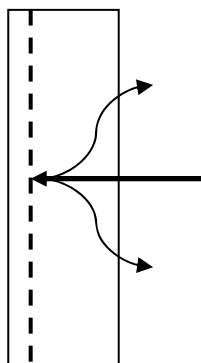


Figura 3. Configuración óptica común para celdas espectroelectroquímicas de Raman. La línea gruesa representa el haz de luz incidente y la línea delgada representa la luz dispersada. La línea discontinua muestra la interfase electrodo/disolución y el prisma representa la cámara de muestra donde está contenida la disolución de estudio [60].

Por otro lado, un rayo de luz puede atravesar la celda electroquímica provocando la fluorescencia de las especies electrogeneradas [62]. Además, muchas celdas electroquímicas se han utilizado para obtener el espectro de RMN de las especies electrogeneradas [57] [63]. También es posible encontrar ejemplos del acoplamiento de la espectrometría de masas en una celda electroquímica [64].



La IUPAC ha clasificado todos los métodos espectroscópicos que se aplican en electroquímica [65] basándose en la transmisión, reflexión o dispersión de la radiación electromagnética. También, incluye métodos espectroscópicos basados en la polarización de la luz, técnicas basadas en rayos X, técnicas de resonancia magnética y métodos basados en la emisión de la luz (Figura 4).

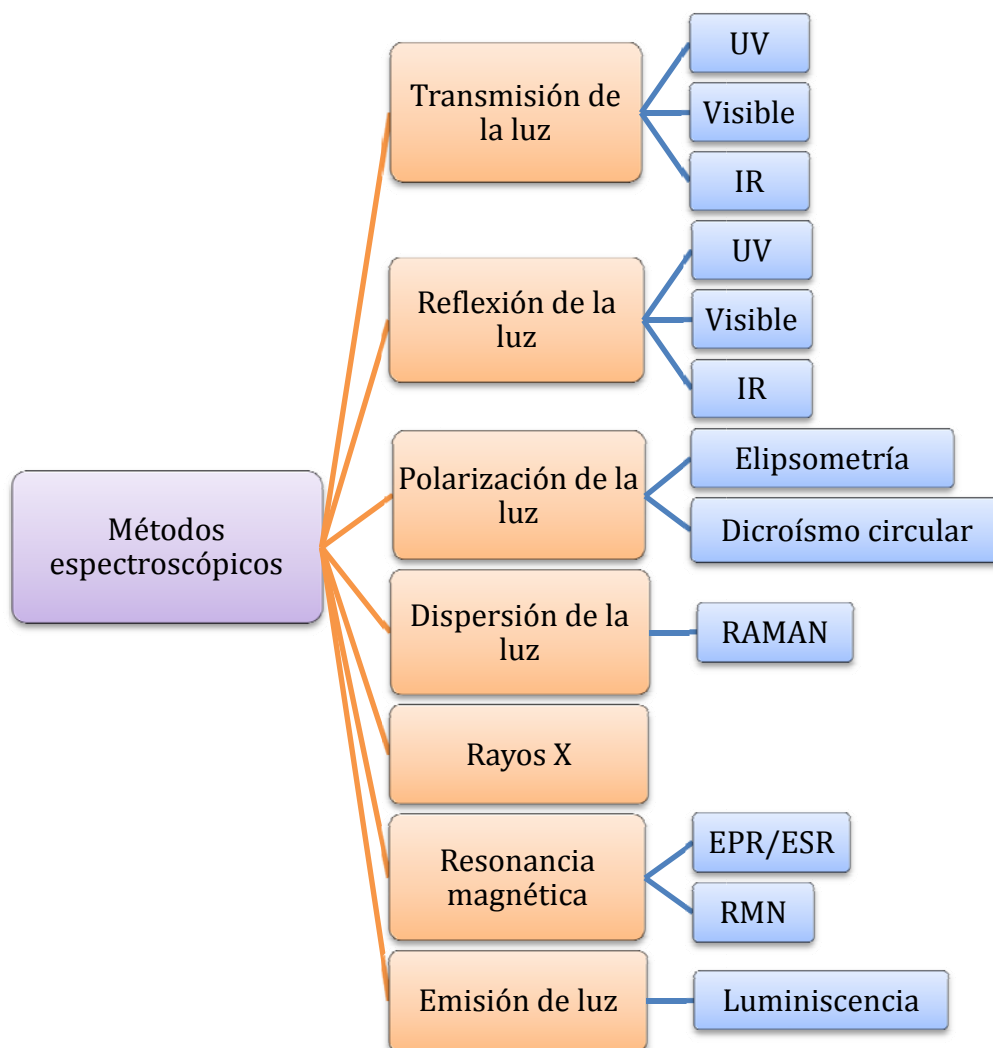


Figura 4. Esquema de los diferentes métodos espectroscópicos usados en electroquímica.



3.1. Espectroscopía UV-visible

Los primeros ejemplos de técnicas espectroelectroquímicas en la década de 1960 empleaban la espectroscopía UV-visible para monitorizar el perfil de concentración de las especies redox disueltas [17]. Usando un detector UV-visible es posible adquirir espectros, dependientes del tiempo o del potencial, de reactivos, intermedios y productos de reacciones electródicas, lo que hace posible la elucidación de mecanismos de reacción y su cinética [66].

Después de estas primeras publicaciones, hubo una gran cantidad de publicaciones en el área de la espectroelectroquímica UV-visible durante los años siguientes [57][58].

La espectroelectroquímica UV-visible ha sido muy utilizada para la investigación de mecanismos de reacción de procesos de transferencia electrónica donde se producen intermedios o productos coloreados [7].

El uso de esta técnica es probablemente mucho más predominante que el de los demás métodos espectroscópicos, ya que la mayor parte de las sustancias orgánicas y los complejos metálicos de coordinación muestran espectros de absorción [67]. En general, cualquier especie que tenga un sistema de dobles enlaces alternativos absorbe la luz ultravioleta, y cualquier molécula coloreada absorbe la luz del visible, haciendo que esta técnica espectroscópica sea aplicable en un amplio rango de compuestos orgánicos, inorgánicos y biológicos [48].

Quizás, el experimento espectroelectroquímico más sencillo para UV-visible es hacer incidir el rayo de luz en la superficie electródica y medir el cambio de absorbancia resultante de las especies que se producen o se consumen en el proceso electródico (Figura 5). El prerrequisito obvio para este tipo de configuración es el empleo de un electrodo ópticamente transparente [68][69].

Los experimentos de transmisión en UV-visible pueden ser de dos tipos: estudios de la absorbancia a una determinada longitud de onda frente al tiempo mientras que el potencial de electrodo está fijo o varía de forma escalonada, o estudios de barridos de longitudes de onda para obtener los espectros de las especies electrogeneradas.

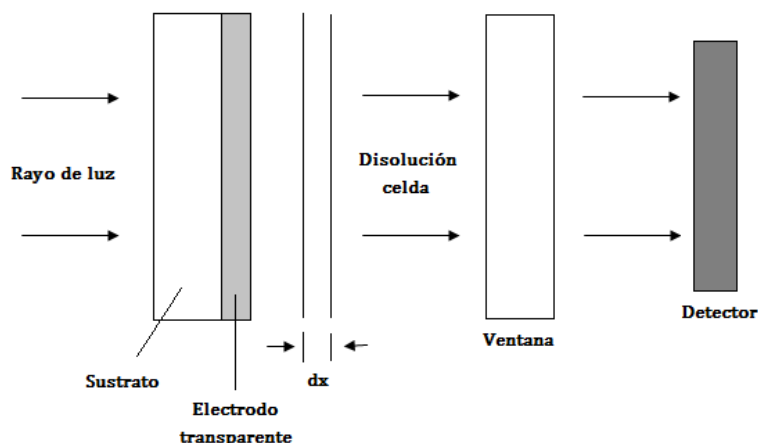


Figura 5. Esquema del dispositivo experimental para experimentos espectroelectroquímicos de transmisión [6].

Los métodos espectroelectroquímicos de transmisión en UV-visible pueden ser especialmente útiles para conocer detalladamente una secuencia compleja de transferencias de carga mediante medidas electroquímicas indirectas [70], sobre todo en especies biológicas como las enzimas, que generalmente no se someten a un intercambio directo de carga con el electrodo por impedimentos estéricos. En estos casos, se emplean pequeñas moléculas llamadas mediadores [71] que intercambian carga de forma heterogénea con el electrodo y de forma homogénea con la molécula de estudio. Estas moléculas proporcionan un mecanismo para la aplicación y el mantenimiento del equilibrio electroquímico con la macromolécula; por lo tanto, son especialmente útiles para la caracterización del potencial estándar de los centros redox de las macromoléculas.

Por otro lado, las medidas de reflectancia en espectroelectroquímica UV-visible son atractivas para la evaluación de las constantes ópticas de los metales y otros materiales, particularmente, en forma de películas, cuyas propiedades pueden diferir marcadamente de las de los sólidos [47]. Probablemente, la aplicación más importante de la espectroscopía de reflectancia en electroquímica es la monitorización de películas en la superficie electródica y capas de adsorción [72].

Las constantes ópticas de los materiales pueden ser de interés para definir la estructura de la banda o localizar estados superficiales, o pueden ser necesarios para estudios posteriores [73].



Otra aplicación importante de la espectroelectroquímica UV-visible es el estudio de materiales electrocromáticos [74][75][76]. El electrocromismo se define como el fenómeno que presentan los materiales que cambian de color de forma reversible cuando se aplica una corriente eléctrica o un potencial [77]. En otras palabras, se produce una absorción nueva o diferente en el rango del visible acompañada de una transferencia electrónica o una reacción redox en la que la especie gana o pierde un electrón [78].

Los materiales electrocromáticos pueden clasificarse en cinco familias distintas [79], que incluyen los óxidos metálicos [80], los complejos de coordinación [81], los polímeros conjugados [82], los polímeros derivados de la arilamina y algunas moléculas pequeñas como los viológenos [83]. Los viológenos son sales de 4-4'-bipiridinio sustituidas en la posición 1,1' [84]. Estos compuestos son incoloros en su forma dicatiónica, que es su estado de oxidación más estable. Cuando se transfiere un electrón al material, el radical resultante adquiere un color intenso que va a depender de la naturaleza del sustituyente.

Otra forma de clasificar estos materiales es en función de su estructura química. El primer grupo lo forman los materiales inorgánicos que tienen al menos un estado coloreado y uno incoloro, como el WO_3 [85], el NiO_2 [86] y el TiO_2 [87].

El segundo grupo lo forman los materiales orgánicos, que incluyen polímeros conjugados y pigmentos. Los pigmentos son pequeñas moléculas orgánicas transparentes en su forma dicatiónica y que se vuelven coloreadas cuando se reducen. Los polímeros conjugados han acaparado la atención gracias a su facilidad de procesado, su rápido tiempo de respuesta y los altos contrastes ópticos, así como la facilidad que tienen para modificar su estructura para crear dispositivos [88].

El electrocromismo visible es muy útil para muchas propuestas, sobre todo si el color de la especie oxidada es marcadamente diferente al de la especie reducida [89]. Así, esta propiedad se ha utilizado para muchos tipos de aplicaciones [77][90], como cristales inteligentes [91][92][93], pantallas electrónicas [94] [95], materiales de camuflaje [96], almacenamiento de datos [97], comunicación óptica o control de temperatura en edificios [98].



3.2. Espectroscopía IR

Para que una molécula absorba la radiación IR deben darse dos condiciones [99]: primero, la molécula debe situarse dentro de un campo magnético que oscile a la misma frecuencia en la que se produce la vibración de la molécula; y segundo, durante la vibración de la molécula debe producirse un cambio en el momento dipolar con una componente en la misma dirección que el vector de campo eléctrico [100]. El mecanismo de absorción incluye la interacción entre el momento dipolar oscilante y el campo eléctrico oscilante.

Un espectro completo de IR consiste en un grupo de bandas en una región de frecuencias determinadas, asignables a un grupo de átomos de una molécula (por ejemplo, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$, $\text{C}=\text{O}$). El propósito de la espectroscopía IR es determinar la presencia de estos grupos funcionales en las moléculas de interés, para testear su pureza y, algunas veces, para identificarla o conocer ciertos detalles sobre su estructura.

En espectroelectroquímica IR, las especies son estudiadas en la superficie electródica y en la zona de disolución más cercana a la misma, es decir, en la interfase electrodo/disolución [51][101][102][103]. La configuración más habitual es el modo de reflexión externa, donde la radiación infrarroja pasa a través de una ventana y de una capa fina de disolución, se refleja en el electrodo y es detectada [104][105]; aunque también se han publicado otras configuraciones basadas en la reflexión interna o reflexión total atenuada [106][107][108], que se utiliza para monitorizar a tiempo real [109], y la reflectancia difusa [110]. Esta última variante, conocida como DRIFTS (*Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy*), se basa en recoger la radiación reflejada en todas las direcciones por superficies rugosas.

En el modo de reflexión externa (Figura 6), la anchura de la capa de la disolución a estudiar está determinada por la posición relativa del electrodo de trabajo y la ventana; debe ser de entre 1 a 100 μm , porque la mayor parte de los disolventes absorben la radiación IR [111]. En la mayoría de los casos, el electrodo auxiliar y el de referencia se colocan fuera de la capa de disolución estudiada.

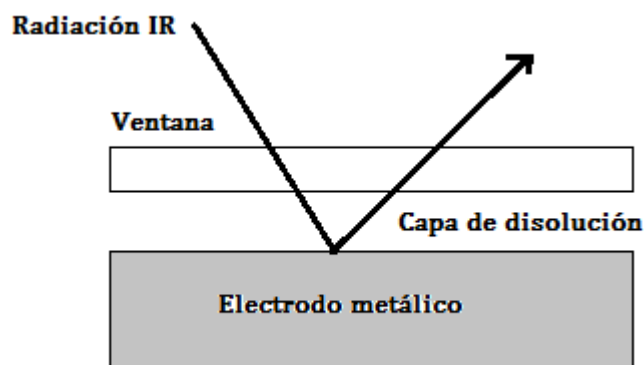


Figura 6. Esquema de la configuración de reflexión externa para espectroelectroquímica de infrarrojo [6].

Otro factor importante que hay que considerar es el material de la ventana óptica, que debe ser transparente a la radiación IR y, a su vez, insoluble en la disolución de interés.

También es importante que el diámetro del electrodo de trabajo coincida con el diámetro del rayo de infrarrojo, es decir, 3-5 mm. El electrodo debe estar fabricado en un material que sea altamente reflectante en el rango energético de interés [11]. Los materiales más adecuados son Au y Pt, sin embargo, se ha demostrado que el carbón vítreo es suficientemente reflectante en infrarrojo para ser adecuado para este tipo de técnicas. Generalmente, el electrodo de trabajo se encuentra envuelto en un aislante inerte, como vidrio o Kel-F.

Las técnicas de reflexión externa en IR no presentan demasiados inconvenientes operacionales, por lo que se han publicado una gran variedad de artículos que incluyen estrategias para el estudio de compuestos sensibles al aire [48][112] y estudios en un amplio rango de temperaturas [113][114] y/o presión [115]. También son muy usadas para estudiar una gran variedad de electrodos, como los de materiales masivos o los electrodos metálicos de cristal único [116].

En este tipo de configuración, debido a que la capa de disolución es muy fina, la absorbancia de la especie de interés es generalmente mucho más pequeña que la del resto de la disolución, por lo que es necesario emplear técnicas diferenciales o



de modulación para obtener señales útiles. Es posible modular tanto el potencial como la polarización de la radiación incidente [43].

La técnica en la que se modula el potencial es conocida como EMIRS (*Electrochemically Modulated Infrared Spectroscopy*) [117]. En esta técnica, el potencial es modulado entre la situación donde la especie de interés está ausente y la situación donde ésta es electroquímicamente generada. Así, esta técnica permite la detección de especies electrogeneradas discriminando el disolvente y el resto de las especies disueltas. Evidentemente, el sistema electroquímico que vaya a ser estudiado mediante esta técnica debe ser reversible y rápido para que esta metodología aporte resultados útiles [118].

Los espectrómetros de IR más modernos explotan las múltiples ventajas de acoplar la transformada de Fourier rápida a la medida espectroscópica [119]. La técnica espectroelectroquímica correspondiente se conoce como SNIFTIRS (*Subtractively Normalized Interfacial Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), que es muy útil para monitorizar la dinámica de los procesos electroquímicos [120][121][122]. En esta configuración se sustituye el monocromador por un interferómetro. Las señales obtenidas son un interferograma, que representa la intensidad detectada en función de la posición de la lente del interferómetro.

Como los espectrómetros de IR modernos son capaces de obtener los interferogramas en cuestión de milisegundos, es posible obtener un gran número de ellos en muy poco tiempo. Aplicando la transformada de Fourier inversa, el resultado puede convertirse en un espectro de IR convencional. Los espectros se obtienen a dos potenciales diferentes, uno donde el proceso electroquímico de interés esté ocurriendo y otro donde no. La resta normalizada de absorbancias a cada longitud de onda da como resultado el espectro final.

Por otro lado, una forma de modular la polarización de la radiación incidente es mediante el uso de un modulador fotoelástico, en una técnica conocida como IRRAS (*Infrared Reflection Absorption Spectroscopy*) [47]. En esta técnica, el potencial de electrodo se mantiene fijo durante la adquisición del espectro.



La IRRAS es una herramienta adecuada para conseguir información sobre la naturaleza de los adsorbatos, su orientación relativa en la superficie del electrodo, los átomos que forman la interacción con la superficie metálica, la naturaleza de las interacciones moleculares en la interfase y la influencia del disolvente [123][124].

El espectro final obtenido por esta técnica tiene la apariencia de un espectro normal de IR, ya que sólo se representa la capa superficial a un potencial dado. Sin embargo, los espectros resultantes en las otras técnicas antes citadas suelen dar espectros con picos positivos y negativos, ya que la señal de fondo no es totalmente eliminada y puede contribuir con una señal negativa en el resultado final.

La probabilidad de absorción IR por parte de una molécula puede ser significativamente incrementada cuando se evaporan láminas de ciertos metales como Au y Ag [125] para formar una estructura de islas que proporciona sitios de adsorción de la molécula de interés [126]. Este fenómeno, que está relacionado con un efecto ampliamente estudiado para espectroscopía Raman es producido por una mejora del campo eléctrico óptico a través del acoplamiento de la radiación en el metal y al aumento de la polarizabilidad de las moléculas causada por quimisorción. Esta técnica se conoce como SEIRAS (*Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy*) [127][128].

De forma general, los métodos infrarrojos se han empleado para estudiar especies adsorbidas (reactivos, intermedios, productos), para examinar especies producidas en la disolución que se encuentra entre el electrodo y la ventana óptica, y para examinar la doble capa eléctrica. Estos métodos son especialmente útiles para especies que tienen un alto coeficiente de absorción en el infrarrojo, como CO [129] y CN⁻ [130]. En los casos favorables, es posible obtener información sobre la orientación de las moléculas adsorbidas y sobre la dependencia de la adsorción con el potencial.

3.3.Elipsometría

Se sabe que la reflexión de una luz polarizada de forma lineal sobre una superficie generalmente produce una luz polarizada de forma elíptica, debido a



que los componentes paralelo y perpendicular se reflejan con diferentes eficiencias y diferentes fases. Es posible medir esos cambios en la intensidad y el ángulo de fase y usar estos datos para caracterizar el sistema donde se produce la reflexión, con una técnica que se conoce como elipsometría [131].

Los parámetros básicos de elipsometría se definen en la Figura 7. La diferencia del ángulo de fase entre la componente paralela y la perpendicular es dada por Δ , y la relación entre las amplitudes del campo eléctrico definen el segundo parámetro, Ψ . Los valores para estos dos parámetros pueden ser obtenidos en función de otros parámetros experimentales como el potencial o el tiempo.

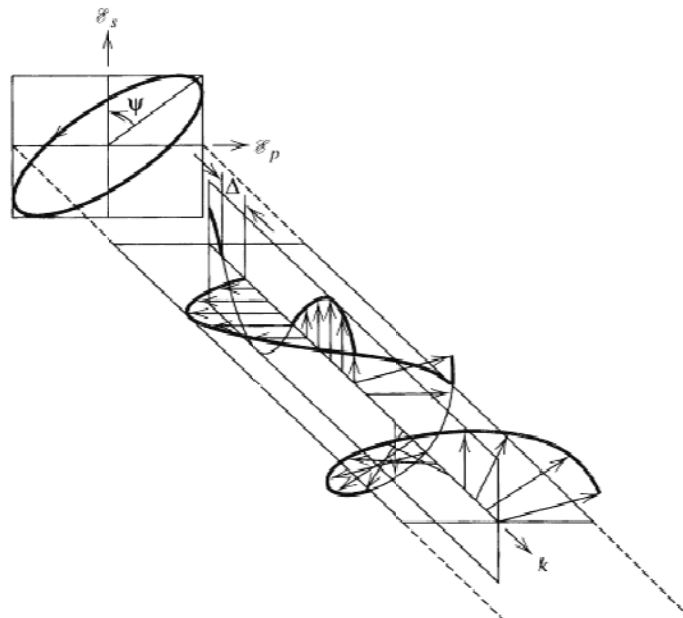


Figura 7. Polarización elíptica resultante de un desplazamiento de fase entre la componente perpendicular y la paralela [6].

La mayor parte de los experimentos elipsométricos se hacen actualmente con equipamiento automatizado y controlado por ordenador. Una configuración típica de esta técnica consiste en un polarizador fijo y un analizador que está continuamente rotando a 50-100 Hz. El resultado es una respuesta sinusoidal que puede ser analizada para obtener los valores de Ψ y Δ [132].

La elipsometría es ampliamente utilizada para estudiar el crecimiento de películas sobre la superficie electródica, ya que la precisión con la que Δ y Ψ



pueden ser medidos permite determinar cambios correspondientes a fracciones en las monocapas. Esta sensibilidad es utilizada para el estudio del crecimiento de películas de óxido sobre los metales [133] o para el estudio de películas de polímeros conductores [134] [135]; resultando esta última aplicación muy útil para la elucidación de las primeras etapas de crecimiento del polímero que se producen después de la etapa de iniciación del proceso.

En elipsometría, las películas homogéneas son caracterizadas por tres parámetros: la parte real e imaginaria del índice de refracción y la anchura de la película. Sin embargo, las medidas de elipsometría convencional sólo dan los valores de dos ángulos experimentales, Ψ y Δ . Hay dos formas en las que es posible obtener información adicional: midiendo simultáneamente la intensidad de la luz reflejada o alguna otra propiedad óptica de la película a una determinada longitud de onda, o midiendo los valores de Ψ y Δ a diferentes longitudes de onda y comparando modelos teóricos que se ajusten a esos datos, suponiendo una anchura de la película constante.

Este último método se conoce como elipsometría espectroscópica, y se ha vuelto muy importante en los últimos años como requerimiento para el estudio de estructuras físicas de películas, sobre todo en el caso de complejos metálicos basados en ligandos heterocíclicos que pueden ser polimerizados electroquímicamente, generalmente mediante oxidación del monómero, en una superficie electródica [136].

3.4. Dicroísmo circular

El dicroísmo circular se expresa frecuentemente como la propiedad que poseen algunos materiales de absorber la luz en diferentes grados dependiendo de la forma de polarización del haz incidente [137]. Se dice que un material presenta dicroísmo circular cuando la absorción de la luz circularmente polarizada en una dirección es diferente de la absorción de la luz circularmente polarizada en la dirección opuesta (Figura 8).

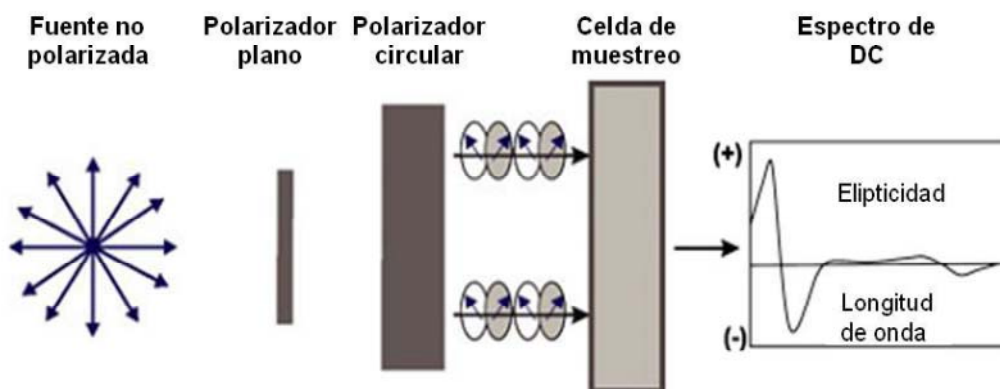


Figura 8. Esquema de dicroísmo circular en el que se mide la diferencia en absorción [138].

Cuando la luz se polariza circularmente, surge un componente secundario de absorbancia. Este componente se mide como el cambio entre la luz polarizada circularmente en una dirección y en otra, y la diferencia resultante se expresa como absorbancia [139].

Las moléculas quirales tienen la ventaja de poseer índices de refracción diferentes para la luz polarizada circularmente en una dirección y en otra (dextrógira o levógira, derecha o izquierda), es decir, los haces de luz viajan a diferentes velocidades y son absorbidos en diferentes grados dependiendo de cada energía [140]. Esto significa que los coeficientes de extinción molar para la luz circularmente polarizada levógira y dextrógira son diferentes. La absorbancia diferencial entre ambas se representa gráficamente frente a la longitud de onda para producir el espectro de dicroísmo circular [141].

La espectrometría de dicroísmo circular es un método óptico importante para el estudio de moléculas quirales en disolución con pequeño volumen de muestra, bajos límites de detección, pocas interferencias y una alta selectividad [142]. Esta técnica es muy utilizada en áreas como la biología o la química farmacéutica [143][144], donde encuentra múltiples aplicaciones en el análisis conformacional del ADN [145] y otros péptidos [146][147].

La espectroelectroquímica de dicroísmo circular permite la adquisición simultánea de información electroquímica y espectral de moléculas quirales [148]



[149]. Esta metodología ha sido empleada para estudiar cambios conformacionales y mecanismos electroquímicos de moléculas con estereoisomería, especialmente aquellas cuyos centros quirales no sufren cambios significativos en su espectro de UV durante el proceso electroquímico.

Extraer información de estos experimentos es bastante complicado, por lo que es necesario el empleo de herramientas matemáticas [150] para descomponer los espectros de dicroísmo circular y obtener información útil.

El estudio de moléculas quirales es muy importante, ya que la combinación de la quiralidad con la conductividad eléctrica proporciona a los materiales orgánicos policonjugados una gran variedad de características que los hacen muy atractivos [151], como un orden espontáneo en la cadena inducida por quiralidad [152], la ausencia de centro-simetría (que es un requisito para algunas aplicaciones ópticas [153]), la habilidad de discriminar entre enantiómeros (que es un requisito indispensable en el diseño de sensores químicos para la detección de un analito quiral [154][155]), o la habilidad para actuar como superficies electródicas quirales para reacciones redox asimétricas [156].

3.5. Espectroscopía Raman

Los experimentos de dispersión Raman se basan en la excitación de una muestra con una luz que no es absorbida por la misma. La mayor parte de la luz atraviesa el sistema o es elásticamente dispersada; es decir, es dispersada sin que se produzcan cambios en la energía del fotón (efecto Rayleigh). Sin embargo, algunos fotones intercambian energía con la muestra y son dispersados inelásticamente, con un cambio en la longitud de onda que refleja la ganancia o la pérdida de energía. Este proceso es el llamado efecto Raman [157] [158] y proporciona información cualitativa sobre la muestra a partir de los cambios característicos de la energía observados en los fotones dispersados.

El proceso de dispersión puede verse en la Figura 9A. Puede suponerse que el fotón incidente eleva a la molécula a un “estado virtual”, que es un estado no estacionario del sistema. La inmediata reemisión sin pérdida de energía origina el



efecto Rayleigh (R'), mientras que la reemisión a un estado final diferente del estado original da lugar a la dispersión Raman (R_1 y R_2). Como puede verse en el esquema, el efecto Raman producirá luz con diferencias discretas de energía con respecto a la radiación inicial. Estas diferencias se corresponden con los modos normales de vibración de la molécula, que están cuantizados.

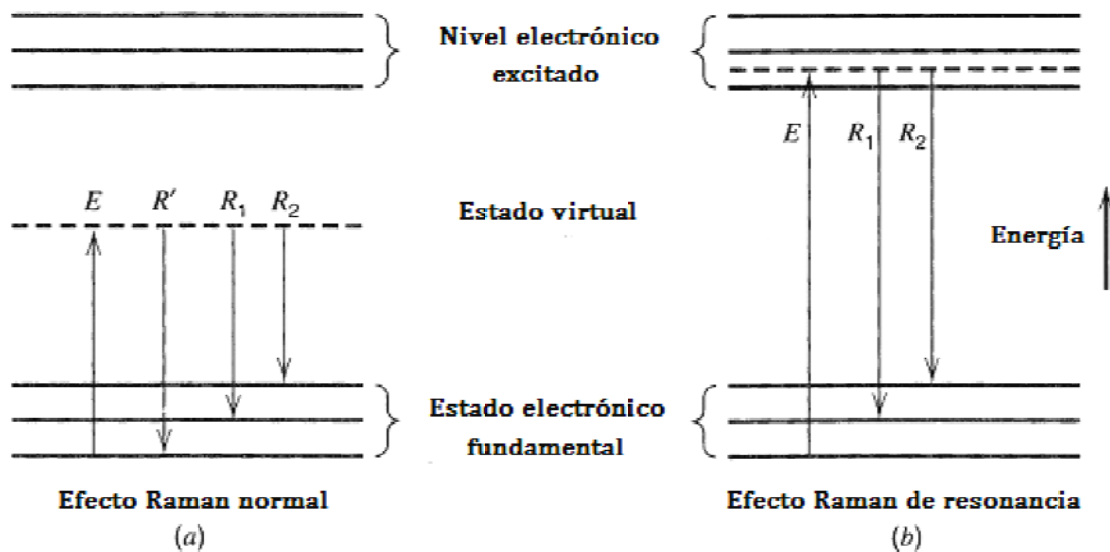


Figura 9. Esquema de la dispersión Raman donde se muestra la excitación (E) a un estado virtual no estacionario, seguida de la dispersión Rayleigh (R') sin cambio en la energía, o la dispersión Raman (R_1 y R_2) con cambios cuantizados de energía. La figura (a) muestra el efecto Raman normal, con excitación en una región no absorbente, y la figura (b) muestra el efecto Raman de resonancia, que incluye la excitación muy cerca de una transición permitida [6].

Generalmente, se suelen estudiar las líneas de Stoke, que son las emisiones Raman de menor energía que la radiación de excitación. Sin embargo, el fotón dispersado también puede tener una energía mayor que la radiación de excitación por ser dispersado por un sistema con alguna activación vibracional inicial. Estas líneas de anti-Stokes son, generalmente, menos útiles por su baja intensidad.

La probabilidad de que se produzca la dispersión Raman depende de ciertas reglas de selección, pero en la mayor parte de los casos es demasiado pequeña; por



lo tanto, los experimentos deben contar con fuentes de luz intensas y concentraciones elevadas de muestras.

La espectroscopía Raman proporciona información molecular vibracional complementaria a la que aporta la espectroscopía de IR. Sin embargo, como ésta tiene lugar con excitación y detección en la región visible del espectro electromagnético, puede emplearse en celdas electroquímicas con ventanas de vidrio y en disoluciones acuosas, al contrario de lo que ocurre cuando se emplea la espectroscopía de IR.

En espectroscopía Raman, es esencial el empleo de una fuente de luz monocromática, ya que en esta técnica se miden incrementos pequeños de energía del orden de 100 a 3000 cm^{-1} . El láser es una opción que actualmente está siendo muy utilizada cuando se requiere una alta intensidad en la señal de respuesta, mientras que se suele emplear un monocromador de alta resolución para separar las líneas Raman de la línea de dispersión Rayleigh, que es más intensa.

En experimentos espectroelectroquímicos, las medidas suelen hacerse para especies que se encuentran dentro de la celda [159], por lo que es posible monitorizar tanto las especies disueltas como aquellas que se encuentran adsorbidas en la superficie electródica [160]. Así, esta técnica es una herramienta poderosa para el estudio de baterías de litio [161][162], celdas de combustible [163] y otros dispositivos moleculares [164]. Además, se ha convertido en una técnica analítica importante en otros muchos campos de la ciencia, como la química, la medicina y las ciencias de la vida [165][166].

La mayor parte de los experimentos Raman que tienen lugar en espectroelectroquímica utilizan técnicas que son capaces de provocar un aumento de las señales. Un ejemplo es la espectroscopía Raman de resonancia (RRS, *Resonance Raman Spectroscopy*) [158], donde se produce un aumento de la señal cuando la longitud de onda de excitación se corresponde con una transición electrónica de la molécula.

En la Figura 9B puede verse un esquema del proceso que tiene lugar en la RRS. La excitación tiene lugar dentro de una banda de absorción hacia estados virtuales



cercanos de la misma energía que uno de los estados estacionarios del sistema. La interacción electrónica cercana a la resonancia permite a la molécula interactuar de forma más efectiva con la luz, dando lugar a un factor de mejora de la señal de entre 10^4 y 10^6 en la probabilidad de dispersión.

Esta técnica está encontrando muchas aplicaciones para la caracterización de materiales basados en el carbono [167][168], como los nanotubos [169][170] o el grafeno [171][172]. Así, se obtiene información sobre la distribución de diámetros [173], los tipos de nanotubos [174][175], los defectos [176], las cadenas [177] o el dopado [178][179].

La RRS puede emplearse también para examinar especies electrogeneradas disueltas [180]. El alto contenido de información que contienen estos espectros puede emplearse para identificar productos de electrolisis que son desconocidos [181], o pueden utilizarse para conocer las propiedades electrónicas y vibracionales de las especies de estudio [182][183].

También es posible la obtención de datos Raman de especies que se encuentran en la capa de difusión [184]; para ello se registran diferentes espectros mientras que el electrodo sufre un proceso cíclico de dos etapas: una primera que implica un corto periodo de electrolisis y una etapa de reversión.

De forma alternativa, también es posible hacer el seguimiento de una línea de Raman durante todo el tiempo que dure el experimento [184]. La intensidad de la línea Raman cuantifica la cantidad de producto electrogenerado o de reactivo consumido. Estos experimentos son extremadamente selectivos, ya que la línea Raman monitorizada es tan fina que el hecho de que se produzcan interferencias debidas a otras especies en disolución es prácticamente imposible.

Más frecuentemente, las técnicas espectroelectroquímicas de Raman se emplean para examinar especies adsorbidas en la superficie, ya que éstas presentan un aumento de la señal Raman. Este efecto se emplea en la espectroscopía Raman mejorada por la superficie (SERS, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*) [43][100][111][185], aunque también es posible obtener espectros de monocapas con espectroscopía Raman normal [186][187].



La mayoría de las publicaciones sobre estudios de adsorción en la superficie electródica se basan en la SERS [188]. En esta técnica, la señal Raman es aumentada entre 10^5 y 10^6 veces cuando la molécula se encuentra adsorbida sobre una superficie rugosa de Ag, Cu o Au [189]. Los sustratos electroquímicamente preparados de estos metales nobles ofrecen una amplia posibilidad de cambiar las condiciones experimentales y son adecuados para estudiar procesos electroquímicos e interfases [190][191]. Sin embargo, rara vez se han empleado los tres metales juntos [192][193]; la Ag y el Au son muy usados como metales para la preparación de superficies activas, pero el Cu se utiliza menos como material activo aunque puede exhibir un mayor aumento de la señal en comparación con las superficies de Au [194].

En la primera observación experimental de este efecto [195][196], con piridina sobre Ag, un electrodo de plata se vuelve rugoso electroquímicamente mediante barridos sucesivos entre dos potenciales, uno de oxidación y otro de reducción. Este proceso crea una superficie con asperezas a escala nanométrica. La elección de la plata y la etapa de imprimir rugosidad a la superficie en el experimento original resultaron ser críticas para el fenómeno de superficie. Sin embargo, el hecho de que se estaba produciendo un efecto de mejora de la superficie bajo esas condiciones experimentales no se conoció hasta más adelante [61][197].

Inicialmente, esta técnica era utilizada por una pequeña comunidad de científicos [198], sin embargo, la observación de una molécula en 1997 fue un gran estímulo para este campo, ya que demostraba que la intensidad de la señal Raman puede rivalizar con la de fluorescencia [199][200]. Una vez estudiado este fenómeno, se han realizado numerosos estudios posteriores basados en esta técnica [201].

Este fenómeno se atribuye a la aparición de dos efectos distintos, uno electromagnético y otro químico [43]. El efecto electromagnético surge de pequeñas estructuras superficiales, que aparecen durante los ciclos de potencial, y que causan fuertes incrementos locales del campo eléctrico de la radiación incidente y dispersada. El efecto químico es atribuido a las interacciones que se producen entre las moléculas adsorbidas y la superficie metálica y que dan lugar a



transiciones electrónicas de transferencia de carga entre la molécula y el metal. Como ambos efectos actúan sólo a pequeñas distancias, la SERS es específica para moléculas en superficies.

La SERS es considerada una de las técnicas analíticas más sensibles para estudios de reacciones catalíticas [202][203][204], reacciones de reducción de O_2 [205][206], además de otras moléculas orgánicas [207][208][209] y biológicas [210][211][212]. Además, ya que puede ser sensible a una única molécula, ha sido muy utilizada en sensores de hibridación de ADN o inmunoensayos [213].

La principal limitación de la aplicación de la SERS a los sistemas electroquímicos es que es específica de cierto tipo de electrodos metálicos, como superficies de Au, Ag y Cu [214] o ciertos metales de transición como Rh, Pd o Ni [215]. Este requisito limita su potencial uso, sobre todo para no metales, como superficies de óxidos metálicos semiconductores [216][217][218]. Sin embargo, como el componente electromagnético de este efecto se mantiene a una distancia de varios nanómetros, ha sido posible recubrir una lámina de alguno de estos metales con una fina capa de otro metal que está expuesto a las moléculas adsorbentes, obteniéndose señales aún mejores [100][219][220][221]. Tanto las propiedades espectrales como morfológicas de estas superficies pueden ser modificadas según el procedimiento de preparación [222].

3.6. Métodos basados en el uso de rayos X

Si se irradia una muestra con rayos X, los electrones saltarán de la muestra hacia el vacío que la rodea. Algunos de esos electrones que se eliminan proceden de las capas más internas de la estructura molecular (Figura 10). Si los átomos se encuentran suficientemente cerca de la superficie, hay una alta probabilidad de que los electrones escapen, sin ser inelásticamente dispersados, y sufriendo la consecuente pérdida de energía [6].

La interacción de la radiación de rayos X con la materia proporciona información estructural de alta resolución a escala atómica, al igual que ocurre con



la cristalografía de rayos X en el caso de los cristales. Esto se debe a que la longitud de onda de los rayos X, con energías cercanas a los 12 keV, es de 1 Å, un tamaño similar a los espacios interatómicos.

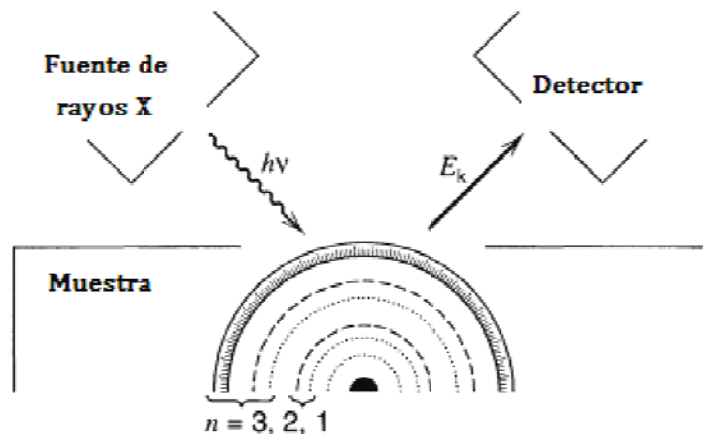


Figura 10. Representación esquemática del proceso de emisión de electrones [223].

Sin embargo, en el caso del estudio de superficies, hay muy pocos átomos que interactúen con esta radiación, por lo que las señales son mucho más débiles que las que se obtienen en estudios de sólidos. Es más, en estudios in situ de electrodos en disolventes como el agua, la intensidad de rayos X disminuye debido a la dispersión por parte de las moléculas de disolvente. Este hecho implica la necesidad de fuentes intensas de rayos X para el estudio de la interfase electrodo/disolución [100][224].

Recientemente, la mayor parte de las investigaciones electroquímicas que requieren la caracterización de rayos X emplean fuentes de luz de sincrotrón, ahora que dicha radiación de alta intensidad se encuentra disponible en las instalaciones de los aceleradores de partículas. Estas fuentes son de 8 a 10 órdenes de magnitud más brillantes que las fuentes de ánodo rotatorio que se emplean en laboratorios y tienen la ventaja adicional de un amplio espectro sin las señales agudas asociadas a las fuentes convencionales.

En la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS, *X-ray photoelectron spectroscopy*) se representa la distribución de los electrones que son dispersados frente a su energía cinética en el vacío [225].



Desde el punto de vista analítico, la XPS proporciona información atómica sobre la superficie electródica sin producir daños serios en dicha región. También aporta información sobre los estados de oxidación, ya que la energía de enlace de un electrón en un orbital determinado está influenciada por su entorno electrónico.

Las señales de XPS pueden ser detectadas para todos los elementos de la tabla periódica, excepto el H y el He. Los límites de sensibilidad son del orden de 0.1%, excepto para los elementos más ligeros, donde son de entre el 1 y el 10%.

Las áreas donde la XPS ha sido ampliamente utilizada son la caracterización de películas anódicas de óxido [226] y la modificación de superficies [227].

La absorción de rayos X sigue la expresión $I = I_0 \exp(-\mu x)$; donde I e I_0 son las intensidades de la radiación transmitida y la radiación incidente, respectivamente; x es la distancia y μ el coeficiente de absorción lineal, que es función de la energía, E . El espectro de absorción es la representación de μ frente a E , y se caracteriza por presentar varias líneas de absorción, que son las energías que se necesitan para expulsar un electrón de los diferentes orbitales atómicos.

De forma general, la espectroscopía de absorción de rayos X proporciona información acerca de algunas consideraciones elementales y de simetría sobre la estructura electrónica de los orbitales atómicos activos de diferentes materiales [228][229], como longitudes y ángulos de enlace, identidad de átomos vecinos o estados de oxidación [230][231]. Más recientemente, esta técnica se ha empleado en estudios espectroelectroquímicos sobre procesos de corrosión [232][233], electrodeposición [234], adsorción iónica [235], rendimientos de ánodos de celdas de combustible [236], etc.

El espectro de absorción se puede dividir en dos regiones. Por un lado, el estudio de la región que se encuentra entre 10 y 40 eV en torno al potencial de ionización se conoce como XANES (*X-ray Absorption Near-Edge Spectroscopy*). Esta región presenta unas características debidas a las transiciones de los electrones de las capas internas a orbitales desocupados del mismo átomo, y es sensible al estado de oxidación y al entorno de enlaces del átomo.



A pesar de que los fundamentos de la XANES no son bien conocidos, se ha demostrado que esta técnica es muy útil para conocer las valencias [237]. En la mayoría de los casos, los análisis se hacen de forma cualitativa comparando espectros de especies conocidas con los obtenidos para las muestras de interés. Además, esta técnica puede usarse para cuantificar las concentraciones de especies electroactivas bajo condiciones controladas electroquímicamente [238][239].

Por otro lado, las oscilaciones observadas sobre 50 keV por encima del potencial de ionización pueden interpretarse como interferencias entre los electrones expulsados y los átomos vecinos. Este tipo de estudio se conoce como EXAFS (*Extended X-ray Absorption Fine Structure*) [55].

El método EXAFS proporciona información sobre estructuras de superficies localizadas y estados electrónicos. También, se utiliza para investigar catalizadores [240] gracias a la habilidad de penetración que tienen los rayos X [241], revelando las propiedades catalíticas y los mecanismos de reacción basados en cambios estructurales dinámicos [242] mediante el uso de celdas de combustible [243][244] y celdas electroquímicas de tres electrodos [245][246].

Las celdas espectroelectroquímicas para estudios de absorción de rayos X (XAS) [247][248][249] deben ser diseñadas para minimizar las pérdidas por absorción en las ventanas de la celda y el electrolito. Por esta razón, las ventanas de la celda se hacen generalmente de películas finas de unos 10 μm , fabricadas en polietileno o poliimida. La capa de disolución o la superficie electródica de estudio debe ser, a su vez, suficientemente fina como para que no se observen fenómenos de transmisión.

Por otro lado, los experimentos de difracción de rayos X (XRD, *X-ray Diffraction*) incluyen la dispersión de un haz de rayos X monocromático en la superficie de un electrodo de cristal único y la medida de la reflectividad de la superficie o la determinación de su estructura de difracción. De nuevo, el diseño debe minimizar la absorción de los rayos X por parte de la ventana de la celda, así como minimizar el paso de los rayos X a través del electrolito [250].



En medidas de difracción, el haz de rayos X incide sobre la superficie de la muestra formando un pequeño ángulo. Los patrones de difracción proporcionan información sobre la estructura de la superficie y sobre los procesos que pueden alterarla.

La aplicación de rayos X a estudios electroquímicos está todavía en sus inicios. La necesidad de radiación sincrotrónica, además de las sofisticadas celdas y la interpretación elaborada de los datos limita el uso de estos métodos. Sin embargo, la información estructural a nivel atómico que proporcionan estas técnicas sólo puede rivalizar, quizás, con los métodos de escaneo de superficies.

3.7. Técnicas de resonancia de espín electrónico

La resonancia de espín electrónico (ESR, *Electron Spin Resonance*), también llamada resonancia paramagnética electrónica (EPR, *Electron Paramagnetic Resonance*), se usa para la detección e identificación de productos o intermedios electrogenerados que cuentan con un número impar de electrones, como radicales, radicales iónicos o ciertas especies de metales de transición [43].

Las primeras aplicaciones de esta técnica en estudios electroquímicos datan de 1958, cuando Austen e Ingram la utilizaron para caracterizar radicales aniónicos producidos por electrolisis [251]. Desde entonces, esta técnica ha tenido una gran aplicación en electroquímica debido a su gran sensibilidad, lo que permite la detección de radicales con concentraciones en torno a 10^{-9} M bajo condiciones favorables, y porque proporciona espectros ricos en información y fácilmente interpretables [252][253]. En sentido inverso, las técnicas electroquímicas son ampliamente utilizadas en espectroscopía ESR, ya que son adecuadas para generar radicales.

Las medidas de ESR se basan en la absorción de radiación de frecuencia ν por parte de especies paramagnéticas que se encuentran dentro de un campo magnético H . Este campo genera una división de los niveles de energía de los electrones desapareados en un factor $g\mu_B H$ (Figura 11A), donde g es la separación espectroscópica o factor g (que depende del orbital y del entorno electrónico del



electrón en cuestión, siendo $g = 2$ para electrones libres y la mayor parte de los radicales orgánicos), y μ_B es una constante llamada magnetón de Bohr.

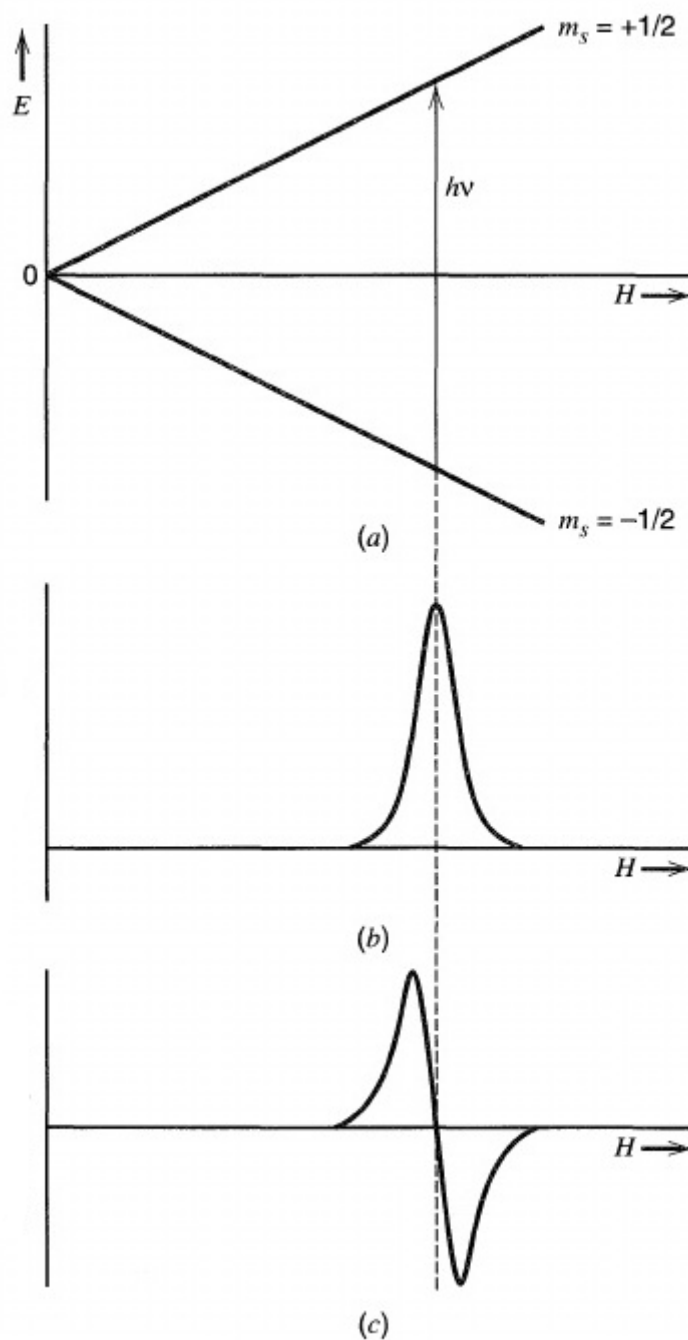


Figura 11. Fundamentos de un experimento ESR. (a) Diagrama de niveles de energía de un electrón desapareado situado en un campo magnético. (b) Gráfico de absorción ESR vs campo magnético. (c) Derivada de la señal ESR obtenida tras la fase de detección [6].



Cuando se satisface la relación $\Delta E = h\nu = g\mu_B H$, las transiciones entre dichos niveles ocurren y pueden observarse mediante la absorción de la radiación incidente, que se produce normalmente en la región de microondas. Los espectros se registran midiendo la absorbancia como una función de H mientras que se registra la intensidad de campo magnético (Figura 11B y 11C).

La estructura del espectro de ESR resulta de la escisión adicional de los niveles de energía de los protones vecinos y otros núcleos como ^{14}N y ^{31}P dando lugar a momentos magnéticos que interaccionan con el electrón desapareado [254] [255].

La instrumentación comercial de EPR se suele emplear con celdas configuradas de forma que el experimento electroquímico pueda llevarse a cabo directamente dentro de la cavidad [3].

En un experimento clásico de espectroelectroquímica ESR, los radicales se producen dentro de la celda que, a su vez, está colocada dentro del detector de microondas[256]. Por tanto, hay que tener en cuenta que los disolventes polares y las ventanas de vidrio no son adecuados para esta técnica, debido a que absorben en la zona de microondas. Por esta razón, se emplean celdas planas de pequeño volumen fabricadas en cuarzo [257][258].

Las celdas electroquímicas para ESR tienen un electrodo de trabajo de gran superficie, con electrodos de referencia y auxiliar más pequeños, situados lo más alejados posible de la región sensible [259][260][261][262]. Estas celdas permiten realizar experimentos donde se monitorizan simultáneamente la señal ESR y la corriente de electrolisis en función del potencial o el tiempo.

Sin embargo, este tipo de celdas no son adecuadas cuando se pretende estudiar un volumen grande de disolución de electrolito [118]. Para este tipo de análisis es necesario emplear celdas modificadas, en las que el electrodo de trabajo sea además una de las superficies reflectantes del resonador de microondas. En la práctica, esto se consigue usando como electrodo de trabajo un hilo enrollado en forma de hélice, y colocando el electrodo de referencia y el auxiliar dentro de dicha hélice. Esta geometría permite el uso de un mayor volumen de disolución en la celda, reduciendo sustancialmente el riesgo de agotamiento del material



electroactivo, a la vez que se maximiza el volumen de muestra que puede ser detectado en microondas.

En general, la ESR es muy útil para identificar no sólo la presencia de un radical en una reacción electroquímica [263][264], sino que también es adecuada para estudiar la evolución temporal de un radical sometido a diferentes etapas de potencial [265][266] o incluso, seguir el deterioro del radical cuando se interrumpe la aplicación de corriente y calcular su tiempo de vida. El análisis más detallado del espectro de ESR proporciona información sobre la distribución de la densidad de espín en el radical y sobre la formación de pares iónicos, los procesos de solvatación o de rotación interna restringida.

Es posible realizar medidas comparativas de la misma especie radical en distintos medios, ya que el espectro de ESR es muy sensible al entorno [267][268][269]. La ESR también es muy empleada para medir la velocidad de reacciones de transferencia electrónica entre un radical y el compuesto original, midiendo la diferencia de concentración en la anchura de las bandas [6].

Si el tiempo de vida de los radicales electrogenerados es muy pequeño, es posible detectarlos empleando “trampas de espín” [270][271], que son compuestos químicos que reaccionan con el radical electrogenerado formando un segundo radical, más estable que el primero, que tiene un espectro ESR característico. Obviamente, estas trampas deben ser estables en el rango de potenciales empleados en el análisis.

3.8. Técnicas de resonancia magnética nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear [272] [273] [274] [275] se utiliza para estudiar los núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos), como el ^1H , ^{13}C , ^{19}F ó ^{31}P . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir, poseen espín, ya que los núcleos tienen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes.



En ausencia de un campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo, cuando una muestra se coloca en un campo magnético, tal y como se muestra en la Figura 12, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección que el campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía, denominado estado de espín β .

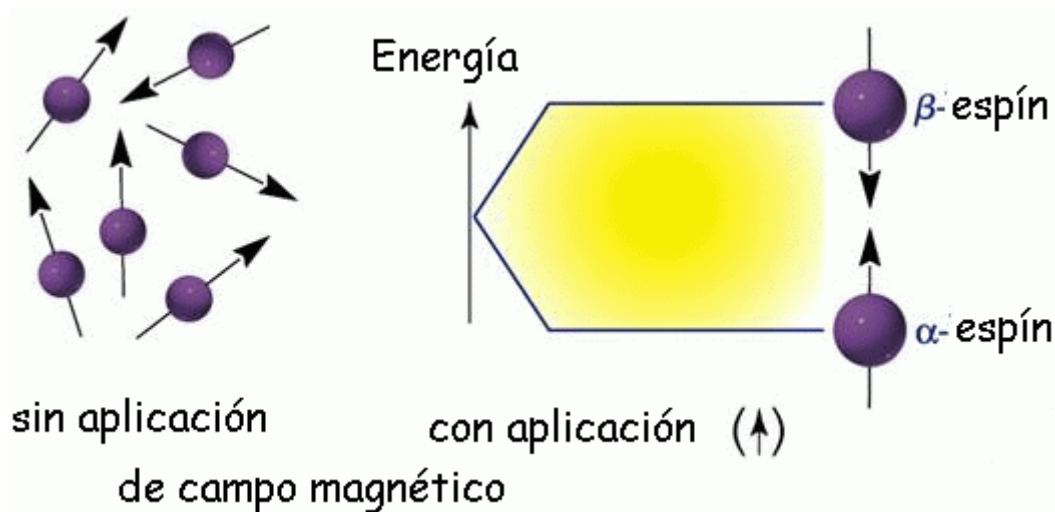


Figura 12. Esquema de cómo se comportan los espines nucleares en ausencia o presencia de un campo magnético.

Existen más núcleos en el estado de espín α que en el β , pero aunque la diferencia de población no es enorme, sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopía de RMN.

La diferencia de energía entre los dos estados de espín α y β depende de la fuerza del campo magnético aplicado, H_0 . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín. En la Figura 13 se representa el aumento de la diferencia energética entre los estados de espín con el aumento de la fuerza del campo magnético.

Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α



son promovidos al estado de espín β . Esta radiación se encuentra en la región de las radiofrecuencias del espectro electromagnético. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN.

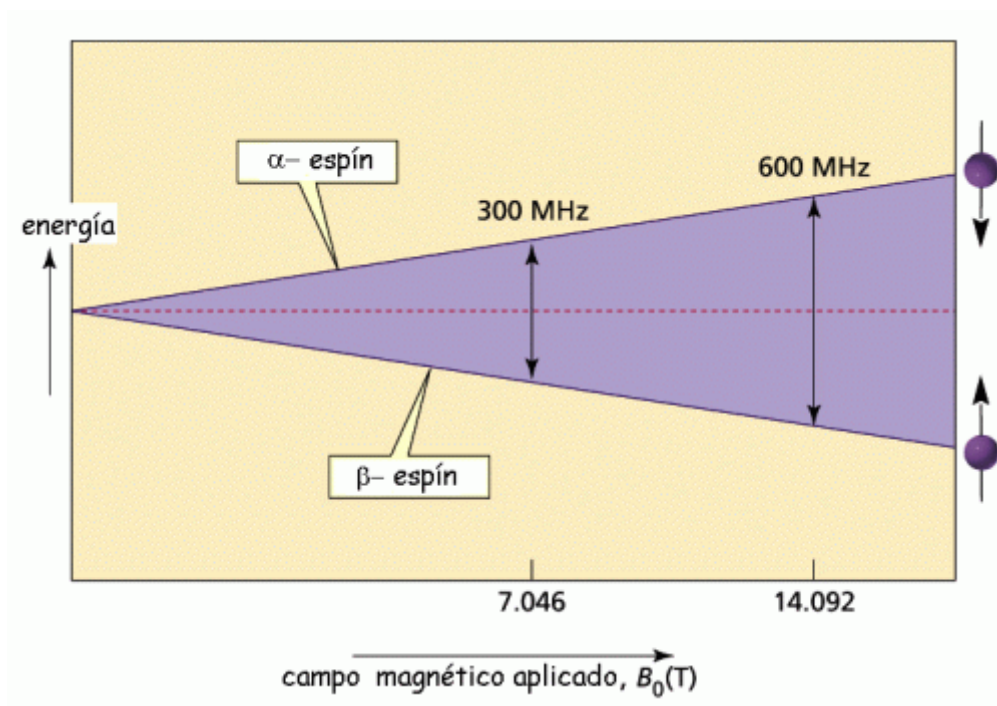


Figura 13. Diagrama que muestra el aumento de la diferencia de energía entre los estados de espín con el aumento de la fuerza del campo magnético.

El término resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín al otro como respuesta de la radiación a la que son sometidos.

La RMN es la técnica que mayor información estructural proporciona, ya que observa los núcleos de los átomos y permite conocer la influencia del entorno molecular sobre cada uno de ellos, por lo que se puede llegar a deducir la estructura de dichos compuestos.

La resonancia magnética nuclear, una de las herramientas más adecuadas para la elucidación absoluta de estructuras químicas, fue asociada por primera vez a la



electroquímica en 1975, con el diseño de la primera celda espectroelectroquímica de RMN en estado líquido [63]. Desde entonces, el número de publicaciones sobre experimentos espectroelectroquímicos de RMN ha aumentado considerablemente, debido a la creciente necesidad de conocer de forma rápida la estructura de los compuestos electrogenerados [13]. De hecho, esta técnica es la preferida para la determinación de los cambios estructurales o electrónicos más sutiles [276] [277].

La aplicación de la RMN a la espectroelectroquímica presenta muchas limitaciones, sobre todo, debido a los cambios que hay que realizar en cuanto a la geometría del tubo de RMN para poder introducir los electrodos, y a la interacción de los metales con el campo magnético, que dificulta la realización de este tipo de medidas [278]. Un dispositivo tan simple como puede ser el empleo de dos hilos de Pt como cátodo y como ánodo dentro de un tubo de RMN provoca una gran influencia en la homogeneidad del campo magnético, haciendo imposible realizar medidas simultáneas de electrolisis y RMN [279].

Por esto, todavía es posible encontrar numerosas publicaciones en electroquímica que emplean la RMN como una técnica *ex situ*, donde se emplea un polvo metálico como electrodo de una celda electroquímica. Después del experimento electroquímico, este polvo es transferido, generalmente junto a un electrolito, a un tubo de RMN para su estudio [280][281][282][283].

De hecho, en las últimas décadas, son muy pocas las publicaciones dedicadas a la fabricación de celdas espectroelectroquímicas de RMN [63][278] [284][285][286][287]. Estas celdas, adecuadas para su introducción en el detector de RMN son muy útiles para identificar estructuralmente las especies electrogeneradas o para monitorizar posibles intermedios inestables antes de que otras reacciones químicas los consuman [288].

La mayoría de los estudios espectroelectroquímicos de RMN se centran en la identificación de especies electrogeneradas por electrolisis [54][289]. Sin embargo, sólo hay unas pocas referencias sobre el estudio de la interfase electrodo/disolución, debido, sobre todo, a la poca sensibilidad de esta técnica.



El límite de detección para una observación individual es 10^{18} protones, siendo uno o dos órdenes de magnitud mayor si se toma el promedio de las señales de varias medidas. La sensibilidad para la detección de otros núcleos, como el ^{13}C , es aún menor. Si se necesita estudiar una superficie cubierta de especies adsorbidas, es necesario emplear varios m^2 de la misma. Sin embargo, es posible emplear la RMN para el estudio de superficies si se utiliza polvo finamente dividido [111][290].

3.9. Espectroscopía de luminiscencia

La luz es una forma de energía; por lo tanto, para crear luz es necesario suministrar otra forma de energía. Hay dos formas comunes para que esto ocurra: incandescencia y luminiscencia.

La incandescencia es luz procedente de la energía térmica. Si se calienta algo con una temperatura lo suficientemente alta, comenzará a brillar. Por ejemplo, el metal de una estufa o el filamento de wolframio de las bombillas que comienzan a brillar “al rojo vivo” cuando se calientan. Esto es incandescencia.

La luminiscencia es llamada “luz fría” ya que se puede emitir a temperaturas normales o incluso más bajas. En este caso, alguna fuente de energía provoca el paso de un electrón, que inicialmente se encuentra en su estado fundamental, a un estado excitado. Posteriormente, el electrón vuelve a su estado inicial, desprendiendo esa energía en forma de luz.

Existen muchos tipos de luminiscencia, en función de la fuente de energía o del proceso que la desencadena:

- La fluorescencia y la fotoluminiscencia son formas de luminiscencia donde la energía es suministrada por una radiación electromagnética. La fotoluminiscencia se suele definir como luminiscencia procedente de cualquier radiación electromagnética, mientras que la fluorescencia se suele emplear como la luminiscencia causada por la luz ultravioleta.



La fotoluminiscencia no debe confundirse con la reflexión, refracción o dispersión de la luz. Este fenómeno se caracteriza porque la luz es absorbida durante un breve periodo de tiempo, y por lo general, produce luz con una frecuencia menor a la de la radiación inicial.

- La fosforescencia se puede definir como “luminiscencia retardada” o “luminiscencia de resplandor”. Cuando un electrón se encuentra en un estado excitado tras la incidencia de una radiación electromagnética, puede ocurrir que éste continúe en dicho estado durante cierto tiempo, liberando poco a poco la energía absorbida. Tras un cierto tiempo, en el que el electrón libera toda la energía absorbida, éste vuelve a su estado fundamental. Este fenómeno se caracteriza porque las sustancias continúan emitiendo luz durante un periodo más prolongado que en el caso de la fluorescencia o fotoluminiscencia.

La triboluminiscencia y la termoluminiscencia son variantes de la fosforescencia. En el primer caso, este fenómeno es desencadenado por una acción mecánica, mientras que en el segundo, es desencadenado por temperaturas que superan un cierto umbral. La termoluminiscencia no debe confundirse con la incandescencia, ya que en este caso, el calor no es la principal fuente de energía, sino que es el desencadenante de la liberación de energía que provenía inicialmente de otra fuente.

- La quimioluminiscencia es la luminiscencia cuya energía es proporcionada por alguna reacción química. Una variante de este fenómeno es la electroquimioluminiscencia, que es la luminiscencia proporcionada por reacciones electroquímicas en disolución.

- La bioluminiscencia es la luminiscencia causada por reacciones químicas que tienen lugar en organismos vivos.

- La electroluminiscencia es la luminiscencia causada por una corriente eléctrica. Dentro de este fenómeno, encontramos una variante que es la cátodoluminiscencia, que es la electroluminiscencia debida a un haz de electrones.



- La radioluminiscencia es la luminiscencia causada por una radiación nuclear. Este término se utiliza sobre todo para referirse a la luminiscencia causada por los rayos X, por lo que se puede considerar que la radioluminiscencia es una forma de fotoluminiscencia.

La espectroscopía de luminiscencia es una técnica mucho más sensible que la espectroscopía de absorción en UV-visible, puesto que permite controlar de forma independiente las longitudes de onda de excitación y de emisión. La elección adecuada de estas longitudes de onda permite monitorizar de forma selectiva e individual los diferentes grupos químicos responsables de la absorción selectiva de luz presentes en una molécula orgánica [291]. Estos grupos, llamados cromóforos, son por tanto, los que le proporcionan un color determinado a una molécula.

Cuando la espectroscopía de luminiscencia se acopla con las técnicas electroquímicas [292], ésta proporciona la oportunidad de detectar las propiedades de los cromóforos electrogenerados que se encuentran en su estado excitado [293]. Sin embargo, esta técnica ha recibido relativamente poco uso como método espectroelectroquímico, incluso a pesar de su elevada sensibilidad frente a otros métodos de absorción.

La razón principal de este hecho puede atribuirse a la falta de celdas espectroelectroquímicas versátiles que satisfagan los requisitos de detección para medidas de electroluminiscencia. Se han publicado muchos artículos sobre el empleo de celdas con electrodos ópticos transparentes en medidas espectroelectroquímicas de luminiscencia [294][295][296][297]. En estas celdas, el electrodo transparente se coloca formando un ángulo de 45° con las rendijas de emisión y excitación. De esta forma, es posible llevar a cabo la detección de la luz emitida.

Estos experimentos demuestran las ventajas antes citadas del acoplamiento de la espectroscopía de luminiscencia con la electroquímica, sin embargo, ponen de manifiesto algunos inconvenientes. El más importante es que se obtiene una relación señal/ruido muy pobre debido a la dispersión en la cara frontal de la celda.



Como alternativa, es posible el uso de una celda provista de un electrodo basado en una película de resina de oro [298] o de carbón vítreo [299], que permite la detección de luz en un ángulo de 90°.

Como ya se ha comentado, las publicaciones sobre el empleo de la espectroelectroquímica de fluorescencia son relativamente escasas. Se han publicado algunos trabajos basados en el estudio de interfases líquido-líquido a potencial controlado [300][301]. Otras publicaciones emplean electrodos rotatorios para estudiar la fluorescencia de películas electroquímicamente activas [291]. También se han publicado estudios basados en la microscopía de fluorescencia [302] y la voltametría espectrofluorométrica hidrodinámica [303].

De forma más general, la espectroelectroquímica de luminiscencia [304] es muy adecuada para el estudio de moléculas que presentan luminiscencia, y que son muy útiles en el desarrollo de sensores químicos [305][306], dispositivos ópticos de almacenamiento [307], puertas inteligentes [308], imágenes en vivo [309] y pantallas [310]. Esta técnica también se emplea para el estudio de mecanismos de reacciones redox que incluyen moléculas cromóforas [311][312] y estudios de electroquimioluminiscencia [56]. También es muy utilizada en el desarrollo de sensores espectroelectroquímicos [313][314].

3.10. Otras técnicas analíticas

Además de las vistas hasta este momento, existen otras muchas técnicas analíticas que se han acoplado a la electroquímica para realizar estudios *in situ* y que no se encuentran recogidas en el esquema propuesto por la IUPAC [65], bien porque su combinación con las técnicas electroquímicas se realizó después de dicha publicación o bien porque no son técnicas espectroscópicas propiamente dichas.

Entre estas técnicas se pueden citar diferentes modalidades de microscopía [25][315][316][317][318][319][320] y otras técnicas de barrido de superficie [321], la espectroscopía de impedancia electroquímica [322][323][324] o de impedancia óptica [325], la espectrometría de masas [326][327][328], la



electroforesis [329], la espectrometría de emisión atómica [330][331][332] o la nanogravimetría con balanza electroquímica de cristal de cuarzo [333]. También es posible encontrar publicaciones sobre medidas de conductividad eléctrica [334].

4. TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS USADAS EN ESPECTROELECTROQUÍMICA

En la bibliografía es posible encontrar diversas clasificaciones de las técnicas electroquímicas [6][45][57][335][336][337][338][339], aunque todas ellas pueden condensarse en el diagrama que aparece en la Figura 14.

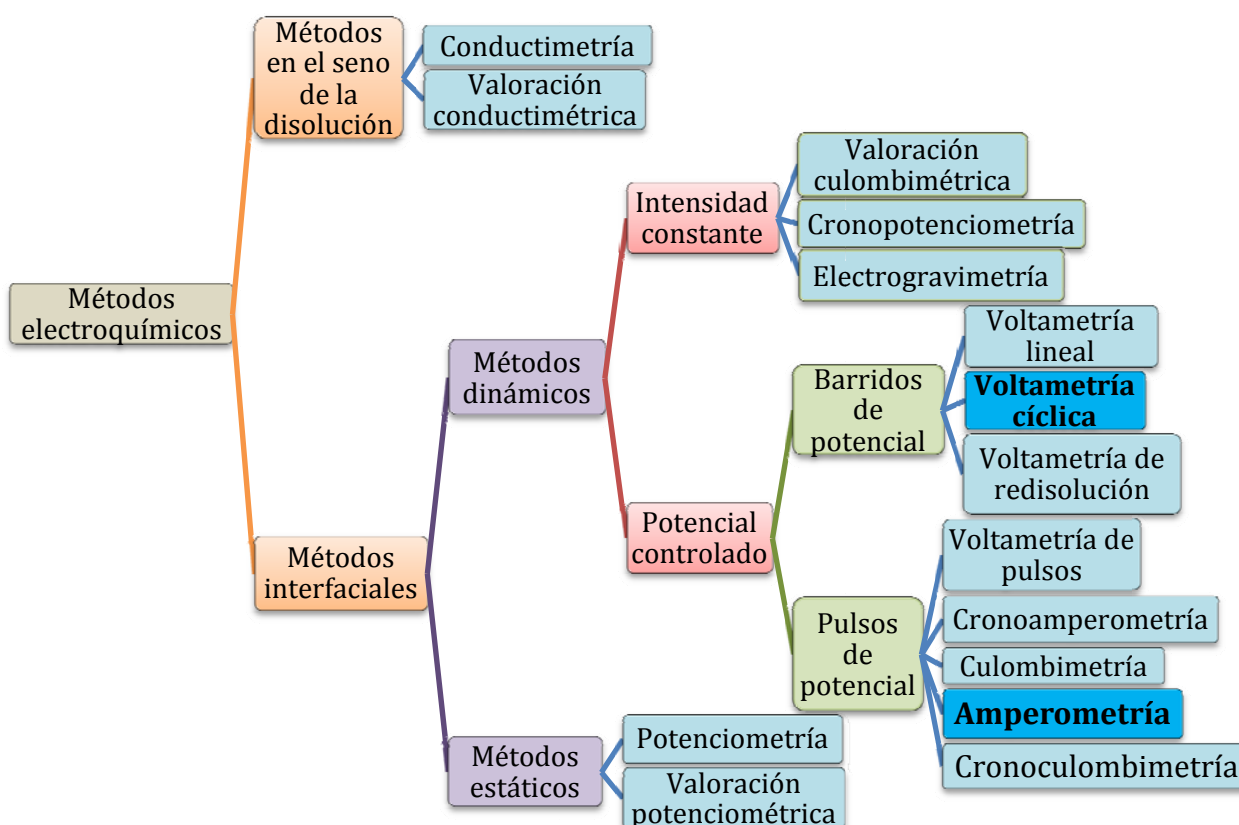


Figura 14. Resumen de los métodos electroquímicos más comunes. Se han resaltado las técnicas más usadas en experimentos espectroelectroquímicos.



En primer lugar, hay que hacer una distinción entre aquellas técnicas que se aplican en el seno de la disolución y aquellas que se centran en el estudio de los procesos que ocurren en la interfase electrodo-disolución.

Dentro del primer grupo, la técnica más importante es la conductimetría, que consiste en medir la conductividad de la disolución aplicando una señal cuadrada de corriente alterna, midiendo la corriente que circula. Para cada semiperiodo de la señal cuadrada, el cociente entre la tensión aplicada y la corriente de medida se corresponde con la resistencia de la disolución entre los dos electrodos. Conociendo las características geométricas de los electrodos se puede deducir la conductividad a partir de la resistencia medida. Estas técnicas, por el momento, no han encontrado aplicaciones en espectroelectroquímica, por lo que no van a ser descritas en esta tesis.

Dentro de los métodos electroquímicos interfaciales se distinguen dos grupos: los estáticos y los dinámicos. En las técnicas electroanalíticas estáticas se trabaja con el sistema en equilibrio; es decir, sin circulación de corriente. La técnica electroquímica más conocida de este grupo es la potenciometría. Dentro de las técnicas dinámicas, cabe hacer una nueva separación entre aquellas para las que el parámetro eléctrico controlado es la corriente y aquellas para las que el parámetro controlado es el potencial. Del primer grupo, las más significativas son la coulombimetría controlada por corriente y la cronopotenciometría. Pero las técnicas electroquímicas interfaciales dinámicas más utilizadas son las controladas por el potencial, en las que el control puede ser mediante barridos o mediante pulsos de potencial.

Por último, aunque sólo aparece en una de las clasificaciones encontradas [45], la espectroscopía de impedancia es una técnica analítica muy potente. En esta tesis, se ha considerado dicha técnica como un método espectroscópico, por lo que ha sido incluida en el epígrafe anterior. De forma muy breve se puede definir la espectroscopía de impedancia electroquímica (*EIS, Electrochemical Impedance Spectroscopy*) como una técnica electroquímica no invasiva de respuesta lineal que consiste en perturbar el sistema de estudio aplicando una señal de corriente o potencial sinusoidal de frecuencia variable. La función de transferencia obtenida



de la relación perturbación/respuesta se conoce como impedancia y se emplea para caracterizar procesos electroquímicos.

A priori, es posible acoplar todas las técnicas electroquímicas interfaciales con técnicas espectroscópicas para estudios espectroelectroquímicos *in situ*, aunque, en la práctica, la mayoría de los estudios emplean sólo algunas de ellas. Aún así, es posible encontrar ejemplos de la aplicación de cada una de estas técnicas al estudio espectroelectroquímico.

En este punto, hay que resaltar que existen una gran cantidad de artículos sobre espectroelectroquímica que emplean la electrolisis como técnica electroquímica [56][238][269][340][341][342]. Se habla de electrolisis cuando la transformación electroquímica se hace con fines puramente sintéticos; cuando se quiere transformar un compuesto en otro por algún motivo práctico. Sin embargo, en realidad, la electrolisis a potencial controlado es lo mismo que una amperometría (o una cronoamperometría, si se refiere a tiempos pequeños, de unos pocos segundos), sólo que, a veces, ni siquiera se lleva a cabo el registro de la corriente. Por otra parte, la electrolisis a corriente controlada es lo mismo que la potenciometría o la cronopotenciometría.

En resumen, la diferencia principal de la amperometría y la potenciometría con respecto a la electrolisis es que en los primeros casos los resultados se usan para estudios mecanísticos, mientras que en el caso de la electrolisis se usan con fines sintéticos. Sin embargo, en espectroelectroquímica, la electrolisis se utiliza para generar especies que posteriormente serán estudiadas de forma cualitativa mediante una técnica espectroscópica que permita obtener datos acerca de su estructura o su identidad; es decir, se emplea para estudios cualitativos y no cuantitativos.

Finalmente, cabe destacar que el diseño de las celdas espectroelectroquímicas depende sobre todo de los requerimientos de las técnicas espectroscópicas, por lo que, a priori, cualquier celda espectroelectroquímica puede operar con todas y cada una de las técnicas electroquímicas aquí descritas. Por esta razón, en este apartado se ha optado por describir los fundamentos de cada una de las técnicas



electroquímicas haciendo referencia, de forma breve, a cómo se usan en espectroelectroquímica.

4.1. Técnicas potenciométricas

Una técnica potenciométrica consiste en la medida de potenciales o diferencias de potenciales adoptados por electrodos sumergidos en las disoluciones de estudio.

Dentro de este grupo se engloban la potenciometría directa y las valoraciones potenciométricas. En ambas técnicas, las medidas del potencial estarán relacionadas logarítmicamente con la concentración mediante la ecuación de Nernst [335], pero cada una de ellas tiene una utilidad. La potenciometría se emplea para medir directamente la actividad o la concentración de la especie electroactiva, y la valoración potenciométrica se emplea únicamente para conocer el punto de equivalencia de una reacción de valoración, tanto volumétrica como coulombimétrica, la cual discurrirá según unos determinados coeficientes estequiométricos que servirán para conocer directamente la concentración problema.

Cuando un electrodo metálico se introduce en una disolución iónica, se establece entre el metal y la disolución una diferencia de potencial, que se denomina “tensión eléctrica absoluta” [343]. Este potencial no puede conocerse si no se compara con otra tensión eléctrica absoluta que se tome arbitrariamente como origen de potenciales, es decir, un electrodo de referencia, obteniéndose lo que se conoce como “tensión eléctrica relativa”.

Como tensión eléctrica de referencia, se toma universalmente la que existe entre un electrodo de platino platinizado (Pt^*) y una disolución ácida de actividad unidad y saturada de H_2 a la presión de 1 atm, es decir, la tensión de equilibrio que suministra la reacción electroquímica $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2(g)$, cuyo valor se considera de 0 V por convenio internacional y se denomina “potencial del electrodo normal de hidrógeno”.



Ahora bien, como el manejo de este electrodo es bastante engorroso, en la práctica se emplean otros sistemas de referencia más sencillos, como el electrodo de calomelanos o el electrodo de Ag/AgCl.

En lo que respecta a los tipos de potenciales que se manejan en las técnicas potenciométricas, puede decirse que son de dos clases: potenciales redox y potenciales de membrana. Entre los primeros se encuentran, entre otros, los potenciales de equilibrio o los de polarización. Entre los segundos se encuentra el potencial de unión líquida, constituido por una membrana permeable sin selectividad alguna hacia ningún tipo de iones [335].

- **Potenciometría directa.** Como su nombre indica, en una potenciometría directa se trata de relacionar la fuerza electromotriz (*fem*) o el potencial de una celda galvánica con la actividad de una especie química en disolución, mediante la ecuación de Nernst [335]. Para ello, no hay más remedio que realizar previamente una curva de calibrado en las mismas condiciones en las que se lleva a cabo la medida de la *fem* de la disolución de concentración desconocida.

En cuanto a las celdas galvánicas empleadas en potenciometría, hay de decir que son de tres tipos: celdas clásicas, formadas por dos semielementos diferentes que implican la misma o diferente actividad; celdas de concentración, que están constituidas por dos semielementos de la misma naturaleza pero de diferentes actividades; y celdas de movilidad, constituidas por semielementos de igual concentración pero de diferente naturaleza, y por consiguiente, de diferente movilidad, es decir, celdas con una *fem* que es función de los potenciales de unión líquida.

En cuanto a las aplicaciones analíticas de la potenciometría directa con utilización de celdas galvánicas clásicas, hay que decir que son muy numerosas, y entre ellas pueden citarse la determinación de halogenuros, cianuros, sulfuros, H⁺, Ag⁺, agentes complejantes o iones no electroactivos, entre otros.

Las aplicaciones de las celdas de concentración son menos numerosas, pero tienen la ventaja de que pueden ser utilizadas mediante la denominada



potenciometría diferencial de barrido lineal, llegando a determinar con ellas pequeñísimas cantidades de sustancias (hasta 10^{-9} equivalentes gramo) sin más que elegir unos compartimentos con una apropiada relación de volúmenes. Esta técnica se basa en una titulación potenciométrica de la sustancia de interés, titulando además su correspondiente blanco. A partir de los datos así obtenidos, se calcula la diferencia entre el área bajo la curva de titulación que contiene la sustancia de interés y la de la disolución de blanco.

Finalmente, otra aplicación de la potenciometría directa estriba en el estudio de equilibrios en disolución, fundamentalmente la determinación de constantes de formación de complejos. Sin embargo, la potenciometría es aplicable a estos estudios siempre que se disponga de un electrodo sensible a la actividad de las especies que intervienen en el equilibrio de complejación [336].

En espectroelectroquímica, la potenciometría se emplea sobre todo para estudios relacionados con la síntesis de películas poliméricas conductoras y su caracterización [344] [345] [346].

- **Valoraciones potenciométricas.** Existen distintos métodos de valoración potenciométrica, es decir, de la aplicación de la potenciometría a la determinación de una especie en disolución en su modalidad indirecta, mediante la cual lo que se determina electroquímicamente es el punto de equivalencia de una reacción química. Por consiguiente, en este tipo de técnicas analíticas habrá de considerarse una reacción química principal y una o varias reacciones electroquímicas indicadoras de detección del punto final.

Es posible encontrarse con varios tipos de situaciones a la hora de llevar a cabo una valoración potenciométrica. La primera situación a considerar será la valoración potenciométrica a $I = 0$ con un electrodo indicador y uno de referencia. El segundo caso posible es la valoración potenciométrica a $I = 0$ con dos electrodos indicadores de diferente naturaleza.



En cuanto a ejemplos de aplicaciones analíticas prácticas de estos dos tipos de valoraciones potenciométricas, puede mencionarse la detección del punto de equivalencia de reacciones de precipitación o las valoraciones múltiples.

Otra situación que se puede presentar es la valoración potenciométrica a intensidad constante (~ 0) con un electrodo indicador y otro de referencia. En estos casos, la intensidad no es nula debido fundamentalmente a la falta de reversibilidad de los sistemas electroquímicos implicados, por lo que es necesario forzar los electrodos a adoptar un determinado valor de potencial haciendo pasar una corriente pequeña pero superior a la residual.

Finalmente, la última posibilidad es la valoración potenciométrica a intensidad constante (~ 0) con dos electrodos indicadores de la misma naturaleza. Al pasar la corriente impuesta (del mismo valor absoluto y de signo opuesto) por ambos electrodos, sus potenciales evolucionarán a lo largo de la valoración cumpliendo la condición impuesta.

En este punto, hay que reseñar que para llevar a cabo cualquier tipo de valoración potenciométrica, no es necesaria una instrumentación muy sofisticada. Así, en el caso de las valoraciones con $I = 0$, basta con un sencillo voltímetro electrónico de alta impedancia de entrada, una celda de valoración, un electrodo indicador apropiado, un electrodo de referencia, así como un sistema de adición de reactivo, como una bureta.

En el caso de las valoraciones a intensidad constante, se necesitan unas condiciones de operación en las que basta con que I tenga un valor rigurosamente constante y no nulo.

Esta técnica es muy utilizada en espectroelectroquímica en el campo del desarrollo de sensores para proteínas y otras moléculas de interés biológico [347][348] o para caracterización electroquímica de sistemas [349] y nuevos compuestos [350].



4.2. Técnicas amperométricas

Las técnicas analíticas amperométricas forman parte de las técnicas indicadoras, puesto que, a pesar de que la técnica implica paso de corriente, el consumo de materia por esta causa es realmente despreciable, por lo que las medidas amperométricas podrán, en principio, repetirse tantas veces como se desee sin variación significativa de los resultados por disminución de la concentración en la disolución [351].

De forma análoga a como ocurría con las técnicas potenciométricas, las técnicas amperométricas podrán emplearse bajo determinadas circunstancias. La primera de ellas es realizar una curva de calibración con objeto de conocer directamente la concentración de una especie en disolución. Esta forma de proceder se denomina amperometría directa.

Asimismo, estas técnicas pueden emplearse para acceder al conocimiento del punto de equivalencia de una valoración analítica, denominándose valoración amperométrica. Esta técnica, a diferencia de la amperometría directa, no suele emplearse en investigaciones electroquímicas, y como tal no será tratada en esta tesis.

Como su nombre indica, la amperometría se basa en la medida de la corriente electrolítica a fin de relacionarla con la concentración de las especies electroactivas y/o no electroactivas, siempre que éstas, a través de una reacción química acoplada, participen en una reacción electroquímica y den lugar, gracias a su difusión hacia el electrodo de trabajo, a una corriente electrolítica [352].

En la utilización de la amperometría directa pueden presentarse problemas si no se eligen bien los electrodos de trabajo, ya que la irreproducibilidad de las medidas alcanza en esta técnica una importancia primordial. En efecto, se ha demostrado experimentalmente que en el caso de los electrodos inatacables, como es el caso, por ejemplo, del electrodo de Pt pulido, se producen fenómenos de oxidación del metal, depositándose, en forma de óxidos, los productos de dicha oxidación, óxidos que son reducidos de nuevo a metal con los barridos de potencial adecuados.



En definitiva, puede decirse que los electrodos sólidos plantean a menudo serios problemas debido a las posibles reacciones parásitas que ocasionalmente se producen en su superficie. Por estas razones, las amperometrías suelen llevarse a cabo fundamentalmente empleando electrodos de gota de Hg, que, aunque, constituido por un metal menos noble que el Pt, da lugar a resultados mucho más favorables y reproducibles, fundamentalmente debido a que su superficie se renueva cada 4 o 5 segundos, evitándose así los problemas antes mencionados. Sin embargo, dada la relativa nobleza del Hg, este electrodo se utiliza normalmente en reducción, de donde se deduce ya la existencia de una limitación en su utilización amperométrica.

En el caso de que la reacción electroquímica deba llevarse a cabo en oxidación, existen electrodos que ofrecen buenos resultados, como, por ejemplo, el electrodo de carbono vítreo y el de pasta aglutinada con disolventes no electrolíticos e inertes, el cual, dada su bajísima corriente residual de tipo capacitivo, se emplea actualmente en técnicas muy variadas, poseyendo además la cualidad de ser modificable químicamente, lo que le confiere unas propiedades dinámicas y energéticas que son susceptibles de ser empleadas en la resolución de importantísimos problemas analíticos actuales.

En cuanto a su utilización en espectroelectroquímica, la amperometría se utiliza sobre todo para detección y cuantificación de diferentes moléculas en el área de los sensores espectroelectroquímicos [353][354][355][356].

4.3. Técnicas coulombimétricas

En esta sección se estudian las técnicas electroanalíticas cuantitativas que, como indica su nombre, se basan en la transformación de las sustancias químicas por electrolisis. Estas transformaciones masivas tienen en general tres objetivos: analítico, separativo y preparativo. Es decir, respectivamente, determinar, separar o preparar una sustancia por vía electrolítica.

Los electrodos empleados en todas estas técnicas son de gran superficie (del orden de varias decenas de cm^2) y estarán sumergidos en volúmenes de disolución



en los que la relación $A_{electrodo}/V_{disolución}$ es elevada, por lo que la transformación de la sustancia deberá efectuarse al cabo de unos diez minutos.

Las técnicas electroquímicas preparativas son muy importantes dentro de la síntesis orgánica e inorgánica, teniendo una importancia económica enorme y una extraordinaria actualidad, dada la apetencia de las nuevas tecnologías por los nuevos materiales. El aspecto separativo de estas técnicas tiene un componente analítico evidente, ya que una separación electrolítica puede llevarse a cabo con fines analíticos; de ahí surgen la electrogravimetría y las separaciones electrolíticas, empleadas éstas últimas para evitar interferencias.

Como su nombre indica, en las técnicas coulombimétricas se mide la carga involucrada en determinadas reacciones químicas de oxidación-reducción. Estas medidas se llevan a cabo con dos finalidades: determinar la masa de una sustancia presente en una disolución siempre que la reacción química sea conocida, o conocer la reacción química, es decir, el número de electrones implicados en la reacción [6]. Para alcanzar estos objetivos, es necesario emplear la primera ley de Faraday, mediante la cual se relacionan los coulombios involucrados en la reacción electroquímica con el número de moles de sustancia electrolizada.

Por otra parte, las técnicas coulombimétricas pueden emplearse para generar electrolíticamente una masa de reactivo que, mediante una reacción química con coeficientes estequiométricos conocidos, permita conocer la masa de una sustancia presente en disolución.

De forma general, las técnicas coulombimétricas deben cumplir diferentes requisitos. En primer lugar, deberá procurarse que la relación $A_{electrodo}/V_{disolución}$ sea óptima, con objeto de que la electrolisis se realice en un tiempo prudencial (10 a 15 minutos). Otro aspecto de enorme importancia está relacionado con la selectividad de la reacción electroquímica: los electrones deben ser empleados únicamente en la transformación de la sustancia problema, lo cual da una idea de la necesidad de que la eficiencia de la corriente debe acercarse lo más posible al 100%.



En el caso de las valoraciones coulombimétricas, un aspecto primordial es el rendimiento de la densidad de corriente impuesta, I , que debe ser del 100% o similar, ya que el producto $i \times t$ dará la carga involucrada en la generación electrolítica del reactivo.

Teniendo en cuenta todos estos aspectos, hay dos tipos de técnicas coulombimétricas: la coulombimetría directa y las valoraciones coulombimétricas.

● **Coulombimetría directa.** Como ya se ha mencionado, en esta técnica se determina la masa de sustancia problema midiendo el número de coulombios implicados en la transformación por electrolisis y aplicando la primera ley de Faraday. Así, si quiere conocerse el número de moles de sustancia habrá que aplicar la expresión $N(\text{moles}) = Q/nF$, y si se quiere conocer el número de gramos, habrá de aplicarse la expresión $m(\text{gramos}) = QP/nF$. En estas ecuaciones, N es el número de moles, Q es la carga, n es el número de electrones que se intercambian en la reacción electroquímica, F es la constante de Faraday (~ 96485 C) y P es el peso atómico o molecular de la sustancia electrolizada.

La coulombimetría directa se lleva a cabo a potencial constante, y midiendo la carga involucrada en la reacción electroquímica, mientras que las valoraciones coulombimétricas se llevan a cabo a intensidad constante y midiendo el tiempo que tarda en reaccionar químicamente el reactivo generado con la sustancia problema.

Ahora bien, si la sustancia problema está en estado sólido depositada en un electrodo, podrá determinarse si se hace pasar por dicho electrodo una intensidad constante y controlando el tiempo que tarda en transformarse cuantitativamente el sólido depositado en el electrodo, lo cual se lleva a cabo por control del potencial de dicho electrodo en función del tiempo. Esta modalidad de coulombimetría directa a intensidad constante puede ser utilizada para determinar sustancias en disolución siempre que sea posible una reacción química entre la sustancia problema en disolución y otra especie química depositada previamente en el electrodo de trabajo.



Por otra parte, la coulombimetría directa exige que se cumplan determinados requisitos: conocer con exactitud el final de la reacción electroquímica, asegurarse de la ausencia de reacciones parásitas y medir exactamente la cantidad de electricidad involucrada en la reacción electroquímica.

La coulombimetría directa a potencial constante se puede llevar a cabo con dos finalidades: medir la masa de la sustancia electrolizada o medir el número de electrones involucrados en la reacción con el fin de determinar la cantidad de electricidad puesta en juego.

También es posible llevar a cabo una coulombimetría directa a intensidad constante. Esta técnica únicamente puede llevarse a cabo en el caso de que la sustancia que se vaya a determinar esté depositada sobre el electrodo en estado sólido. La manera de operar consiste en hacer pasar, por el electrodo recubierto de la sustancia, una densidad de corriente constante y registrar la variación del potencial del electrodo en función del tiempo.

La coulombimetría directa es una técnica analítica destructiva, pero tiene la ventaja de ser una técnica absoluta, es decir, no necesita de ningún calibrado previo, puesto que utiliza constantes universales que no dependen de las condiciones experimentales, como la constante de Faraday y la carga eléctrica del electrón, que por otra parte se conocen con gran exactitud y precisión.

En cuanto a sus características como técnica analítica propiamente dicha, hay que citar las siguientes: campo de aplicación, sensibilidad, selectividad y exactitud.

El campo de aplicación de la coulombimetría directa es extraordinariamente extenso, ya que, en principio, abarca la determinación de todas las especies químicas que en disolución den lugar a curvas $I - E$. En este sentido, hay que señalar que la técnica es aplicable tanto a las especies químicas electroactivas como a las que no lo sean, siempre que éstas participen en alguna reacción electroquímica mediante una reacción química acoplada.

La coulombimetría directa se caracteriza precisamente por ser una técnica sensible, aunque su sensibilidad viene limitada por el valor y la reproducibilidad de la corriente residual. De todas formas, el límite de detección está alrededor de



10^{-11} equivalentes-gramo ($1\mu\text{C}$) para una reacción electroquímica en que se intercambie un electrón por molécula o ion y en que el peso molecular o atómico sea 100.

La selectividad de la técnica dependerá fundamentalmente de la separación entre las diversas curvas $I - E$ suministradas por la disolución en estudio, por lo que habrán de tenerse en cuenta las reacciones de complejación, la composición de los electrolitos soporte, etc.

La exactitud depende de la medida de Q , por lo que suele estar comprendida entre el 0,2 y el 0,1%, siendo este último valor difícilmente alcanzable.

La instrumentación fundamental en coulombimetría directa es lógicamente el coulombímetro, que en su versión más simple puede estar constituido por un potencióstato capaz de mantener un potencial constante, y con ayuda de un registrador $I-t$, controlar y registrar la curva $I = f(t)$, que, por integración, suministra el valor de Q . Asimismo, mediante el amperostato puede hacerse pasar por el electrodo una corriente constante, de oxidación o reducción, y registrar las funciones $E = f(t)$ ó $I = f(t)$, con lo que se detectan los puntos de equivalencia de las valoraciones coulombimétricas.

En la actualidad, existen coulombímetros provistos de registrador y de integrador que permiten llevar a cabo medidas coulombimétricas a intensidad constante y a potencial constante, indistintamente.

Para resumir, hay que hacer constar que en coulombimetría directa a potencial constante hace falta un buen potencióstato con registrador $I-t$, o bien un coulombímetro provisto de integrador electrónico.

Un aspecto crítico de la instrumentación utilizada en coulombimetría a potencial controlado puede estar constituido a veces por la celda de electrolisis, como puede verse en la Figura 15, en la que se muestra un electrodo de trabajo de Pt en forma de malla, a fin de tener mucha superficie en poco espacio, y el contraelectrodo auxiliar (EA) situado en un compartimento aparte para evitar reacciones electroquímicas indeseables. También se observa que el electrodo de referencia está situado en un compartimento separado eléctricamente mediante un puente



salino de agar-agar con nitratos como electrolitos para evitar la presencia de cloruros en la celda de electrolisis.

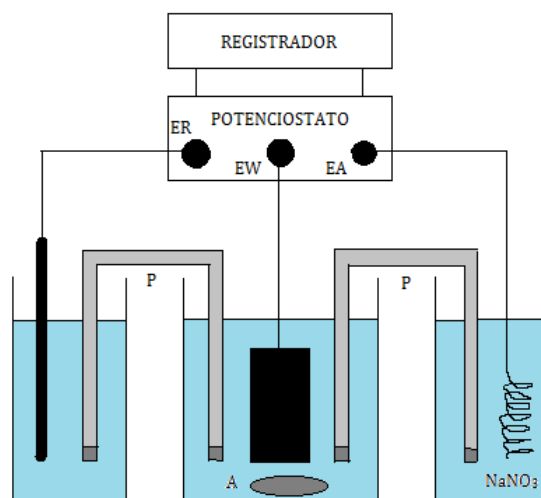


Figura 15. Montaje potencioestático para coulombimetría a potencial controlado. EA, electrodo auxiliar en espiral de Pt; EW, electrodo de trabajo de gran superficie (malla de Pt); ER, electrodo de referencia (Ag/AgCl, KCl sat.); P, puente salino de agar-agar y A, agitador magnético.

En la bibliografía es posible encontrar varios ejemplos del uso de la coulombimetría en estudios electroquímicos de caracterización de electrodos [357], celdas electroquímicas [358][359] o complejos de coordinación [360].

● **Valoración coulombimétrica.** La valoración coulombimétrica puede emplearse en todo tipo de reacciones analíticas de valoración, es decir, reacciones redox, de complejación, de precipitación y ácido-base. En la Tabla 1 se incluyen algunos ejemplos de valoración de varias especies reducidas mediante la generación de oxidantes, la valoración de varias especies oxidadas mediante la generación de reductores, de varias especies precipitables y/o complejables mediante la generación del precipitante y/o complejante, y finalmente, varios ácidos y bases, especificando el tipo de mediador, la especie reactiva y la naturaleza del electrodo empleado.



Tabla 1. Algunos ejemplos de valoración coulombimétrica [6] [335].

VALORANTE	ELECTRODO/DISOLUCIÓN	COMPUESTOS DETERMINADOS
OXIDANTES		
Bromo	Pt/NaBr	As (III), U(IV), NH ₃ , olefinas, fenoles, Fe(II), H ₂ S, SO ₃
Iodo	Pt/IK	H ₂ S, SO ₂ , As(III), H ₂ O, Sb (III)
Cloro	Pt/NaCl	As(III), Fe (II)
Ce (IV)	Pt/Ce ₂ (SO) ₃	Comp. orgánicos, U(IV), Fe(II), Ti (II), I ⁻
Mn (III)	Pt/MnSO ₄	Fe(II), H ₂ O ₂ , Sb(III)
Ag (II)	Pt/AgNO ₃	Ce(III), V (IV), H ₂ C ₂ O ₄
REDUCTORES		
Fe (II)	Pt/Fe(SO ₄) ₃	Mn (III), Cr (VI), V (V), Ce (IV), Mo (VI)
Ti (III)	Pt/TiCl ₄	Fe (III), V (V), U (VI), Re (VIII), Ru (IV)
Sn (II)	Au/SnBr ₄ (NaBr)	I ₂ , Br ₂ , Pt (IV), Se (IV)
Cu (I)	Pt/Cu(II) (HCl)	Fe (III), Ir (IV), Au (III), Cr (VI), IO ₃ ⁻
Cr (II)	Hg/CrCl ₃ (CaCl ₂)	O ₂ , Cu (II)
PRECIPITANTES Y COMPLEJANTES		
Ag (I)	Ag/HClO ₄	Halogenuros, S ²⁻ tioles
Hg (I)	Hg/NaClO ₄	Halogenuros, xantanto
EDTA	Hg/HgNH ₃ Y ²⁻	Iones metálicos
Cianuro	Pt/Ag(CN) ₂ ⁻	Ni (II), Au (III, I), Ag (I)
ÁCIDOS Y BASES		
OH ⁻	Pt(-)/Na ₂ SO ₄	Ácidos, CO ₂
H ₃ O ⁺	Pt(+)/Na ₂ SO ₄	Bases, CO ₃ ²⁻ , NH ₃

En dicha Tabla se observa que la valoración coulombimétrica es capaz de preparar diferentes iones inestables, como Mn (III), Ag (II), Ti (III), Cu (I), Cr (II), etc., lo que supone una de las grandes ventajas de las valoraciones coulombimétricas con respecto a las volumétricas, ya que es posible preparar el reactivo in situ, por lo que no tiene tiempo de descomponerse antes de reaccionar químicamente.



Otra de las ventajas es que no hay necesidad de llevar a cabo ningún calibrado, ni por pesada ni indirectamente por volumetría, ya que las constantes que se manejan se conocen con gran exactitud y no dependen de las condiciones experimentales, como ya se apuntó con anterioridad.

Además, mediante esta técnica pueden generarse cantidades muy pequeñas de reactivos, ya que, según la primera ley de Faraday, $1 \mu\text{A}$ durante 100 segundos, da lugar a 10^{-9} equivalentes de una sustancia que intercambie 1 mol de electrones por mol de sustancia. Esto da una idea de que la valoración coulombimétrica es una técnica bastante sensible.

Otra ventaja es que no se produce dilución del sistema, ya que no hay aumento alguno de volumen, por lo que no hace falta hacer correcciones.

La elección de la densidad de corriente óptima es, sin lugar a duda, la operación más importante y delicada de la valoración coulombimétrica. En efecto, la densidad de corriente es una magnitud de vital interés en esta técnica, ya que de ella depende la eficacia de la corriente, y de ésta, el porcentaje de error en la valoración.

La instrumentación más adecuada para una valoración coulombimétrica se representa en la Figura 16, en la que se observa, por un lado, el circuito coulombimétrico propiamente dicho, que consta de un amperostato, del electrodo de trabajo introducido en la celda con la sustancia a valorar y un electrodo auxiliar introducido en un compartimento separado. Por otro lado, está el sistema indicador constituido por dos electrodos, que pueden ser indicadores, o bien, uno de referencia y uno indicador, mediante los cuales, por potenciometría o amperometría se detecta el punto final de la valoración; y por último, un equipo voltamperométrico provisto de potencióstato, P, generador de funciones, G, y registrador, R, mediante el que pueden obtenerse las diferentes curvas I-E correspondientes al estado de la disolución en cada momento.

Esta técnica no es muy utilizada en espectroelectroquímica, encontrándose en la bibliografía únicamente unos pocos ejemplos dedicados al estudio de proteínas u otras moléculas de interés biológico. La valoración coulombimétrica se emplea para



determinación de proteínas [258] o para calcular los potenciales de reducción de diversas moléculas orgánicas y biológicas [265].

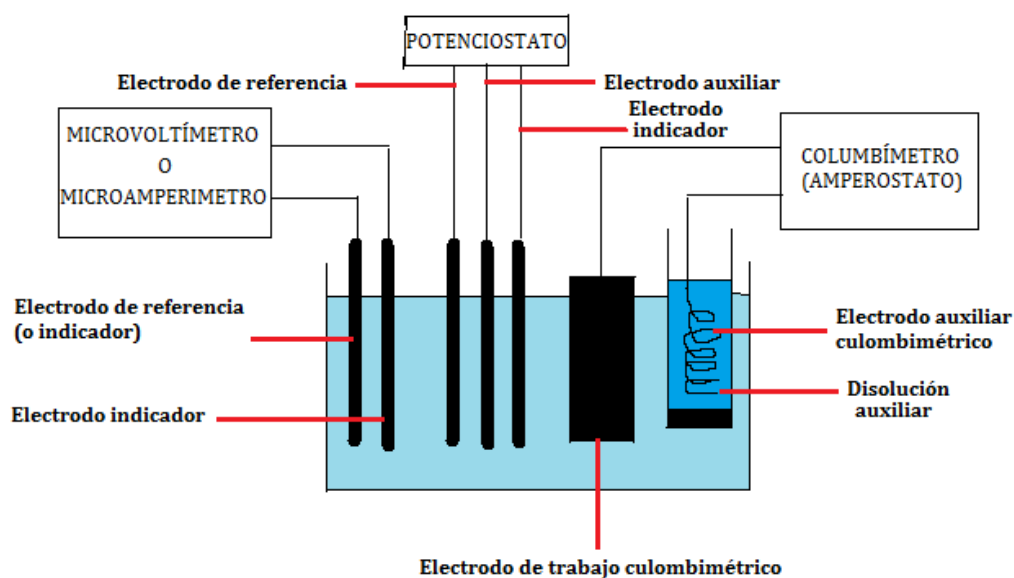


Figura 16. Esquema general de la instrumentación empleada en una valoración coulombimétrica con detección electroquímica del punto final. El potencióstato no es absolutamente necesario.

● **Electrogravimetría.** Como se ha visto anteriormente, las técnicas electroanalíticas cuantitativas también pueden aplicarse con fines separativos o determinativos, siempre que la especie separada electrolíticamente sobre un electrodo pueda pesarse posteriormente a su separación.

Experimentalmente, una variante de la técnica consiste en la aplicación de una diferencia de potencial entre un electrodo de trabajo (Pt, Hg, C) y otro auxiliar hasta alcanzar una intensidad óptima que debe mantenerse, por lo que esta modalidad se denomina electrogravimetría a intensidad constante. También puede utilizarse la modalidad a potencial controlado, siempre que la falta de selectividad de la separación así lo aconseje, necesitándose en este caso tres electrodos en vez de dos, es decir, uno de trabajo, uno auxiliar y uno de referencia.

El electrodo de trabajo deberá ser de gran superficie, siendo por ello un macroelectrodo, y el régimen de difusión deberá ser estacionario, por lo que la



disolución deberá ser agitada vigorosamente a fin de acelerar la transferencia de masa, reduciéndose así el tiempo de electrolisis. Una vez que la electrolisis se considere terminada, lo cual se comprueba mediante un simple análisis cualitativo de la disolución, se retiran los electrodos de la celda y se lavan y se secan adecuadamente a fin de proceder a la pesada del electrodo de trabajo sobre el que se ha depositado el analito [337].

Las sustancias químicas pueden ser electrodepositadas en un electrodo según diversas formas, dependiendo de la naturaleza de dichas sustancias. Así, si se trata de la separación y determinación de un catión metálico, que por reducción dé un metal estable y adherente sobre un electrodo sólido de trabajo, podrá separarse al estado metálico.

Existen varios cationes metálicos que pueden separarse electrolíticamente sobre un cátodo de Hg por formación de amalgamas, entre los que se encuentran los siguientes: Cu^{2+} , Sn^{2+} , Bi^{3+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Tl^+ , etc., lo que constituye una buena técnica de eliminación de interferencias en la determinación de otras especies incapaces de formar amalgamas, como el Fe^{3+} , Fe^{2+} , Tl^{3+} , Cr^{3+} , etc.

Ciertos cationes metálicos pueden ser determinados electrogravimétricamente mediante su separación en forma de óxidos, entre los que se encuentran Pb^{2+} , Mn^{2+} ó Co^{2+} . Todas estas separaciones en forma de óxido, por oxidación de los correspondientes cationes, suelen llevarse a cabo sobre electrodos de Pt o de Au, o bien sobre grafito.

También pueden separarse especies no metálicas en forma de sales sobre electrodos de Hg o de Ag. Ejemplos de estas separaciones, pueden ser la de SO_4^{2-} , halogenuros, etc.

En cuanto a la aplicación de la gravimetría a estudios electroquímicos, ésta es quizás una de las técnicas menos utilizadas en este tipo de investigación, pudiéndose encontrar muy pocos ejemplos de su uso en este campo [361][362].



4.4. Técnicas voltamétricas

Las técnicas voltamétricas o voltamperométricas son el grupo de métodos más empleados en electroquímica. De igual modo, todas estas técnicas han encontrado numerosas aplicaciones dentro del campo de la espectroelectroquímica. Dentro de este conjunto encontramos muchas técnicas y variantes diferentes, pero aquí sólo se van a tratar las más utilizadas en espectroelectroquímica, que son la voltametría de barrido lineal [363][364][365][366], la voltametría cíclica [268][367][368][369], la voltametría de pulso diferencial [370][371][372] y la voltametría de redisolución [30][373][374]. Todas estas técnicas tienen muchas posibilidades de uso en espectroelectroquímica, tanto para desarrollo de sensores, como para estudios de caracterización de electrodos, películas, polímeros y todo tipo de moléculas, así como para el estudio mecanístico de reacciones electroquímicas de interés.

● **Voltametría de barrido lineal.** En esta técnica, el potencial aplicado se varía linealmente con el tiempo desde un potencial inicial E_i , hasta un potencial final E_f , a una velocidad constante v en V/s (Figura 17).

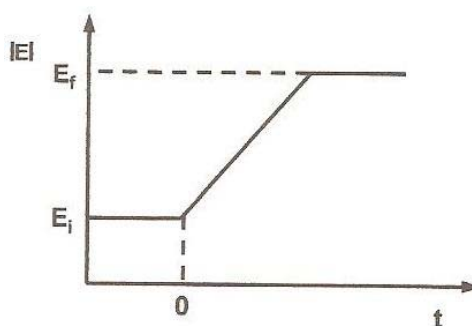


Figura 17. Barrido lineal de potencial comenzando en E_i y acabando en E_f [335].

Normalmente, el voltamperograma registrado representa la corriente medida con el electrodo indicador como una función del potencial. En la Figura 18 se muestra, a modo de ejemplo, el obtenido con un electrodo de Pt en una disolución 1 mM de Fe^{2+} en un medio HCl 1M.



En esta técnica, generalmente, se comienza el barrido de potencial a un valor de E_i al cual no hay electrolisis, es decir, donde sólo se detecta la corriente residual, realizándose dicho barrido en la dirección apropiada (barrido positivo o negativo) para obtener la respuesta electroanalítica (oxidación o reducción de la especie electroactiva) deseada. En el ejemplo de la Figura 18, se eligió un valor de E_i de 0,0 V, apreciablemente más negativo que el valor del potencial formal del par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ en HCl 1M, que es 0,46 V, lo que permite aplicar dicho potencial E_i sin alterar, en la superficie del electrodo, el estado de oxidación que tiene el analito en disolución. Si no se conoce el valor del potencial formal o ni siquiera el estado de oxidación inicial de la especie en disolución, el valor del potencial a circuito abierto suele ser una buena elección para E_i .

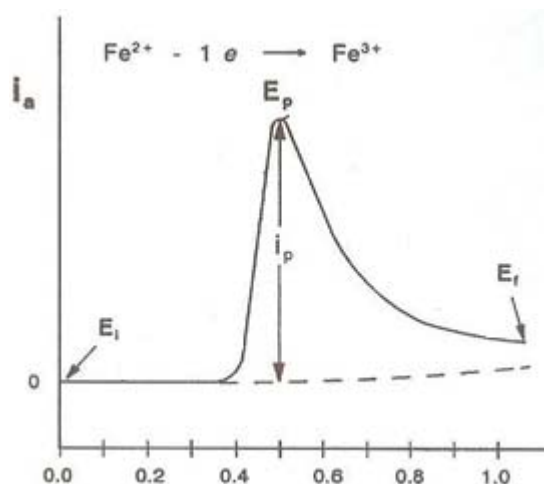


Figura 18. Voltamperograma de barrido lineal sobre un electrodo estacionario de Pt para Fe^{2+} 1 mM en medio HCl 1 M. La línea discontinua corresponde al voltamperograma de la disolución de HCl 1 M sin Fe^{2+} ; $v=1$ V/s [335].

Los dos parámetros importantes desde el punto de vista electroanalítico en la voltametría lineal son la corriente de pico i_p , y el potencial de pico E_p , que, obviamente son la corriente y el potencial en el pico del voltamperograma, respectivamente, como se muestra en la Figura 18.

Un aspecto esencial de toda técnica voltamperométrica es la corriente de fondo, que se ha representado con una línea discontinua en la Figura 18 y que está



compuesta por una corriente residual, debida a las impurezas electroactivas del disolvente, y por la corriente de carga. La corriente de pico debe medirse siempre de forma que no incluya esta corriente de fondo, para lo cual suele extrapolarse la línea base de corriente que precede a la corriente farádica y medir i_p por diferencia. De manera alternativa, puede realizarse un barrido por separado, a la misma velocidad, de la disolución de electrolito soporte y tomar i_p como la diferencia entre la corriente de pico medida desde el cero de intensidad y la corriente de fondo al mismo potencial.

Desde un punto de vista analítico, los límites de detección alcanzables por esta técnica serán del orden de 10^{-5} M en el mejor de los casos. Por otra parte, la voltamperometría de barrido lineal es una técnica muy eficiente para investigar la existencia de reacciones químicas homogéneas acopladas a las reacciones electrónicas, especialmente cuando se extiende a la voltamperometría cíclica. Finalmente, conviene señalar que la adsorción de la especie electroactiva sobre la superficie electródica puede detectarse mediante esta técnica.

● **Voltametría cíclica.** Ésta es probablemente la técnica electroanalítica más eficiente y versátil para el estudio mecanístico de las reacciones electrónicas, y suele ser el primer experimento que se lleva a cabo en un estudio electroquímico o espectroelectroquímico. Constituye una extensión lógica de la voltamperometría de barrido lineal, realizándose una inversión en el sentido del barrido de potencial. De este modo, se aplica al electrodo indicador una señal de excitación triangular como la que se muestra en la Figura 19, en la que el potencial se barre linealmente desde un valor inicial E_i hasta alcanzar un valor E_λ , conocido como potencial de inversión, al cual se invierte la dirección del barrido hasta alcanzar un potencial final E_f .

Aunque el barrido de potencial frecuentemente se termina al final del primer ciclo, en E_f , puede continuarse realizando ciclos sucesivos, lo que justifica que se llame a esta técnica, voltamperometría cíclica. La línea a trazos de la Figura 19 representa un segundo ciclo. Por otra parte, si bien es posible utilizar una



velocidad de barrido diferente en el barrido inverso, no suele emplearse, por lo que en este apartado no se considerará esa posibilidad.

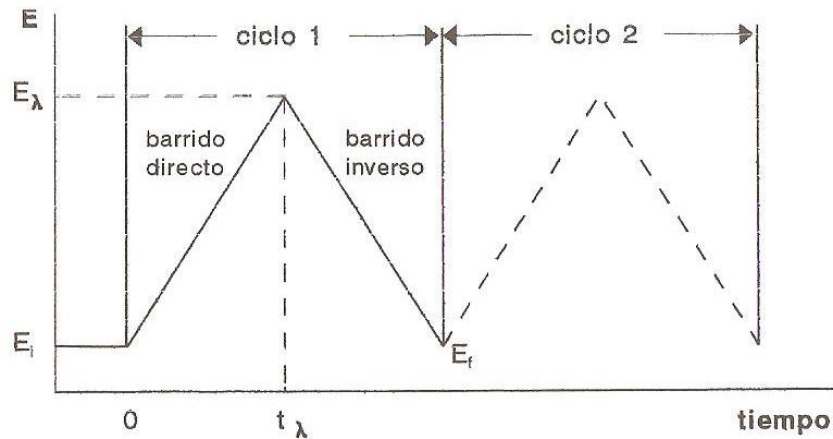


Figura 19. Señal de excitación potencial-tiempo triangular utilizada en voltamperometría cíclica [335].

Para obtener un voltamperograma cíclico, se mide la corriente que pasa por el electrodo indicador en una disolución sin agitar durante el barrido de potencial.

Para un sistema reversible, si el potencial de inversión está como mínimo $35/n$ mV más allá del potencial de pico obtenido en el barrido directo, la forma de la curva en el barrido inverso es prácticamente análoga al de la curva directa registrada en la dirección opuesta en el eje de intensidad. A modo de ejemplo, en la Figura 20 se muestra el voltamperograma cíclico obtenido sobre un electrodo de pasta de carbono para una disolución de Fe^{2+} 1 mM en H_2SO_4 1M como electrolito soporte. Las flechas indican la dirección del barrido de potencial.

Durante el barrido directo (positivo en este caso), se alcanza un valor de potencial suficientemente positivo como para provocar la oxidación del Fe^{2+} . Como se vio en el caso de la voltamperometría lineal, esta oxidación da lugar a una corriente anódica que aumenta rápidamente hasta que la concentración de Fe^{2+} en la superficie del electrodo se aproxima a cero. La corriente decae a continuación a medida que se produce el agotamiento de Fe^{2+} en las cercanías del electrodo debido a su conversión en Fe^{3+} .



Después de invertir la dirección del barrido de potencial (barrido inverso), la oxidación prosigue, como lo demuestra la corriente anódica, hasta que el potencial aplicado se hace suficientemente negativo como para causar la reducción del Fe^{3+} acumulado. Dicha reducción viene señalada por la aparición de una corriente catódica. De nuevo, dicha corriente aumenta a medida que el potencial se hace menos positivo, hasta que la reducción del Fe^{3+} provoca el agotamiento de esta especie en la región cercana al electrodo, produciéndose, por tanto, la aparición de un pico de corriente y su posterior disminución. Así, el fenómeno físico causante del pico durante el proceso de oxidación también da lugar a un pico de corriente durante la etapa de reducción.

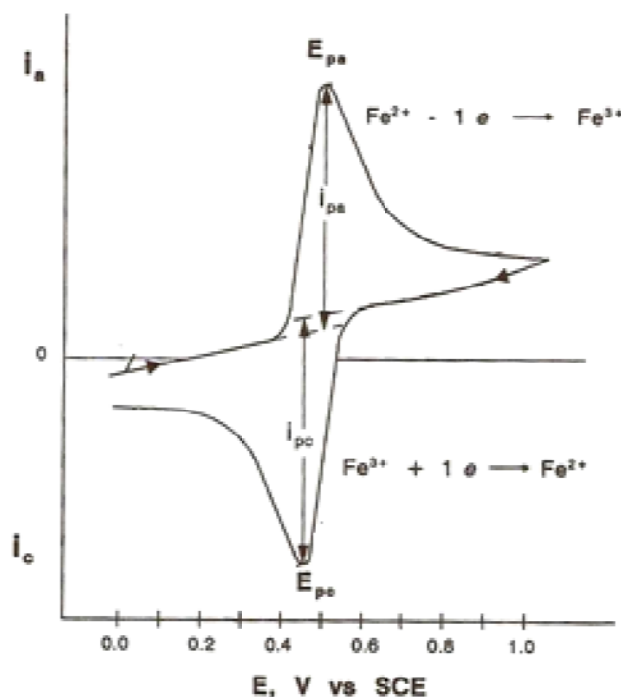


Figura 20. Voltamperograma cíclico de Fe^{2+} en medio H_2SO_4 1 M [335].

En resumen, en el barrido directo se genera electroquímicamente Fe^{3+} , como se demuestra por la corriente anódica, mientras que en el barrido inverso este Fe^{3+} es reducido de nuevo a Fe^{2+} , como muestra la corriente catódica. De esta manera, la voltamperometría cíclica es capaz de generar rápidamente una nueva especie



durante el barrido directo y a continuación probar su existencia en el barrido inverso. Éste es un aspecto muy importante de la técnica que le confiere un gran poder de diagnóstico para el estudio de las reacciones electródicas.

Los parámetros de interés de esta técnica son las magnitudes de las corrientes de pico, i_{pa} e i_{pc} o, mejor aún, su relación i_{pa}/i_{pc} y la separación entre los potenciales de pico $E_{pa} - E_{pc}$. La medida de las intensidades de pico implica la extrapolación de una línea base que se suele tomar como la corriente existente antes de que el pico comience a desarrollarse en cada uno de los barridos. El establecimiento de una línea base correcta es esencial para la medida exacta de las corrientes de pico, lo que no es siempre sencillo, particularmente en sistemas complejos, ya que esta línea base no es la misma que la corriente residual obtenida en un experimento idéntico sólo con el electrolito soporte.

En la mayoría de los experimentos de voltametría cíclica se emplean velocidades de barrido entre 5 y 1000 mV/s, si bien la instrumentación moderna permite utilizar velocidades de barrido superiores. Empleando electrodos convencionales no se suelen dar velocidades más rápidas de 100 mV/s, debido a la caída óhmica y a la corriente de carga.

En cuanto a aplicaciones, la voltametría cíclica es una técnica cada vez más utilizada en todos los campos de la química como método de estudio de los estados redox, ya que permite barrer rápidamente un amplio intervalo de potenciales tanto para especies oxidables como reducibles. Este hecho, junto a la escala de tiempo variable de la técnica y su buena sensibilidad, hacen de ella una de las técnicas electroanalíticas más versátiles de que se dispone. Debe señalarse, no obstante, que su mayor utilidad radica en su empleo como herramienta de diagnóstico para obtener información cualitativa. Sin embargo, las medidas cuantitativas se obtienen mejor con otro tipo de técnicas.

● **Voltametría diferencial de pulsos.** Las técnicas de pulso se desarrollaron específicamente para el electrodo de gota de mercurio (técnicas polarográficas de pulso). Dentro de estas técnicas, la voltamperometría diferencial de impulsos es la



técnica más utilizada, dada sus mejores características desde el punto de vista analítico. Las bases teóricas de este método se centran en una serie de características, que se tratarán a continuación.

En primer lugar, el potencial base aplicado durante la mayor parte de la vida de cada gota cambia escalonadamente en forma de pequeños incrementos de una gota a otra. Otra característica es que la altura del pulso de potencial es constante con respecto al potencial base y suele estar comprendida entre 10 y 100 mV. Además, se llevan a cabo dos medidas de la corriente durante la vida de cada gota; una se realiza al tiempo marcado en la Figura 21 como τ' , es decir, inmediatamente antes de que se aplique el pulso, mientras la segunda se toma al tiempo τ al final del periodo de aplicación del pulso y justo antes de caer la gota. El registro del experimento es una representación de la diferencia de corriente medida $i(\tau) - i(\tau')$, frente al potencial base. Como es obvio, el nombre de la técnica se deriva de la realización de esta medida diferencial de la corriente.

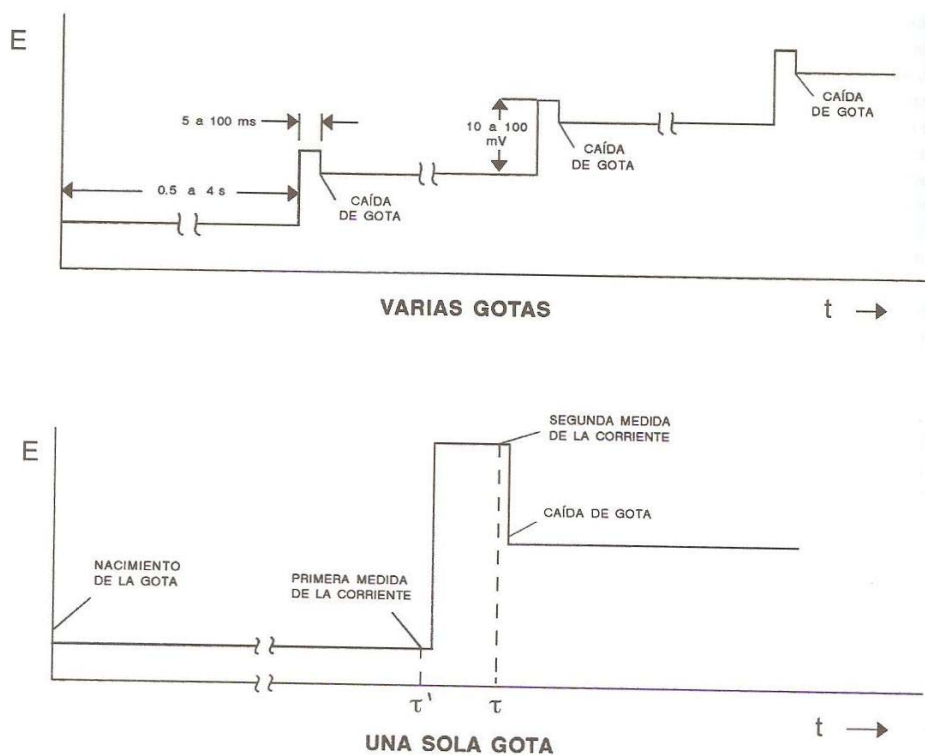


Figura 21. a) Programa de potencial en función del tiempo utilizado en polarografía diferencial de pulsos para varias gotas; b) potencial y corrientes medidas en una sola gota [335].



En la Figura 22 se muestra un polarograma diferencial de pulsos para una disolución de Cd^{2+} 10^{-6} M. El polarograma presenta una forma de pico; un hecho que puede comprenderse fácilmente de forma cualitativa.

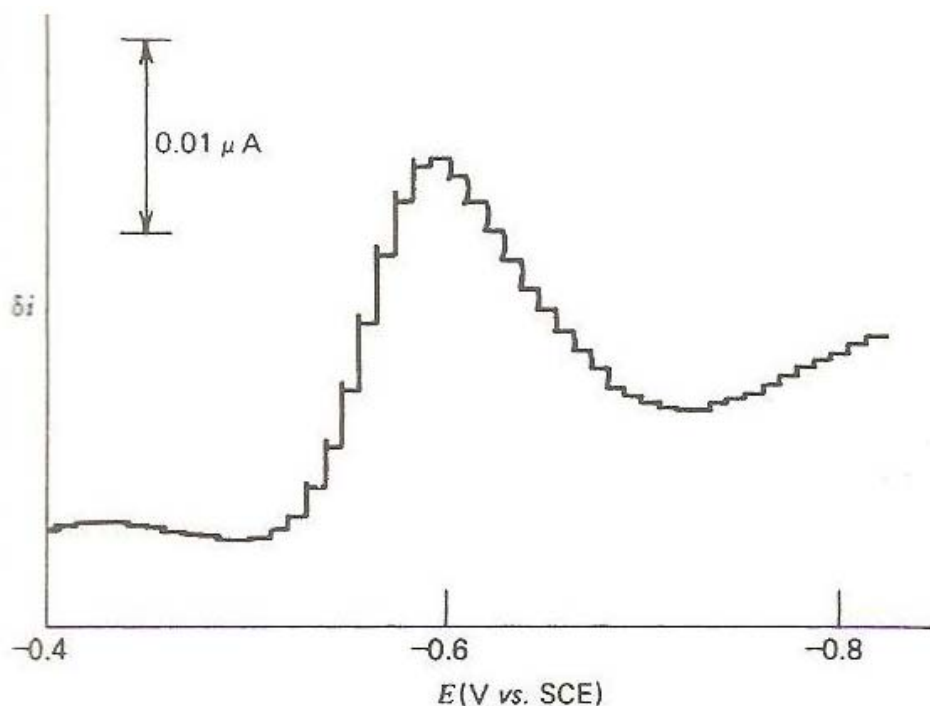


Figura 22. Polarograma diferencial de pulsos de Cd^{2+} $1 \mu\text{M}$ en HCl $0,01 \text{ M}$ [335].

Al comienzo del registro del polarograma, es decir, cuando el potencial base aplicado al electrodo posee todavía un valor mucho más positivo que el valor del potencial de reducción E^0 del par en cuestión, no se registra ninguna corriente farádica durante el periodo de espera antes de aplicar el pulso, ya que aún no hay reducción. Cuando se aplica dicho pulso, el cambio de potencial que se produce es demasiado pequeño como para provocar el proceso de reducción y, por consiguiente, la diferencia medida es prácticamente cero, al menos en lo que se refiere a la componente farádica de la corriente.

Al final del polarograma, es decir, cuando el potencial base ya está situado en la zona de la corriente limitada por difusión, la especie que se reduce lo hace durante el periodo de espera a la máxima velocidad posible. Al aplicar el pulso de potencial,



dicha velocidad no puede aumentar más, y por tanto, la diferencia es de nuevo muy próxima a cero.

Solamente en la región de potencial donde se sitúa E^0 se observa una diferencia apreciable de corriente farádica antes y durante la aplicación del pulso. En esta zona, el potencial base tiene un valor tal que la especie oxidada se reduce durante el periodo de espera antes de aplicar el pulso a una velocidad que es menor que la máxima, puesto que la concentración de dicha especie en la superficie del electrodo no es cero. Al aplicar el pulso, ya que el potencial se hace un poco más negativo, el valor de la concentración de la especie en la superficie del electrodo disminuye, por lo que tanto el flujo de la especie oxidada hacia la superficie del electrodo como la corriente farádica aumenta, y por consiguiente, se produce una diferencia apreciable entre $i(\tau)$ e $i(\tau')$. Sólo en las zonas donde una pequeña variación de potencial puede originar una diferencia medible del flujo de corriente, la técnica diferencial de pulsos proporciona una respuesta en forma de pico.

Actualmente, esta técnica se ha desarrollado para todo tipo de electrodos, no únicamente para el electrodo de gota de mercurio, por lo que también es posible su empleo en el estudio de reacciones de oxidación [375]. A modo de ejemplo, la Figura 23 muestra el voltamperograma diferencial de pulsos obtenido para el proceso de oxidación de la sulfonamida sulfamerazina sobre un electrodo estacionario de disco de carbono vitrificado, obteniéndose la típica respuesta en forma de pico característica de esta técnica.

La disponibilidad actual de una instrumentación electroanalítica fiable y de bajo coste permite que las técnicas de pulso se hayan convertido en técnicas analíticas viables y de fácil implementación. Quizás el aspecto más importante a este respecto es que la voltametría se encuentra entre las escasas técnicas que son igualmente apropiadas para analizar sustancias inorgánicas, organometálicas y orgánicas. Además puede suministrar información acerca de la forma química en la cual se encuentra un analito. Pueden definirse estados de oxidación, puede detectarse la formación de complejos y puede caracterizarse la química ácido-base. Por otro lado, estas técnicas se caracterizan por proporcionar calibrados lineales



entre la intensidad de corriente y la concentración de analito en un intervalo mucho mayor que el resto de las técnicas instrumentales.

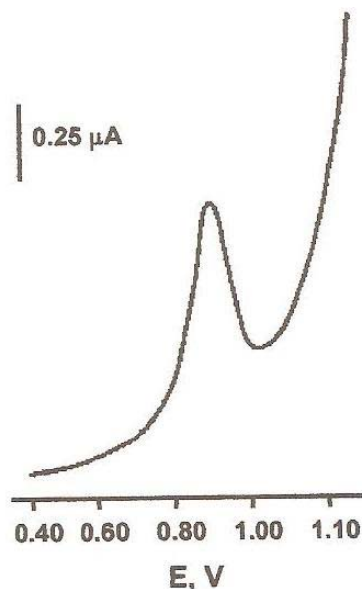


Figura 23. Voltamperometría diferencial de pulsos de sulfamerazina $0,6 \mu\text{M}$ sobre un electrodo estático de carbono vitrificado; $v=10 \text{ mV/s}$; $\Delta E=50 \text{ mV}$ [335] [351].

Los puntos débiles del análisis con técnicas de pulsos son los comunes a la mayor parte de las técnicas electroanalíticas: la resolución de sistemas muy complejos es difícil, y el tiempo de análisis puede ser bastante largo, particularmente si se necesita desoxigenación.

Las medidas por pulsos son lo suficientemente sensibles como para que se deba prestar una atención especial a los niveles de impurezas en los disolventes y en los electrolitos soporte que se emplean. La contaminación proveniente de estos últimos puede reducirse bajando sus concentraciones desde el nivel usual de $0,1$ a 1 M hasta $0,01$, o incluso, $0,001 \text{ M}$. El límite inferior permisible vendrá fijado por la máxima resistencia de la celda que pueda ser tolerada, si no está fijado primero por consideraciones químicas, tales como el papel del electrolito soporte en la formación del complejos o en la fijación del pH.



Un último aspecto que señalar es que el intervalo de potenciales de trabajo en cualquier medio es mucho más estrecho en el análisis de trazas por voltametría diferencial de pulsos que por voltametría convencional, simplemente porque la corriente de fondo de tipo farádico llega a ser intolerablemente elevada a valores de potencial menos negativo o positivos, según sea reducción u oxidación, respectivamente. Los análisis pueden realizarse empleando tanto curvas de calibrado como el método de adiciones estándar.

La técnica diferencial de pulsos es particularmente adecuada para el análisis de sistemas multicomponentes no demasiado complejos, ya que la respuesta analítica en forma de picos permite, en ocasiones, la separación de las señales debidas a diferentes componentes individuales a lo largo de una línea base común.

● **Voltametría de redisolución.** Esta técnica está basada en la preconcentración de un analito presente en disolución en el pequeño volumen o en la superficie del electrodo y en su posterior redisolución desde ese electrodo mediante el empleo de una técnica voltamétrica. Si las condiciones experimentales se mantienen constantes durante la etapa de preconcentración, a partir de los calibrados adecuados, la respuesta voltamétrica medida puede emplearse para determinar la concentración en disolución de la especie preconcentrada.

Como es evidente, la mayor ventaja de la técnica, en comparación con el análisis voltamperométrico directo, radica precisamente en dicha preconcentración de la especie objeto del análisis sobre el electrodo en factores que oscilan entre 100 y más de 1000, lo que hace que la voltamperometría de redisolución sea especialmente adecuada para el análisis de trazas, consiguiendo límites de detección de hasta 10^{-11} M.

En lo que respecta a los electrodos de trabajo utilizados en voltamperometría de redisolución, éstos deben poseer una elevada reproducibilidad en su superficie y mostrar una pequeña corriente de fondo. Pueden considerarse dos grandes grupos: los electrodos de mercurio y los electrodos sólidos, siendo los primeros los empleados con mayor asiduidad, ya que satisfacen los requisitos de



reproducibilidad y sensibilidad. Naturalmente, para aquellos analitos en que no se puedan utilizar electrodos de mercurio, bien porque presenten un potencial de redisolución positivo o bien porque no se depositen sobre mercurio, pueden emplearse otros materiales electródicos, fundamentalmente de carbono, aunque también se han utilizado metales nobles, como oro y platino.

Existen diversas modalidades de las técnicas voltamperométricas de redisolución. La más clásica es la voltametría de redisolución anódica, que se usa generalmente para la determinación de iones metálicos. Una segunda modalidad es el análisis por redisolución potenciométrica, que difiere de la anterior en el método empleado para la redisolución posterior del metal previamente reducido. Por otra parte, la voltamperometría de redisolución catódica utiliza una etapa de oxidación para llevar a cabo la preconcentración del analito en forma de una película insoluble sobre el electrodo. Finalmente, una última modalidad la constituye el análisis por redisolución basado en procesos de preconcentración no electrolíticos. Dentro de este último grupo, se encuentra la voltamperometría de redisolución adsortiva, donde se utiliza una etapa de preconcentración del analito en la superficie electródica basada en su adsorción sobre la misma.

En la voltamperometría de redisolución anódica se determinan iones metálicos mediante una electrodeposición catódica seguida de una redisolución anódica con un barrido apropiado de potencial. El proceso se muestra esquemáticamente en la Figura 24, con un electrodo de gota colgante de mercurio.

La etapa de electrodeposición se lleva a cabo en una disolución agitada a potencial constante, que permite la reducción de los iones metálicos de interés para formar la correspondiente amalgama. Obviamente, dicho potencial habrá de elegirse de acuerdo con las especies a determinar, escogiéndose generalmente un valor que sea varias décimas de voltio más negativo que el potencial normal condicional del ion metálico a analizar que se reduzca más difícilmente. Este potencial se mantiene durante un cierto periodo de tiempo en función de los niveles de concentración de los analitos. Como el área del electrodo es pequeña y el tiempo que se mantiene el potencial de deposición (t_d) es mucho menor que el



tiempo que se necesita para una electrolisis exhaustiva, la corriente permanece prácticamente constante durante el proceso.

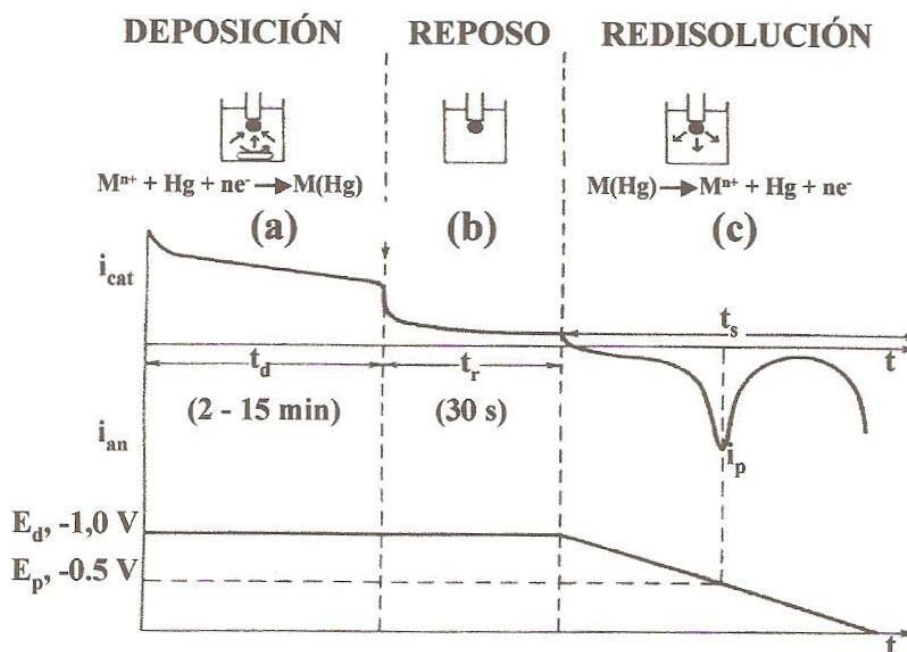


Figura 24. Fundamento esquemático de la voltamperometría de redisolución anódica. Los valores mostrados corresponden al análisis de Cu^{2+} [6] [335].

Con un electrodo de gota de mercurio, se guarda a continuación un corto periodo de espera t_r , desconectando el agitador y manteniendo la aplicación de E_d , para permitir que la disolución se quede en reposo, y que la concentración del metal en la amalgama llegue a ser uniforme. Seguidamente, se realiza la etapa de redisolución barriendo el potencial linealmente hacia valores más positivos. La intensidad de la respuesta suele ser el parámetro experimental que se relaciona con la concentración del analito.

En la modalidad de análisis por redisolución potenciométrica, los iones metálicos son preconcentrados, normalmente en forma de amalgama sobre una película de Hg, de manera análoga a la voltametría de redisolución anódica, pero, la etapa de reoxidación se lleva a cabo mediante un agente oxidante presente en la disolución; es decir, se emplea una reacción química redox homogénea para producir la redisolución del depósito metálico.



Como agentes oxidantes suelen utilizarse iones Hg (II), Cr (VI) o bien el propio oxígeno. Con objeto de facilitar el transporte del oxidante hacia la superficie del electrodo, se aplica un movimiento convectivo durante la etapa de redisolución, en la que se registra la variación del potencial del electrodo de trabajo en función del tiempo, dando lugar a curvas como las que se muestran en la Figura 25. Un cambio brusco de potencial acompaña al agotamiento de cada metal en el electrodo.

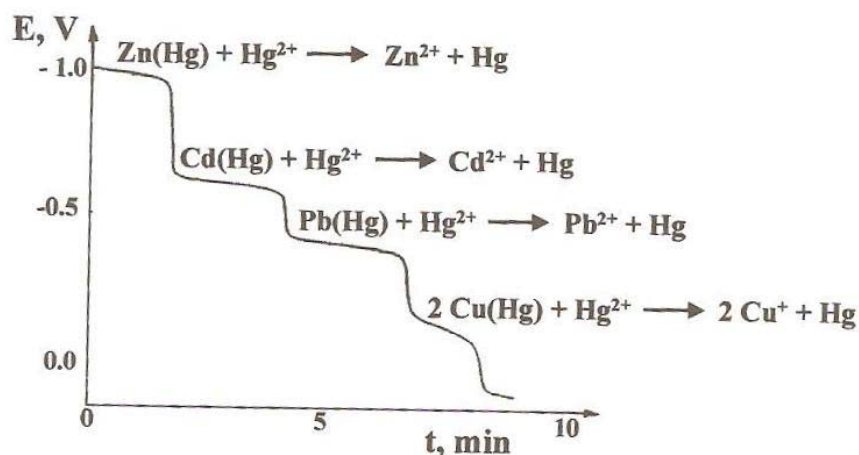


Figura 25. Curva potencial-tiempo para un HDME en una disolución de NaCl 0,5 M conteniendo Zn(II), Cd(II), Pb(II) y Cu(II) 1,5 μM y Hg(II) 0,5 mM; $t_d=3$ min; $E_d=-1,25$ V [335] [376].

Esta curva puede considerarse una curva de valoración en la que el reactivo valorante, el oxidante, difunde continuamente hacia la superficie del electrodo. El tiempo transcurrido entre dos puntos de equivalencia consecutivos permite la determinación de la concentración del analito correspondiente oxidado en ese intervalo.

Las ventajas de esta técnica frente a la anterior derivan del hecho de que no existe paso de corriente durante la etapa de redisolución. De este modo, este tipo de análisis no se ve afectado por la presencia de otras especies electroactivas presentes en la muestra que pueden ser origen de interferencias en una etapa de redisolución voltamperométrica. Además, y por la misma razón, los problemas



asociados con la corriente de carga ya no existen y puede utilizarse una instrumentación muy sencilla.

Por otra parte, como el oxígeno puede ser utilizado como agente oxidante, pueden llevarse a cabo las medidas en disoluciones sin desoxigenar, con el consiguiente ahorro de tiempo y eliminación de riesgos de contaminación, además de las ventajas que ello supone para las medidas en continuo.

Los límites de detección que se pueden conseguir con esta técnica están condicionados en la práctica por la capacidad de los instrumentos utilizados para resolver las señales de tiempo de redisolución. Así, para concentraciones de metales por debajo de los $\mu\text{g/L}$, es decir, para procesos de redisolución muy rápidos, es difícil obtener mesetas de redisolución en las curvas E-t con instrumentos no computarizados a no ser que se empleen periodos de deposición muy largos. A estos niveles de concentración, los tiempos de redisolución oscilan entre 50 y 200 ms, lo que requiere el uso de un ordenador para almacenar las señales y permitir su registro a una velocidad de 100 a 1000 veces menor que el tiempo real en el que transcurre la redisolución, como se muestra en la Figura 26. Como consecuencia de esta posibilidad, los límites de detección que se pueden alcanzar mejoran notablemente[377].

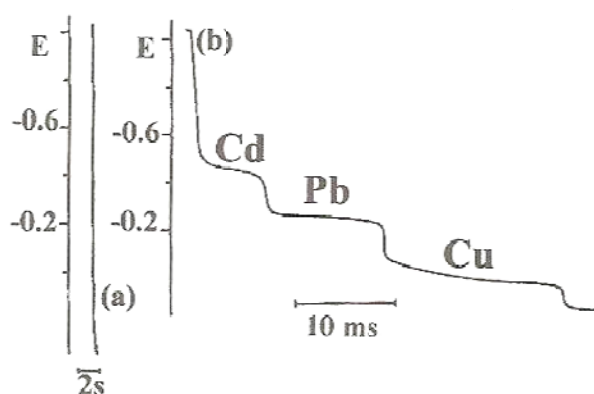


Figura 26. Curvas de redisolución potenciométrica para una disolución de Cd(II), 250 ng/L, Pb(II), 250 ng/L y Cu(II), 125 ng/L, a) registro convencional; b) registro computarizado registrado a una velocidad 1000 veces menor que en a); $t_d=4$ min [335] [377].



Por su parte, la modalidad de voltametría de redisolución catódica es utilizada para la determinación de especies inorgánicas y orgánicas susceptibles de formar complejos poco solubles con los iones procedentes de la oxidación del electrodo. Así, aplicando un potencial ligeramente positivo al electrodo de trabajo en presencia de una de estas especies, se forma una fina película de sal poco soluble en la superficie de dicho electrodo, según las reacciones $M - ne \rightarrow M^{n+}$; $M^{n+} + A^{n-} \rightleftharpoons MA \downarrow$, donde M es el material electródico, A^{n-} es el analito y MA es la sal poco soluble.

El electrodo más utilizado es el de Hg, aunque también pueden emplearse electrodos sólidos, como el de plata. A fin de asegurar el transporte del analito hacia la superficie del electrodo, esta etapa de deposición se realiza con agitación vigorosa constante.

Tras la etapa de preconcentración, la película depositada es redisuelta mediante un barrido catódico del potencial que puede realizarse con las mismas técnicas voltamperométricas vistas en redisolución anódica, midiendo la señal electroquímica originada.

La sensibilidad de esta técnica depende de la cantidad de analito que pueda ser depositada en un periodo dado, la cual es función de la solubilidad del compuesto depositado, de su cinética de formación, del coeficiente de difusión del ion que reacciona en la película depositada y de la densidad de dicha película. Por otra parte, la sensibilidad depende también de la velocidad de disociación del compuesto poco soluble durante la etapa de redisolución.

La mayor sensibilidad se alcanza usando electrodos de gran superficie donde se puede depositar una gran cantidad del compuesto poco soluble, al contrario de lo que ocurría en redisolución anódica, donde la máxima sensibilidad se lograba con electrodos de película.

Dado que esta técnica implica la formación de una película sobre la superficie del electrodo, es frecuente encontrar calibrados que se desvían de la linealidad a concentraciones elevadas debido a la saturación superficial. Sin embargo, dichos calibrados pueden ser utilizados con fines analíticos, dado que generalmente son



muy reproducibles. Por la misma razón, cuando se analizan mezclas de sustancias activas en redisolución catódica hay que tener en cuenta el posible efecto de interacción que puede resultar en menores corrientes de pico y/o en desplazamientos de los potenciales de pico. Debido fundamentalmente a estas complicaciones, esta modalidad se ha desarrollado menos que la voltametría de redisolución anódica.

Entre las especies inorgánicas determinadas por redisolución catódica, se encuentran, por ejemplo, los iones halogenuro, sulfuro, seleniuro y diversos oxoaniones. La mayor parte de estas determinaciones están basadas en la formación de sales insolubles entre los aniones a analizar y los iones Hg_2^{2+} electrogenerados anódicamente, las cuales son preconcentradas sobre la superficie de un electrodo de gota de mercurio.

En lo que respecta a sustancias orgánicas, pueden determinarse aquellas que formen compuestos poco solubles con Hg por deposición a un potencial apropiado y posterior redisolución catódica de la película depositada. Aunque también se obtienen elevadas sensibilidades, éstas por lo general son inferiores a las de los aniones inorgánicos que presentan mayores coeficientes de difusión.

Por último, otra modalidad dentro de estas técnicas es la voltamperometría de redisolución adsorptiva o de adsorción-redisolución, donde la etapa de preconcentración del analito está fundamentada en su adsorción sobre la superficie del electrodo.

Tradicionalmente, la adsorción de compuestos orgánicos sobre superficies electródicas ha sido considerada como un problema que limitaba las medidas voltamperométricas. Sin embargo, esta adsorción puede ser utilizada como proceso de acumulación del compuesto a analizar, lo que puede dar lugar a importantes mejoras en la sensibilidad y selectividad de su determinación. Además, esta técnica puede ser aplicable a aquellas sustancias no acumulables en superficies electródicas por medio de una electrolisis. El electrodo de gota de mercurio suele ser el elegido para la determinación de especies reducibles, mientras que los de carbono o platino son adecuados para especies oxidables.



Como ocurre en los procesos de adsorción, la cantidad de analito acumulada sobre la superficie del electrodo depende de varios factores, tales como el disolvente, la naturaleza del electrodo, la fuerza iónica, el pH, el transporte de materia, el potencial o la temperatura. Puesto que el proceso de acumulación implica la formación de una película sobre el electrodo, los calibrados suelen desviarse de la linealidad para concentraciones superiores a $1 \mu\text{M}$, es decir, cuando se alcanza un recubrimiento total de la superficie del electrodo. Para mejorar la linealidad, vía un menor recubrimiento superficial, pueden emplearse tiempos de acumulación más cortos, menores velocidades de agitación o dilución de la muestra.

Como se ha puesto de manifiesto en todo lo expuesto hasta el momento, las características principales que determinan las grandes aplicaciones del análisis por redisolución son su elevada sensibilidad y su sencillez, tanto en el procedimiento experimental como en la instrumentación requerida, lo que también conduce a un bajo coste del análisis. Así, su aplicación resulta muchas veces ventajosa con respecto a otras técnicas analíticas que proporcionan límites de detección similares.

El análisis por redisolución ha sido extensamente aplicado a la determinación de trazas de metales y de compuestos orgánicos en muestras ambientales y clínicas, así como en el análisis de alimentos, fármacos y de productos y residuos industriales.

4.5. Cronotécnicas

Este tipo de técnicas se caracterizan por el hecho de que el tiempo es ahora la variable dependiente.

La cronoamperometría y cronoculombimetría se basan en una misma función de oxidación o reducción, consistente en uno o varios saltos de potencial aplicados a un electrodo sumergido en una disolución sin agitar. La respuesta del sistema es, por tanto, idéntica en las dos técnicas y sólo difieren en la magnitud registrada como respuesta.



La función de excitación consiste en un salto de potencial desde un valor inicial E_p , al cual no hay corriente debida a un proceso redox, hasta un segundo potencial E_S (Figura 27) cuyo valor es tal que todo el reactivo en la superficie del electrodo es instantáneamente transformado, lo que provoca un gradiente de concentración y, por tanto, un transporte de materia debido a la difusión del reactivo desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. Tan rápidamente como éste difunde al electrodo, se transforma, por lo que la velocidad de desaparición del reactivo y la consiguiente velocidad de formación del producto están controladas por la velocidad de difusión del reactivo a la superficie del electrodo bajo la influencia del mencionado gradiente de concentración.

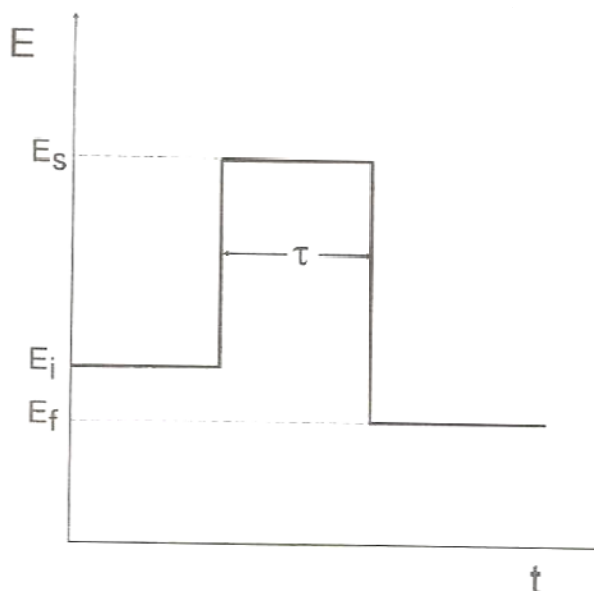


Figura 27. Señal de excitación empleada en las técnicas de salto de potencial [335].

La duración del salto de potencial (τ) está determinada normalmente por el tipo de información deseada, pudiendo variar desde aproximadamente $10 \mu s$ hasta varios segundos. El salto de potencial E_S se termina generalmente invirtiendo el potencial hasta un valor final E_f , al cual el producto es ahora transformado de nuevo. Si este potencial final es suficiente, la concentración de producto en la superficie del electrodo se hace esencialmente cero.



El valor del potencial E_s debe escogerse de tal modo que la relación de concentraciones entre reactivo y producto en la superficie del electrodo sea pequeña. Desde un punto de vista práctico, una relación entre estas concentraciones de 10^{-3} es equivalente a reducir la concentración del reactivo a cero en la superficie del electrodo.

• **Cronoamperometría.** Como su nombre indica, en esta técnica se monitoriza la corriente que fluye por el electrodo de trabajo en función del tiempo, tras llevar a cabo el salto del potencial. El experimento básico consiste en mantener el potencial aplicado en un valor determinado hasta el final del experimento (Figura 28A).

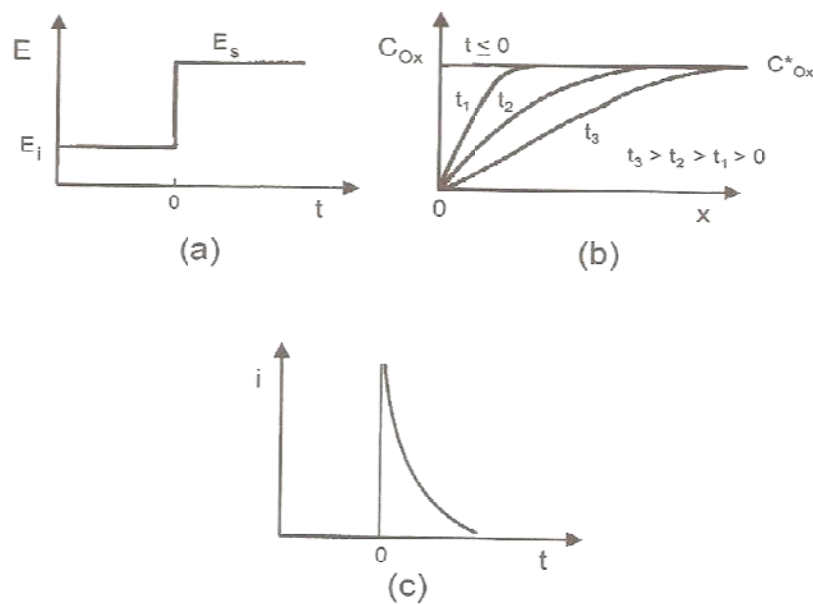


Figura 28. a) Señal de excitación utilizada en un experimento cronoamperométrico básico; b) perfiles de concentración para varios tiempos en el experimento; c) respuesta corriente-tiempo (cronoamperograma) [351].

El paso de E_i a E_s provoca la aparición de una elevada corriente instantánea como resultado de la transformación de la especie reactiva. La corriente que pasa seguidamente es debida a que dicha transformación ha creado un gradiente de concentración que produce, a su vez, un flujo neto de reactivo a la superficie del electrodo. Puesto que el reactivo no puede existir en el electrodo al potencial E_s ,



ésta debe eliminarse por electrolisis. El flujo de reactivo, y por tanto también la corriente, es proporcional al gradiente de concentración en la superficie del electrodo. Como es conocido [6], el flujo continuado de la especie reactiva da lugar a que la zona de agotamiento de la misma se haga más grande; por consiguiente, la pendiente del perfil de concentración en la superficie disminuye con el tiempo, y del mismo modo ocurre con la corriente. Estos efectos se ilustran en la Figura 28B y 28C. De hecho, la corriente decae desde un valor teórico a $t = 0$ y tiende a cero a medida que aumenta el tiempo.

Un segundo tipo de experimento cronoamperométrico consiste en invertir el potencial aplicado hasta E_f después de transcurrido un tiempo τ (Figura 27). Este experimento, conocido como cronoamperometría de doble salto de potencial se representa en la Figura 29 con un cronoamperograma de doble salto típico. La línea de trazos muestra la respuesta a la señal de excitación para una disolución que contiene sólo electrolito soporte, es decir, la respuesta del fondo.

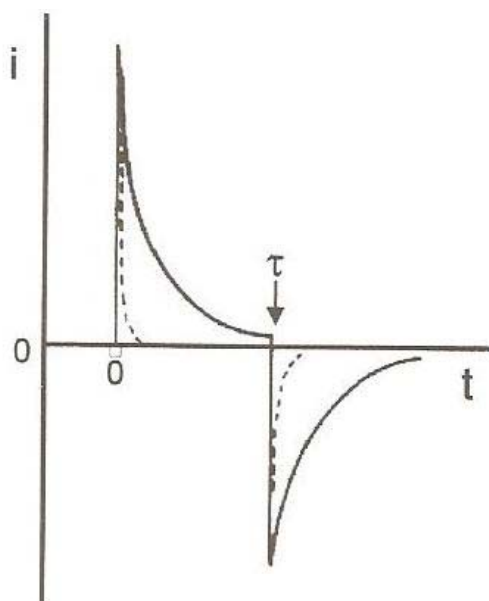


Figura 29. Cronoamperograma de doble salto de potencial[335].

Para un electrodo plano, la dependencia de la corriente con el tiempo viene dada por la ecuación de Cottrell: $i(t) = i_d(t) = \frac{nFAD_{Ox}^{1/2} C_{Ox}^*}{n^{1/2} t^{1/2}}$, donde i viene expresada



en amperios, el área del electrodo en cm^2 , C_{ox}^* en mol/cm^3 y D_{ox} en cm^2/s . es decir, la corriente es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo.

Así, la ecuación de Cottrell establece que el producto $i \times t^{1/2}$ debe ser una constante para una reacción controlada por difusión sobre un electrodo plano. La desviación de esta constancia puede estar causada por una serie de efectos, como una difusión no plana, fenómenos de convección, un proceso de carga lento del electrodo durante el salto de potencial o la existencia de reacciones químicas acopladas. Para cada uno de estos casos, las variaciones de $i \times t^{1/2}$ cuando se representan frente a t muestran un comportamiento característico.

La ventana de tiempo disponible para que las medidas sigan la ecuación de Cottrell depende del dispositivo experimental utilizado en cada caso y, en las mejores condiciones, está comprendido entre aproximadamente 20 μs y 200 s.

Por otra parte, la caída óhmica dentro de la celda o incluso las limitaciones en el propio potenciostato pueden provocar una disminución de $i \times t^{1/2}$ a valores pequeños de t [338].

La cronoamperometría es una técnica muy utilizada para la determinación de parámetros de interés en química electroanalítica, como por ejemplo, los coeficientes de difusión de especies electroactivas. Por otro lado, la variación de $i \times t^{1/2}$ frente a t puede ser utilizada para el estudio cualitativo de las reacciones químicas acopladas al proceso de transferencia electrónica [378].

En espectroelectroquímica, la cronoamperometría también es muy utilizada para estudios de electrosíntesis [379] y electropolimerización [380], así como para el estudio del comportamiento de membranas [381] o películas que actúan como electrodos [382].

● **Cronoculombimetría.** La diferencia entre esta técnica y la anterior es que ahora la corriente que fluye por el electrodo con el tiempo es integrada, de manera que la respuesta monitorizada es la carga Q , en función del tiempo.



Esta técnica presenta importantes ventajas experimentales con respecto a la cronoamperometría. La primera es que la señal medida habitualmente crece con el tiempo y, por lo tanto, las últimas partes de la respuesta transitoria, que son las más accesibles experimentalmente y que están menos distorsionadas por una subida de potencial no ideal, ofrecen mejores relaciones señal/ruido que los resultados en los primeros momentos del experimento, cumpliéndose lo contrario para la cronoamperometría. Además, la propia integración suaviza el ruido aleatorio de la corriente transitoria, por lo que el registro cronoculombimétrico es inherentemente más limpio. Por último, las contribuciones a la carga por parte de la carga de la doble capa o de reacciones electrónicas de especies adsorbidas pueden distinguirse de las debidas a especies electroactivas que difunden; una distinción análoga entre estos componentes no es generalmente posible en el experimento cronoamperométrico, lo que hace a la técnica cronoculombimétrica especialmente valiosa para el estudio de procesos superficiales.

El experimento cronoculombimétrico más sencillo es aquel que implica una disolución sin agitar del reactivo en la que se sumerge un electrodo de trabajo plano al que se aplica un potencial E_i al cual no existe electrolisis apreciable. El cambio de potencial hasta E_s da lugar a la corriente limitada por difusión que describe la ecuación de Cottrell, cuya integral proporciona la carga acumulada al transformar el reactivo, que difunde: $Q(t) = \frac{2nFAD_{Ox}^{1/2}C_{Ox}^*}{\pi^{1/2}}$, para una reducción.

La curva cronoculombimétrica tiene la forma de la Figura 30. La ecuación para Q muestra que la componente difusional de la carga es cero para $t = 0$. Sin embargo, en la práctica una representación de la carga total Q frente a $t^{1/2}$ generalmente no pasa por el origen. Esto es así porque la carga medida puede tener tres tipos de contribuciones: la ya considerada correspondiente a la electrolisis de la especie electroactiva en disolución a una velocidad controlada por la difusión hacia el electrodo, la electrolisis de la especie electroactiva que se adsorbe sobre la superficie del electrodo al potencial aplicado y la carga de la doble capa al nuevo potencial. En un tratamiento simplificado, estas tres componentes pueden considerarse por separado como funciones aditivas.

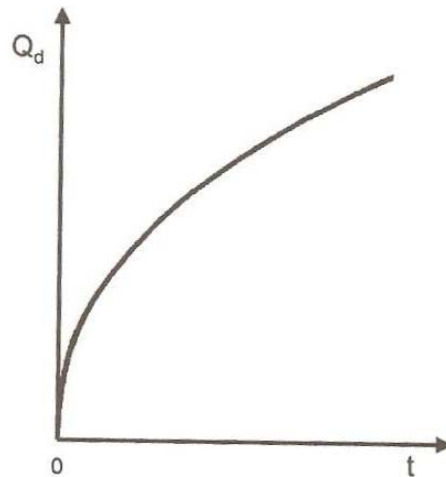


Figura 30. Forma de una curva cronoculombimétrica para la reducción de un analito [335].

En la Figura 31 se muestra una curva culombimétrica típica para un sistema en que la especie electroactiva se adsorbe sobre la superficie del electrodo. Asimismo, se representan las contribuciones de las tres componentes individuales consideradas. Debe resaltarse que la carga total que se requiere para cargar la doble capa y para transformar la especie adsorbida se consume instantáneamente, mientras que la carga para transformar la especie en disolución muestra la dependencia con el tiempo típica del control por difusión.

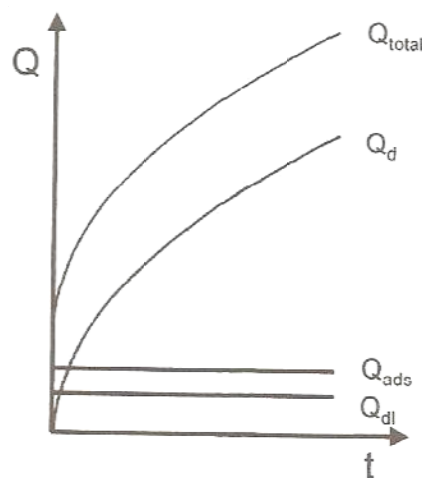


Figura 31. Efecto de la adsorción de especies electroactivas en un experimento cronoculombimétrico. Se muestran las curvas cronoculombimétricas para los componentes individuales que contribuyen a la carga total [335].



Combinando la técnica cronocoulométrica con las diferentes técnicas espectroscópicas se ha investigado el comportamiento de muchos iones inorgánicos, complejos metálicos y compuestos orgánicos electroactivos sobre superficies electródicas [312][383]. También puede emplearse para estudiar reacciones químicas homogéneas acopladas a la reacción electródica [384].

● **Cronopotenciometría.** En esta técnica se aplica una señal de excitación en forma de corriente a una celda electroquímica que contiene una disolución sin agitar, midiéndose la señal de respuesta, normalmente el potencial del electrodo de trabajo en función del tiempo.

La modalidad más simple de esta técnica es aquella en la que la señal de excitación es un salto de corriente como la que se muestra en la Figura 32. La respuesta, es decir, el potencial resultante del electrodo indicador, se mide entonces como una función del tiempo, dando lugar a un cronopotenciograma.

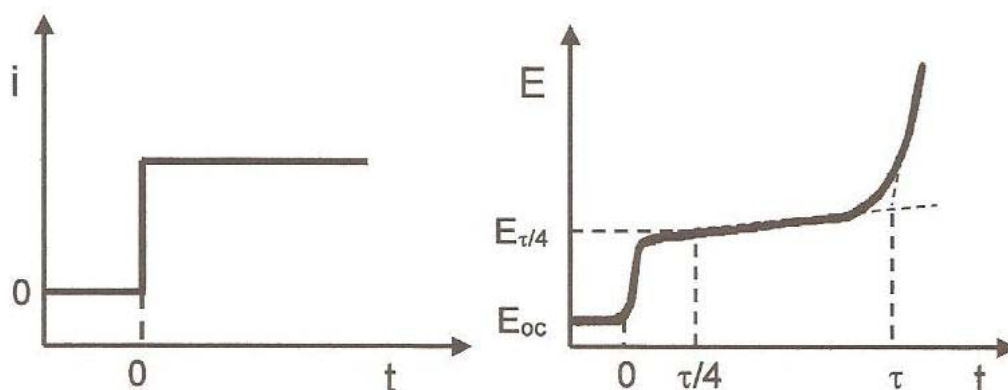


Figura 32. Señal de excitación de corriente y señal de respuesta del potencial frente al tiempo en un experimento cronopotenciométrico [335].

La forma del mismo viene determinada por los cambios en la concentración de las especies oxidada y reducida en la superficie del electrodo durante la electrolisis. El potencial está relacionado con las concentraciones iniciales de dichas especies en la superficie electródica mediante la ecuación de Nernst para un sistema reversible. El potencial inicial antes de la aplicación del salto de corriente es simplemente el potencial a circuito abierto E_{oc} . En el momento de la aplicación



del salto de corriente, el potencial varía a un valor consistente con la ecuación de Nernst. Al principio del experimento, el potencial cambia bruscamente desde el potencial a circuito abierto hasta un potencial situado en la zona del potencial estándar de oxidación-reducción medido con respecto al electrodo de referencia utilizado.

El subsiguiente cambio gradual del potencial durante la electrolisis refleja la conversión de la especie inicial en el producto, y por tanto, la disminución de la relación entre las concentraciones de las dos especies en la superficie del electrodo, tal y como se muestra en la Figura 33. En el tiempo de transición τ la concentración superficial de reactivo se aproxima a cero, lo que da lugar a que el potencial cambie rápidamente a un valor más negativo, de forma que pueda producirse la electrolisis de otro componente electroactivo, para así poder mantener constante el valor de corriente. Si existe en disolución una segunda especie electroactiva, se obtendrá entonces una segunda onda cronopotenciométrica. Si no existiera, el potencial se desplazará hasta que se produzca la transformación del disolvente o el electrolito soporte.

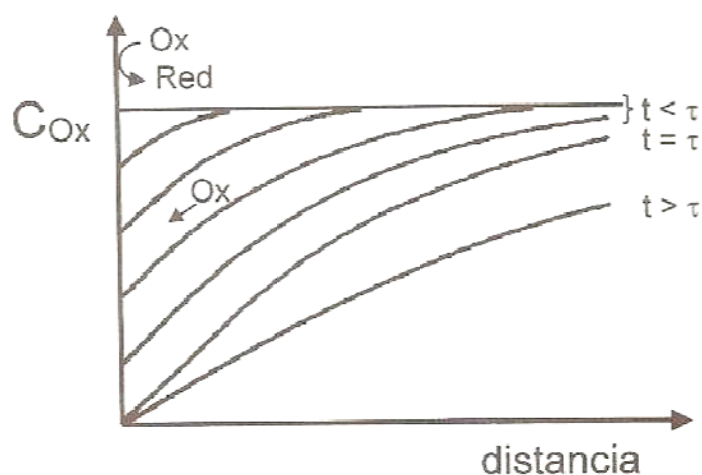


Figura 33. Perfiles de concentración-distancia durante la reducción de la especie oxidada provocada por una señal de excitación de corriente constante [335].

La cronopotenciometría presenta como principales inconvenientes la dificultad para determinar experimentalmente el tiempo de transición y el hecho de que la



corriente de carga no se diferencia fácilmente de la respuesta farádica, ya que el potencial del electrodo varía a lo largo del experimento.

La cronopotenciometría se emplea en espectroelectroquímica sobre todo para el estudio de membranas y diferentes películas que actúan como electrodos [385] [386], aunque también es posible encontrar en la bibliografía alguna aplicación de esta técnica electroquímica para el estudio de reacciones de transferencia electrónica [387].

5. CELDAS ESPECTROELECTROQUÍMICAS

En esta sección, se hará un recorrido por diferentes celdas espectroelectroquímicas, clasificándolas en función de la técnica espectroelectroquímica para la que se han sido diseñadas y explorando los requerimientos básicos que deben cumplir cada una de ellas. Se citarán los mejores materiales para el cuerpo de la celda y para las ventanas ópticas, así como los mejores materiales electródicos que pueden emplearse para un correcto funcionamiento de cada una de las celdas.

5.1. Celdas espectroelectroquímicas para UV-visible

Todas las celdas espectroelectroquímicas para UV-visible están diseñadas para ser empleadas en experimentos de transmitancia o reflexión interna [388], siendo la primera configuración más adecuada para examinar especies en disolución [389] y la segunda, para estudios de la superficie electródica [51].

El empleo de la espectroscopía de transmisión es posible gracias a la disponibilidad de electrodos ópticamente transparentes (OTE). El requisito esencial para estos electrodos es que deben transmitir más del 50% de la luz incidente dentro de la región de la longitud de onda de interés.

Otros prerrequisitos para los materiales que se emplean como OTE de trabajo incluyen, además de la transparencia óptica, una amplia ventana de potencial de trabajo, y estabilidad frente a los diferentes disolventes y electrolitos empleados.



De forma general, los OTE pueden clasificarse en dos grupos:

► **Electrodos formados por finas películas conductoras**, que pueden ser metálicas, de óxidos metálicos semiconductores, de diamante dopado con boro o de polímeros plásticos conductores.

Las películas metálicas finas se consiguen depositando metales como Au, Ag ó Pt sobre sustratos transparentes como cuarzo, vidrio o plástico. En el cuarzo, la ventana óptica de trabajo va desde los 220 nm hasta la región visible e infrarroja, mientras que el vidrio y el plástico sólo son útiles en la región visible, y rara vez el infrarrojo.

La deposición de películas metálicas de Pt y Au requiere la deposición previa de un metal de transición como W ó Ti para mejorar la adhesión y estabilizar la película conductora.

Otra opción para estabilizar la película conductora consiste en la funcionalización de la misma con grupos que se enlazan al metal y lo estabilizan. Este proceso es especialmente importante en el caso del Au, que es vulnerable a la fricción, dando lugar a materiales electródicos muy robustos y transparentes [390].

La película metálica debe ser lo suficientemente fina (menos de 200 nm de grosor) para mantener la transparencia óptica. Un inconveniente asociado a este hecho es que la película puede presentar poca conductividad.

Las películas finas y transparentes de óxidos metálicos semiconductores, como el óxido de indio y estaño (ITO) [391] depositadas sobre sustratos transparentes están viendo incrementada su aplicación, ya que es posible su utilización gracias a la transparencia de los óxidos en la región visible del espectro y presentan menores problemas de resistencia que las películas metálicas [392], ya que pueden tener mayor grosor. El problema de estos materiales es que no transmiten la luz ultravioleta y su uso está limitado para estudios en el visible o el infrarrojo cercano. Además, una alta cantidad de dopante puede incluso reducir su transparencia óptica.



Para depositar tanto estas películas de óxidos como las películas metálicas antes descritas se pueden emplear diversas técnicas [393][394], como la deposición química en fase vapor, la pirolisis de espray, la deposición mediante láser pulsante, la inmersión y la pulverización o sputtering, entre otras.

Los electrodos ópticamente transparentes de diamante también están encontrando muchas aplicaciones en estudios espectroelectroquímicos de transmisión [395][396]. Estos electrodos se fabrican de varias formas, siendo la más común la deposición química en fase vapor. El diamante policristalino también puede hacerse crecer sobre sustratos metálicos, y luego puede separarse para su uso como ventana óptica [397]. También es posible depositar finas películas de diamante sobre sustratos ópticamente transparentes.

El diamante de alta pureza tiene una excelente transparencia óptica, transmitiendo desde los 225 nm hasta el infrarrojo lejano. Sin embargo, el diamante no es buen conductor y necesita ser dopado, por ejemplo con boro, para obtener un material electródico útil [398]. Desafortunadamente, sus propiedades ópticas se degradan con el dopado y el amplio rango de longitudes de onda de trabajo y la transparencia se reducen considerablemente. A pesar de ello, el diamante dopado posee una amplia ventana de potencial de trabajo, es resistente y puede tolerar disolventes en condiciones externas.

Otra posibilidad es el empleo de películas transparentes compuestas por polímeros plásticos conductores, como polipirrol (PPy), polianilina (PANI) o PEDOT [399]. Estos polímeros pueden obtenerse por métodos químicos o electroquímicos, siendo el método electroquímico el más útil cuando se requiere la deposición del material polimérico sobre una superficie [400], ya que estas técnicas permiten el control de la morfología de la película.

► **Electrodos de mallas.** Los materiales transparentes en forma de mini rejillas o mallas transparentes [401] han encontrado muchas aplicaciones en espectroelectroquímica de absorción UV, visible e IR. Algunos metales han sido comercializados en forma de malla, como el Au (Figura 34), el Pt o las aleaciones Pt-Rh. El carbono vítreo reticulado (CVR) y otros metales y aleaciones menos comunes, como Au amalgamado en Hg, también son muy utilizados [402][403].

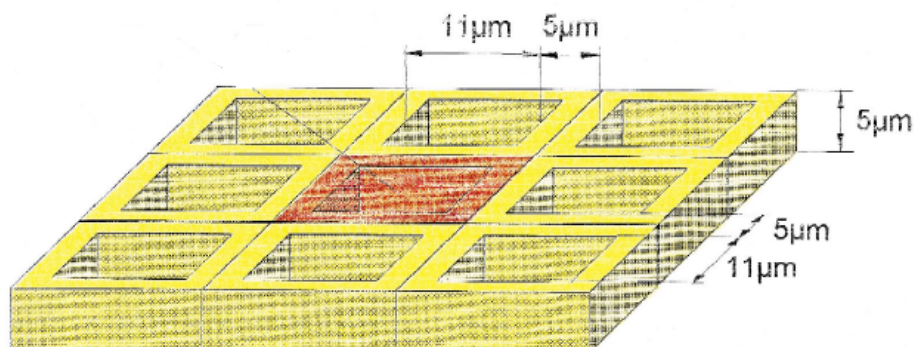


Figura 34. Esquema de un electrodo basado en una red microscópica de Au [404].

La transparencia óptica de estos materiales depende de las dimensiones de los hilos y del enrejado de la malla, pero suele ser superior al 50%. La gran superficie específica y la alta conductividad de estos materiales los hacen adecuados para realizar electrolisis a fondo de forma rápida. Las dimensiones y el grosor de la malla junto con el tamaño de poro son parámetros importantes a la hora de determinar el comportamiento difusivo en este tipo de electrodos [405].

Las mallas de Au no son demasiado fuertes, lo que impide su fácil manipulación limitando el uso de la celda [406]. Para intentar solucionar este problema se han desarrollado complicados diseños de celdas que utilizan adhesivos o resinas epoxi [68][407]. El problema de estos diseños es que los disolventes orgánicos usados en electroquímica suelen disolver gradualmente tanto la resina como el material adhesivo, dando lugar a problemas de fugas o de deformación que hacen que sea necesario construir nuevas celdas cada cierto número de experimentos.

Muchos grupos de investigación han publicado varios diseños en los que se empleaba un electrodo de trabajo basado en una malla de Pt [387][406][408]. El problema de estos electrodos es que se observan picos voltamétricos poco definidos. La Figura 35 muestra el diseño de una celda para operaciones a vacío que emplea una malla doble de Pt en forma de sándwich que evita la utilización de adhesivos y resinas.

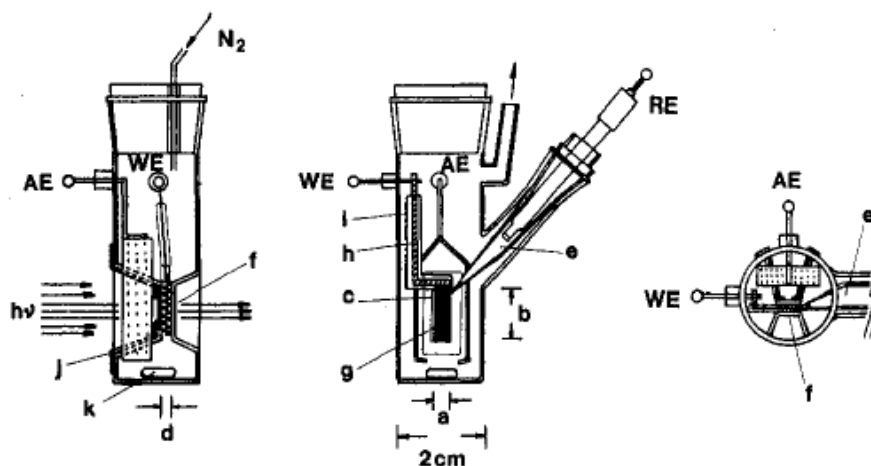


Figura 35. Ilustración esquemática de una celda espectroelectroquímica de capa fina que utiliza un electrodo de trabajo basado en una malla de Pt. La vista frontal (en el centro) muestra la forma de aplicación de vacío mientras que la vista de la cara izquierda (a la izquierda) muestra la celda en modo de desoxigenación. Las partes de la celda son: a) anchura y b) longitud del electrodo de Pt; c) cámara de muestra; d) anchura de la cámara de muestra; e) filtro de Pt para operaciones de vacío y filtro de asbesto para operaciones regulares; f) ventana óptica; g) electrodo de malla de Pt; h) hilo de acero inoxidable; i) película protectora; j) hueco para la ventana óptica; k) agitador magnético [406].

▶ **Otros tipos de OTE.** Otro tipo de electrodos de trabajo ópticamente transparentes empleados en espectroelectroquímica UV-visible son los electrodos microestructurados [409], que se fabrican mediante un proceso de deposición galvánica litográfica, como el que se muestra en la Figura 36, o por polimerización en micromoldes cerámicos [410].

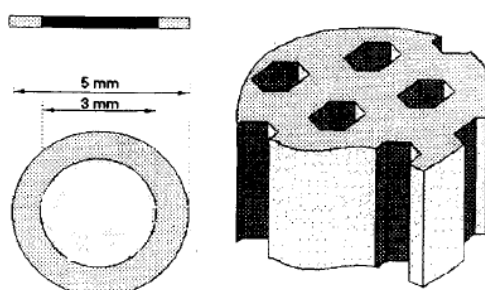


Figura 36. Vista esquemática de un electrodo de Au microestructurado [409].

En los últimos años, se están llevando a cabo muchas determinaciones espectroelectroquímicas que emplean electrodos serigrafiados como electrodos de trabajo [411]. Este tipo de electrodo es muy adecuado para estudios cuantitativos gracias a que son muy fáciles de modificar para hacerlos selectivos, sensibles y rápidos en su detección. Además, garantizan superficies electródicas reproducibles y adecuadas para análisis de rutina. La Figura 37 muestra un diseño de celda para medidas de reflexión interna basada en este tipo de electrodos [412].

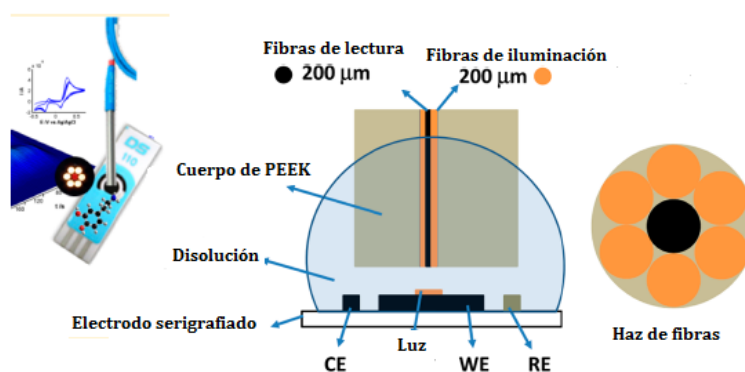


Figura 37. Esquema de una celda espectroelectroquímica de reflexión que emplea electrodos serigrafiados [412].

Algunas celdas espectroelectroquímicas de transmisión combinan el uso de estos electrodos ópticamente transparentes con el empleo de finas capas de disolución (entre 10 y 300 μm de anchura para la cámara de muestra). De esta forma se combinan las características de estos electrodos con las ventajas de una electrolisis rápida [58]. Este tipo de celdas es muy adecuado para el estudio de especies biológicas como vitaminas [413], proteínas [414] [415] o ácidos nucleicos [416] [417].

Con esta configuración es posible llevar a cabo una electrolisis exhaustiva y rápida, lo que permite detectar especies con tiempo de vida cortos sin interferencias [418]. Esta configuración de capa fina es también muy útil para el estudio de reacciones químicas homogéneas de especies electrogeneradas.



El diseño de capa fina, por necesidad, introduce una considerable resistencia no compensada en la celda. Además, el electrodo auxiliar suele colocarse cerca de una de las aberturas de la capa fina o bien en un compartimento cerrado. Estos factores dan lugar a una mala distribución de la corriente entre el electrodo de trabajo y el auxiliar. Cuando se combina una gran resistencia no compensada con una pobre distribución de la corriente, se observan variaciones temporales de la concentración de las especies redox sobre la superficie del OTE, es decir, en un plano perpendicular al paso de luz [359]. El resultado práctico de esta situación es que, por lo general, hay poca o ninguna correlación temporal entre las respuestas electroquímicas y espectroscópicas.

Sólo cuando la celda alcanza el equilibrio, se logra una distribución uniforme de las especies electroactivas. Aunque en la mayoría de los casos no hay ningún problema en esperar que se alcance el equilibrio dentro de la celda, hay algunas situaciones en las que es deseable obtener espectros en condiciones de no equilibrio, especialmente cuando se estudian procesos irreversibles acoplados a reacciones de transferencia electrónica. En estos casos, es muy útil obtener datos espectrales resueltos en el tiempo bajo condiciones en las que la corriente no es nula.

Muchos grupos de investigación han centrado sus esfuerzos en diseñar celdas espectroelectroquímicas que minimizan los problemas antes citados y permiten realizar estudios espectrales rápidos. Un ejemplo es el que se muestra en la Figura 38, que consta de un compartimento de muestra cilíndrico de pequeño diámetro, abierto y accesible para la disolución a lo largo de la circunferencia de capa fina. El electrodo auxiliar se coloca a lo largo del borde de la capa fina para establecer una relación geométrica entre el electrodo de trabajo y el auxiliar.

Otro requisito de las celdas de capa fina es la necesidad de un corto camino óptico para facilitar un alto rendimiento óptico, lo que es muy importante a la hora de establecer una buena relación señal/ruido. Cuando, por el contrario, es la especie de partida la que limita el rendimiento óptico de la celda a la longitud de onda deseada, se pueden considerar dos opciones: disminuir la longitud del camino óptico o reducir la concentración de la especie en cuestión [419]. Esta

última opción, a pesar de aumentar el rendimiento óptico, puede reducir el cambio de absorbancia producido tras la electrolisis. Además, bajo estas condiciones de dilución pueden ponerse de manifiesto de forma significativa otros efectos debidos a impurezas o fenómenos de adsorción.

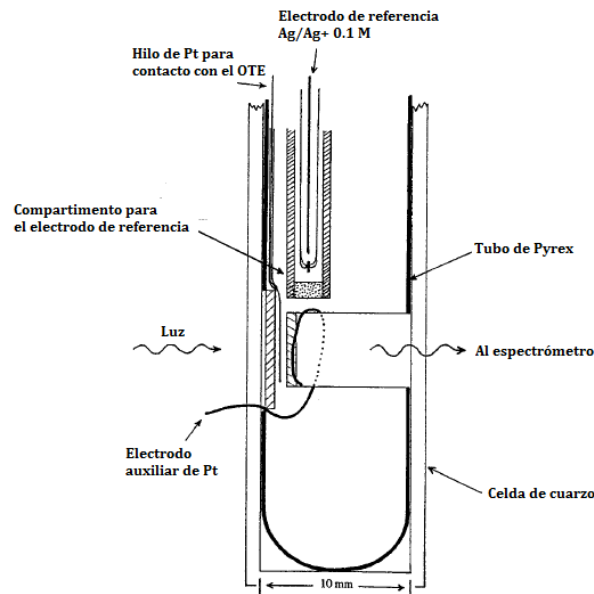


Figura 38. Diagrama de la celda espectroelectroquímica basada en un OTE. El tamaño de todos los componentes se ha exagerado para una mayor claridad del diseño [359].

Muchos autores reducen el camino óptico usando un tubo de luz, generalmente una barra de cuarzo para transmitir luz en una corta distancia sobre la superficie del OTE sin perder rendimiento óptico [420][421].

En experimentos de transmisión, sin embargo, este tubo de luz obstruye el paso de corriente entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. Con disoluciones de alta resistencia, o con pasos de luz muy cortos, este hecho puede dar lugar a una desigual distribución del potencial.

La situación contraria se presenta cuando se pretenden realizar estudios cuantitativos de procesos de adsorción/desorción o electrocatálisis. En este caso, se necesitan celdas con largos caminos ópticos y grandes superficies electródicas para aumentar al máximo la sensibilidad óptica [422][423]. La Figura 39 muestra



un esquema de este tipo de celdas, en las que suelen emplearse finas láminas metálicas conductoras como electrodos de trabajo.

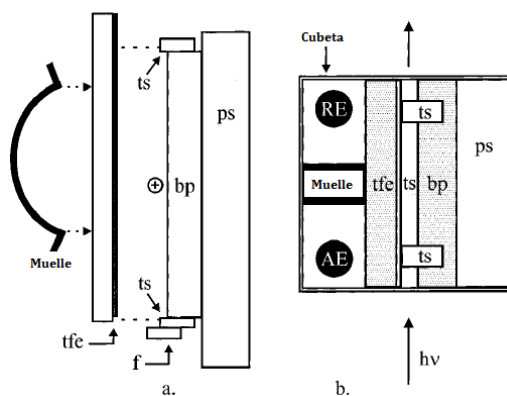


Figura 39. Diagrama esquemático de la celda de capa fina. (a) Vista lateral del despiece de todos los componentes de la celda, incluidos los separadores para controlar el espesor (ts), placa trasera (pb), pie para posicionar los electrodos (f), espaciadores posicionales (ps), electrodo de película fina (TFE) y muelle de compresión. (b) Vista superior que muestra todos los componentes, incluyendo los electrodos de referencia y auxiliar, anclados dentro de la cubeta [422].

El concepto del tubo de luz es más adecuado para diseños de reflexión externa, como la que se muestra en la Figura 40. Este tipo de configuración se centra en minimizar la resistencia inducida por la distribución del potencial en la cámara de muestra y en aumentar el camino óptico efectivo para mejorar la sensibilidad. La mayoría de estas celdas también emplean electrodos ópticamente transparentes basados en mallas de Au [424] o láminas metálicas pulidas como espejos [425]. La ventaja de este tipo de electrodos es que proporcionan un camino óptico mucho más largo y ofrece una resistencia mucho menor.

El empleo de los tubos de luz en este tipo de configuración facilita la reducción del camino óptico total sin obstrucción del paso de corriente entre los electrodos. Además, el cambio de absorbancia detectado en experimentos de reflexión es mucho mayor que el observado en experimentos de transmisión. Por otro lado, cuando es necesario el empleo de soluciones más diluidas debido a la presencia de especies fuertemente absorbentes, el aumento de sensibilidad de este tipo de geometría ayuda a compensar los pequeños cambios ópticos observados.

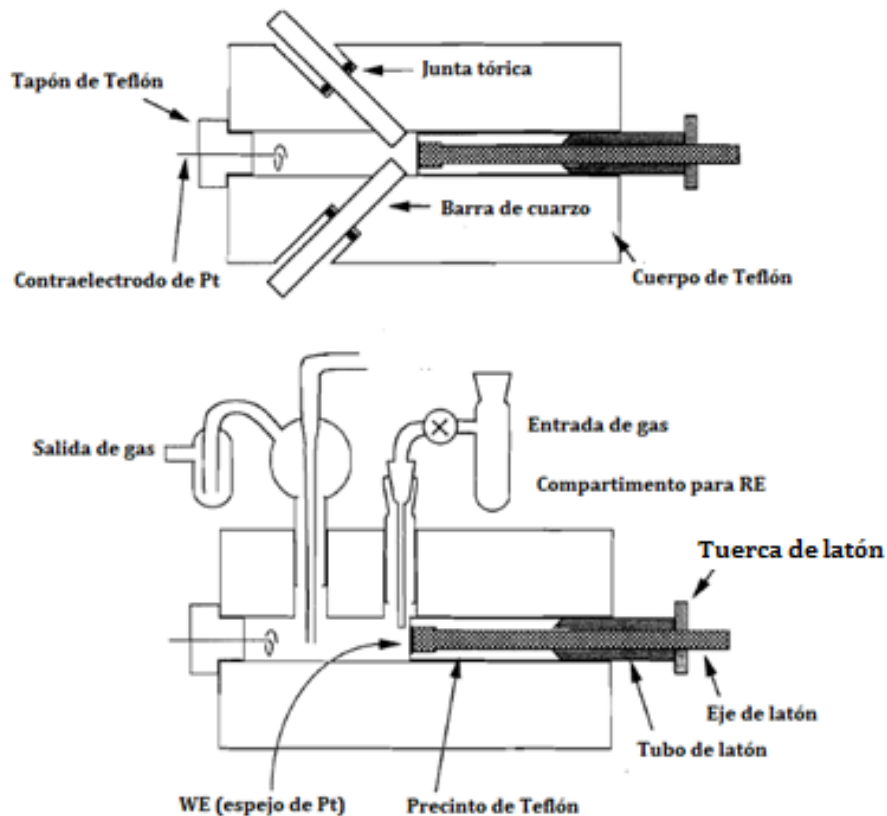


Figura 40. Detalle de una celda electroquímica para experimentos de reflexión interna [419].

Otra forma de obtener mejores resultados en experimentos de reflexión interna es mediante el uso de electrodos de disco rotatorio, ya que este montaje presenta una serie de ventajas frente a otros sistemas de convección forzada. En particular, este tipo de electrodos generan una capa de difusión bien definida de similares características a las de las celdas electroquímicas de capa fina antes citadas [426]. Una de las mayores virtudes de este tipo de celdas (Figura 41) es la posibilidad de reducir la gran caída óhmica de los OTE, permitiendo que las medidas sean realizadas en una menor escala de tiempo. Además, la posibilidad de trabajar bajo condiciones estacionarias con un reemplazo continuo de la disolución de estudio puede ser beneficioso para el estudio de sistemas para los que la descomposición de las especies electrogeneradas pueda perjudicar un análisis cuantitativo confiable.

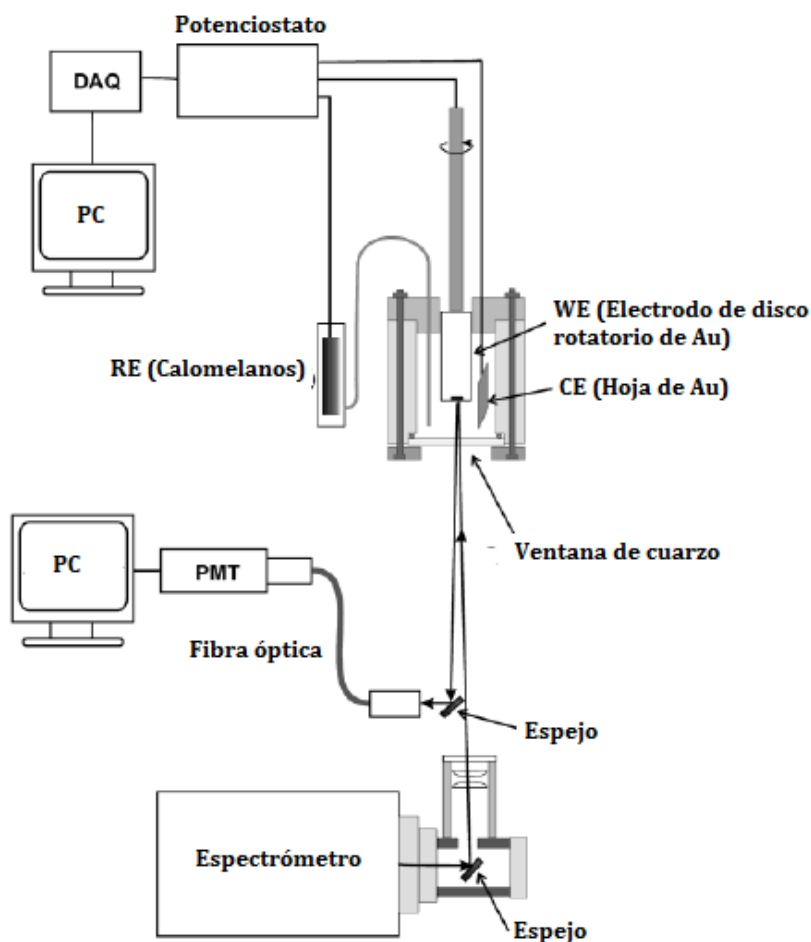


Figura 41. Diagrama del dispositivo experimental para medidas de reflexión UV-visible en dirección normal al electrodo de disco rotatorio [426].

Todas las celdas de transmisión mostradas hasta ahora utilizan una configuración en la que el rayo de luz atraviesa la superficie electródica de forma perpendicular, razón por la cual se necesita un electrodo de trabajo ópticamente transparente. Sin embargo, en la bibliografía es posible encontrar diseños de celdas en las que la luz incidente atraviesa la disolución de forma paralela al electrodo [427] [428] [429]. Este tipo de diseño, no sólo proporciona una alta sensibilidad óptica para monitorizar especies en disolución bajo periodos de difusión bajos, sino que permite el empleo de electrodos de trabajo opacos. La Figura 42 muestra un ejemplo de este tipo de celdas.

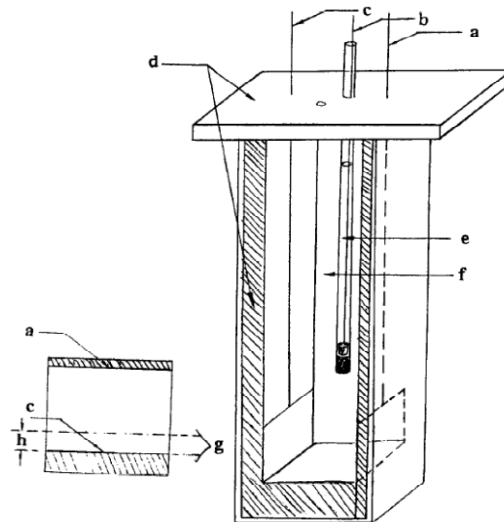


Figura 42. Diagrama de la celda espectroelectroquímica de rayo incidente paralelo. a) electrodo auxiliar, b) electrodo de referencia, c) electrodo de trabajo, d) soporte de metacrilato, e) solución saturada de KCl, f) celda de cuarzo, g) camino óptico, h) altura del rayo de luz [427].

Un diseño de celda poco convencional fue el propuesto por el grupo de investigación de López-Palacios [430] y que permite el empleo de una nueva técnica, que ellos han bautizado como “espectroelectroquímica bidimensional” (Figura 43). En esta técnica es posible obtener dos señales ópticas diferentes de forma simultánea durante un experimento espectroscópico.

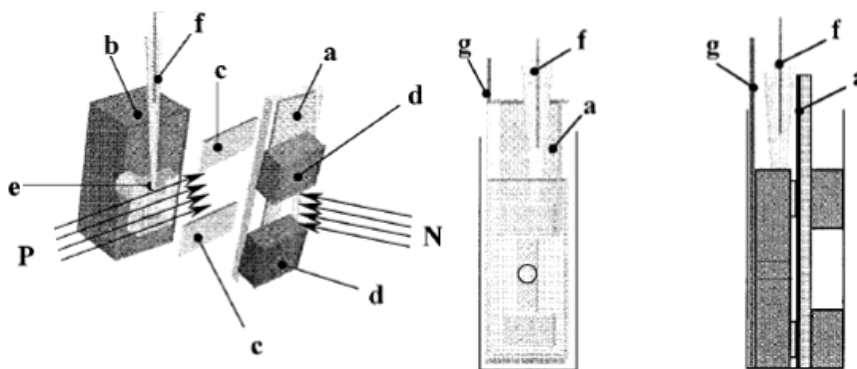


Figura 43. Diagramas esquemáticos (3D, vista frontal y vista lateral) de la celda de capa fina usada en los experimentos de espectroelectroquímica bidimensional. (a) Electrodo de trabajo de Au, (b) pieza de resina epoxi, (c) espaciadores, (d) sujeciones de resina epoxi, (e) ventana óptica circular, (f) electrodo de referencia, (g) electrodo auxiliar, (N) normal y (P) paralelo, referidos a la posición del haz de luz con respecto al electrodo de trabajo [430] [431].



Otra forma de minimizar el volumen de muestra dentro de la celda espectroelectroquímica se basa en el empleo de fibras ópticas y capilares metálicos [432][433][434] para construir dichos dispositivos. Un ejemplo es el que se muestra en la Figura 44 [435], donde se observa una celda con un volumen menor a 100 μL fabricada con un electrodo de trabajo de nanotubos de carbono.

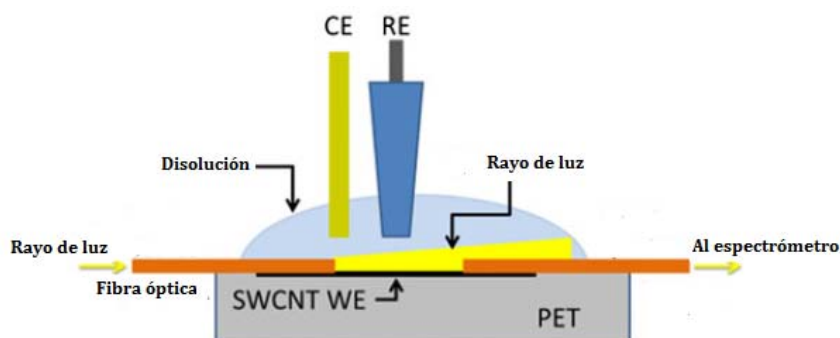


Figura 44. Vista esquemática de una celda espectroelectroquímica fabricada a partir de fibras ópticas[435].

Muchos autores han desarrollado celdas espectroelectroquímicas para medidas en flujo, e incluso existen varias celdas cuyo diseño permite trabajar en flujo o en estático [402], como la que se muestra en la Figura 45. Esta celda se fabrica a partir de una celda comercial de cuarzo y emplea un electrodo de carbón vítreo reticulado como electrodo de trabajo, que permite obtener una buena relación entre sensibilidad óptica y comportamiento electroquímico similar al que se obtiene en configuraciones de capa fina.

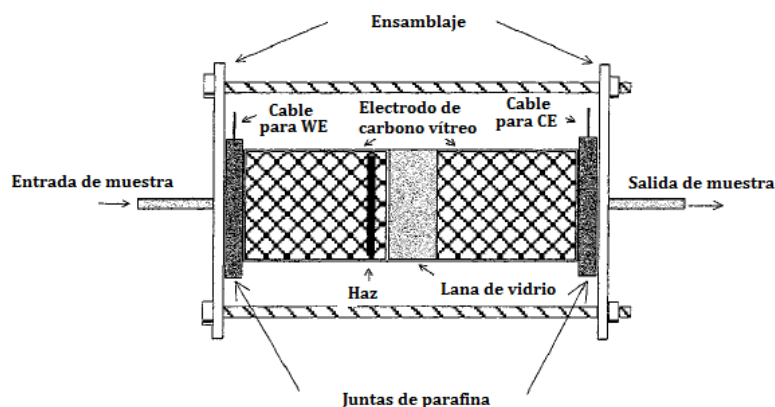


Figura 45. Diagrama de una celda espectroelectroquímica para medidas en flujo y en estático[402].

5.2. Celdas espectroelectroquímicas para IR

A la hora de diseñar una celda espectroelectroquímica para medidas en la región de IR hay que tener en cuenta una importante consideración: es necesario minimizar la absorción de la radiación incidente por parte del disolvente [99]. Teniendo en cuenta este hecho, se han empleado principalmente dos configuraciones a la hora de diseñar celdas de IR [11][50]: reflexión externa [51] y transmisión [66]. También es posible el uso de la reflexión interna o reflexión total atenuada [436], pero esta técnica generalmente no es factible debido a la baja conductividad de los elementos de reflexión interna disponibles.

Las celdas de reflexión externa son adecuadas para el estudio de disoluciones de especies electroactivas o estudios de corrosión de electrodos [437]. Estas celdas, que se usan desde hace tres décadas [438], han sufrido una gran evolución durante todo este tiempo.

En la Figura 46 se observa uno de los primeros diseños de este tipo de celdas. En ella, se ha montado una ventana transparente en IR sobre uno de los finales de la celda. Esta ventana debe ser plana o biselada para minimizar las pérdidas por reflexión [99]. El electrodo de trabajo, que suele ser una lámina metálica pulida como espejo, se coloca cerca de la ventana.

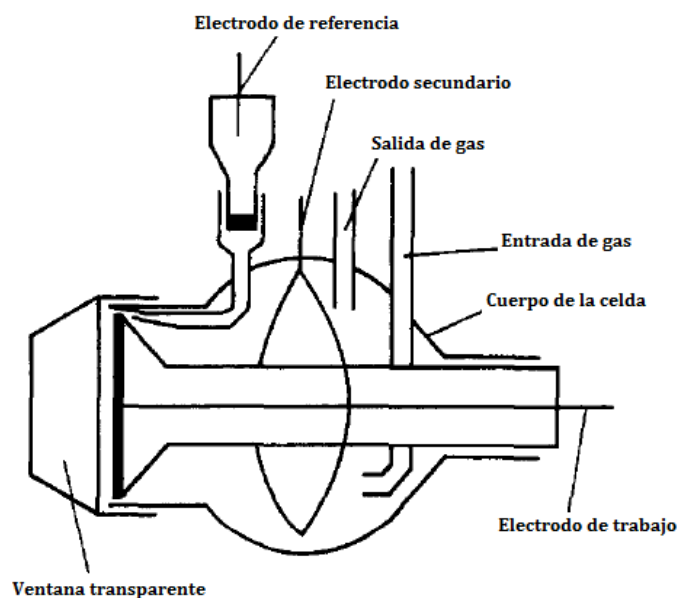


Figura 46. Configuración de una de las primeras celdas espectroelectroquímicas de IR en configuración de reflexión externa [66].



Generalmente hay dos tipos de montajes: celdas que se basan en elementos de reflexión externa que actúan como electrodos (como es el caso del Ge [439]), o celdas compuestas por una pequeña lámina de electrodo transparente que se ha depositado en la superficie del elemento de reflexión [440], que suele ser de un material no conductor. Este es el caso de los electrodos serigrafiados de carbono [441], los electrodos metálicos modificados con iones [442] o los electrodos modificados con nanomateriales [443].

Sin embargo, para aplicaciones en las que se estudia la disolución dentro de la celda, el electrodo se coloca de forma que una pequeña lámina de disolución quede entre el mismo y la ventana, en lo que se conoce como configuración de capa fina. La radiación incidente pasa a través de la ventana y la disolución, impacta en el electrodo y se refleja de nuevo en la disolución hasta llegar al detector. La geometría de reflexión externa minimiza la absorción de la radiación IR por parte del disolvente, a la vez que maximiza la eficiencia de absorber de los analitos presentes en la capa de difusión cercana al electrodo.

La elección de los materiales para la ventana óptica depende de la región espectral de interés. Para aplicaciones en el IR medio se utiliza CaF_2 [444], sílice o ZnSe , mientras que para medidas en el IR lejano se utilizan ventanas de polietileno o Mylar.

El cuerpo de la celda puede estar compuesto de materiales inertes como vidrio, teflón o Kel-F. Es importante que este material sea inerte para que no se contamine la disolución. El electrodo se coloca al final de una barra metálica recubierta de vidrio, teflón o Kel-F, de forma que la barra metálica se encuentra aislada de la disolución. Esta barra se inserta dentro del cuerpo de la celda, situando el electrodo de trabajo en la posición adecuada. Cerca del electrodo de trabajo se coloca un electrodo de micro-referencia. El electrodo auxiliar, que suele ser un hilo de Pt, se coloca detrás del electrodo de trabajo, en una configuración que minimiza la resistencia de la disolución. Este electrodo es circular, lo que origina una distribución uniforme de corriente hacia el electrodo de trabajo (Figura 47) [445][446].

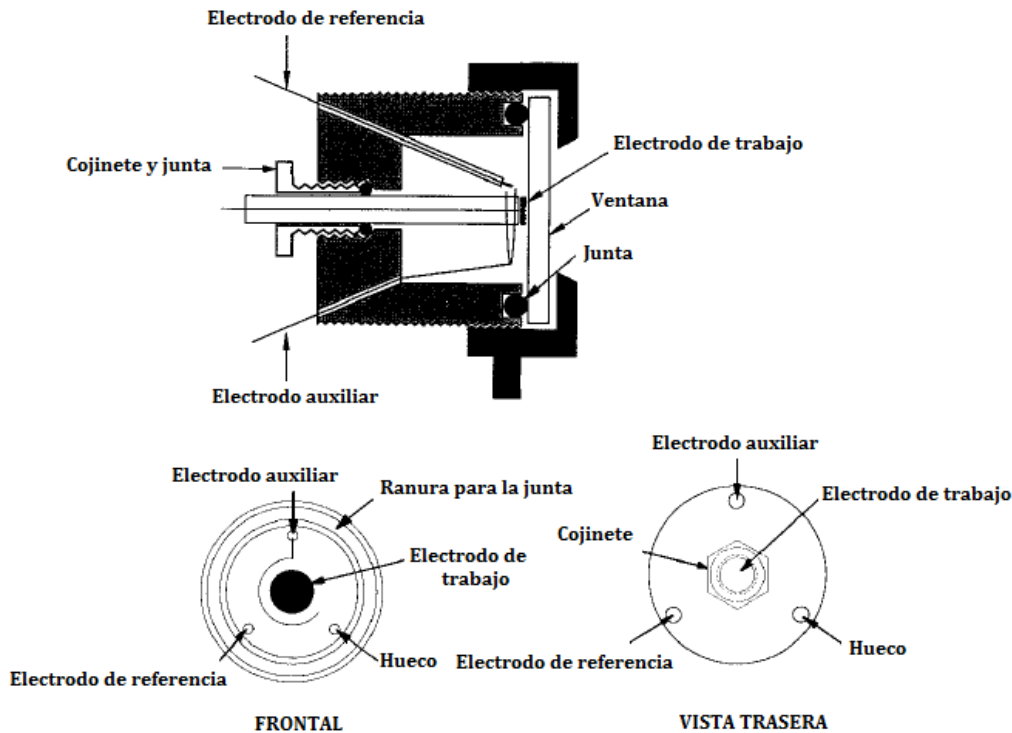


Figura 47. Esquema que muestra una vista del ensamblaje de la celda espectroelectroquímica (superior). Los esquemas inferiores muestran las vistas frontal y trasera de la celda [445].

Sin embargo, al usar de este tipo de celdas de capa fina para el estudio de procesos de adsorción o desorción en la superficie electródica, es difícil interpretar correctamente los espectros obtenidos debido a la variación de la concentración de las especies adsorbidas en la capa de disolución [447]. Otro problema es el pequeño volumen de disolución que se encuentra en dicha capa, lo que da lugar a una pequeña cantidad de analito presente en la cercanía del electrodo [448], junto con un pobre transporte de masa desde la disolución que se encuentra fuera de la capa fina.

Para solucionar estos problemas, se emplean celdas de convección forzada del electrolito a través de la capa fina de disolución. Se han empleado celdas que utilizan un flujo radial desde los laterales del electrodo hasta el centro del mismo [449], donde la disolución es eliminada de la capa a través de un hueco en el electrodo o en la ventana. La otra posibilidad es una configuración que emplee un electrodo en canal, donde la disolución fluye a través del mismo [108] [450].



Además, este tipo de celdas de flujo (Figura 48) ofrecen la posibilidad de alterar la velocidad de transferencia de masa para eliminar los efectos de la polarización en la concentración.

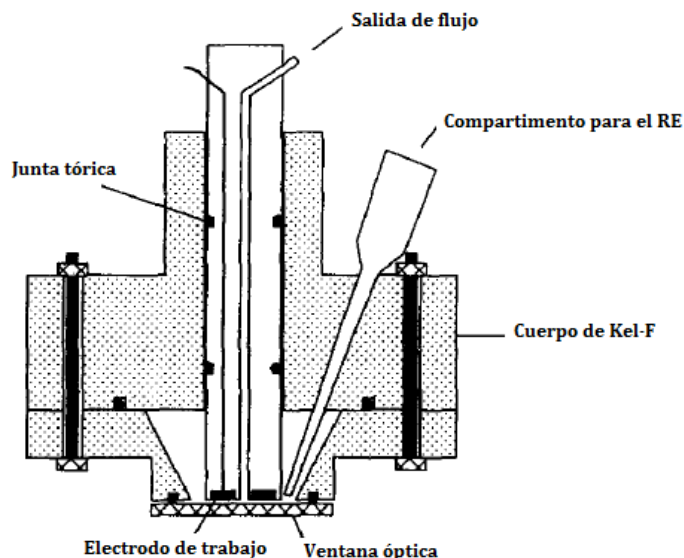


Figura 48. Esquema simplificado de una celda de flujo de capa fina para experimentos de reflexión externa en espectroelectroquímica de IR [451].

Por otro lado, al igual que las celdas para reflexión externa, los diseños de celdas de transmisión se basan en la configuración de capa fina. Estas celdas utilizan electrodos ópticamente transparentes en una disposición de sándwich, en la que el electrodo de trabajo se coloca entre dos ventanas transparentes en IR. Estos diseños presentan varios inconvenientes, como una gran sensibilidad a las fugas o la dificultad de purga [452]. Sin embargo, la dificultad más relevante a la hora de diseñar una celda espectroelectroquímica de transmisión para IR es mantener el rendimiento electroquímico a la vez que se maximiza el rendimiento espectroscópico [453]. Para ello, es crucial que el paso de luz a través de la celda sea tan corto como sea posible con el menor número de componentes colocados en dicho recorrido.

Un problema es que los materiales que generalmente se emplean para separar físicamente los electrodos suelen absorber la luz IR. Se han publicado algunos diseños de celdas, como la de la Figura 49, que se emplea para el estudio de procesos catódicos, en los que algún electrodo (en este caso, el ánodo) se coloca

fuera del camino óptico, por lo que no es necesario colocar ninguna separación material que cubra totalmente los electrodos.

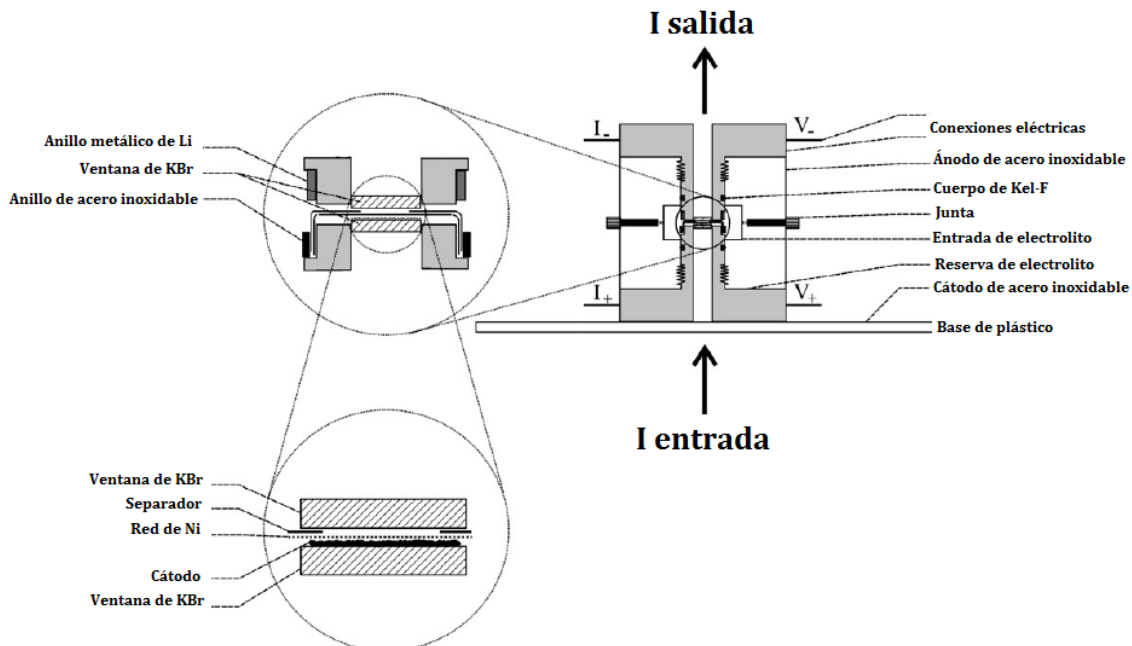


Figura 49. Diagrama de la celda electroquímica de transmisión para IR. $I_{entrada}$ e I_{salida} se refieren a la intensidad del rayo de IR antes y después de atravesar la celda, respectivamente [453].

Las celdas de transmitancia presentan la ventaja de que pueden colocarse directamente dentro de la cámara de muestra de la mayoría de los espectrómetros convencionales de IR [119]. Las celdas de reflexión externa, por el contrario, generalmente requieren instrumentación adicional que permite hacer incidir directamente el haz de IR sobre la superficie del electrodo. Esta instrumentación adicional se coloca fuera de la cámara de muestra o bien, dentro de la misma si ésta ha sido convenientemente modificada. Este hecho presenta tres desventajas:

En primer lugar, el rendimiento óptico del sistema disminuye, ya que el haz de luz debe ser reflejado en al menos dos espejos, por lo que se producen muchas pérdidas debidas a la reflexión. En segundo lugar, la alineación del haz de luz es mucho más difícil en una configuración de reflexión externa que en una de transmisión. Por último, hay que añadir un gasto económico al diseño si es necesario adquirir comercialmente algún tipo de instrumentación.



La Figura 50 muestra uno de los primeros diseños de celdas de transmisión para IR [454]. Estas celdas son similares a las que se emplean en UV-visible y evitan el empleo de adhesivos y resinas que puedan ocasionar problemas de fugas o contaminación. Además, estas celdas son reutilizables y robustas, y son relativamente baratas de fabricar. En todos los casos, es esencial emplear una configuración de tres electrodos, ya que es crucial que la resistencia de la disolución de la capa fina sea minimizada.

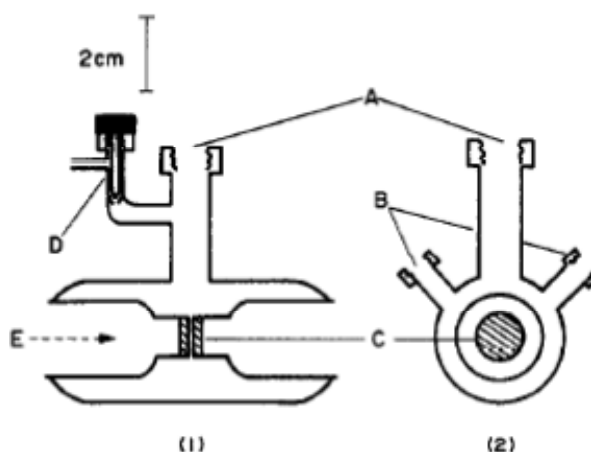


Figura 50. (a) visión lateral, y (b) visión frontal de una celda espectroelectroquímica de transmisión de capa fina para medidas en IR fabricada en vidrio con ventanas de sílice. (A) hueco para el electrodo de trabajo (OTE), (B) hueco para el electrodo de referencia y el contraelectrodo (calomelanos y Pt, respectivamente), (C) ventana de sílice, (D) pieza de teflón, (E) dirección del haz incidente [454].

Generalmente, el porcentaje de transmitancia de las celdas de IR que emplean electrodos ópticamente transparentes es mayor del 50%, lo que representa un alto rendimiento.

Tanto la configuración de transmisión como la de reflexión externa presentan muchos problemas a la hora de obtener información espectral de moléculas con una estabilidad limitada [455], sobre todo cuando se emplean celdas de capa fina. Por ejemplo, las celdas de transmitancia que emplean electrodos transparentes sufren grandes caídas óhmicas, dando lugar a errores en el control del potencial y a distorsiones importantes en los voltogramas de los productos de electrolisis [338]



[440]. Estas desventajas limitan la utilización de estas celdas a estudios de reacciones químicas lentas acopladas a una transferencia electrónica.

Para intentar solucionar estos inconvenientes, Shaw publicó el diseño de una celda basada en el empleo de un cable de fibra óptica [456] [457], como la que se muestra en la Figura 51. Esta celda tiene varios puntos fuertes, entre los que se encuentra un control preciso del potencial aplicado, la posibilidad de seguir de forma cuantitativa el progreso de la electrolisis, un buen rendimiento a baja temperatura y una rigurosa eliminación del aire presente en la disolución de electrolisis.

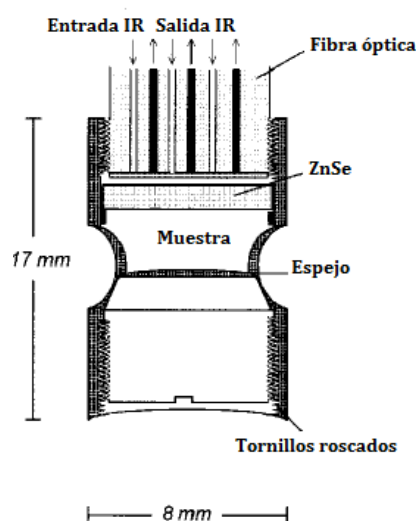


Figura 51. Representación esquemática de la cabeza del dispositivo situado al final de la fibra óptica. La porción mostrada se sumerge en la disolución de electrolisis, y la disolución entra a la cámara de muestra a través de los huecos realizados en las paredes de acero inoxidable [456].

Por último, existen muchos diseños de celdas espectroelectroquímicas que emplean una configuración de reflexión interna o reflexión total atenuada (Figura 52), aunque, como ya se comentó anteriormente, ésta es la configuración menos utilizada en espectroelectroquímica de IR, ya que es mucho menos sensible que la configuración de transmisión.

Esta configuración, sin embargo, es muy adecuada para el estudio de interfases sólido-líquido [458] o sólido-gas. En esta geometría, el grosor de la capa de



disolución no está limitado, lo que facilita la obtención de una distribución uniforme de la densidad de corriente [459].

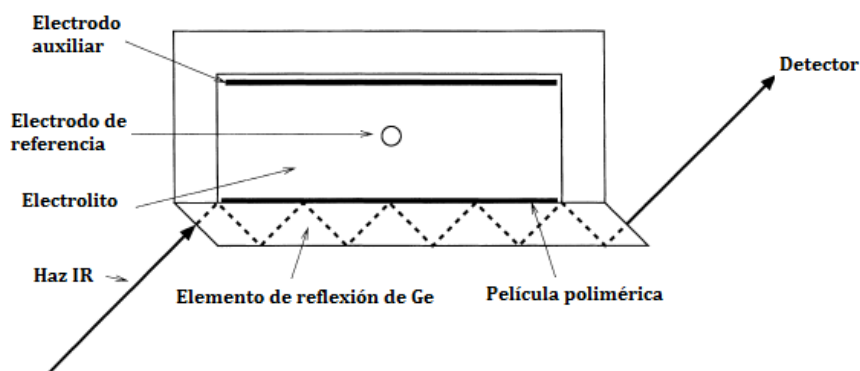


Figura 52. Esquema simplificado de una celda espectroelectroquímica de IR con configuración de reflexión total atenuada [460].

La mayoría de las celdas espectroelectroquímicas con esta configuración utilizan electrodos transparentes basados en una fina película metálica depositada en un elemento de reflexión interna [68]. Otras celdas emplean láminas muy finas presionadas sobre un prisma de reflexión, como es el caso de una lámina de diamante dopada con boro sobre una lámina de silicio [461]. Otra posibilidad es el empleo de un electrodo poroso en espiral [462], como el que se muestra en la Figura 53.



Figura 53. Electrodo de oro en espiral con poros a escala nanométrica realizados mediante anodización a diferentes pH [462].

5.3. Celdas espectroelectroquímicas para Raman

El dispositivo más común para espectroelectroquímica Raman es aquel en que la superficie del electrodo de trabajo se coloca cerca de la ventana óptica, que suele ser de vidrio o sílice fundida, y el haz de luz incide sobre la misma en un ángulo de unos 60° . En este caso, debe conseguirse una fina capa de disolución entre el electrodo y la ventana óptica, para minimizar la absorción y la dispersión de luz por parte del electrolito [189]. La Figura 54 muestra un ejemplo de este tipo de celdas, que se conocen como celdas de capa fina [463][464].

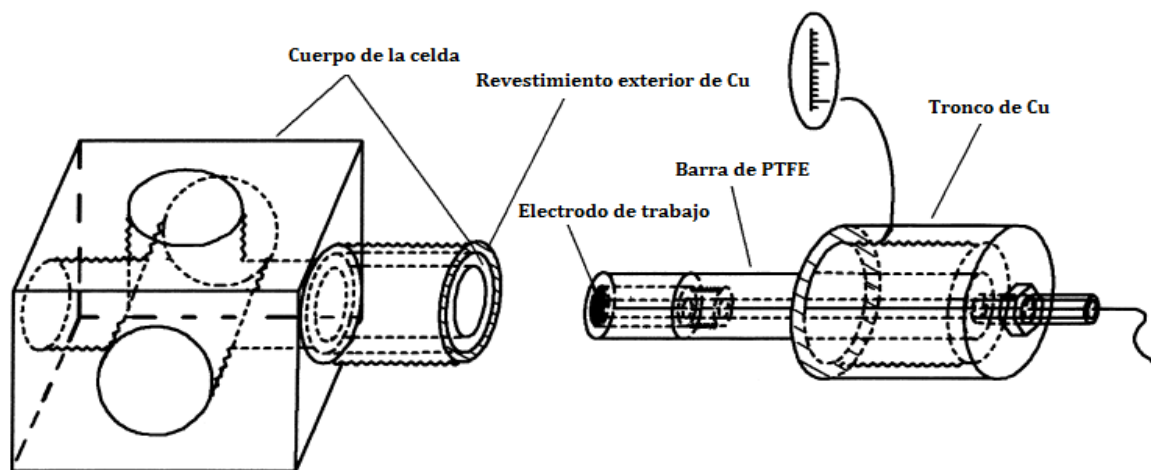


Figura 54. Esquema de una celda espectroelectroquímica de capa fina para medidas de espectroscopía Raman [463].

Sin embargo, cuando se pretenden realizar estudios con materiales electródicos que presentan una fuerte absorción a la longitud de onda de estudio, se emplean celdas con electrodos de trabajo rotatorios [465], como la que se muestra en la Figura 55. Dicho electrodo sirve para minimizar los efectos locales debidos al calor en las cercanías del rayo de luz, evitando además la descomposición de la muestra.

Una alternativa a esta configuración es hacer fluir la disolución de electrolito sobre la superficie del electrodo de trabajo, en una celda de flujo [466][467][468][469][470] como la que se muestra en la Figura 56.

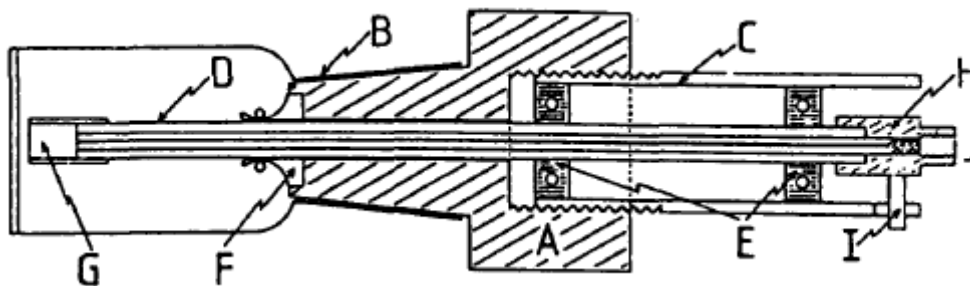


Figura 55. Esquema de una celda con electrodo rotatorio para Raman. A, cuerpo de nylon; B, junta cónica; C, hueco para el giro del electrodo; D, eje para el electrodo rotatorio; E, bolas de rodamiento; F, junta de PTFE; G, electrodo de trabajo; H, anillo colector; I, cepillo de carbono; J, conexión del motor [465].

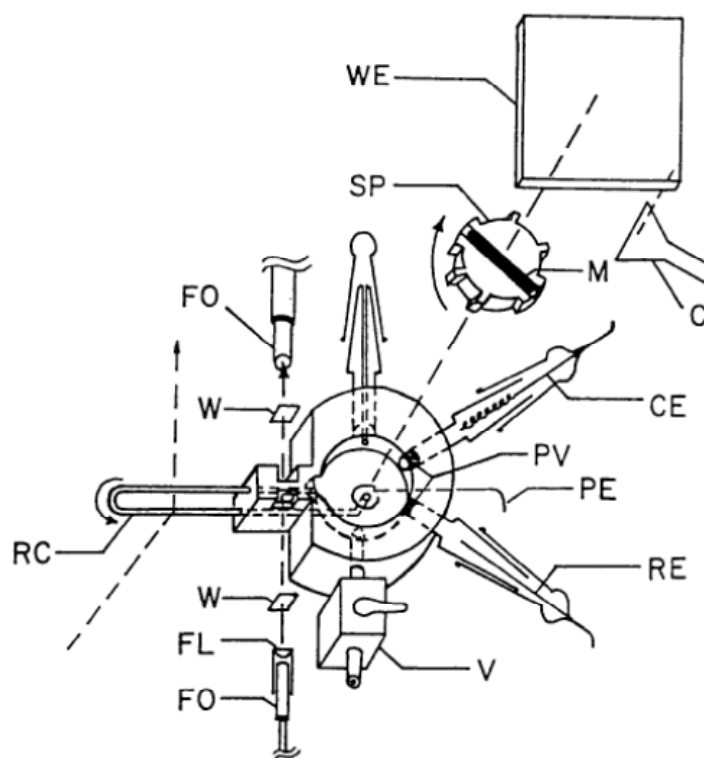


Figura 56. Esquema de una celda espectroelectroquímica de flujo para Raman. WE, electrodo de trabajo; C, contacto eléctrico para el electrodo de trabajo; SP, bomba de flujo; M, imán; CE, electrodo auxiliar; PE, electrodo potenciométrico; RE, electrodo de referencia; PV, vycor para aislar los electrodos; V, válvula; FO, fibra óptica; FL, lente; W, ventana de cuarzo; RC, capilar [466].

Por otro lado, existen celdas en las que en vez de un electrodo giratorio, lo que gira es la muestra [471] [472] [473], como se muestra en la Figura 57. Las ventajas



de este tipo de celdas con respecto a las que emplean electrodos rotatorios son las siguientes: simplicidad mecánica, versatilidad debido a que la carcasa del electrodo puede tener diversas geometrías y un amplio rango de temperaturas de trabajo, incluyendo la posibilidad de estudiar muestras congeladas.

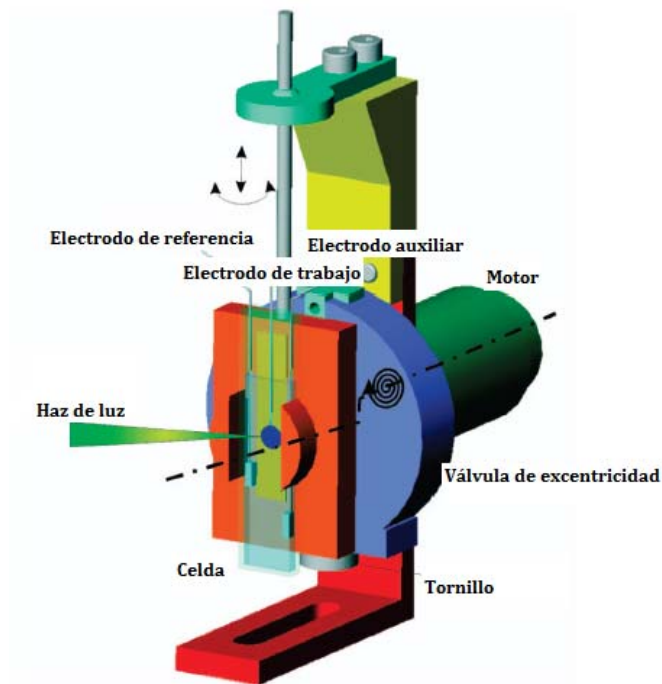


Figura 57. Dispositivo para espectroelectroquímica Raman con un eje excéntrico de rotación de la celda. El electrodo de trabajo se coloca fuera del eje del motor [473].

Existen en la bibliografía otros muchos diseños de celdas para estudios espectroelectroquímicos de Raman. Uno de ellos es el que publicó Schwab [474], en el que el haz de entrada incide en un ángulo cercano a 90° sobre la superficie. Esta celda emplea además una fibra óptica para recoger la luz dispersada, maximizando así el acoplamiento entre la celda y el espectrómetro.

También es posible encontrar en la bibliografía algunas celdas para realizar análisis espectroelectroquímicos de rutina, como la publicada por Robinson [475]. Este autor ha publicado el diseño una celda portátil basada en electrodos serigrafados.



5.4. Celdas espectroelectroquímicas para rayos X

Cuando se diseñan celdas espectroelectroquímicas para rayos X hay que tener en cuenta varios puntos [55][476]: la necesidad de una total conversión electroquímica del analito de interés, la necesidad de minimizar la resistencia de la celda para conseguir la conversión del analito en un tiempo razonable y la necesidad de emplear materiales que den lugar a buenas señales ópticas y que sean transparentes a los rayos X. Como resultado, es importante destacar que el empleo de celdas de capa fina minimiza la absorción por parte del disolvente.

Las celdas espectroelectroquímicas de EXAFS pueden dividirse en tres grandes grupos: celdas de disolución [477], celdas de películas poliméricas [247] y celdas de películas metálicas o de óxidos metálicos [239][478][479].

Las celdas de disolución emplean la configuración de capa fina para obtener una rápida y completa electrolisis. La primera celda de este tipo [480] se basa en una malla de oro que actúa como electrodo transparente. Un diseño posterior emplea un electrodo de carbón vítreo reticulado [481], como se muestra en la Figura 58. Este diseño reduce el tiempo de conversión, algo muy importante cuando se emplean fuentes de sincrotrón, que están disponibles sobre un periodo de tiempo limitado.

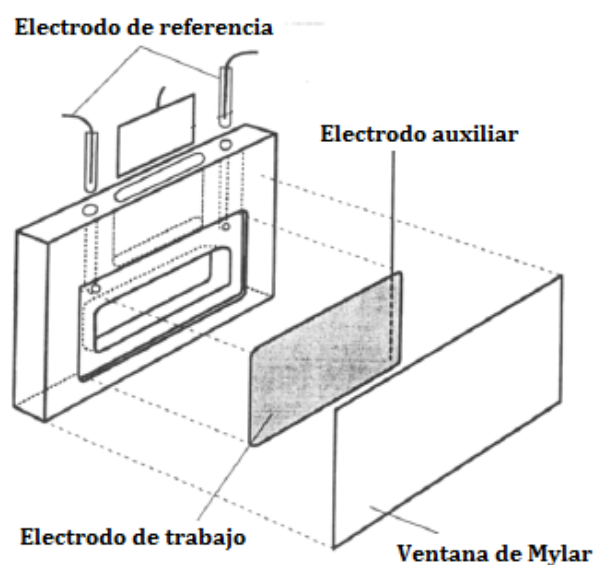


Figura 58. Celda espectroelectroquímica basada en un electrodo de carbón vítreo reticulado para medidas de rayos X [481].



Las celdas basadas en películas conductoras emplean electrodos modificados con polímeros. Esta configuración presenta la ventaja de que la sustancia de interés se encuentra confinada en una película adyacente a la superficie electrodo. Por tanto, es posible minimizar la cantidad de disolución en contacto con el haz de rayos X, ya sea mediante el empleo de un compartimento de capa fina para la disolución o mediante la eliminación de la mayor parte del electrolito después de la electrolisis de la especie electroactiva en la película conductora. Un ejemplo de este tipo de celdas se muestra en la Figura 59. Esta celda fabricada en teflón emplea polímeros de vinilpiridina de Ru y Os que actúan como electrodo de trabajo, situándose al final de la celda y recubierto por una película que permite el contacto de únicamente una fina capa de disolución.

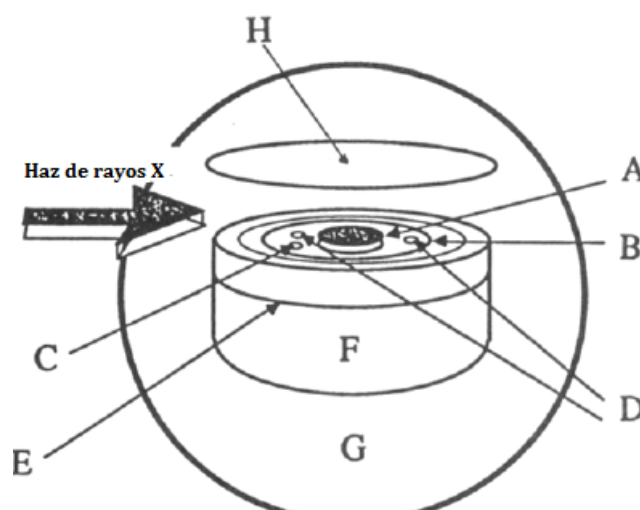


Figura 59. Celda espectroelectroquímica para estudios superficiales de rayos X en electrodos modificados. A, electrodo de trabajo (disco de Pt); B, electrodo auxiliar de Pt; C, hueco para el electrodo de referencia; D, huecos para el electrolito; E, disco de viton; F, cuerpo de teflón; G, goniómetro; H, ventana óptica [482].

Por su parte, los estudios espectroelectroquímicos de rayos X sobre superficies metálicas o de semiconductores soportadas sobre electrodos metálicos tienen las mismas ventajas que en el caso de las películas poliméricas: la capa de electrolito puede reducirse, resultando una menor atenuación del haz de rayos X.



Se han publicado varios diseños para este tipo de celdas. Uno de ellos, publicado por investigadores de IBM [483], se basa en un electrodo de trabajo situado en un soporte que se ha unido a otro soporte giratorio, permitiendo la alineación correcta de la muestra. Como electrodo de referencia se usa Ag/AgCl, mientras que un hilo de Pt actúa como electrodo auxiliar.

Esta celda tiene la ventaja de que la deposición de la capa de estudio se realiza mientras el electrodo está expuesto a una gran cantidad de disolución de electrolito, mientras que para la recolección de datos se consigue una configuración de capa fina empleando un capilar.

Long [476] utilizó un concepto similar en el diseño de su celda. En este caso, el interior de la celda estaba colocado sobre un pistón que se retiraba durante el tiempo de electrolisis y se volvía a colocar al finalizar la misma, con el fin de realizar los estudios posteriores en una configuración de capa fina. Los tres electrodos se colocaron sobre un soporte de resina inerte de forma que fueran coplanares. El electrodo de trabajo se preparaba por deposición de la muestra sobre una superficie de vidrio.

Hoffman publicó dos diseños de celdas espectroelectroquímicas para el estudio de interfases electroquímicas [476][484]. La primera de ellas, mostrada en la Figura 60, se conoce como "celda de bolsa". En ella, la muestra se deposita sobre un sustrato de Au, que es usado como electrodo de trabajo. El electrodo auxiliar, un hilo de Au, es separado del electrodo de trabajo mediante un separador de teflón. Como electrodo de referencia se emplea uno de Pd con oxígeno adsorbido.

Cuando se lleva a cabo la electrolisis, la bolsa está suelta para permitir un amplio volumen de electrolito alrededor de los electrodos. Cuando la electrolisis se completa, el electrodo auxiliar se coloca fuera del haz de rayos X y se reduce el volumen de la bolsa juntando sus paredes.

El segundo diseño, mostrado en la Figura 61, utiliza un electrodo de trabajo de disco rotatorio, con sólo la mitad del mismo en contacto con la disolución de electrolito. Mientras, la otra mitad está expuesta a una atmósfera de He, donde tienen lugar las medidas de rayos X.

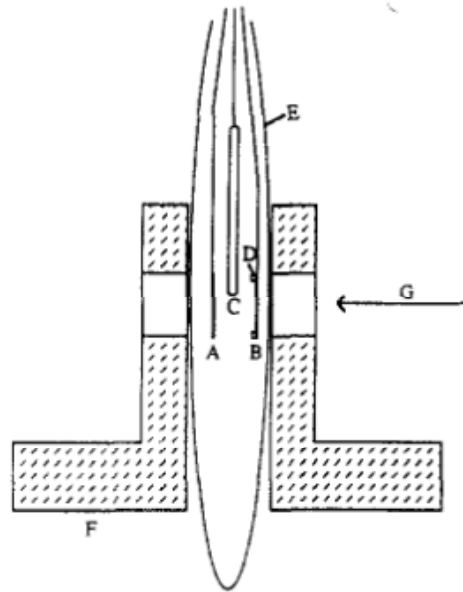


Figura 60. Celda para medidas espectroelectroquímicas de rayos X. A, electrodo de trabajo; B, electrodo auxiliar; C, electrodo de referencia; D, separador; E, bolsa de polietileno; F, ensamblaje; G, haz de rayos X [476] [484].

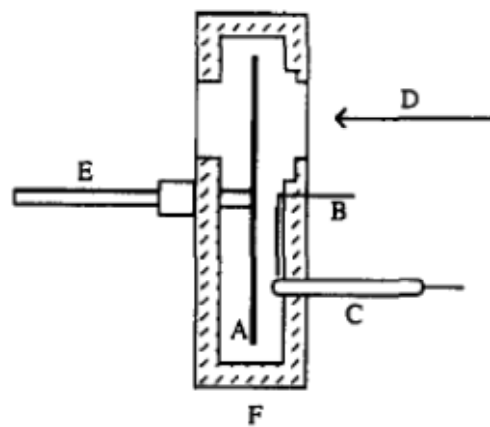


Figura 61. Celda espectroelectroquímica basada en un electrodo de disco rotatorio. A, electrodo de trabajo de disco rotatorio; B, electrodo auxiliar (hilo de Au); C, electrodo de referencia (Pd-H); D, haz de rayos X; E, ensamblaje para el electrodo rotatorio [476] [484].

Otro ejemplo de celdas de este tipo es la publicada por McBreen [485], que consiste en una celda de transmisión de dos electrodos, como se muestra en la Figura 62. La celda está compuesta por dos piezas acrílicas en los extremos, cada una con una ventana óptica. Los componentes de la celda incluyen un electrodo de trabajo de NiO_2 y un contraelectrodo, separados por tres capas de papel de filtro



empapadas en electrolito. Cada componente está montado sobre un soporte de PTFE, y todos estos soportes están atornillados juntos.

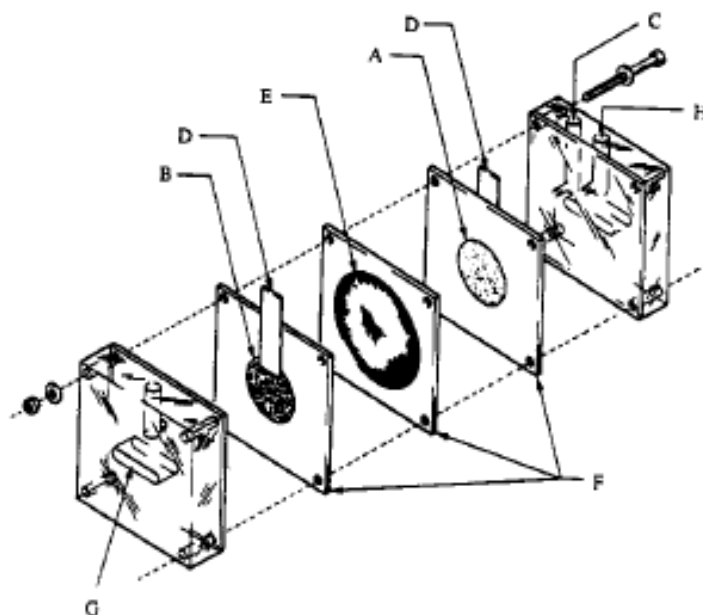


Figura 62. Celda de transmisión para estudios espectroelectroquímicos de rayos X. A, electrodo de trabajo; B, electrodo auxiliar; C, electrodo de referencia; D, colector de corriente; E, separador; F, juntas; G, ventana; H, electrolito [485].

En los últimos años se han desarrollado otro tipo de celdas para EXAFS basadas en electrodos de composites [248][249]. Estas celdas muestran las mismas ventajas que las diseñadas anteriormente para electrodos poliméricos o de películas metálicas.

Hasta aquí se han visto varios ejemplos de celdas espectroelectroquímicas para EXAFS, pero también existen varios diseños de celdas para XANES. Un ejemplo es el publicado por Soderholm [238], mostrado en la Figura 63, que se basa en el uso de un electrodo de trabajo formado por una red de Pt en forma de U.

Por otro lado, existen también algunos diseños de celdas espectroelectroquímicas para estudios de dispersión de rayos X. Estas celdas suelen emplear una configuración de capa fina entre una ventana óptica y la superficie electródica, empleando el modo de reflexión.

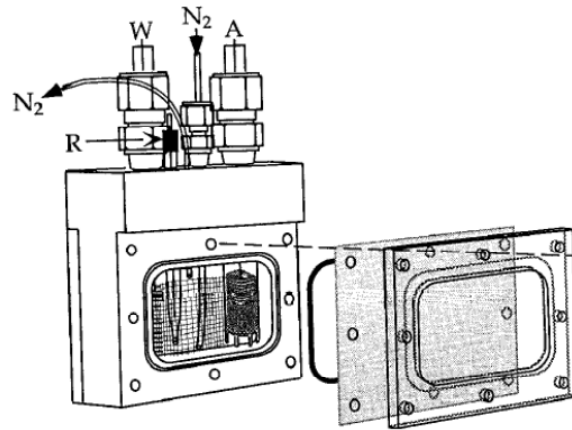


Figura 63. Celda electroquímica para experimentos XANES. El electrodo de trabajo (W) es una red de Pt, mientras que el electrodo auxiliar (A) es un hilo de Pt. El electrodo de referencia es Ag/AgCl. La celda tiene una entrada de N_2 para facilitar la mezcla [238].

Esta geometría, a pesar de que tiene algunas ventajas como la reducción de la absorción por parte del disolvente, también tiene algunas desventajas para el rendimiento electroquímico, como un insuficiente control del potencial o una mala distribución de la corriente a lo largo de la película de electrolito. Por esta razón, se han empleado electrodos de trabajo con geometría de discos de cristal único, donde además de la superficie de estudio, también la cara del electrodo está en contacto con la disolución de electrolito. Un ejemplo de este tipo de celdas se muestra en la Figura 64.

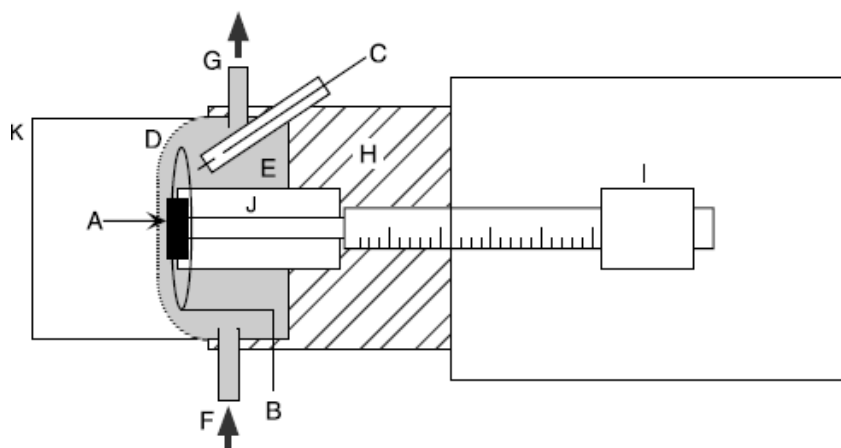


Figura 64. Vista esquemática de una celda diseñada para estudios de dispersión de rayos X. A, electrodo de trabajo de disco de cristal único; B, electrodo auxiliar de Pt; C, electrodo de referencia de Ag/AgCl; D, ventana óptica; E, disolución de electrolito; F, entrada de la disolución de electrolito; G, salida de la disolución de electrolito; H, cuerpo de la celda; I, micrómetro; J, carcasa del electrodo; K, cámara exterior [250].



Por último, hay que destacar que existen numerosos diseños de celdas que pueden ser usadas tanto para medidas de absorción de rayos X como para medidas de dispersión. Un ejemplo de esto se muestra en la Figura 65 [233]. Esta celda se compone de tres partes: en primer lugar, el cuerpo de PVC, la porción principal de la celda que contiene la cámara para circulación del electrolito y el electrodo de referencia, un electrodo de calomelanos. La segunda parte es un pistón de PVC que permite controlar el grosor de la capa de disolución, y está diseñado para introducir en él un electrodo de Pt que actúa como contraelectrodo. La tercera parte de la celda es una pieza metálica conductora, que se detalla en la Figura 65B.

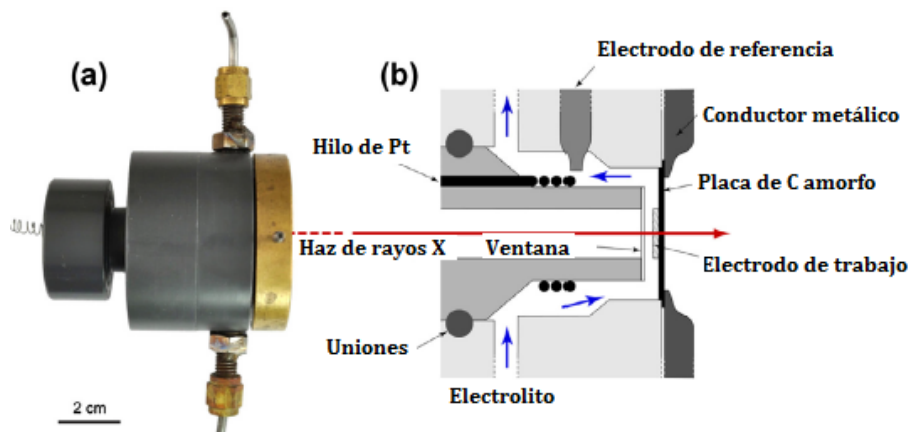


Figura 65. (a) Fotografía real de la celda y (b) zoom de la celda para observar la disposición de los electrodos. La línea roja indica la circulación de la disolución de electrolito [233].

El electrodo de trabajo consiste en un electrodo de capa fina compuesto de grafito mezclado con la muestra de estudio. Esta pasta se fija en una placa de carbono amorfo utilizando una pintura conductora de Ag para hacer el contacto eléctrico.

5.5. Celdas espectroelectroquímicas para RMN

El primer intento de diseñar una celda espectroelectroquímica de RMN data de 1975 [63] y se muestra en la Figura 66. Con este diseño se demostró que era posible detectar algunos intermedios inestables. Otros autores proponen celdas de



flujo con electrodos localizados fuera del campo de radiofrecuencia, para lograr así un buen ajuste de los elementos [278] [279].

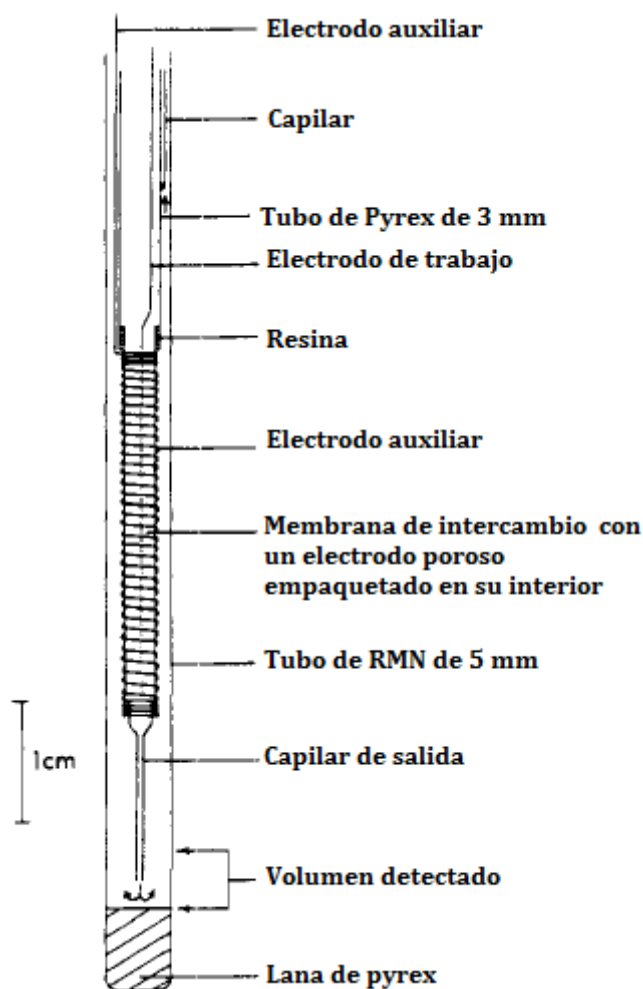


Figura 66. Esquema de la primera celda electroquímica para estudios de RMN [63].

También se han publicado celdas que operan en modo estático y que se basan en una configuración de tres electrodos [288]. Comparadas con las celdas de flujo, estas celdas requieren una menor cantidad de volumen, minimizando el uso de disolventes deuterados [287].

El empleo de celdas consistentes en tubos de RMN recubiertos de Au han obtenido buenos resultados analíticos, tanto para celdas de flujo como celdas para estudios en estático, demostrando que esta configuración minimiza la anchura de



las señales de RMN [285] [287]. Un ejemplo de este tipo de celdas se muestra en la Figura 67. Otras configuraciones emplean fibras de carbono como electrodos de trabajo, y son capaces de trabajar en un amplio rango de frecuencias [289].

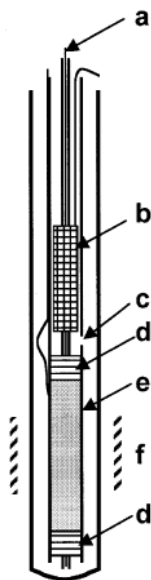


Figura 67. Esquema del ensamblaje coaxial de tres electrodos insertado en un tubo de muestra de RMN. *a*, capilar que actúa como electrodo de referencia; *b*, contraelectrodo cilíndrico compuesto de una red de Pt; *c*, agujeros para conectar los diferentes compartimentos de los electrodos; *d*, tapones de teflón; *e*, electrodo de trabajo tubular compuesto de una lámina de Au; *f*, bobina receptora [54].

5.6. Celdas espectroelectroquímicas para microscopía

Debido al gran número de variantes que puede presentar el acoplamiento de las diferentes técnicas de microscopía con las técnicas electroquímicas, se puede concluir que no existe un diseño general de celdas espectroelectroquímicas para dicho fin. Por esta razón, en este apartado se verán algunos ejemplos de celdas que han sido publicadas hasta la actualidad.

Un primer ejemplo es el publicado por Schröder [486]. El cuerpo de esta celda, mostrada en la Figura 68, está fabricado en acrílico. Se trata de un sistema de tres electrodos, formado por un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un hilo de Pt como electrodo auxiliar, y un electrodo de grafito impregnado de parafina como electrodo de trabajo.

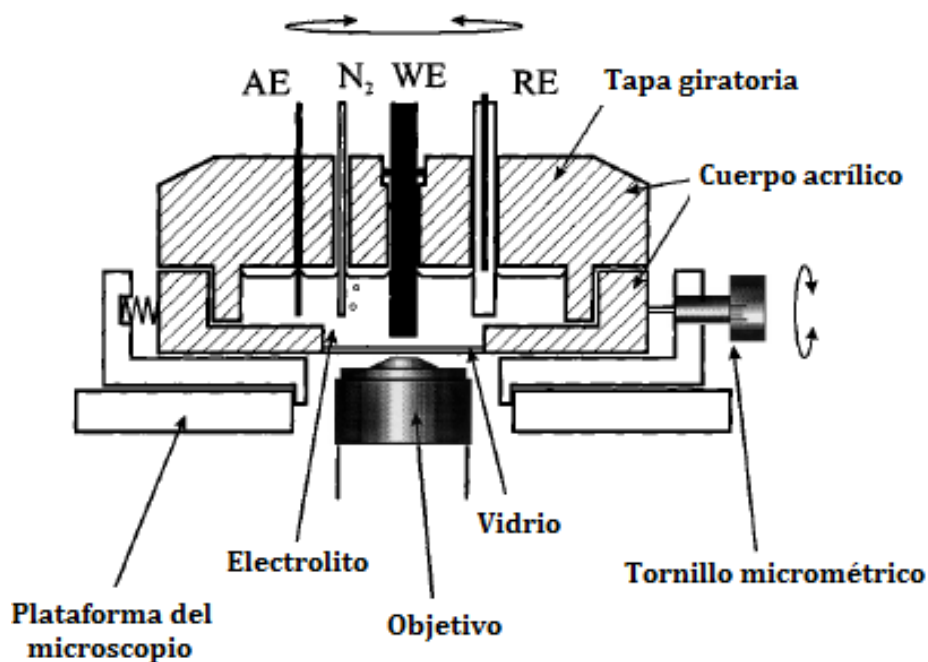


Figura 68. Esquema de la celda empleada para estudios espectroelectroquímicos de microscopía en una configuración de reflexión interna [486].

Este dispositivo se emplea para el estudio de partículas inmovilizadas en la superficie electródica. Una vez depositadas las mismas sobre la superficie, se coloca el electrodo de forma que la superficie sea paralela a la ventana óptica de la celda, lo que permite su observación a través del microscopio en una configuración de reflexión interna.

Otro ejemplo es el publicado por Komorsky-Lovric, que ha diseñado una celda que trabaja en modo de transmisión [487]. Este dispositivo se ha empleado para estudios de reacciones de transferencia electrónica en electrodos de tres fases.

Gyurcsányi publicó una celda para microscopía espectroelectroquímica con una configuración de capa fina para el estudio de membranas selectivas [315]. Esta celda, cuyo esquema puede observarse en la Figura 69, consistía en un cuerpo de plexiglás con dos orificios de entrada y dos de salida, además de dos conexiones para los electrodos de Ag/AgCl, ya que se emplea un sistema de cuatro electrodos, en lugar de los tres habituales.

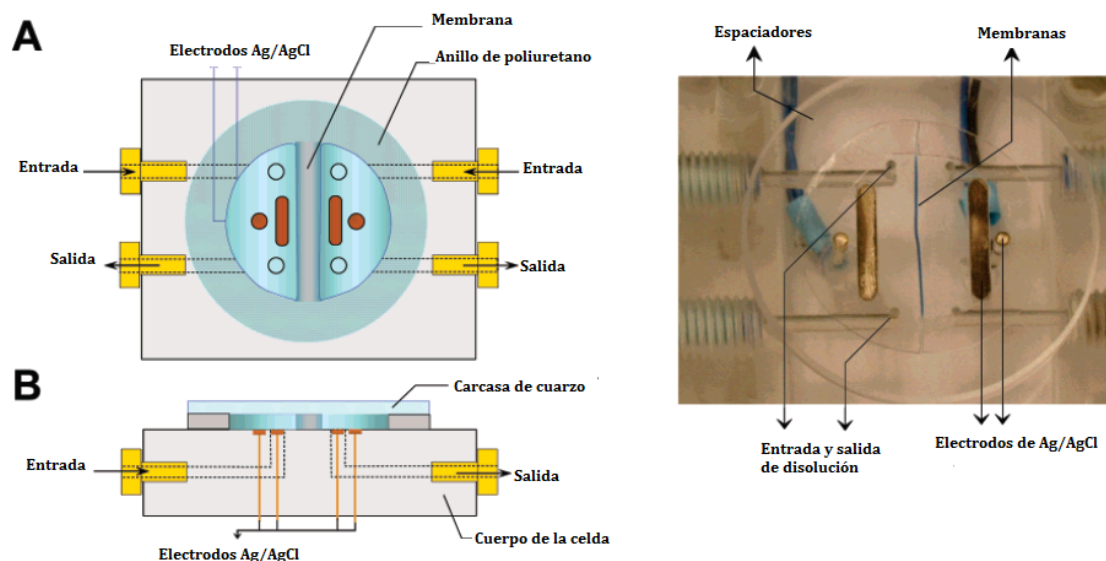


Figura 69. Celda espectroelectroquímica para medidas de microscopía. A la izquierda, vista superior (A) y frontal (B). A la derecha, fotografía de la situación de la membrana sobre el cuerpo de la celda. Los dos lados de la membrana disponen de puertos de entrada y salida de disolución así como de un electrodo de Ag/AgCl [315].

Los elementos más importantes de esta celda son la membrana y los espaciadores, así como su adecuada fusión para obtener un grosor adecuado de la membrana.

5.7. Celdas espectroelectroquímicas para luminiscencia

La mayor parte de las publicaciones sobre celdas espectroelectroquímicas para estudios de luminiscencia usan electrodos ópticamente transparentes, ya que presentan la ventaja de una inherente sensibilidad a la fluorescencia en una configuración de transmisión [293] [312]. Para acomodar la detección de la luz emitida, estas celdas se desplazan 45° con respecto a las rendijas de emisión y excitación. En general, la ventaja del pequeño tiempo de electrolisis que tienen estas celdas compensa las interferencias debidas a la dispersión de parte de la radiación por los componentes de la celda. Es posible encontrar también publicaciones que muestran celdas espectroelectroquímicas de capa fina basadas en el uso de electrodos transparentes [56], como la que se muestra en la Figura 70.

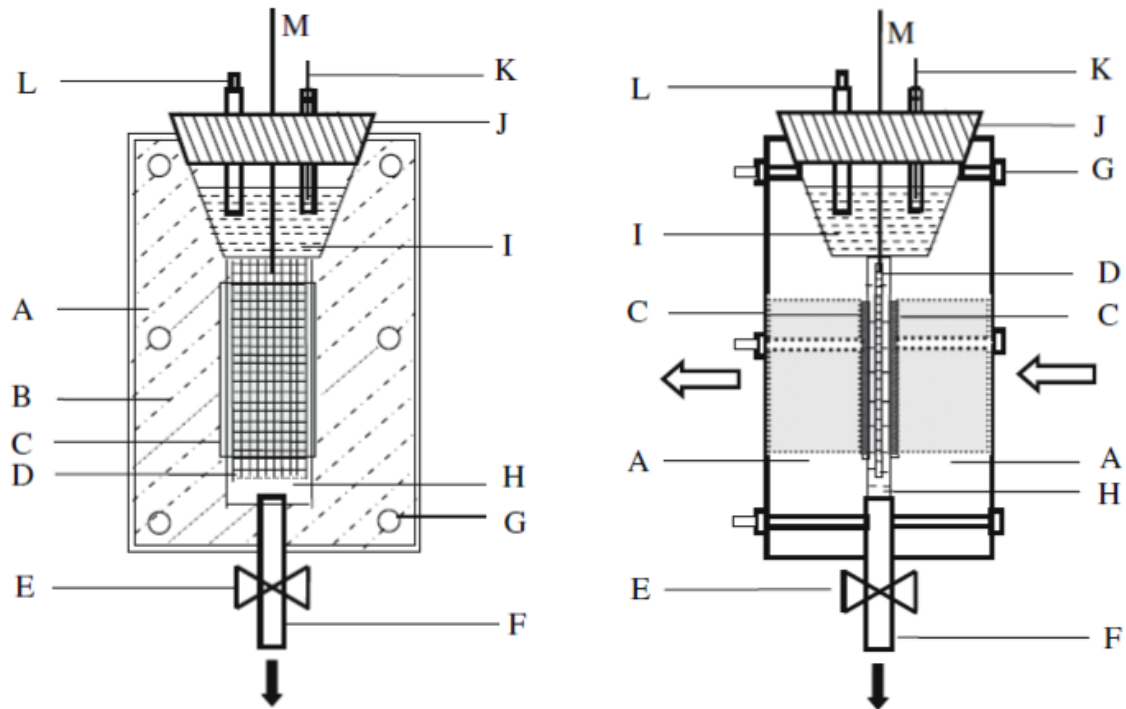


Figura 70. Celda electroquímica de capa fina para medidas de luminiscencia. A, cuerpo de la celda; B, membrana de polietileno; C, cristal; D, electrodo de trabajo basado en una red de Pt; E, válvula; F, salida; G, tornillo; H, capa fina; I, reserva de disolución; J, tope de goma; K, electrodo de referencia; L, electrodo auxiliar de Pt; M, conexión de Pt [56].

Para reducir al mínimo todas las dificultades inherentes a este tipo de configuración, algunos autores han publicado celdas con grandes caminos ópticos [299], que permiten la detección de la luz emitida en un ángulo de 90° . Esta celda emplea un electrodo de carbón vítreo reticulado como electrodo de trabajo. Los estrechos canales ópticos se han perforado a través del electrodo para proporcionar una detección óptima a 90° con un mínimo de interferencias. Este diseño presenta una serie de ventajas como son la facilidad de acoplamiento en un espectrómetro convencional, la facilidad de construcción y ensamblaje y la resistencia química de la misma, además de que requiere pequeños volúmenes de disolución.

También es posible encontrar varias publicaciones sobre el desarrollo de sensores electroquímicos para medidas de fluorescencia [488] [489].



5.8. Celdas espectroelectroquímicas para EPR

La mayor parte de las celdas electroquímicas para EPR en la banda X se caracterizaban por utilizar un electrodo de trabajo de gran superficie, con electrodos de referencia y auxiliar más pequeños, situados lo más alejados posible de la región sensible [42][259][260][261][262][264]. Un ejemplo de este tipo de celdas se muestra en la Figura 71. Estos dispositivos permiten realizar experimentos donde se monitorizan simultáneamente la señal EPR y la corriente de electrolisis en función del potencial o el tiempo.

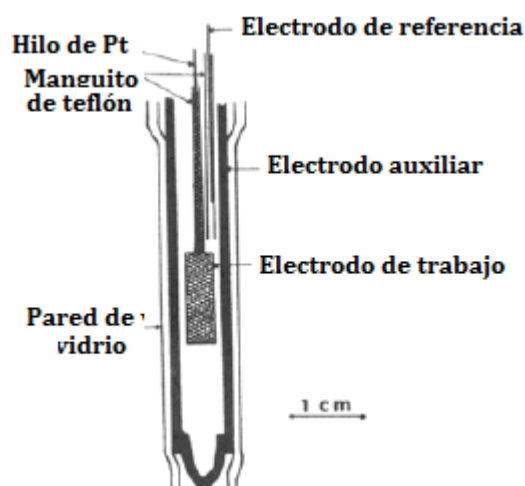


Figura 71. Celda espectroelectroquímica para medidas de EPR [260].

Sin embargo, este tipo de celdas no son adecuadas cuando se pretende estudiar un volumen grande de disolución de electrolito [118]. Para este tipo de análisis es necesario emplear celdas modificadas, en las que el electrodo de trabajo sea además una de las superficies reflectantes del resonador de microondas. En la práctica, esto se consigue usando como electrodo de trabajo un hilo enrollado en forma de hélice, y colocando el electrodo de referencia y el auxiliar dentro de dicha hélice. Esta geometría permite el uso de un mayor volumen de disolución en la celda, reduciendo sustancialmente el riesgo de agotamiento del material electroactivo, a la vez que se maximiza el volumen de muestra que puede ser detectado en microondas.

Por otro lado, este tipo de diseños no son adecuados cuando se usan las bandas Q ó W, debido a las restricciones espaciales de los espectrómetros comerciales. En estos casos, el diámetro del tubo de muestra está entre 0.5 y 1 mm de diámetro, respectivamente. Un ejemplo de una celda electroquímica para medidas en dichas bandas se muestra en la Figura 72 [256]. El dispositivo está construido a partir de un tubo estandarizado de muestra de cuarzo. En él se ha colocado un sistema de tres electrodos basados en hilos metálicos. El electrodo de trabajo es un hilo de Pt recubierto de teflón, el electrodo de cuasi-referencia es un hilo de Ag, y el electrodo auxiliar es un hilo de Pt.

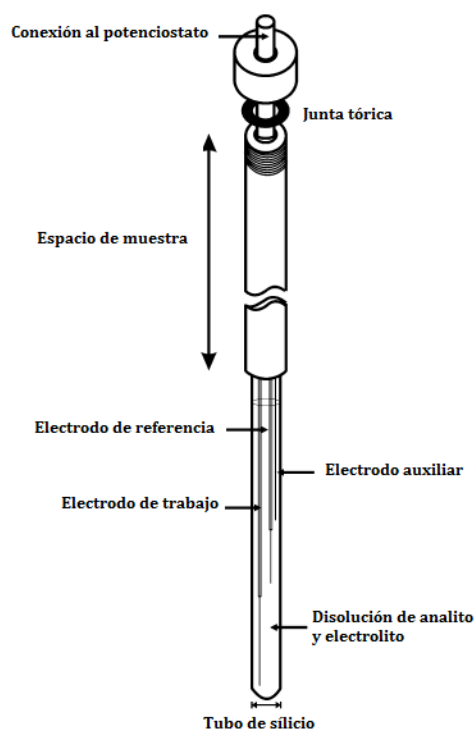


Figura 72. Celda electroquímica para medidas de resonancia paramagnética de espín en las bandas Q y W [256].

5.9. Otras celdas electroquímicas

En esta sección se van a repasar algunos diseños de celdas para otras técnicas analíticas menos utilizadas en electroquímica, como la espectroscopía de absorción atómica o la espectroscopía de impedancia óptica.



Existen en la bibliografía varios diseños similares al de la Figura 73 para celdas espectroelectroquímicas que son utilizadas en espectroscopía de absorción atómica [330][363][490]. Esta celda se compone de dos compartimentos en los que el electrodo de trabajo está expuesto a un flujo de electrolito en una celda de pequeño volumen. Este canal de flujo tiene la entrada en la parte inferior y la salida en la parte superior para que no se genere ningún gas dentro de la celda durante el experimento. El otro compartimento está separado del electrodo de trabajo mediante una membrana porosa que permite un flujo iónico de un compartimento al otro mientras que previene la mezcla de los dos electrolitos. En este compartimento secundario se encuentran el electrodo de referencia y el auxiliar.

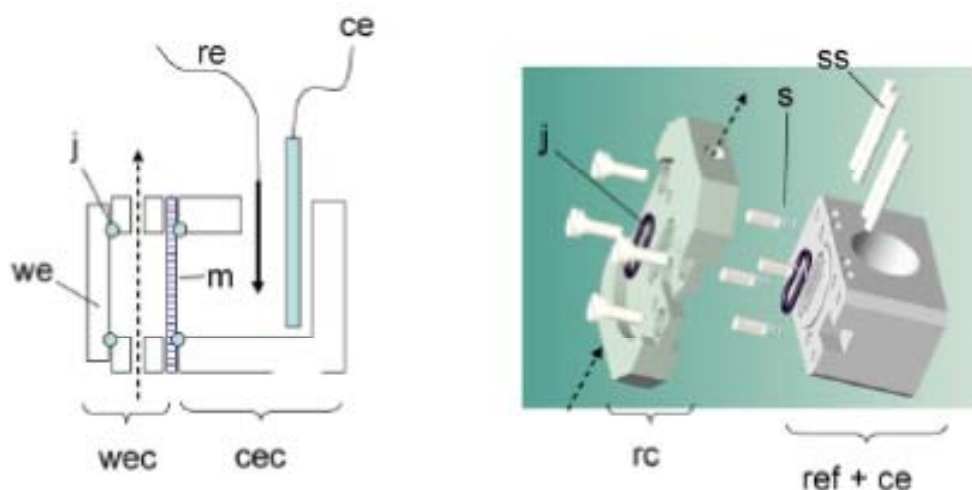


Figura 73. Diagrama funcional de la celda a la izquierda e imagen virtual de la misma a la derecha. wec, compartimento del electrodo de trabajo; cec, compartimento para el electrodo auxiliar; j, junta; m, membrana; we, electrodo de trabajo; ce, electrodo auxiliar; re, electrodo de referencia; s, muelle; ss, soporte para el muelle [363].

Como celda para medidas de espectroscopía de impedancia óptica se va a destacar la mostrada en la Figura 74. Esta celda consta de un electrodo de trabajo de ITO conectado a un hilo de Pt para realizar la conexión con el potenciostato, un electrodo de pseudo-referencia de Ag/AgCl y un hilo de Pt como electrodo auxiliar.

Esta técnica se basa en la aplicación de un potencial eléctrico modulado por corriente alterna para alterar el estado de oxidación de las especies adsorbidas en la superficie electródica y en el uso de una señal de fibra óptica para monitorizar los cambios espectrales que se producen durante la aplicación de dicho potencial.



Seguidamente, los datos ópticos obtenidos experimentalmente se transforman matemáticamente para determinar varias propiedades electroquímicas del sistema.

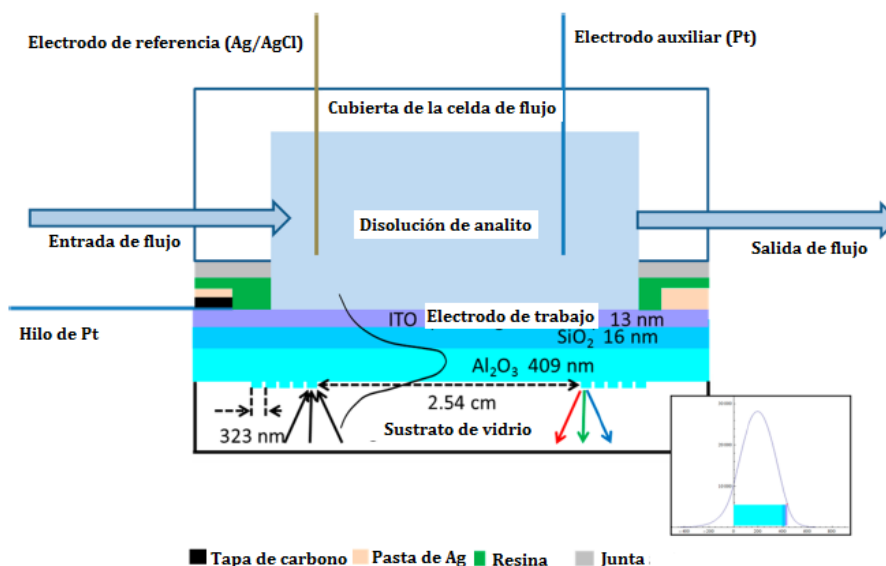


Figura 74. Diagrama esquemático de la celda electroquímica. El inserto muestra la distribución del campo eléctrico sobre la estructura [325].

6. ANÁLISIS MEDIANTE INYECCIÓN EN FLUJO (FIA)

El análisis químico en flujo fue introducido a mediados del siglo XX como una metodología para recoger las diferentes fracciones que se obtienen en una separación cromatográfica preparativa en una planta industrial [491]. A finales de la década de 1950, este concepto se puso en práctica mediante el desarrollo del análisis de flujo segmentado (SFA, *Segmented Flow Analysis*) [492]. Esta técnica se caracteriza por la adición de segmentos de aire dentro del flujo de muestra, mejorando así la homogeneización de reactivos y muestras. Sin embargo, esta metodología presenta dos inconvenientes: por un lado, el complicado proceso necesario para eliminar los segmentos de aire antes de la entrada en el detector, y por otro, el gran consumo de muestra y de reactivo debido a su presencia continua en el torrente de flujo.



En 1975, Ruzicka y Hansen introdujeron una nueva técnica, el análisis mediante inyección en flujo (FIA, *Flow-Injection Analysis*) [493]. En poco tiempo, ésta se convirtió en una de las técnicas más importantes en el ámbito analítico por su simplicidad y su facilidad de uso.

La primera definición, dada por Ruzicka y Hansen [494], fue la de un método basado en la inyección de una muestra líquida en un flujo continuo no segmentado de un líquido adecuado. La muestra inyectada forma una zona, que se transporta hacia el detector que está midiendo la absorbancia, el potencial eléctrico o cualquier otro parámetro físico, de forma continua. La señal va cambiando continuamente como resultado del paso de la muestra a través de la celda de flujo.

Esta definición, sin embargo, fue considerada obsoleta al poco tiempo y fue sucesivamente modificada para incorporar las diferentes variantes que se iban desarrollando a partir del método original.

6.1. Componentes básicos de un sistema FIA

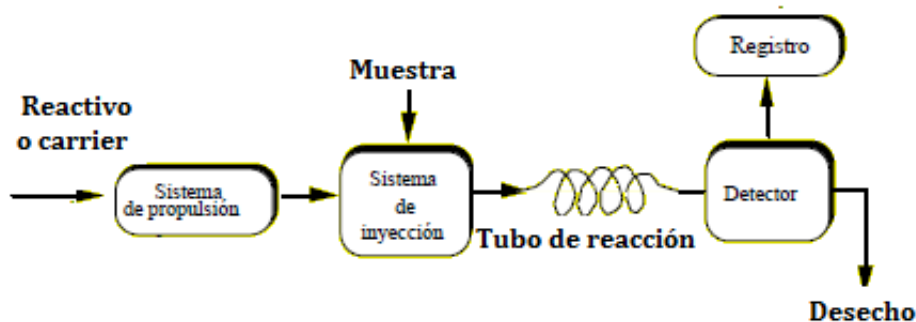


Figura 75. Componentes básicos de un sistema FIA.

Los componentes básicos de un sistema FIA se representan en la Figura 75. El sistema más simple está formado por un sistema de propulsión, un sistema de inyección, un tubo de reacción y un sistema de detección.



● **Sistemas de propulsión.** En la mayor parte de las aplicaciones se opera con tubos de 0.5 a 1 mm de diámetro, y velocidades de flujo comprendidas entre 0.5 y 5 mL/min.

La unidad de propulsión tiene como misión establecer un flujo de caudal lo más constante posible, ausente de impulsos y perfectamente reproducible. Esto puede conseguirse por la simple acción de la gravedad, mediante un sistema de presión gaseosa, o con una bomba peristáltica o de pistón.

La forma más sencilla de obtener un flujo no pulsante de reactivo o “carrier” consiste en colocar el depósito a mayor altura que el resto del sistema FIA. El mayor inconveniente reside en mantener un flujo constante, lo cual puede conseguirse usando depósitos de gran superficie, para que el nivel del líquido se mantenga esencialmente constante.

Otra forma de obtener un flujo libre de impulsos es utilizar la presión de un gas sobre la superficie del líquido portador. El mayor inconveniente de este método se encuentra cuando se trata de suministrar flujos iguales a través de dos o más tubos. Por otra parte, existe la posibilidad de formación de burbujas según sea la solubilidad del gas utilizado.

La forma más generalizada de propulsión se basa en la utilización de bombas peristálticas. Consisten básicamente en un tambor conteniendo una serie de rodillos, lo cuales comprimen un tubo flexible por el que circula el reactivo. Este sistema proporciona un flujo pulsante, aunque es posible evitarlo mediante la introducción de un sistema amortiguador consistente en un tubo largo situado entre la bomba y el sistema de inyección.

Otro sistema muy empleado es la bomba de pistón o de jeringa, que es un tipo de bomba hidráulica que genera movimiento gracias a uno o varios pistones. Estas bombas volumétricas se emplean para la circulación de fluidos a alta presión o de fluidos con elevadas densidades o viscosidades. Cada movimiento del pistón desaloja un mismo volumen de fluido, que equivale al volumen ocupado por el pistón durante la carrera del mismo.



● **Sistemas de inyección.** Este componente del sistema FIA tiene como misión situar una cantidad perfectamente definida de muestra en la corriente de flujo. Es importante que el volumen de muestra insertado sea exacto, perfectamente reproducible y variable dentro de un margen amplio.

Los primitivos sistemas FIA utilizaban jeringas para introducir la muestra, con o sin aguja, utilizando un sistema consistente en dos bloques que comprimen un disco de silicona que actúa como septo. Este puede cambiarse fácilmente cuando se deteriora, si bien, es posible efectuar varios cientos de inyecciones antes de que esto suceda.

La utilización de jeringas para introducir la muestra tiene únicamente interés histórico, ya que la inyección propiamente dicha produce un cambio transitorio en el flujo, lo que produce un pico agudo e irreproducible.

Actualmente, casi todos los sistemas FIA utilizan válvulas rotatorias para insertar la muestra en el flujo. En ellas, la muestra, contenida en un tubo de volumen conocido, se introduce en la disolución portadora mediante un giro de 90°. Con este sistema se consigue una buena reproducibilidad de los volúmenes suministrados, rapidez y facilidad de manejo, así como una aceptable capacidad de automatización.

● **Sistemas de detección.** Un detector, para que resulte adecuado para FIA, deberá poseer las siguientes características: pequeño volumen, bajo nivel de ruido, señal independiente del caudal, respuesta rápida y lineal en un amplio margen de concentración y alta sensibilidad.

Los sistemas de detección usados en FIA comprenden una gran variedad de métodos analíticos: electroquímicos (potenciométricos, conductimétricos, amperométricos, etc.), ópticos (espectrofotométricos, fluorimétricos, etc.) y otros (termoquímico). La elección de una u otra técnica depende del problema a resolver, del volumen de muestra y de la concentración.



6.2. La señal FIA

Con todos los elementos antes descritos, se obtienen señales como las que se muestran en la Figura 76, que vienen definidas por los siguientes parámetros: altura de pico (h), que se relaciona con la concentración del analito; tiempo de residencia (T), que es el tiempo transcurrido desde la inyección hasta que se alcanza la señal máxima; tiempo de retorno (T'), que es el comprendido desde que se alcanza la señal máxima hasta que vuelve de nuevo a la base; tiempo de arranque o aparición (t_a), que es el comprendida entre la inyección y el inicio del fiagrama; y tiempo durante el cual aparece la señal (Δt). En estas señales, la altura, la anchura o el área del pico son las que contienen la información analítica.

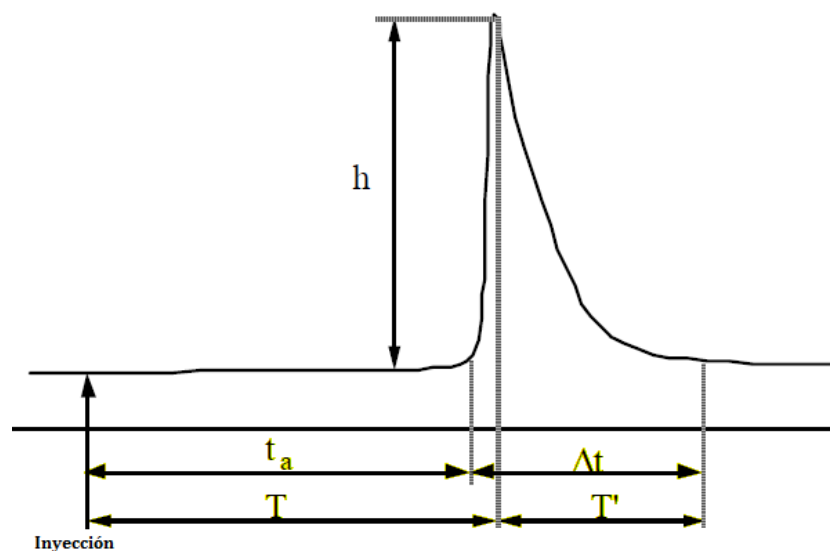


Figura 76. Fiagrama.

6.3. Características generales del FIA

Las principales características diferenciales del FIA con respecto a otros métodos analíticos, en orden a la sensibilidad, selectividad, precisión, rapidez, coste y versatilidad se resumen a continuación:

Los métodos FIA son menos sensibles que los manuales, debido a la existencia de la dispersión o dilución del analito en el portador y a que, cuando tiene lugar



algún proceso químico, se obtienen rendimientos parciales, como consecuencia de los tiempos de reacción son pequeños y de que, normalmente, no se alcanza el equilibrio.

Una forma de aumentar la sensibilidad consiste en utilizar la técnica de parada de flujo (*stopped flow*). En esta modalidad, el flujo se detiene, con lo que la dispersión cesa casi por completo y se permite que la reacción transcurra hasta completarse. Para utilizar esta modalidad es necesario un dispositivo de control del tiempo que detenga la bomba en momentos precisos.

Por otro lado, generalmente, los métodos FIA suelen estar sometidos a un menor número de especies interferentes. Este mayor nivel de selectividad puede atribuirse a que en muchos casos, las reacciones paralelas indeseables no se desarrollan en el corto espacio de tiempo que transcurre entre la inyección y la medida.

La precisión conseguida por la metodología FIA es comparable a la que se obtiene con métodos manuales, a pesar de intervenir aspectos físicos, químicos y cinéticos. El factor más crítico en cuanto a la precisión del método FIA es la constancia en el caudal, para la cual se requiere un tipo de bomba que proporcione caudales constantes, así como la sustitución frecuente de los tubos de la misma.

La rapidez es, sin duda alguna, la característica más sobresaliente de estos métodos, ya que superan claramente a los métodos manuales y a otros métodos automáticos. La gran velocidad de muestreo que presenta el FIA se debe a la existencia de la difusión radial, merced a la cual es posible realizar un lavado eficaz entre dos muestras consecutivas, lo que evita la contaminación de las mismas.

Además, la técnica FIA se caracteriza por ser más barata que cualquier otra técnica automática que permita obtener resultados análogos. El bajo coste no sólo se refiere a la instrumentación, sino al consumo de reactivos. En este último aspecto supera claramente a las técnicas manuales.

También, la sustitución de cualquiera de los componentes de un sistema FIA y la incorporación de otros es muy sencilla, lo cual permite su adaptación según las necesidades, lo que hace que sea una técnica muy versátil. Por otra parte, es



posible incorporar a sistemas FIA instrumentos de uso normal en los laboratorios, como pH-metros, espectrofotómetros, potencióstatos, etc., mediante el empleo de celdas de flujo convencionales o adaptadas; incluso no es necesario utilizar celda alguna cuando se utilizan técnicas espectroscópicas atómicas como sistemas de detección.

6.4. Otras técnicas asociadas

La gran versatilidad de esta técnica ha propiciado que en las últimas décadas se hayan desarrollado muchas técnicas basadas en el FIA, pero con algunas variantes [495] como, por ejemplo, las que se muestran en la Figura 77. A continuación se describen las más representativas:

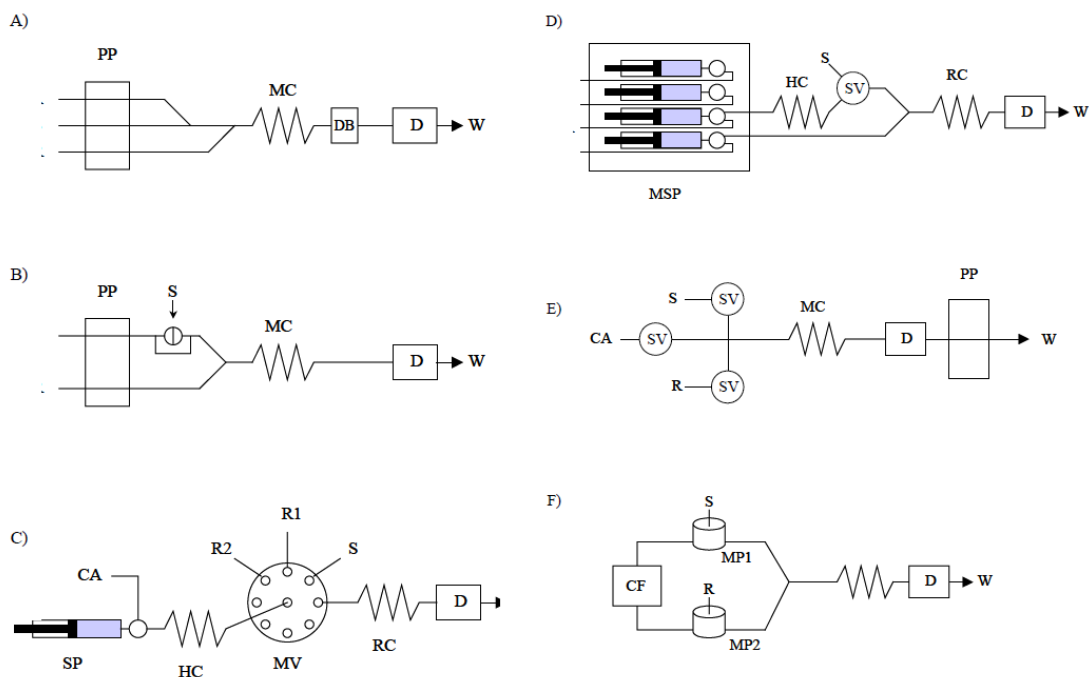


Figura 77. Diagrama esquemático de los diferentes sistemas de flujo. A) SFA; B) FIA; C) SIA; D) MSFIA; E) MPFIA; F) MCFIA. PP, bomba peristáltica; A, aire; S, muestra; R, reactivo; MC, bucle de mezcla; DB, desburbujeador; D, detector; W, residuo; CA, disolución portadora; SP, bomba de jeringa; HC, bucle de muestra; MV, válvula multipuertos; RC, bucle de reacción; MSP, bomba multijeringa; SV, válvula de solenoide; CF, interfase de control; MP, microbomba[495].

► Una variante es el análisis mediante inyección secuencial (SIA, *Sequential Injection Analysis*). En este método [496], los segmentos de muestra y reactivo se



introducen de forma secuencial en un bucle de muestra usando una válvula de selección, y a continuación, estos segmentos se impulsan mediante una bomba de pistón para que pasen a través del bucle de reacción y lleguen al detector. Todo este proceso es controlado por ordenador. La gran ventaja de esta técnica es un ahorro importante, tanto en muestra como en reactivo, mientras que los inconvenientes principales son la baja velocidad de análisis y la necesidad de una instrumentación complicada y cara.

▶ Otra alternativa, el análisis mediante inyección en estático (BIA, *Batch Injection Analysis*) [497], es conceptualmente similar al FIA. En esta técnica, se inyecta un pequeño volumen de muestra cerca de la superficie del detector, obteniéndose una señal similar a las obtenidas en FIA. A pesar de que esta técnica no está considerada como una técnica de flujo por el hecho de que no existe transporte de reactivo ni de muestra, se ha demostrado que es una buena metodología para análisis automatizados.

▶ En análisis mediante inyección en flujo multiconmutado (MCFIA, *Multi-Commutated Flow Injection Analysis*), la válvula de inyección se sustituye por válvulas de solenoide de tres vías, que son controladas por ordenador. De esta forma, también puede controlarse el volumen de inyección controlando el tiempo de conmutación en el ordenador. Como la muestra y los reactivos se introducen en el flujo sólo cuando es necesario, se reduce considerablemente el consumo de los mismos, y la generación de residuos. En esta técnica se siguen usando las bombas peristálticas como sistema de propulsión, con el consiguiente problema de que los tubos deben ser continuamente reemplazados.

▶ El problema del corto periodo de vida de los tubos de las bombas peristálticas pueden resolverse usando el análisis mediante inyección con múltiples jeringas (MSFIA, *Multi-Syringe Flow Injection Analysis*), donde se emplea un sistema de jeringas múltiples que actúan como propulsores del líquido. Esta técnica combina las ventajas de operación del FIA con la robustez y versatilidad del SIA. El principal problema de este método es que el líquido portador debe ser regenerado periódicamente.



► Por último, en el análisis mediante inyección en flujo con varias bombas (MPFIA, *Multi-Pump Flow Injection Analysis*) se emplean una serie de válvulas de solenoide en lugar de una bomba peristáltica. Cada una de ellas es la responsable de introducir el portador, la muestra, los reactivos o el efluente. En comparación con MSFIA, esta técnica es más práctica, por el hecho de que no es necesario incluir un inyector ni un bucle de muestra. Además, se elimina el procedimiento de regeneración periódica de la disolución portadora.

6.5.FIA y espectroelectroquímica

Una vez llegados a este punto, hay que resaltar que, aunque existe una cierta cantidad de celdas espectroelectroquímicas de flujo [404][450][467][469], en la inmensa mayoría de los casos, este sistema se emplea únicamente para facilitar la introducción o renovación de la disolución de estudio dentro de la cámara de muestra.

Por otra parte, el uso de detectores espectroelectroquímicos en sistemas FIA ha sido muy escaso en los últimos años, sólo el equipo de Daniel y Gutz ha publicado algo al respecto [355] [356] en la primera década del S. XXI, a pesar de que son evidentes las ventajas analíticas que proporciona el disponer de un elemento sensor capaz de registrar simultáneamente múltiples propiedades de una disolución que fluye de forma continua.

En general, el empleo de la espectroelectroquímica en experimentos FIA está orientado al desarrollo de métodos de detección y cuantificación de analitos basados en el análisis simultáneo de varias propiedades, con lo que se mejora enormemente la selectividad del método al evitarse gran parte de las interferencias. Pero también es posible la detección simultánea de varios analitos, puesto que es posible registrar varias propiedades de forma simultánea. Incluso se puede conseguir una mejora en la sensibilidad del método FIA si la medida electroquímica afecta al resultado espectroscópico, aumentando la señal, o si la aplicación de una radiación electromagnética (energía radiante) modifica la reactividad redox.



7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Agiral y H. Gardeniers, *Advances in Chemical Engineering*, Twente: Elsevier Inc., 2010.
- [2] W. Kaim y J. Fiedler, «Spectroelectrochemistry: The best of two worlds.», *Chemical Society Reviews*, vol. 38, pp. 3373-3382, 2009.
- [3] A. J. Bard y M. Stratmann, *Encyclopedia of Electrochemistry*, Germany: Wiley-VCH, 2003.
- [4] J. O. Bockris y A. Reddy, *Electroquímica moderna*, Barcelona: Reverté, 1980.
- [5] B. Trémillon, *Cours d'electrochimie générale et analytique*, París: ENSCP. Université Pierre et Marie Curie, 1990.
- [6] A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical methods*, New York: John Wiley & Sons, 1980.
- [7] F. Scholz, *Electroanalytical methods: Guide to experiments and applications*, Berlin: Springer, 2009.
- [8] A. M. Bond, *Broadening electrochemical horizons*, Oxford: Oxford University Press, 2002.
- [9] P. Zanello, *Inorganic electrochemistry*, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003.
- [10] R. Wiltshire, O. Smila-Castro, N. G. Connelly, S. M. Matthews, A. C. Fisher y T. Rayment, «Channel-flow cell for X-ray absorption spectroelectrochemistry.», *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, pp. 308-315, 2009.
- [11] W. Kaim y A. Klein, *Spectroelectrochemistry*, Cambridge: RSC Publishing, 2008.
- [12] L. Kavan y L. Dunsch, «Spectroelectrochemistry of carbon nanostructures.», *ChemPhysChem*, vol. 8, pp. 974-998, 2007.
- [13] U. Bussy y M. Boujtita, «Review of advances in coupling electrochemistry and liquid state NMR.», *Talanta*, 2014.
- [14] O. Orcajo, E. Ventosa, A. Martínez, A. Colina, A. Heras, V. Ruiz y J. López-Palacios, «A new reflection-transmission bidimensional spectroelectrochemical cell: Electrically controlled release of chemicals from a conducting polymer.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 596, pp. 95-100, 2006.



- [15] L. Dunsch, «Recent advances in in-situ multi-spectroelectrochemistry.», *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 15, pp. 1631-1646, 2011.
- [16] A. B. Winterbottom, «Optical methods of studying films on reflecting bases depending on polarisation and interference phenomena.», *Transactions of the Faraday Society*, vol. 42, pp. 487-495, 1946.
- [17] T. Kuwana, R. K. Darlington y D. W. Leedy, *Analytical Chemistry*, vol. 36, pp. 2023-2025, 1964.
- [18] N. Winograd, H. M. Blount y T. Kuwana, «Spectroelectrochemical measurements of chemical reaction rates. First-order catalytic processes.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 73, pp. 3456-3462, 1969.
- [19] A. M. Nowak y R. L. McCreery, «In situ Raman spectroscopy of bias-induced structural changes in nitroazobenzene molecular electronic junctions.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, n° 50, pp. 166621-166631, 2004.
- [20] V. Ruiz, A. Colina, A. Heras y J. López-Palacios, «UV/Vis spectroelectrochemical evidence of rectification of quantized charging in monolayer-protected gold cluster films.», *Small*, vol. 2, pp. 56-58, 2006.
- [21] H. S. Shim, I. H. Yeo y S. M. Park, «Simultaneous multimode experiments for studies of electrochemical reaction mechanisms: demonstration of concept.», *Analytical Chemistry*, vol. 74, n° 14, pp. 3540-3546, 2002.
- [22] M. Comtat y H. Durliat, «Some examples of the use of thin layer spectroelectrochemistry in the study of electron transfer between metals and enzymes.», *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 9, pp. 663-668, 1994.
- [23] X. Jiang, Y. Wang, X. Qu y S. Dong, «Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy and spectroscopy study of redox-induced conformational equilibrium of cytochrome c adsorbed on DNA-modified metal electrode.», *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 22, pp. 49-55, 2006.
- [24] W. Chen, X.-Y. Liu, C. Qian, X.-N. Song, W.-W. Li y H.-Q. Yu, «An UV-vis spectroelectrochemical approach for rapid detection of phenazines and exploration of their redox characteristics.», *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 64, pp. 25-29, 2015.
- [25] H.-B. Kim, T. Hagino, N. Sasaki, N. Watanabe y T. Kitamori, «Spectroelectrochemical detection using thermal lens microscopy with a glass-substrate microelectrode-microchannel chip.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 577, pp. 47-53, 2005.
- [26] S. E. Andria, C. J. Seliskar y W. R. Heineman, «Spectroelectrochemical sensing based on multimode selectivity simultaneously achievable in a single device. 21-Selective chemical sensing using sulfonated polystyrene-block-poly(ethylene-ran-



- butylene)block-polystyrene thin films.», *Analytical Chemistry*, vol. 81, nº 23, pp. 9599-9606, 2009.
- [27] R. A. Wilson, C. J. Seliskar, G. Talaska y W. R. Heineman, «Spectroelectrochemical sensing of pyrene metabolites 1-hydroxypyrene and 1-hidroxypyrene-glucuronide.», *Analytical Chemistry*, vol. 83, nº 10, pp. 3725-3729, 2011.
- [28] T. S. Pinyayev, C. J. Seliskar y W. R. Heineman, «Fluorescence spectroelectrochemical sensor for 1-hydroxypyrene.», *Analytical Chemistry*, vol. 82, nº 23, pp. 9743-9748, 2010.
- [29] DropSens, «Instrumentos espectroelectroquímica. DropSens», [En línea]. Available: http://www.dropsens.com/instrumentos_espectroelectroquimica.html. [Último acceso: Mayo 2015].
- [30] M. B. Pomfret y J. J. Pietron, «A Raman spectroelectrochemical study of potential-controlled benzenethiol desorption from Pt-Fe group alloy films.», *Journal of Power Sources*, vol. 212, pp. 212-219, 2012.
- [31] S. J. Borg, J. W. Tye, M. B. Hall y S. P. Best, «Assignment of molecular structures to the electrochemical reduction products of diiron compounds related to [Fe-Fe] hydrogenase: A combined experimental and density functional theory study.», *Inorganic Chemistry*, vol. 46, pp. 384-394, 2007.
- [32] J. W. Tye, M. Y. Darensbourg y M. B. Hall, «Correlation between computed gas-phase and experimentally determined solution-phase infrared spectra: Models of the iron-iron hydrogenase enzyme active site.», *Journal of Computational Chemistry*, vol. 27, nº 12, pp. 1454-1462, 2006.
- [33] D. Wang y G. P. Bierwagen, «Sol-gel coatings on metals for corrosion protection.», *Progress in Organic Coatings*, vol. 64, pp. 327-338, 2009.
- [34] M. Rodosek, A. Rauter, L. S. Perse, D. M. Kek y A. S. Vuk, «Vibrational and corrosion properties of poly(dimethylsiloxane)-based protective coatings for AA 2024 modified with nanosized polyhedral oligomeric silsesquioxane.», *Corrosion Science*, vol. 85, pp. 193-203, 2014.
- [35] D. Persson, D. Thierry, N. LeBozec y T. Prosek, «In situ infrared reflection spectroscopy studies of the initial atmospheric corrosion of Zn-Al-Mg coated steel.», *Corrosion Science*, vol. 72, pp. 54-63, 2013.
- [36] S. Suzuki, E. Matsubara, T. Komatsu, Y. Okamoto, K. Kanie, A. Muramatsu, H. Konishi, J. Mizuki y Y. Waseda, «Ex situ and in situ X-ray diffractions of corrosion products freshly formed on the surface of an iron-silicon alloy.», *Corrosion Science*, vol. 49, nº 3, pp. 1081-1096, 2007.
- [37] N. Stein, E. Rocca, R. Kleim, J. M. Lecuire y E. McRae, «In situ ellipsometric study of lead sulfate film electroformation on lead in a sulfuric acid solution.», *Electrochimica*



Acta, vol. 44, pp. 445-454, 1998.

- [38] G. Bertrand, E. Rocca, C. Savall, C. Rapin, J. C. Labrune y P. Steinmetz, «in situ electrochemical atomic force microscopy studies of aqueous corrosion and inhibition of copper.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 489, pp. 38-45, 2000.
- [39] S. Simard, M. Odziemkowski, D. E. Irish, L. Brossard y H. Ménard, «In situ micro-Raman spectroscopy to investigate pitting corrosion product of 1024 mild steel in phosphate and bicarbonate solutions containing chloride and sulfate ions.», *Journal of Applied Electrochemistry*, vol. 31, pp. 913-920, 2001.
- [40] I. Jerman, A. Surca Vuk, M. Kozelj, B. Orel y J. Kovac, «A structural and corrosion study of triethoxysilyl functionalized POSS coatings on AA 2024 alloy.», *Langmuir*, vol. 24, nº 9, pp. 5029-5037, 2008.
- [41] W. R. Heineman, C. J. Seliskar, T. S. Pinyayev, R. N. Andrews, R. A. Wilson y L. K. Morris, «Spectroelectrochemical sensor: development and applications.», *ECS Transactions*, vol. 19, nº 6, pp. 129-134, 2009.
- [42] A. Petr, L. Dunsch y A. Neudeck, «In situ UV-vis ESR spectroelectrochemistry.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 412, pp. 153-158, 1996.
- [43] R. J. Gale, *Spectroelectrochemistry*, New York: Plenum, 1988.
- [44] L. Kavan y L. Dunsch, «Spectroelectrochemistry of carbon nanotubes.», *ChemPhysChem*, vol. 12, pp. 47-55, 2011.
- [45] C. G. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, Dublín: Elsevier B.V., 2007.
- [46] T. E. Furtak, «Electrochemical surface science.», *Surface Science*, Vols. 299-300, pp. 945-955, 1994.
- [47] R. Alkire, D. M. Kolb, J. Lipkowski y P. N. Ross, *Advances in electrochemical science and engineering*, Weinheim: Wiley-VCH, 2006.
- [48] C. Geskes y J. Heinze, «A spectroelectrochemical cell for measurements in highly purified solvents.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 418, pp. 167-173, 1996.
- [49] R. Holze, «Fundamentals and applications of near infrared spectroscopy in spectroelectrochemistry.», *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 8, pp. 982-997, 2004.
- [50] S.-G. Sun, P. A. Christensen y A. Wieckowski, *In situ spectroscopic studies of adsorption at the electrode and electrocatalysis*, Oxford: Elsevier B.V., 2007.



- [51] K. Ashley y S. Pons, «Infrared spectroelectrochemistry.», *Chemical Reviews*, vol. 88, nº 4, pp. 673-695, 1988.
- [52] K. Kneipp, M. Moskovits y H. Kneipp, *Topics in applied physics 103. Surface-enhanced Raman scattering.*, Heidelberg: Springer-Verlag, 2006.
- [53] M. Zalibera, P. Rapta y L. Dunsch, «The power of in situ ESR spectroelectrochemistry in the analysis of a C₈₄ fullerene isomer.», *Electrochemistry Communications*, vol. 10, pp. 943-946, 2008.
- [54] P. D. Prenzler, R. Bramley, S. R. Downing y G. A. Health, «High-field NMR spectroelectrochemistry of spinning solutions: simultaneous in situ detection of electrogenerated species in a standard probe under potentiostatic control.», *Electrochemistry Communications*, vol. 2, nº 7, pp. 516-521, 2000.
- [55] L. R. Sharpe, W. R. Heineman y R. C. Elder, «EXAFS spectroelectrochemistry.», *Chemical Reviews*, vol. 90, pp. 705-722, 1990.
- [56] Y. Dong, Y. Chi, L. Zheng, L. Zhang, L. Chen y G. Chen, «Spectroelectrochemistry for studying electrochemiluminescence mechanism.», *Electrochemistry Communications*, vol. 11, pp. 983-986, 2009.
- [57] A. J. Bard, *Electroanalytical Chemistry.*, New York: Dekker, 1974.
- [58] T. Kuwana y W. R. Heineman, «Study of electrogenerated reactants using optically transparent electrodes.», *Accounts of Chemical Research*, vol. 9, pp. 241-248, 1976.
- [59] W. N. Hansen, *Internal reflection spectroscopy in electrochemistry.*, New York: Wiley, 1973.
- [60] W. R. Heineman, «Spectroelectrochemistry: Combination of optical and electrochemical techniques for studies of redox chemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 50, pp. 390-402, 1978.
- [61] D. L. Jeanmaire y R. P. Van Duyne, «Surface Raman electrochemistry. Part 1: Heterocyclic, aromatic and aliphatic amines adsorbed on the anodised silver electrode.», *Journal of the Electroanalytical Chemistry*, vol. 84, pp. 1-20, 1977.
- [62] F. M. Hawkrigde y B. Ke, «An electrochemical thin-layer cell for spectroscopic studies of photosynthetic electron-transport components.», *Analytical Biochemistry*, vol. 78, pp. 76-85, 1977.
- [63] J. A. Richards y D. H. Evans, «Flow cell for electrolysis within the probe of a nuclear magnetic resonance spectrometer.», *Analytical Chemistry*, vol. 47, nº 6, pp. 964-966, 1975.
- [64] M. Petek y S. Bruckenstein, «An isotopic labeling investigation of the mechanism of the electrooxidation of hydrazine at platinum: An electrochemical mass



- spectrometric study.», *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 47, pp. 329-333, 1973.
- [65] W. Plieth, G. S. Wilson y C. Gutiérrez de la Fe, «Spectroelectrochemistry: A survey of in situ spectroscopic techniques.», *Pure and Applied Chemistry*, vol. 70, pp. 1395-1414, 1998.
- [66] K. Ashley, «Solution infrared spectroelectrochemistry: A review.», *Talanta*, vol. 38, nº 11, pp. 1209-1218, 1991.
- [67] J.-S. Yu y T.-Y. Zhou, «The electrochemistry and thin-layer luminiscence spectroelectrochemistry of rhodamine 6G at a 4,4'-bipyridine-modified gold electrode.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 504, pp. 89-95, 2001.
- [68] R. W. Murray, W. R. Heineman y G. W. O'Dom, «An optically transparent thin layer electrochemical cell.», *Analytical Chemistry*, vol. 39, pp. 1666-1668, 1967.
- [69] T. P. DeAngelis, R. W. Hurst, A. M. Yacynych, H. B. Mark, W. R. Heineman y J. S. Mattson, «Carbon and mercury-carbon optically transparent electrodes.», *Analytical Chemistry*, vol. 49, pp. 1395-1398, 1977.
- [70] W. R. Heineman, T. Kuwana y C. R. Hartzell, «Charge distribution in electron transport components: Cytochrome c and cytochrome c oxidase mixtures.», *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 50, pp. 892-900, 1973.
- [71] W. R. Heineman, B. J. Norris y J. F. Goelz, «Measurement of enzyme E.deg.' values by optically transparent thin layer electrochemical cells.», *Analytical Chemistry*, vol. 47, pp. 79-84, 1975.
- [72] J. McIntyre y D. M. Kolb, «Specular reflection spectroscopy of electrode surface films.», *Symposia of the Faraday Society*, vol. 4, pp. 99-113, 1970.
- [73] D. M. Kolb y J. McIntyre, «Spectrophotometric determination of the optical properties of an adsorbed oxygen layer on gold.», *Surface Science*, vol. 28, pp. 321-334, 1971.
- [74] E. Sefer y F. B. Koyuncu, «Naphthalenediimide bridged D-A polymers: Design, synthesis and electrochromic properties.», *Electrochimica Acta*, vol. 143, pp. 106-113, 2014.
- [75] T. M. Benedetti, T. Carvalho, D. C. Iwakura, F. Braga, B. R. Vieira, P. Vidinha, J. Gruber y R. M. Torresi, «All solid-state electrochromic device consisting of a water soluble viologen dissolved in gelatin-based ionogel.», *Solar Energy Materials & Solar Cells*, vol. 132, pp. 101-106, 2015.
- [76] M. Mahmut, T. Awut, I. Nurulla y M. Mijit, «Synthesis of two novel acenaphthyl-quinoxaline based low-band gap polymers and its electrochromic properties.»,



Journal of Polymer Research, vol. 21, p. 403, 2014.

- [77] D. R. Rosseinsky y R. J. Mortimer, «Electrochromic systems and the prospects for devices.», *Advanced Materials*, vol. 13, pp. 783-793, 2001.
- [78] P. Monk, R. J. Mortimer y D. R. Rosseinsky, *Electrochromism: Fundamentals and Applications.*, Weinheim, Germany: VCH, 1995.
- [79] M. Vidotti y S. I. Córdoba de Torresi, «Nanochromics: old materials, new structures and architectures for high performance devices.», *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 19, pp. 1248-1257, 2008.
- [80] W. C. Dautremont-Smith, «Transition metal oxide electrochromic materials and displays: A review: Part 1: Oxides with cathodic coloration.», *Displays*, vol. 3, pp. 3-22, 1982.
- [81] J. Matsui, R. Kikuchi y T. Miyashita, «A trilayer film approach to multicolor electrochromism.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, nº 3, pp. 842-845, 2014.
- [82] R. J. Mortimer, A. L. Dyer y J. R. Reynolds, «Electrochromic organic and polymeric material for display applications.», *Displays*, vol. 27, pp. 2-18, 2006.
- [83] L. Cao, M. Mou y Y. Wang, «Hyperbranched and viologen-functionalized polyglycerols: preparation, photo- and electrochromic performance.», *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, pp. 3412-3418, 2009.
- [84] R. J. Mortimer, «Organic electrochromic materials.», *Electrochimica Acta*, vol. 44, pp. 2971-2981, 1999.
- [85] A. Rougier, K. Sauvet y L. Sauques, «Electrochromic materials from the visible to the infrared region: an example, WO_3 .», *Ionics*, vol. 14, pp. 99-105, 2008.
- [86] A. I. Inamdar, A. C. Sonavane, S. M. Pawar, Y. Kim, J. H. Kim, P. S. Patil, W. Jung, H. Im, D.-Y. Kim y H. Kim, «Electrochromic and electrochemical properties of amorphous porous nickel hydroxide thin films.», *Applied Surface Science*, vol. 257, pp. 9606-9611, 2011.
- [87] I. Sorar, E. Pehlivan, G. Niklasson y C. Granqvist, «Electrochromism of DC magnetron sputtered TiO_2 thin films: Role of deposition parameters.», *Solar Energy Materials and Solar Cells*, vol. 115, pp. 172-180, 2013.
- [88] J.-H. Huang, A. Tzuyu Huang, C.-Y. Hsu, J.-T. Lin y C.-W. Chu, «Influence of molecular weight on silole-containing cyclopentadithiophene polymer and its impact on the electrochromic properties.», *Solar Energy Materials & Solar Cells*, vol. 98, pp. 300-307, 2012.



- [89] E. Unur, J. H. Jung, R. J. Mortimer y J. R. Reynolds, «Dual-polymer electrochromic film characterization using bipotentiostatic control.», *Chemistry of Materials*, vol. 20, nº 6, pp. 2328-2334, 2008.
- [90] M. Green, «The promise of electrochromic systems.», *Chemistry and Industry*, vol. 17, pp. 641-644, 1996.
- [91] C. Ma, M. Taya y C. Xu, «Smart sunglasses based on electrochromic polymers.», *Polymer Engineering & Science*, vol. 48, nº 11, pp. 2224-2228, 2008.
- [92] A. Michaelis, H. Berneth, D. Haarer, S. Kostromine, R. Neigl y R. Schmidt, «Electrochromic dye system for smart window applications.», *Advanced Materials*, vol. 13, nº 23, pp. 1825-1828, 2001.
- [93] H. W. Heuer, R. Wehrmann y S. Kirchmeyer, «Electrochromic window based on conducting poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-poly(styrene sulfonate).», *Advanced Functional Materials*, vol. 12, nº 2, pp. 89-94, 2002.
- [94] U. Bach, D. Corr, D. Lupo, F. Pichot y M. Ryan, «Nanomaterials-based electrochromics for paper-quality displays.», *Advanced Materials*, vol. 14, nº 11, pp. 845-848, 2002.
- [95] P. Andersson, R. Forchheimer, P. Tehrani y M. Berggren, «Printable all-organic electrochromic active-matrix displays.», *Advanced Functional Materials*, vol. 17, nº 16, pp. 3074-3082, 2007.
- [96] S. Beaupré, A. C. Breton, J. Dumas y M. Leclerc, «Multicolored electrochromic cells based on poly(2,7-carbazole) derivatives for adaptive camouflage.», *Chemistry of Materials*, vol. 21, nº 8, pp. 1504-1513, 2009.
- [97] G. Sonmez y H. B. Sonmez, «Polymeric electrochromics for data storage.», *Journal of Materials Chemistry*, vol. 16, pp. 2473-2477, 2006.
- [98] R. Baetens, B. P. Jelle y A. Gustavsen, «Properties, requirements and possibilities of smart windows for dynamic daylight and solar energy control in buildings: A state of the art review.», *Solar Energy Materials and Solar Cells*, vol. 94, nº 2, pp. 87-105, 2010.
- [99] J. K. Foley y S. Pons, «In situ infrared spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 57, pp. 945A-956A, 1985.
- [100] H. D. Abruña, *Electrochemical interfaces. Modern techniques for in situ interface characterization.*, New York: VCH, 1991.
- [101] R. Clark y R. E. Hester, *Advances in spectroscopy.*, Chichester, UK: Wiley, 1997.
- [102] T. Iwasita y F. C. Nart, «In situ infrared spectroscopy at electrochemical interfaces.», *Progress in Surface Science*, vol. 55, pp. 271-340, 1997.



- [103] M. A. Habib y O. Bockris, «Adsorption at the solid/solution interface. An FTIR study of phosphoric acid on platinum and gold.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 132, pp. 108-114, 1985.
- [104] D. S. Bethune, A. C. Luntz, J. K. Sass y D. K. Roe, «Optical analysis of thin-layer electrochemical cells for infrared spectroscopy of adsorbates.», *Surface Science*, vol. 197, pp. 44-66, 1988.
- [105] H. Seki, K. Kunimatsu y W. G. Golden, «A thin-layer electrochemical cell for infrared spectroscopic measurements of the electrode/electrolyte interface.», *Applied Spectroscopy*, vol. 39, pp. 437-443, 1985.
- [106] I. T. Bae, M. Sandifer, Y. W. Lee, D. A. Tryk, C. N. Sukenik y D. A. Scherson, «In situ Fourier transform infrared spectroscopy of molecular adsorbates at electrode-electrolyte interfaces: A comparison between internal and external reflection modes.», *Analytical Chemistry*, vol. 67, n^o 24, pp. 4508-4513, 1995.
- [107] W. N. Hansen, «Expanded formulas for attenuated total reflection and the derivation of absorption rules for single and multiple ATR spectrometer cells.», *Spectrochimica Acta*, vol. 21, n^o 4, pp. 815-833, 1965.
- [108] R. Barbour, Z. Wang, I. T. Bae, Y. V. Tolmachev y D. A. Scherson, «Channel flow cell for attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 67, pp. 4024-4027, 1995.
- [109] S. Pronkin y T. Wandlowski, «Time-resolved in situ ATR-SEIRAS study of adsorption and 2D phase formation of uracil on gold electrodes.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Vols. 550-551, pp. 131-147, 2003.
- [110] Q. Fan, C. Pu y E. S. Smotkin, «In situ Fourier transform infrared-diffuse reflection spectroscopy of direct methanol fuel cell anodes and cathodes.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 143, pp. 3053-3057, 1996.
- [111] A. T. Hubbard, *The handbook of surface imaging and visualization.*, Boca Ratón: CRC, 1995.
- [112] M. Montañez, H. J. Cardona y C. R. Cabrera-Martínez, «Airtight in situ thin-layer reflection-absorption FT-IR microspectroelectrochemical cell for the study of nonaqueous systems.», *Analytical Chemistry*, vol. 70, n^o 5, pp. 1007-1011, 1998.
- [113] S. P. Best, R. Clark, R. McQueen y R. P. Cooney, «Infrared reflection absorption spectro-electrochemical cell for the in situ study of redox-active species at variable temperature.», *Review of Scientific Instruments*, vol. 58, pp. 2071-2074, 1987.
- [114] I. S. Zavarine y C. P. Kubiak, «A versatile variable temperature thin layer reflectance spectroelectrochemical cell.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 495, pp. 106-109, 2001.



- [115] S. J. Borg y S. P. Best, «Spectroelectrochemical cell for the study of interactions between redox-activated species and moderate pressures of gaseous substrates.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 535, pp. 57-64, 2002.
- [116] J. Lipkowski y P. N. Ross, *Electrocatalysis, frontiers in electrochemistry.*, New York: Wiley-VCH, 1998.
- [117] A. J. Bard, *Electroanalytical Chemistry.*, New York: Marcel Dekker, 1986.
- [118] C. H. Hamann, A. Hamnett y W. Vielstich, *Electrochemistry.*, Verlag: Wiley-VCH, 2007.
- [119] J. D. Mozo, M. Domínguez, E. Roldán y J. M. Rodríguez-Mellado, «Development of a spectroelectrochemistry assembly (SNIFTIRS) based on a commercial spectrophotometer. Test with the ferrocyanide/ferricyanide redox couple.», *Electroanalysis*, vol. 12, nº 10, pp. 767-773, 2000.
- [120] Z.-Y. Zhou, N. Tian, Y.-J. Chen, S.-P. Chen y S.-G. Sun, «In situ rapid-scan time-resolved microscope FTIR spectroelectrochemistry: study of the dynamic processes of methanol oxidation on a nanostructured Pt electrode.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 573, pp. 111-119, 2004.
- [121] B. Jin, P. Liu, Y. Wang, Z. Zhang, Y. Tian, J. Yang, S. Zhang y F. Cheng, «Rapid-scan time-resolved FT-IR spectroelectrochemistry studies on the electrochemical redox process.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, nº 7, pp. 1517-1522, 2007.
- [122] B. Jin, F. Tao y P. Liu, «Rapid-scan time-resolved FT-IR spectroelectrochemistry. Study on the electron transfer of ferrocene-substituted thiophenes.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 624, pp. 179-185, 2008.
- [123] J. Álvarez-Malmagro, F. Prieto, M. Rueda y A. Rodes, «In situ Fourier transform infrared reflection absorption spectroscopy study of adenine adsorption on gold electrodes in basic media.», *Electrochimica Acta*, vol. 140, pp. 476-481, 2014.
- [124] M. Tagliazucchi, L. P. Méndez de Leo, A. Cadranell, L. M. Baraldo, E. Völker, C. Bonazzola, E. J. Calvo y V. Zamlynyy, «PM IRRAS spectroelectrochemistry of layer-by-layer self-assembled polyelectrolyte multilayers.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 649, pp. 110-118, 2010.
- [125] H. Miyake, S. Ye y M. Osawa, «Electroless deposition of gold thin films on silicon for surface-enhanced infrared spectroelectrochemistry.», *Electrochemistry Communications*, vol. 4, pp. 973-977, 2002.
- [126] M. Osawa, «Dynamic processes in electrochemical reactions studies by surface-enhanced infrared absorption spectroscopy (SEIRAS).», *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 70, nº 12, pp. 2861-2880, 1997.
- [127] T. Uchida, M. Osawa y J. Lipkowski, «SEIRAS studies of water structure at the gold electrode surface in the presence of supported lipid bilayer.», *Journal of*



Electroanalytical Chemistry, vol. 716, pp. 112-119, 2014.

- [128] K. Motobayashi, K. Minami, N. Nishi, T. Sakka y M. Osawa, «Hysteresis of potential-dependent changes in ion density and structure of an ionic liquid on a gold electrode: in situ observation by surface-enhanced infrared absorption spectroscopy.», *Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 4, pp. 3110-3114, 2013.
- [129] A. E. Bjerke y P. R. Griffiths, «Surface-enhanced infrared absorption of CO on platinized platinum.», *Analytical Chemistry*, vol. 71, pp. 1967-1974, 1999.
- [130] F. Huerta, E. Morallón, C. Quijada, J. L. Vázquez y A. Aldaz, «Spectroelectrochemical study of CN⁻ adsorbed at Pt(111) in sulphuric and perchloric media.», *Electrochimica Acta*, vol. 44, pp. 943-948, 1998.
- [131] H. Fujiwara, *Spectroscopic ellipsometry: principles and applications.*, vol. 4, West Sussex: John Wiley and Sons, 2007, pp. 192-200.
- [132] I. Rubinstein, *Physical Electrochemistry.*, New York: Marcel Dekker, 1995.
- [133] C. J. Dell'Oca y P. J. Fleming, «Initial stages of oxide growth and pore initiation in the porous anodization of aluminum.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 123, pp. 1487-1493, 1976.
- [134] J. Rishpon, A. Redondo, C. Derouin y S. Gottesfeld, «Simultaneous ellipsometric and microgravimetric measurements during the electrochemical growth of polyaniline.», *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 294, pp. 73-85, 1990.
- [135] Y.-T. Kim, R. W. Collins, K. Vedam y D. L. Allara, «Real time spectroscopic ellipsometry: In situ characterization of pyrrole electropolymerization.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 138, pp. 3266-3275, 1991.
- [136] P. Christensen y A. Hamnet, «In situ-techniques in electrochemistry - ellipsometry and FTIR.», *Electrochimica Acta*, vol. 45, pp. 2443-2459, 2000.
- [137] N. Berova, K. Nakanishi y R. W. Woody, *Circular dichroism: principles and applications.*, New York: Wiley VCH, 2000.
- [138] B. Ranjbar y P. Gill, «Circular dichroism techniques: biomolecular and nanostructural analyses: a review.», *Chemical Biology & Drug Design*, vol. 74, pp. 101-120, 2009.
- [139] L. Velluz, M. Legrand y M. Grosjean, *Optical circular dichroism: principles, measurements and applications.*, New York: Academic Press, 1965.
- [140] E. L. Eliel, S. H. Wilen y L. N. Mander, *Stereochemistry of organic compounds.*, New York: Wiley, 1994.



- [141] N. Sreerama y R. W. Woody, «Computation and analysis of protein circular dichroism spectra.», *Methods in Enzymology*, vol. 383, pp. 318-351, 2004.
- [142] A. Rodger y B. Norder, *Circular dichroism and linear dichroism.*, Oxford: Oxford University Press, 1987.
- [143] N. Purdie y K. A. Swallows, «Analytical applications of polarimetry, optical rotatory dispersion, and circular dichroism.», *Analytical Chemistry*, vol. 61, pp. 77A-89A, 1989.
- [144] H. R. Drew y R. E. Dickerson, «Structure of a B-DNA dodecamer: III. Geometry of hydration.», *Journal of Molecular Biology*, vol. 151, pp. 535-556, 1981.
- [145] Y. Zhu, G. Cheng y S. Dong, «Conformational transition of DNA in electroreduction studied by in situ UV and CD thin layer spectroelectrochemistry.», *Biophysical Chemistry*, vol. 87, pp. 103-110, 2000.
- [146] G. D. Fasman, *Circular dichroism and the conformational analysis of biomolecules.*, New York and London: Plenum Press, 1996.
- [147] X. Liu, Y. Zhu, G. Cheng y S. Dong, «Circular dichroism spectroelectrochemical and voltammetric studies of vitamin B₂.», *Electroanalysis*, vol. 13, pp. 1071-1075, 2001.
- [148] Y. Lü, Y. Zhu, G. Cheng y S. Dong, «Study of electrochemical behaviour of ergosterol by in situ thin layer circular dichroic spectroelectrochemistry.», *Electroanalysis*, vol. 11, pp. 601-605, 1999.
- [149] Y. Zhu, G. Cheng y S. Dong, «Investigation of the electrochemical behaviour of tryptophan by in situ circular dichroic spectroelectrochemistry.», *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, vol. 31, pp. 301-309, 1993.
- [150] D. Glick, *Methods of Biochemical Analysis.*, New York: John Wiley & Sons, 1986.
- [151] L. Kane-Maguire y G. G. Wallace, «Chiral conducting polymers.», *Chemical Society Reviews*, vol. 39, pp. 2545-2576, 2010.
- [152] A. S. Ribeiro, L. Ribeiro, S. Leite, J. G. da Silva, J. C. Ramos, M. Navarro y J. Tonholo, «Electrochemical polymerization of thiophene derivate induced by Lewis acid: Electrosynthesis of poly[(R)-(-)-2-(3'-thienyl)ethyl-3(3',5''-dinitrobenzoyl)-alpha-phenylglycinate].», *Polymer*, vol. 47, pp. 8430-8435, 2006.
- [153] T. Verbiest, S. Sioncke, G. Koeckelberghs, C. Samyn, A. Persoons, E. Botek, J. M. André y B. Champagne, «Nonlinear optical properties of spincoated films of chiral polythiophenes.», *Chemical Physics Letters*, vol. 404, pp. 112-115, 2006.
- [154] L. Torsi, G. M. Farinola, F. Marinelli, M. C. Tanese, O. H. Omar, L. Valli, F. Babudri, F. Palmisano, P. G. Zambonin y F. Naso, «A sensitivity-enhanced field-effect chiral



- sensor.», *Nature Materials*, vol. 7, pp. 412-417, 2008.
- [155] B. de Lacy-Costello, N. M. Ratcliffe y P. S. Sivanand, «The synthesis of novel 3-substituted pyrrole monomers possessing chiral side groups: a study of their chemical polymerisation and the assessment of their chiral discrimination properties.», *Synthetic Metals*, vol. 139, pp. 43-55, 2003.
- [156] M. Schwientek, S. Pleus y C. H. Hamann, «Enantioselective electrodes: stereoselective electroreduction of 4-methylbenzophenone and acetophenone.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 461, pp. 94-101, 1999.
- [157] W. H. Flygare, *Molecular structure and dynamics.*, New Jersey: Prentice Hall, 1978.
- [158] H. A. Szmanski, *Raman spectroscopy.*, New York: Plenum, 1970.
- [159] R. L. McCreery, *Raman spectroscopy for chemical analysis.*, New York: Wiley-Interscience, 2000.
- [160] C. Ma y J. M. Harris, «Surface-enhanced Raman scattering study of the kinetics of self-assembly of carboxylate-terminated n-alkanethiols on silver.», *Langmuir*, vol. 28, pp. 2628-2636, 2012.
- [161] T. Itoh, K. Abe, M. Mohamedi, M. Nishizawa y I. Uchida, «In situ SERS spectroscopy of Ag-modified pyrolytic graphite in organic electrolytes.», *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 5, nº 5, pp. 328-333, 2001.
- [162] T. Itoh, N. Anzue, M. Mohamedi, Y. Hisamitsu, M. Umeda y I. Uchida, «Spectroelectrochemical studies on highly polarized LiCoO₂ electrode in organic solutions.», *Electrochemistry Communications*, vol. 2, nº 11, pp. 743-746, 2000.
- [163] T. Itoh, K. Abe, K. Dokko, M. Mohamedi, I. Uchida y A. Kasuya, «In situ Raman spectroelectrochemistry of oxygen species on gold electrodes in high temperature molten carbonate melts.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 151, nº 12, pp. A2042-A2046, 2004.
- [164] T. Itoh y R. L. McCreery, «In situ Raman spectroelectrochemistry of azobenzene monolayers on glassy carbon.», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 388, pp. 131-134, 2007.
- [165] A. G. Ryder, «Surface enhanced Raman scattering for narcotic detection and applications to chemical biology.», *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 9, pp. 489-493, 2005.
- [166] K. Maquelin, C. Kirschner, L. P. Choo-Smith, N. Van der Braak, H. P. Endtz, D. Naumann y G. J. Puppels, «Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy.», *Journal of Microbiological Methods*, vol. 51, pp. 255-271, 2002.



- [167] A. Jorio, C. Fantini, M. A. Pimenta, R. B. Capaz, G. Samsonidze, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, J. Jiang, N. Kobayashi, A. Grüneis y R. Saito, «Resonance Raman spectroscopy (n,m)-dependent effects in small-diameter single-wall carbon nanotubes.», *Physical Review B*, vol. 71, p. 075401, 2005.
- [168] P. Corio, A. Jorio, N. Demir y M. S. Dresselhaus, «Spectroelectrochemical studies of single wall carbon nanotubes films.», *Chemical Physics Letters*, vol. 392, pp. 396-402, 2004.
- [169] Z. Kominkova, V. Vales, M. C. Hersam y M. Kalbac, «Towards quantification of the ratio of the single and double wall carbon nanotubes in their mixtures: An in situ Raman spectroelectrochemical study.», *Carbon*, vol. 78, pp. 366-373, 2014.
- [170] M. Kalbac, L. Kavan, M. Zúkalová y L. Dunsch, «In situ vis-near-infrared and Raman spectroelectrochemistry of double-walled carbon nanotubes.», *Advanced Functional Materials*, vol. 15, pp. 418-426, 2005.
- [171] M. Bousa, O. Frank y L. Kavan, «Progressive in situ reduction of graphene oxide studied by Raman spectroelectrochemistry: implications for a spontaneous activation of LiFePO_4 (Olivine).», *Electroanalysis*, vol. 26, pp. 57-61, 2014.
- [172] M. Kalbac, H. Farhat, J. Kong, P. Janda, L. Kavan y S. Dresselhaus, «Raman spectroscopy and in situ Raman spectroelectrochemistry of bilayer $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ graphene.», *Nano Letters*, vol. 11, pp. 1957-1963, 2011.
- [173] M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, A. Jorio, A. G. Souza Filho y R. Saito, «Raman spectroscopy on isolated single wall carbon nanotubes.», *Carbon*, vol. 40, n° 12, pp. 2043-2061, 2002.
- [174] M. Kalbac, L. Kavan y L. Dunsch, «In situ Raman spectroelectrochemistry as a tool for the differentiation of inner tubes of double-wall carbon nanotubes and thin single-wall carbon nanotubes.», *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 9074-9081, 2007.
- [175] S. Brown, A. Jorio, P. Corio, M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito y K. Kneipp, «Origin of the Breit-Wigner-Fano lineshape of the tangential G-band feature of metallic carbon nanotubes.», *Physical Review B*, vol. 63, p. 155414, 2001.
- [176] M. Kalbac, Y. Hsieh, H. Farhat, L. Kavan, M. Hofmann, J. Kong y M. S. Dresselhaus, «Defects in individual semiconducting single wall carbon nanotubes: Raman spectroscopic and in situ Raman spectroelectrochemical study.», *Nano Letters*, vol. 10, n° 11, pp. 4619-4626, 2010.
- [177] X. Duan, H. Son, B. Gao, J. Zhang, T. Wu, G. G. Samsonidze, M. S. Dresselhaus, Z. Liu y J. Kong, «Resonant Raman spectroscopy of individual strained single-wall carbon nanotubes.», *Nano Letters*, vol. 7, n° 7, pp. 2116-2121, 2007.
- [178] J. E. Fischer, «Chemical doping of single-wall carbon nanotubes.», *Accounts of*



chemical research, vol. 35, nº 12, pp. 1079-1086, 2002.

- [179] M. Kalbac, L. Kavan y L. Dunsch, «Controlled doping of double walled carbon nanotubes and conducting polymers in a composite: An in situ Raman spectroelectrochemical study.», *Composites Science and Technology*, vol. 69, pp. 1553-1557, 2009.
- [180] D. L. Jeanmarie y R. P. Van Duyne, «Resonance Raman spectroelectrochemistry. 2. Scattering spectroscopy accompanying excitation of the lowest 2B_{1u} excited state of the tetracyanoquinodimethane anion radical.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 98, pp. 4029-4033, 1976.
- [181] M. R. Suchanski y R. P. Van Duyne, «Resonance Raman spectroelectrochemistry. IV. The oxygen decay chemistry of the retracyanoquinodimethane dianion.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 98, pp. 250-252, 1976.
- [182] D. L. Jeanmarie, M. R. Suchanski y R. P. Van Duyne, «Resonance Raman spectroelectrochemistry. I. Tetracyanoethylene anion radical.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 97, pp. 1699-1707, 1975.
- [183] R. Van Duyne, M. R. Suchanski, J. M. Lakovits, A. R. Siedle, K. D. Parks y T. M. Cotton, «Resonance Raman spectroelectrochemistry. 6. Ultraviolet laser excitation of the tetracyanoquinodimethane dianion.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 101, pp. 2832-2837, 1979.
- [184] D. L. Jeanmarie y R. Van Duyne, «Resonance Raman spectroelectrochemistry. V. Intensity transients on the millisecond time scale following double potential step initiation of a diffusion controlled electrode reaction.», *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 66, pp. 235-247, 1975.
- [185] P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shah y R. P. Van Duyne, «Surface-enhanced Raman spectroscopy.», *Annual Review of Analytical Chemistry*, vol. 1, pp. 601-626, 2008.
- [186] A. Champion, J. K. Brown y V. M. Grizzle, «Surface Raman spectroscopy without enhancement: nitrobenzene on Ni(111).», *Surface Science Letters*, vol. 115, pp. L153-L158, 1982.
- [187] C. Shannon y A. Champion, «Unenhanced Raman scattering as an in situ probe of the electrode-electrolyte interface: 4-cyanopyridine adsorbed on a rhodium electrode.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 92, pp. 1385-1387, 1988.
- [188] B. Sharma, R. R. Frontiera, A. I. Henry, E. Ringe y R. P. Van Duyne, «SERS: Materials, applications and the future.», *Materials Today*, vol. 15, pp. 16-25, 2012.
- [189] R. K. Chang y T. E. Furtak, *Surface Enhanced Raman Scattering*, New York: Plenum Press, 1982.



- [190] Z. Q. Tian y B. Ren, «Adsorption and reaction at electrochemical interfaces as probed by surface-enhanced Raman spectroscopy.», *Annual Review of Physical Chemistry*, vol. 55, pp. 197-229, 2004.
- [191] F. Zaera, «Surface chemistry at the liquid/solid interface.», *Surface Science*, vol. 605, pp. 1141-1145, 2011.
- [192] E. Podstawska-Proniewicz, I. Ignatjev, G. Niaura y L. M. Proniewicz, «Phe-MetNH₂ terminal bombesin subfamily peptides: Potential induced changes in adsorption on Ag, Au and Cu electrodes monitored by SERS.», *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 4189-4200, 2012.
- [193] M. Dendisová-Vyskovská, A. Kokaislová, M. Oncák y P. Matejka, «SERS and in situ SERS spectroscopy of riboflavin adsorbed on silver, gold and copper substrates. Elucidation of variability of surface orientation based on both experimental and theoretical approach.», *Journal of Molecular Structure*, vol. 1038, pp. 19-28, 2013.
- [194] M. Dendisová-Vyskovska, V. Prokopec, M. Clupek y P. Matejka, «Comparison of SERS effectiveness of copper substrates prepared by different methods: What are the values of enhancement factors?», *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 43, pp. 181-186, 2012.
- [195] M. Fleischmann, P. J. Hendra y A. J. McQuillan, «Raman spectra from electrode surfaces.», *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, pp. 80-81, 1973.
- [196] M. Fleischmann, P. J. Hendra y A. J. McQuillan, «Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode.», *Chemical Physics Letters*, vol. 26, n^o 2, pp. 163-166, 1974.
- [197] M. G. Albrecht y J. A. Creighton, «Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 99, pp. 5215-5217, 1977.
- [198] S. Schlücker, «Surface-enhanced Raman spectroscopy: concepts and chemical applications.», *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 53, pp. 2-42, 2014.
- [199] S. Nie y S. R. Emory, «Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering.», *Science*, vol. 275, n^o 5303, pp. 1102-1106, 1997.
- [200] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. Dasari y M. S. Feld, «Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS).», *Physical Review Letters*, vol. 78, pp. 1667-1670, 1997.
- [201] J. T. Yates y T. E. Madey, *Vibrational spectroscopy of molecules at surfaces.*, New York: Plenum, 1987.
- [202] Y. W. Alsmeyer y R. L. McCreery, «Surface-enhanced Raman spectroscopy of carbon electrode surfaces following silver electrodeposition.», *Analytical Chemistry*, vol. 63,



nº 13, pp. 1289-1295, 1991.

- [203] H. Kim, K. M. Kosuda, R. P. Van Duyne y P. C. Stair, «Resonance Raman and surface- and tip-enhanced Raman spectroscopy methods to study solid catalysts and heterogeneous catalytic reactions.», *Chemical Society Reviews*, vol. 39, pp. 4820-4844, 2010.
- [204] W. Xie, C. Herrmann, K. Kömpe, M. Haase y S. Schlücker, «Synthesis of bifunctional Au/Pt/Au core/shell nanoraspberries for in situ SERS monitoring of platinum-catalyzed reactions.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, nº 48, pp. 19302-19305, 2011.
- [205] T. Itoh, T. Maeda y A. Kasuya, «In situ surface-enhanced Raman scattering spectroelectrochemistry of oxygen species.», *Faraday Discussions*, vol. 132, pp. 95-109, 2006.
- [206] X. Li y A. A. Gewirth, «Oxygen electroreduction through a superoxide intermediate on bi-modified Au surfaces.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 127, nº 14, pp. 5252-5260, 2005.
- [207] Z. Q. Tian, S. K. Sigalae, S. Z. Zou, B. W. Mao, A. M. Funtikov y V. E. Kazarinov, «The observation of SERS of water in a wide potential range from the Ag/NaClO₄ system.», *Electrochimica Acta*, vol. 39, nº 14, pp. 2195-2196, 1994.
- [208] D. Wu, J. Li y Z. Tian, «Electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy of nanostructures.», *Chemical Society Reviews*, vol. 37, pp. 1025-1041, 2008.
- [209] G. Louarn, M. Trznadel, J. P. Buisson, J. Laska, A. Pron, M. Lapkowski y S. Lefrant, «Raman spectroscopic studies of regioregular poly(3-alkylthiophenes).», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 100, nº 30, pp. 12532-12539, 1996.
- [210] V. Costa Bassetto, A. E. Russell, L. T. Kubota y P. N. Bartlett, «Preparation of copper sphere segment void templates for electrochemical SERS and their use to study the interaction of amino acids with copper under potentiostatic control.», *Electrochimica Acta*, vol. 144, pp. 400-405, 2014.
- [211] D. H. Murgida y P. Hildebrandt, «Disentangling interfacial redox processes of proteins by SERR spectroscopy.», *Chemical Society Reviews*, vol. 37, pp. 937-945, 2008.
- [212] P. Song, X. Guo, Y. Pan, Y. Wen, Z. Zhang y H. Yang, «SERS and in situ SERS spectroelectrochemical investigations of serotonin monolayers at a silver electrode.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 688, pp. 384-391, 2013.
- [213] Y. Yamamoto, Y. Imori y S. Hara, «Oxidation behaviour of triacylglycerol containing conjugated linolenic acids in sn-1(3) or sn-2 position.», *Journal of Oleo Science*, vol. 63, pp. 31-37, 2014.



- [214] H. Ko, S. Singamaneni y V. V. Tsukruk, «Nanostructured surfaces and assemblies as SERS media.», *Small*, vol. 4, n° 10, pp. 1576-1599, 2008.
- [215] Z.-Q. Tian, B. Ren y D.-Y. Wu, «Surface-enhanced Raman Scattering: From noble to transition metals and from rough surfaces to ordered nanostructures.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 106, n° 37, pp. 9463-9483, 2002.
- [216] M. S. Whittingham, «Lithium batteries and cathode materials.», *Chemical Reviews*, vol. 104, n° 10, pp. 4271-4302, 2004.
- [217] G. Wang, L. Zhang y J. Zhang, «A review of electrode materials for electrochemical supercapacitors.», *Chemical Society Reviews*, vol. 41, pp. 797-828, 2012.
- [218] M. Grätzel, «Dye-sensitized solar cells.», *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, vol. 4, pp. 145-153, 2003.
- [219] S. Zou, C. T. Williams, E.-Y. Chen y M. J. Weaver, «Probing molecular vibrations at catalytically significant interfaces: A new ubiquity of surface-enhanced Raman scattering.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 120, pp. 3811-3812, 1998.
- [220] S. Cintra, M. E. Abdelsalam, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, T. A. Kelf, Y. Sugawara y A. E. Russell, «Sculpted substrates for SERS.», *Faraday Discussions*, vol. 132, pp. 191-199, 2006.
- [221] Q. Wu, C. Luo, H. Yu, G. Kong y J. Hu, «Surface sol-gel growth of ultrathin SiO₂ films on roughened Au electrodes: Extending borrowed SERS to a SERS inactive material.», *Chemical Physics Letters*, vol. 608, pp. 35-39, 2014.
- [222] M. Clupek, V. Prokopec, P. Matejka y K. Volka, «Raman spectral detection and assessment of thin organic layers on metal substrates: systematic approach from substrate preparation to map evaluation.», *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 39, pp. 515-524, 2008.
- [223] M. Grasserbauer y H. W. Werner, *Analysis of microelectronic materials and devices.*, New York: Wiley, 1991.
- [224] R. Varma y J. R. Selman, *Techniques for characterization of electrodes and electrochemical processes.*, New York: Wiley, 1991.
- [225] P. F. Kane y G. B. Larrabee, *Characterization of solid surfaces.*, New York: Wiley, 1974.
- [226] K. S. Kim, N. Winograd y R. E. Davis, «Electron spectroscopy of platinum-oxygen surfaces and application to electrochemical studies.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 93, pp. 6296-6297, 1971.
- [227] C. M. Elliott y R. W. Murray, «Chemically modified carbon electrodes.», *Analytical*



Chemistry, vol. 48, pp. 1247-1254, 1976.

- [228] J. Guo, «The development of in situ photon-in/photon-out soft X-ray spectroscopy on beamline 7.0.1 at the ALS.», *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, vol. 188, pp. 71-78, 2013.
- [229] W. E. O'Grady y D. E. Ramaker, «Atomic X-ray absorption fine structure: a new tool for examining electrochemical interfaces.», *Electrochimica Acta*, vol. 44, pp. 1283-1287, 1998.
- [230] E. D. Crozier, «A review of the current status of XAFS spectroscopy.», *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B*, vol. 133, pp. 134-144, 1997.
- [231] H. S. Isaacs, S. Virtanen, M. P. Ryan, P. Schmuki y L. J. Oblonsky, «Incorporation of Cr in the passive film on Fe from chromate solutions.», *Electrochimica Acta*, vol. 47, pp. 3127-3130, 2002.
- [232] P. Borthen, B. J. Hwang, H. Strehblow y D. M. Kolb, «In situ observation of the potential-dependent chemical state and structure of a Cu monolayer deposited on the surface of carbon-supported platinum clusters.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 104, nº 21, pp. 5078-5083, 2000.
- [233] J. Monnier, S. Réguer, E. Foy, D. Testemale, F. Mirambet, M. Saheb, P. Dillmann y I. Guillot, «XAS and XRD in situ characterisation of reduction and reoxidation processes of iron corrosion products involved in atmospheric corrosion.», *Corrosion Science*, vol. 78, pp. 293-303, 2014.
- [234] D. Totir, Y. Mo, S. Kim, M. R. Antonio y D. A. Scherson, «In situ Co K-edge X-ray absorption fine structure of cobalt hydroxide film electrodes in alkaline solutions.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 147, pp. 4594-4597, 2000.
- [235] O. Endo, D. Matsumura, K. Kohdate, M. Kiguchi, T. Yokoyama y T. Ohta, «In situ XAFS studies of Br adsorption on the silver (111) electrode.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 494, pp. 121-126, 2000.
- [236] A. Wieckowski, *Interfacial electrochemistry - theory, experiment and applications.*, New York: Marcel Dekker, 1999.
- [237] S. Bertram, G. Kaindl, J. Jové, M. Pagès y J. Gal, «Electronic structure of actinide compounds from L_{III}-edge X-ray absorption.», *Physical Review Letters*, vol. 63, pp. 2680-2683, 1989.
- [238] L. Soderhoim, M. R. Antonio, C. Williams y S. R. Wasserman, «XANES spectroelectrochemistry: A new method for determining formal potentials.», *Analytical Chemistry*, vol. 71, pp. 4622-4628, 1999.
- [239] G. S. Xuan, S. Jang, G. Kwag y S. Kim, «Simple and convenient design of a spectroelectrochemical cell for in situ XANES measurements of adsorbed species in



- transmission mode.», *Bulletin of the Korean Chemical Society*, vol. 26, nº 4, pp. 671-674, 2005.
- [240] T. Kaito, H. Mitsumoto, S. Sugawara, K. Shinohara, H. Uehara, H. Ariga, S. Takakusagi, Y. Hatakeyama, K. Nishikawa y K. Asakura, «K-edge X-ray absorption fine structure analysis of Pt/Au core-shell electrocatalyst: Evidence for short Pt-Pt distance.», *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 118, pp. 8481-8490, 2014.
- [241] F. W. Lytle, G. H. Via y J. H. Sinfelt, «New application of extended x-ray absorption fine structure (EXAFS) as a surface probe-nature of oxygen interaction with a ruthenium catalyst.», *Journal of Chemical Physics*, vol. 67, pp. 3831-3832, 1977.
- [242] K. Asakura, K. Kitamura-Bando, K. Isobe, H. Arakawa y Y. Iwasawa, «Metal-assisted CO insertion reaction on a new surface rhodium dimer catalyst observed by an in situ EXAFS technique.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 112, nº 8, pp. 3242-3244, 1990.
- [243] R. Wiltshire, C. R. King, A. Rose, P. P. Wells, M. P. Hogarth, D. Thompsett y A. E. Russell, «A PEM fuel cell for in situ XAS studies.», *Electrochimica Acta*, vol. 50, pp. 5208-5217, 2005.
- [244] N. Ishiguro, T. Saida, T. Uruga, S. Nagamatsu, O. Sekiwaru, K. Nitta, T. Yamamoto, S. Ohkoshi, Y. Iwasawa, T. Yokoyama y M. Tada, «Operando time-resolved X-ray absorption fine structure study for surface events on a Pt₃Co/C cathode catalyst in a polymer electrolyte fuel cell during voltage-operating processes.», *ACS Catalyst*, vol. 2, pp. 1319-1330, 2012.
- [245] H. Imai, K. Izumi, M. Matsumoto, Y. Kubo, K. Kato y Y. Imai, «In situ and real-time monitoring of oxide growth in a few monolayers at surfaces of platinum nanoparticles in aqueous media.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, pp. 6293-6300, 2009.
- [246] K. Sasaki, J. X. Wang, H. Naohara, N. Marinkovic, K. More, H. Inada y R. R. Adzic, «Recent advances in platinum monolayer electrocatalysts for oxygen reduction reaction: Scale-up synthesis, structure and activity of Pt shells on Pd cores.», *Electrochimica Acta*, vol. 55, pp. 2645-2652, 2010.
- [247] T. Kaito, H. Mitsumoto, S. Sugawara, K. Shinohara, H. Uehara, H. Ariga, S. Takakusagi y K. Asakura, «A new spectroelectrochemical cell for in situ measurements of Pt and Au k-edge X-ray absorption fine structure.», *Review of Scientific Instruments*, vol. 85, p. 084104, 2014.
- [248] D. K. Bora, P. Glans, J. Pepper, Y.-S. Liu, C. Du, D. Wang y J.-H. Guo, «An ultra-high vacuum electrochemical flow cell for in situ/operando soft X-ray spectroscopy study.», *Review of Scientific Instruments*, vol. 85, p. 043106, 2014.
- [249] K. Nakanishi, D. Kato, H. Arai, H. Tanida, T. Mori, Y. Orikasa, Y. Uchimoto, T. Ohta y Z.



- Ogumi, «Novel spectro-electrochemical cell for in situ/operando observation of common composite electrode with liquid electrolyte by X-ray absorption spectroscopy in the tender X-ray region.», *Review of Scientific Instruments*, vol. 85, p. 084103, 2014.
- [250] T. Kondo, K. Tamura, M. Takahasi, J. Mizuki y K. Uosaki, «A novel spectroelectrochemical cell for in situ surface X-ray scattering measurements of single crystal disk electrodes.», *Electrochimica Acta*, vol. 47, pp. 3075-3080, 2002.
- [251] D. Austen, P. H. Given, D. Ingram y M. E. Peover, «Electron resonance study of the radicals produced by controlled potential electrolysis of aromatic substances.», *Nature*, vol. 182, pp. 1784-1786, 1958.
- [252] R. N. Adams, «Application of electron paramagnetic resonance techniques in electrochemistry.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 8, pp. 151-162, 1964.
- [253] J. N. Herak y K. J. Adamic, *Magnetic resonance in chemistry and biology.*, New York: Marcel Dekker, 1975.
- [254] R. S. Alger, *Electron Paramagnetic Resonance.*, New York: Interscience, 1968.
- [255] J. E. Wertz y J. R. Bolton, *Electron spin resonance elementary theory and practical applications.*, New York: McGraw-Hill, 1986.
- [256] P. R. Murray, D. Collison, S. Daff, N. Austin, R. Edge, B. W. Flynn, L. Jack, F. Leroux, E. McInnes, A. F. Murray, D. Sells, T. Stevenson, J. Wolowska y L. J. Yellowlees, «An in situ electrochemical cell for Q- and W- band EPR spectroscopy.», *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 213, pp. 206-209, 2011.
- [257] R. Koopmann y H. Gerischer, «Absolutbestimmung von radikalmengen zur eichung von ESR-messungen bei elektrochemisch erzeugbaren radikalen.», *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, vol. 70, pp. 118-120, 1966.
- [258] S. R. Harder, B. A. Feinberg y S. W. Ragsdale, «A spectroelectrochemical cell designed for low temperature electron paramagnetic resonance titration of oxygen-sensitive proteins.», *Analytical Biochemistry*, vol. 181, pp. 283-287, 1989.
- [259] R. N. Bagchi, A. M. Bond y F. Scholz, «ESR-electrochemical cells and their performance in studies of redox processes.», *Electroanalysis*, vol. 1, pp. 1-11, 1989.
- [260] I. B. Goldberg y A. J. Bard, «Simultaneous electrochemical-electron spin resonance measurements. I. Cell design and preliminary results.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 75, pp. 3281-3290, 1971.
- [261] I. B. Goldberg y A. J. Bard, «Simultaneous electrochemical-electron spin resonance measurements II: Kinetic measurements using constant current pulse.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 78, pp. 290-294, 1974.



- [262] R. D. Allendoerfer, G. A. Martinchek y S. Bruckenstein, «Simultaneous electrochemical-electron spin resonance measurements with a coaxial microwave cavity.», *Analytical Chemistry*, vol. 47, pp. 890-894, 1975.
- [263] M. Enache, C. Bendic y E. Volanschi, «Spectroelectrochemistry of the redox activation of anti-cancer drug mitoxantrone.», *Bioelectrochemistry*, vol. 72, pp. 10-20, 2006.
- [264] Y.-T. Long, Z.-H. Yu y H.-Y. Chen, «Determination of coenzyme Q₁₀ by in situ EPR spectroelectrochemistry.», *Electrochemistry Communications*, vol. 1, pp. 194-196, 1999.
- [265] G. T. Hinckley y P. A. Frey, «An adaptable spectroelectrochemical titrator: the midpoint reduction potential of the iron-sulfur center in lysine 2,3-aminomutase.», *Analytical Biochemistry*, vol. 349, pp. 103-111, 2006.
- [266] K. Jackowska, A. Kudelski y J. Bukowska, «Spectroelectrochemical and EPR determination of the number of electrons transferred in redox processes in electroactive polymers. Polyindole films.», *Electrochimica Acta*, vol. 39, pp. 1365-1368, 1994.
- [267] A. J. Bard, *Integrated chemical systems.*, New York: Wiley, 1994.
- [268] J. Tarábek, L. Kavan, M. Kalbàc, P. Raptá, M. Zúkalová y L. Dunsch, «In situ EPR spectroelectrochemistry of single-walled carbon nanotubes and C₆₀ fullerene peapods.», *Carbon*, vol. 44, pp. 2147-2154, 2006.
- [269] R. Petrucci, P. Astolfi, L. Greci, O. Firuzi, L. Saso y G. Marrosu, «A spectroelectrochemical and chemical study on oxidation of hydroxycinnamic acids in aprotic medium.», *Electrochimica Acta*, vol. 52, pp. 2461-2470, 2007.
- [270] E. G. Janzen, «Spin trapping.», *Accounts of Chemical Research*, vol. 4, pp. 31-40, 1971.
- [271] A. J. Bard, J. C. Gilbert y R. D. Goodin, «Application of spin trapping to the detection of radical intermediates in electrochemical transformations.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 96, pp. 620-621, 1974.
- [272] C. P. Poole y H. A. Farach, *Teoría de la resonancia magnética.*, Barcelona: Reverté, 1976.
- [273] A. Carrington y A. D. McLachlan, *Introduction to magnetic resonance with applications to chemistry and chemical physics.*, Londres: Chapman and Hall, 1979.
- [274] K. A. McLauchlan, *Magnetic resonance.*, Oxford: Clarendon Press, 1972.
- [275] C. P. Slichter, *Principles of magnetic resonance.*, Berlin: Springer-Verlag, 1989.
- [276] T. Claridge, *High-resolution NMR techniques in organic chemistry.*, Amsterdam:



Elsevier, 1999.

- [277] E. Kleinpeter, S. Klod y W. Rudorf, «Electronic state of push-pull alkenes: An experimental dynamic NMR and theoretical ab initio MO study.», *Journal of Organic Chemistry*, vol. 69, pp. 4317-4329, 2004.
- [278] S. Klod, F. Ziegls y L. Dunsch, «In situ NMR spectroelectrochemistry of higher sensitivity by large scale electrodes.», *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 10262-10267, 2009.
- [279] K. Albert, E. L. Dreher, H. Straub y A. Rieker, «Monitoring electrochemical reactions by ^{13}C NMR spectroscopy.», *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol. 25, pp. 919-922, 1987.
- [280] K. Chan y A. Wieckowski, «Probing adsorbates on Pt electrode surfaces by the use of ^{13}C spin-echo NMR studies of CO generated from methanol electrosorption.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 137, pp. 367-368, 1990.
- [281] M. S. Yahnke, B. M. Rush, J. A. Reimer y E. J. Cairns, «Quantitative solid-state NMR spectra of CO adsorbed from aqueous solution onto a commercial electrode.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 118, pp. 12250-12251, 1996.
- [282] J. B. Day, P. A. Vuissoz, E. Oldfield, A. Wieckowski y P. A. J., «Nuclear magnetic resonance spectroscopic study of the electrochemical oxidation product of methanol on platinum black.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 118, pp. 13046-13050, 1996.
- [283] Y. Y. Tong, C. Belrose, A. Wieckowski y E. Oldfield, «First observation of platinum- ^{195}Pt nuclear magnetic resonance in commercial graphite-supported platinum electrodes in an electrochemical environment.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 119, pp. 11709-11710, 1997.
- [284] D. W. Mincey, M. J. Popovich, P. J. Faustino, M. M. Hurst y J. A. Caruso, «Monitoring of electrochemical reactions by nuclear magnetic resonance spectrometry.», *Analytical Chemistry*, vol. 62, nº 11, pp. 1197-1200, 1990.
- [285] R. D. Webster, «In situ electrochemical-NMR spectroscopy. Reduction of aromatic halides.», *Analytical Chemistry*, vol. 76, nº 6, pp. 1603-1610, 2004.
- [286] M. E. Sandifer, M. Zhao, S. Kim y D. A. Scherson, «In situ nuclear magnetic resonance of paramagnetic susceptibilities of electrogenerated species.», *Analytical Chemistry*, vol. 65, nº 15, pp. 2093-2095, 1993.
- [287] X. Zhang y J. W. Zwanziger, «Design and applications of an in situ electrochemical NMR cell.», *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 208, pp. 136-147, 2011.
- [288] U. Bussy, P. Giraudeau, V. Silvestre, T. Jaunet-Lahary, V. Ferchaud-Roucher, M. Krempf, S. Akoka, I. Tea y M. Boujtita, «In situ NMR spectroelectrochemistry for the



- structure elucidation of unstable intermediate metabolites.», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, pp. 5817-5824, 2013.
- [289] S. Klod y L. Dunsch, «A combination of in situ ESR and in situ NMR spectroelectrochemistry for mechanistic studies of electrode reactions: the case of p-benzoquinone.», *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol. 49, n° 11, pp. 725-729, 2011.
- [290] A. T. Bell y A. Pines, *NMR techniques in catalysis.*, New York: Marcel Dekker, 1994.
- [291] P. Jennings, A. C. Jones y A. R. Mount, «In situ spectroelectrochemical studies of the fluorescence of 5-substituted indole trimer films.», *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 2, pp. 1241-1248, 2000.
- [292] M. Dias, P. Hudhomme, E. Levillain, L. Perrin, Y. Sahin, F. X. Sauvage y C. Wartelle, «Electrochemistry coupled to fluorescence spectroscopy: a new versatile approach.», *Electrochemistry Communications*, vol. 6, pp. 325-330, 2004.
- [293] J. R. Kirchhoff, «Luminiscence spectroelectrochemistry.», *Current Separations*, vol. 16, pp. 11-14, 1997.
- [294] A. Yildiz, P. T. Kissinger y C. N. Reilley, «Evaluation of an improved thin-layer electrode.», *Analytical Chemistry*, vol. 40, n° 7, pp. 1018-1028, 1968.
- [295] M. J. Simone, W. R. Heineman y G. P. Kreishman, «Preliminary spectrofluorochemical studies indicate a possible conformational change in horse heart cytochrome c upon reduction.», *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 86, pp. 295-298, 1982.
- [296] C. W. McLeod y T. S. West, «Spectroelectrochemistry of morphine and related alkaloids and their investigation by fluorescence in a gold micromesh cell.», *Analyst*, vol. 107, pp. 1-11, 1982.
- [297] R. G. Compton, A. C. Fisher y R. G. Wellington, «A thin-layer electrode cell for fluorescence. Measurements on electrogenerated intermediates.», *Electroanalysis*, vol. 3, pp. 27-29, 2005.
- [298] M. J. Simone, W. R. Heineman y G. P. Kreishman, «Long optical path electrochemical cell for absorption or fluorescence spectrometers.», *Analytical Chemistry*, vol. 54, pp. 2382-2384, 1982.
- [299] Y. F. Lee y J. R. Kirchhoff, «Design and characterization of a spectroelectrochemistry cell for absorption and luminiscence measurements.», *Analytical Chemistry*, vol. 65, n° 23, pp. 3430-3434, 1993.
- [300] T. Kakiuchi y Y. Takasu, «Differential cyclic voltfluorometry and chronofluorometry of the transfer of fluorescent ions across the 1,2-dichloroethane-water interface.»,



Analytical Chemistry, vol. 66, pp. 1853-1859, 1994.

- [301] H. Nagatani, R. A. Iglesias, D. J. Fermín, P. F. Brevet y H. H. Girault, «Adsorption behaviour of charged zinc porphyrins at the water/1,2-dichloroethane interface studied by potential modulated fluorescence spectroscopy.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 104, pp. 6869-6876, 2000.
- [302] R. Stoodley y D. Bizzotto, «Epi-fluorescence microscopic characterization of potential-induced changes in a DOPC monolayer on a Hg drop.», *Analyst*, vol. 128, pp. 552-561, 2003.
- [303] R. G. Compton, J. Winkler, D. J. Riley y S. D. Bearpark, «Spectrofluorometric hydrodynamic voltammetry. Investigation of reactions at solid/liquid interfaces.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 98, pp. 6818-6825, 1994.
- [304] B. Liu, T. Ren, J.-R. Zhang, H.-Y. Chen, J.-J. Zhu y C. Burda, «Spectroelectrochemistry of hollow spherical CdSe quantum dots assemblies in water.», *Electrochemistry Communications*, vol. 9, pp. 551-557, 2007.
- [305] G. Ding, H. Zhou, J. Xu y X. Lu, «Electrofluorochromic detection of cyanide anions using a benzothiadiazole-containing conjugated copolymer.», *Chemical Communications*, vol. 50, pp. 655-657, 2014.
- [306] S. J. Toal, K. A. Jones, D. Madge y W. C. Trogler, «Luminiscent silole nanoparticles as chemoselective sensors for Cr(VI).», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 127, pp. 11661-11665, 2005.
- [307] C. Yun, J. You, J. Kim, J. Huh y E. Kim, «Photochromic fluorescence switching from diarylethenes and its applications.», *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, vol. 10, pp. 111-129, 2009.
- [308] P. Remón, M. Bälter, S. Li, J. Andréasson y U. Pischel, «An all-photonic molecule-based D flip-flop.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, pp. 20742-20745, 2011.
- [309] L. Zhu, W. Wu, M.-Q. Zhu, J. J. Han, J. K. Hurst y A. D. Li, «Reversibly photoswitchable dual-color fluorescent nanoparticles as new tools for live-cell imaging.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 129, pp. 3524-3526, 2007.
- [310] Y. Kim, Y. Kim, S. Kim y E. Kim, «Electrochromic diffraction from nanopatterned poly(3-hexylthiophene).», *ACS Nano*, vol. 4, pp. 5277-5284, 2010.
- [311] W. Chen, J.-J. Chen, R. Lu, C. Qian, W.-W. Li y H.-Q. Yu, «Redox reaction characteristics of riboflavin: A fluorescence spectroelectrochemical analysis and density functional theory calculation.», *Bioelectrochemistry*, vol. 98, pp. 103-108, 2014.
- [312] Y. Chi, J. Duan, Z. F. Zhao, H. Chen y G. Chen, «A study on the electrochemical and electrochemiluminiscent behaviour of homogentisic acid at carbon electrodes.»,



Electroanalysis, vol. 15, pp. 208-218, 2003.

- [313] C.-Z. Zhao, Y. Li, H. Du, H.-J. Xu y K. Jiao, «Analysis of vitamin k₃ by a fluorescent spectroelectrochemistry method.», *Chemical Research in Chinese Universities*, vol. 26, pp. 742-745, 2010.
- [314] N. Kaval, C. J. Seliskar y W. R. Heineman, «Spectroelectrochemical sensing based on multimode selectivity simultaneously achievable in a single device. 16.Sensing by fluorescence.», *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 6334-6340, 2003.
- [315] R. E. Gyurcsányi y E. Lindner, «Spectroelectrochemical microscopy: spatially resolved spectroelectrochemistry of carrier-based ion-selective membranes.», *Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 2132-2139, 2005.
- [316] T. Wang, J. Bai, X. Jiang y G. U. Nienhaus, «Cellular uptake of nanoparticles by membrane penetration: A study combining confocal microscopy with FTIR spectroelectrochemistry.», *ACS Nano*, vol. 6, pp. 1251-1259, 2012.
- [317] W. Liu, W. Huang, C.-H. Chen, M. Pink y D. Lee, «Charge injection and transport in metal-containing conducting polymers: Spectroelectrochemical mapping of redox activities.», *Chemistry of Materials*, vol. 24, pp. 3650-3658, 2012.
- [318] O. L. Gribkova, A. A. Nekrasov, V. F. Ivanov, V. I. Zolotarevsky y A. V. Vannikov, «Templating effect of polymeric sulfonic acids on electropolymerization of aniline.», *Electrochimica Acta*, vol. 122, pp. 150-158, 2014.
- [319] A. V. Rudnev, A. Kuzume, Y. Fu y T. Wandlowski, «CO oxidation on Pt(100): New insights based on combined voltammetric, microscopic and spectroscopic experiments.», *Electrochimica Acta*, vol. 133, pp. 132-145, 2014.
- [320] M. Lennartz, P. Broekmann, M. Arenz, C. Stuhlmann y K. Wandelt, «Sulfate adsorption on Cu(111) studied by in-situ IRRAS and STM: revealing the adsorption site and desorption behaviour.», *Surface Science*, vol. 442, pp. 215-222, 1999.
- [321] D. Izquierdo, A. Martínez, A. Heras, J. López-Palacios, V. Ruiz, R. Dryfe y A. Colina, «Spatial scanning spectroelectrochemistry. Study of the electrodeposition of Pd nanoparticles at the liquid/liquid interface.», *Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 5723-5730, 2012.
- [322] B. Ustamehmetoglu, F. Demir y E. Sezer, «Electrochemical copolymerization of benzothiophene with thiophene.», *Progress in Organic Coatings*, vol. 76, pp. 1515-1521, 2013.
- [323] C. Peureux y V. Jouikov, «Covalent grafting of silatranes to carbon interfaces.», *Chemistry European Journal*, vol. 20, pp. 9290-9294, 2014.
- [324] B. Ustamehmetoglu, «Synthesis and characterization of thiophene and thiazole



- containing polymers.», *Electrochimica Acta*, vol. 122, pp. 130-140, 2014.
- [325] X. Han y S. B. Mendes, «Optical impedance spectroscopy with single-mode electro-active-integrated optical waveguides.», *Analytical Chemistry*, vol. 86, pp. 1468-1477, 2014.
- [326] O. Díaz-Morales, T. Hersbach, D. Hettterscheid, J. Reek y M. Koper, «Electrochemical and spectroelectrochemical characterization of an iridium-based molecular catalyst for water splitting: turnover frequencies, stability, and electrolyte effects.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, pp. 10432-10439, 2014.
- [327] J. Schnaidt, M. Heinen, Z. Jusys y R. J. Behm, «Oxidation of the partly oxidized ethylene glycol oxidation products glycolaldehyde, glyoxal, glycolic acid, glyoxylic acid, and oxalic acid on Pt electrodes: A combined ATR-FTIRS and DEMS spectroelectrochemical study.», *Journal of Physical Chemistry*, vol. 117, pp. 12689-12701, 2013.
- [328] M. Kandaz, M. N. Yarasir y A. Koca, «Selective metal sensor phthalocyanines bearing non-peripheral functionalities: Synthesis, spectroscopy, electrochemistry and spectroelectrochemistry.», *Polyhedron*, vol. 28, pp. 257-262, 2009.
- [329] Y.-J. Chen, N. Deng, B. Hu, Y. Wang y J.-B. He, «Thin layer-based spectral and electrophoretic study of electro-oxidation of solid ellagic acid.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 118, pp. 2001-2008, 2014.
- [330] K. Ogle, A. Tomandl, N. Meddahi y M. Wolpers, «The alkaline stability of phosphate coatings I: ICP atomic emission spectroelectrochemistry.», *Corrosion Science*, vol. 46, pp. 979-995, 2004.
- [331] J. Swiatowska, P. Volovitch y K. Ogle, «The anodic dissolution of Mg in NaCl and Na₂SO₄ electrolytes by atomic emission spectroelectrochemistry.», *Corrosion Science*, vol. 52, pp. 2372-2378, 2011.
- [332] L. Jiang, M. Wolpers, P. Volovitch y K. Ogle, «An atomic emission spectroelectrochemical study of passive film formation and dissolution on galvanized steel treated with silicate conversion coatings.», *Surface & Coatings Technology*, vol. 206, pp. 3151-3157, 2012.
- [333] B. B. Berkes, S. Vesztergom y G. Inzelt, «Combination of nanogravimetry and visible spectroscopy: A tool for the better understanding of electrochemical processes.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 719, pp. 41-46, 2014.
- [334] S. Vogel y R. Holze, «Spectroelectrochemistry of intrinsically conducting aniline-thiophene copolymers.», *Electrochimica Acta*, vol. 50, pp. 1587-1595, 2005.
- [335] J. M. Pingarrón-Carrazón y P. Sánchez-Batanero, *Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones.*, Madrid: Síntesis, 2003.



- [336] P. Sánchez-Batanero, *Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones.*, Madrid: Alhambra, 1981.
- [337] D. A. Skoog, F. J. Holler y T. A. Nieman, *Principios de análisis instrumental.*, Madrid: McGraw Hill, 2001.
- [338] P. T. Kissinger y W. R. Heineman, *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry.*, New York: Marcel Dekker, 1996.
- [339] D. Harvey, *Modern analytical Chemistry.*, London: McGraw Hill, 2000.
- [340] Y. Holade, C. Morais, K. Servat, T. W. Napporn y K. B. Kokoh, «Toward the electrochemical valoration of glycerol: Fourier transform infrared spectroscopic and chromatographic studies.», *ACS Catalysis*, vol. 3, pp. 2403-2411, 2013.
- [341] M. D. Esclapez, M. I. Díez-García, V. Sáez, I. Tudela, J. M. Pérez, J. González-García y P. Bonete, «Spectroelectrochemical study of trichloroacetic acid reduction at copper electrodes in an aqueous sodium sulfate medium.», *Electrochimica Acta*, vol. 56, pp. 8138-8146, 2011.
- [342] X. Yang, J. Walpita, E. Mirzakulova, S. Oottikkal, C. M. Hadad y K. D. Glusac, «Mechanistic studies of electrode-assisted catalytic oxidation by flavinium and acridinium cations.», *ACS Catalysis*, vol. 4, pp. 2635-2644, 2014.
- [343] J. P. Diard, B. Le Gorrec y C. Montella, *Cinétique électrochimique.*, Paris: Herman, 1996.
- [344] J. Tarábek, P. Rapta, E. Jähne, D. Ferse, H.-J. Adler, M. Maumy y L. Dunsch, «Spectroelectrochemical and potentiometric studies of functionalised electroactive polymers.», *Electrochimica Acta*, vol. 50, pp. 1643-1651, 2005.
- [345] S. Chandra, H. Lang y D. Bahadur, «Polyaniline-iron oxide nanohybrid film as multi-functional label-free electrochemical and biomagnetic sensor for catechol.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 795, pp. 8-14, 2013.
- [346] M. Ak, H. Cetisli y L. Toppare, «Blend or copolymer? Spectroelectrochemical evidence of copolymerisation and blending of two electrochromic monomers.», *Colloid and Polymer Science*, vol. 291, pp. 767-772, 2013.
- [347] J. M. Brinsendine, A. C. Mutter, J. F. Cerda y R. L. Koder, «A three-dimensional printed cell for rapid, low-volume spectroelectrochemistry.», *Analytical Biochemistry*, vol. 439, pp. 1-3, 2013.
- [348] V. Reipa, «Direct spectroelectrochemical titration of glutathione.», *Bioelectrochemistry*, vol. 65, pp. 47-49, 2004.
- [349] S. Raashid, O. A. Chat, M. A. Rizvi, M. A. Bhat y B. Khan, «Pseudo-indicator behaviour of platinum electrode explores for the potentiometric estimation of non-redox



- systems.», *Talanta*, vol. 101, pp. 246-252, 2012.
- [350] Y. Arslanoglu, A. Koca y E. Hamuryudan, «The synthesis and electrochemical study of novel phthalocyanines substituted with a crown ether and alkyl chains.», *Dyes & Pigments*, vol. 88, pp. 135-142, 2011.
- [351] J. M. Pingarrón-Carrazón, A. Dominguez-Recio y L. M. Polo-Díez, «Electroanalytical study of sulphamerazine at a glassy-carbon electrode and its determination in pharmaceutical preparations by HPLC with amperometric detection.», *Talanta*, vol. 39, pp. 631-635, 1992.
- [352] G. Charlot, J. Badoz-Lambling y B. Trémillon, *Les réactions électrochimiques.*, Paris: Masson, 1963.
- [353] P. Rapta, A. Neudeck, A. Bartl y L. Dunsch, «Microstructured conducting polypyrrole electrodes.», *Electrochimica Acta*, vol. 44, pp. 3483-3489, 1999.
- [354] S. D. Uzun, N. A. Unlu, M. Sendur, F. E. Kanik, S. Timur y L. Toppare, «A novel promising biomolecule immobilization matrix: Synthesis of functional benzimidazole containing conducting polymer and its biosensor applications.», *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 112, pp. 74-80, 2013.
- [355] D. Daniel y I. Gutz, «Spectroelectrochemical determination of chlorpromazine hydrochloride by flow-injection analysis.», *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 37, pp. 281-286, 2005.
- [356] D. Daniel y I. Gutz, «Flow-injection spectroelectrochemical method for the determination of promethazine hydrochloride in pharmaceutical preparations.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 494, pp. 215-224, 2003.
- [357] V. Kolivoska, M. Gái, S. Lachmanová, M. Valásek, M. Hromadová y L. Pospíšil, «Spectroelectrochemical determination of the electron consumption.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 697, pp. 23-26, 2011.
- [358] R. A. Wilson, T. S. Pinyayev, N. Membreno y W. R. Heineman, «Rapid prototyped optically transparent thin-layer electrode holder for spectroelectrochemistry in bench-top spectrophotometers.», *Electroanalysis*, vol. 22, pp. 2162-2166, 2010.
- [359] S. C. Paulson y C. M. Elliot, «A fast-response, UV-visible optically transparent thin-layer cell for potential scan spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 1711-1716, 1996.
- [360] C. Díaz, E. Araya y M. A. Santa Ana, «Redox properties of 17-electron thiolate complexes of cyclopentadienyl iron (III).», *Polyhedron*, vol. 17, pp. 2226-2230, 1998.
- [361] J. Agrisuelas, C. Gabrielli, J. J. García-Jareño, D. Giménez-Romero, H. Perrot y F. Vicente, «Spectroelectrochemical identification of the active site for protons and anions insertions into poly-(azure A) thin polymer films.», *Journal of Physical*



Chemistry C, vol. 111, pp. 14230-14237, 2007.

- [362] J. Agrisuelas, C. Gabrielli, J. J. García-Jareño, H. Perrot y F. Vicente, «Kinetic and mechanistic aspects of a poly(o-toluidine)-modified gold electrode. 1. Simultaneous cyclic spectroelectrochemistry and electrogravimetry studies in H₂SO₄ solutions.», *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 15620-15629, 2012.
- [363] K. Ogle, J. Baeyens, J. Swiatowska y P. Volovitch, «Atomic emission spectroelectrochemistry applied to dealloying phenomena: The formation and dissolution of residual copper films on stainless steel.», *Electrochimica Acta*, vol. 54, pp. 5163-5170, 2009.
- [364] W. A. El-Said, T. H. Kim, Y. H. Chung y J. W. Choi, «Fabrication of new single cell chip to monitor intracellular and extracellular redox state based on spectroelectrochemical method.», *Biomaterials*, vol. 40, pp. 80-87, 2015.
- [365] V. Sáez, M. D. Esclapez, P. Bonete, J. González-García y J. M. Pérez, «Spectroelectrochemical study of perchloroethylene reduction at copper electrodes in neutral aqueous medium.», *Electrochimica Acta*, vol. 53, pp. 3210-3217, 2008.
- [366] J. Salbeck, «An electrochemical cell for simultaneous electrochemical and spectroelectrochemical measurements under semi-infinite diffusion conditions and thin-layer conditions.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 340, pp. 169-195, 1992.
- [367] B. Yao, F. Chen, H. Jiang, J. Zhang y X. Wan, «Isomer effect on the near-infrared electrochromism of anthraquinone imides.», *Electrochimica Acta*, vol. 166, pp. 73-81, 2015.
- [368] M. De Keersmaecker, M. Dowsett, R. Grayburn, D. Banerjee y A. Adriaens, «In situ spectroelectrochemical characterization of the electrochemical growth and breakdown of a lead dodecanoate coating on a lead substrate.», *Talanta*, vol. 132, pp. 760-768, 2015.
- [369] B. Gadgil, E. Dimitrieva, P. Damlin, T. Ääritalo y C. Kuarnström, «Redox reactions in a linear polyviologen derivative studied by in situ ESR/UV-vis-NIR spectroelectrochemistry.», *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 19, pp. 77-83, 2015.
- [370] M. Grucela-Zajac, M. Filapek, L. Skorka, K. Bijak, K. Smolarek, S. Mackowski y E. Schab-Balcerzak, «Photophysical, electrochemical and thermal properties of new (co)polyimides incorporating oxadiazole moieties.», *Synthetic Metals*, vol. 188, pp. 161-174, 2014.
- [371] Z. Wang, D. Liv y S. Dong, «In situ infrared spectroelectrochemical studies on adsorption and oxidation of nucleic acids at glassy carbon electrode.», *Bioelectrochemistry*, vol. 53, pp. 175-181, 2001.



- [372] D. Sakamaki, A. Ito, K. Furukawa, T. Kato y K. Tanaka, «Meta-para-linked octaaza [1₈]cyclophanes and their polycationic states.», *Journal of Organic Chemistry*, vol. 78, pp. 2947-2956, 2013.
- [373] J.-B. He, G.-H. Ma, J.-C. Chen, Y. Yao y Y. Wang, «Voltammetry and spectroelectrochemistry of solid indigo dispersed in carbon paste.», *Electrochimica Acta*, vol. 55, pp. 4845-4850, 2010.
- [374] S. E. Andria, C. J. Seliskar y W. R. Heineman, «Simultaneous detection of two analytes using a spectroelectrochemical sensor.», *Analytical Chemistry*, vol. 82, pp. 1720-1726, 2010.
- [375] G. Osteryoung y M. M. Schreiner, «Recent advances in pulse voltammetry.», *CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 19, pp. S1-S27, 1988.
- [376] D. Jagner y A. Graneli, «Potentiometric stripping analysis.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 83, pp. 19-26, 1976.
- [377] A. Graneli, D. Jagner y M. Josefson, «Microcomputer system for potentiometric stripping analysis.», *Analytical Chemistry*, vol. 52, pp. 2220-2223, 1980.
- [378] Z. Galus, *Fundamentals of electrochemical analysis.*, London: Ellis Horwood Ltd., 1994.
- [379] V. Pardo-Jiménez, C. Barrientos, K. Pérez-Cruz, P. A. Navarrete-Encina, C. Olea-Azar, L. J. Núñez-Vergara y J. A. Squella, «Synthesis and electrochemical oxidation of hybrid compounds: dihydropyridine-fused coumarins.», *Electrochimica Acta*, vol. 125, pp. 457-464, 2014.
- [380] T. Jarosz, P. Data, W. Domagała, W. Kuznik, K. Kotwica y M. Lapkowski, «Solubility controlled electropolymerisation and study of the impact of regioregularity on the spectroelectrochemical properties of thin films of poly(3-octylthiophenes).», *Electrochimica Acta*, vol. 122, pp. 66-71, 2014.
- [381] M. Velicky, K. Y. Tam y R. Dryfe, «Permeation of a fully ionized species across a polarized supported liquid membrane.», *Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 2541-2547, 2012.
- [382] D. M. DeLongchamp, M. Kastantin y P. T. Hammond, «High-contrast electrochromism from layer-by-layer polymer films.», *Chemistry of Materials*, vol. 15, pp. 1575-1586, 2003.
- [383] A. Koca, H. A. Dmcer, H. Çerlek, A. Gül y M. B. Koçak, «Spectroelectrochemical characterization and controlled potential chronocoulometric dematallation of tetra- and octa- substituted lead phthalocyanines.», *Electrochimica Acta*, vol. 52, pp. 1199-1205, 2006.



- [384] G. Velásquez, M. S. Ureta-Zañartu, C. López-Alarcón y A. Aspée, «Electrochemical and spectroscopic study of pyranine fluorescent probe: Role of intermediates in pyranine oxidation.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 2011, pp. 6661-6667, 2011.
- [385] N. A. Galiote y F. Huguenin, «Lithium ion diffusion into self-assembled films composed from WO_3 and polyallylamine.», *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 111, pp. 14911-14916, 2007.
- [386] J. M. Zook, J. Longmaier y E. Lindner, «Current-polarized ion-selective membranes: The influence of plasticizer and lipophilic background electrolyte on concentration profiles, resistance and voltage transients.», *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 136, pp. 410-418, 2009.
- [387] H. Durliat y M. Comtat, «Investigation of electron transfer between platinum and large biological molecules by thin-layer spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 54, pp. 856-861, 1982.
- [388] P. A. Flowers y S. A. Callender, «Variable path length transmittance cell for ultraviolet, visible, and infrared spectroscopy and spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 199-202, 1996.
- [389] W. R. Heineman, «Spectroelectrochemistry: The combination of optical and electrochemical techniques.», *Journal of Chemical Education*, vol. 60, pp. 305-307, 1983.
- [390] C. A. Goss, D. H. Charych y M. Majda, «Application of (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane as a molecular adhesive in the fabrication of vapor-deposited gold electrodes on glass substrates.», *Analytical Chemistry*, vol. 63, pp. 85-88, 1991.
- [391] S. D. Conklin, W. R. Heineman y C. J. Seliskar, «Spectroelectrochemical sensing based on multimode selectivity simultaneously achievable in a single device. 19. Preparation and characterization of films of quaternized poly(4-vinylpyridine)-silica.», *Electroanalysis*, vol. 19, pp. 523-529, 2007.
- [392] A. Jain, G. Gazzola, A. Panzera, M. Zanoni y E. Marsili, «Visible spectroelectrochemical characterization of *Geobacter sulfurreducens* biofilms on optically transparent indium tin oxide electrode.», *Electrochimica Acta*, vol. 56, pp. 10776-10785, 2011.
- [393] K. L. Chopra, S. Major y D. K. Pandya, «Transparent conductors - A status review.», *Thin Solid Films*, vol. 102, pp. 1-46, 1983.
- [394] G. J. Exarhos y X.-D. Zhou, «Discovery-based design of transparent conducting oxide films.», *Thin solid films*, vol. 515, pp. 7025-7052, 2007.
- [395] J. Stotter, J. Zak, Z. Behler, Y. Show y G. M. Swain, «Optical and electrochemical properties of optically transparent, boron-doped diamond thin films deposited on



- quartz.», *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 5924-5930, 2002.
- [396] M. Hupert, A. Muck, J. Wang, J. Stotter, Z. Cvackova, S. Haymond, Y. Show y G. M. Swain, «Conductive diamond thin-films in electrochemistry.», *Diamond and Related Materials*, vol. 12, pp. 1940-1949, 2003.
- [397] J. K. Zak, J. E. Butler y G. M. Swain, «Diamond optically transparent electrodes: Demonstration of concept with ferri/ferrocyanide and methyl viologen.», *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 908-914, 2001.
- [398] S. Haymond, J. K. Zak, Y. Show, J. E. Butler, G. T. Babcock y G. M. Swain, «Spectroelectrochemical responsiveness of a freestanding boron-doped diamond, optically transparent electrode towards ferrocene.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 500, pp. 137-144, 2003.
- [399] D. Fichou, *Handbook of oligo- and polythiophenes.*, Weinheim: Wiley-VCH, 1999.
- [400] J. Heinze, B. A. Frontana-Uribe y S. Ludwings, «Electrochemistry of conducting polymers - Persistent models and new concepts.», *Chemical Reviews*, vol. 110, pp. 4724-4771, 2010.
- [401] M. Krejčík, M. Danek y F. Hartl, «Simple construction of an infrared optically transparent thin-layer electrochemical cell: Applications to the redox reactions of ferrocene, $Mn_2(CO)_{10}$ and $Mn(CO)_3(3,5\text{-di-}t\text{-butyl-catecholate})^-$.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 317, pp. 179-187, 1991.
- [402] P. A. Flowers, M. A. Maynor y D. E. Owens, «Easily constructed spectroelectrochemical cell for batch and flow injection analyses.», *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 720-723, 2002.
- [403] M. L. Meyer, T. P. DeAngelis y W. R. Heineman, «Mercury-gold minigrid optically transparent thin-layer electrode.», *Analytical Chemistry*, vol. 49, pp. 602-606, 1977.
- [404] A. Neudeck, A. Petr y L. Dunsch, «The redox mechanism of polyaniline studied by simultaneous ESR-UV-vis spectroelectrochemistry.», *Synthetic Metals*, vol. 107, pp. 143-158, 1999.
- [405] Y. Zhu, G. Cheng y S. Dong, «Digital simulation in a thin layer spectroelectrochemical cell with minigrid platinum electrode by microregion approximation explicit finite difference method.», *Electroanalysis*, vol. 12, pp. 736-741, 2000.
- [406] X. Q. Lin y K. M. Kadish, «Vacuum-tight thin-layer spectroelectrochemical cell with a doublet platinum gauze working electrode.», *Analytical Chemistry*, vol. 57, pp. 1498-1501, 1985.
- [407] M. D. Porter, S. Dong, Y.-P. Gui y T. Kuwana, «Spectroelectrochemical cell with adjustable solution layer thickness.», *Analytical Chemistry*, vol. 56, pp. 2263-2265,



1984.

- [408] A. Babaei, P. A. Connor, J. McQuillan y S. Umaphy, «UV-visible spectroelectrochemistry of reduction products of anthraquinone in dimethylformamide solutions.», *Journal of Chemical Education*, vol. 74, pp. 1200-1204, 1997.
- [409] A. Neudeck y L. Dunsch, «Micro structured electrode materials in UV-vis spectroelectrochemical cells.», *Electrochimica Acta*, vol. 40, pp. 1427-1434, 1995.
- [410] Y. Wang, C. He, A. Brouzgou, Y. Liang, R. Fu, D. Wu, P. Tsiakaras y S. Song, «A facile soft-template synthesis of ordered mesoporous carbon/tungsten carbide composites with high surface area for methanol electrooxidation.», *Journal of Power Sources*, vol. 200, pp. 8-13, 2012.
- [411] L. Zhang, Y. Li, D.-W. Li, D. Karpuzov y Y.-T. Long, «Electrocatalytic oxidation of NADH on graphene oxide and reduced graphene oxide modified screen-printed electrode.», *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 6, pp. 819-829, 2011.
- [412] N. González-Diéguez, A. Colina, J. López-Palacios y A. Heras, «Spectroelectrochemistry at screen-printed electrodes: Determination of dopamine.», *Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 9146-9153, 2012.
- [413] T. M. Kenyhercz, T. P. DeAngelis, B. J. Norris, W. R. Heineman y H. B. Mark, «Thin layer spectroelectrochemical study of vitamin B₁₂ and related cobalamin compounds in aqueous media.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 98, pp. 2469-2477, 1976.
- [414] C. W. Anderson, H. B. Harsall y W. R. Heineman, «A small-volume thin-layer spectroelectrochemical cell for the study of biological components.», *Analytical Biochemistry*, vol. 93, pp. 366-372, 1979.
- [415] J. F. Cerda, C. X. Guzmán, H. Zhang, E. J. Amendola, J. D. Castorino, N. Millet, A. L. Fritz, D. N. Houchins y M. H. Roeder, «Spectroelectrochemical measurements of redox proteins by using a simple UV/visible cell.», *Electrochemistry Communications*, vol. 33, pp. 76-79, 2013.
- [416] J. L. Owens y G. Dryhurst, «Electrochemical oxidation of 5.6-diaminouracil, an investigation by thin-layer spectroelectrochemistry.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 80, pp. 171-180, 1977.
- [417] A. M. Nowicka, E. Zabost, M. Donten, Z. Mazerska y Z. Stojek, «Electrooxidation of dissolved dsDNA backed by in situ UV-vis spectroscopy.», *Bioelectrochemistry*, vol. 70, pp. 440-445, 2007.
- [418] J. Salbeck, «Spectroelectrochemical thin-layer cell for nonaqueous solvent systems.»,



Analytical Chemistry, vol. 65, pp. 2169-2173, 1993.

- [419] D. H. Jones y A. Scott-Hinman, «Determination of the visible spectra of electrode reaction products in strongly absorbing media by diffusion-controlled chronoabsorptometry.», *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 74, pp. 1403-1408, 1996.
- [420] F. R. Shu y G. S. Wilson, «Optical pathlength considerations in transmission spectroelectrochemical measurements.», *Analytical Chemistry*, vol. 48, pp. 1676-1679, 1976.
- [421] D. L. Langhus y G. S. Wilson, «Spectroelectrochemistry and cyclic voltammetry of the EE mechanism in a porphyrin diacid reduction.», *Analytical Chemistry*, vol. 51, pp. 1139-1144, 1979.
- [422] N. J. Simmons y M. D. Porter, «Long optical path length cell for thin-layer spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 2866-2869, 1997.
- [423] D. Daniel y G. R. Gutz, «Long-optical-path thin-layer spectroelectrochemical flow cell with inexpensive gold electrodes.», *Electroanalysis*, vol. 13, pp. 681-685, 2001.
- [424] P. G. Miney, M. V. Schiza y M. L. Myrick, «A new optically reflective thin layer electrode (ORTLE) window: gold on a thin porous alumina film used to observe the onset of water reduction.», *Electroanalysis*, vol. 16, pp. 113-119, 2004.
- [425] H. E. Toma y K. Araki, «Spectroelectrochemical characterization of organic and metal-organic compounds.», *Current Organic Chemistry*, vol. 6, pp. 21-34, 2002.
- [426] P. Shi y D. A. Scherson, «Diffusion boundary layer of a rotating disk electrode as a thin-layer spectroelectrochemical cell.», *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 2398-2400, 2004.
- [427] Y. Fang, D. Long y J. Ye, «Study of acetaminophen by parallel incident spectroelectrochemistry.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 342, pp. 13-21, 1997.
- [428] A. Martínez, A. Colina, R. Dryfe y V. Ruiz, «Spectroelectrochemistry at the liquid/liquid interface: Parallel beam UV-vis absorption.», *Electrochimica Acta*, vol. 54, pp. 5071-5076, 2009.
- [429] C. Ley, S. Z. Cekic, S. Kochius, K.-M. Mangold, U. Schwaneberg, J. Schrader y D. Holtmann, «An electrochemical microtiter plate for parallel spectroelectrochemical measurements.», *Electrochimica Acta*, vol. 89, pp. 98-105, 2013.
- [430] J. López-Palacios, Á. Colina, A. Heras, V. Ruiz y L. Fuente, «Bidimensional spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 2883-2889, 2001.
- [431] A. Heras, A. Colina, V. Ruiz y J. López-Palacios, «UV-visible spectroelectrochemical detection of side-reactions in the hexacyanoferrate(III)/(II) electrode process.»,



Electroanalysis, vol. 15, pp. 702-708, 2003.

- [432] N. Bistolas, A. Christenson, T. Ruzgas, C. Jung, F. W. Scheller y U. Wollenberg, «Spectroelectrochemistry of cytochrome P450cam.», *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 314, pp. 810-814, 2004.
- [433] T. Larsson, A. Lindgren y T. Ruzgas, «Spectroelectrochemical study of cellobiose dehydrogenase and diaphorase in a thiol-modified gold capillary in the absence of mediators.», *Bioelectrochemistry*, vol. 53, pp. 243-249, 2001.
- [434] S. Vogt, M. Schneider, H. Schäfer-Eberwein y G. Nöll, «Determination of the pH dependent redox potential of glucose oxidase by spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 86, pp. 7530-7535, 2014.
- [435] J. Garoz-Ruiz, D. Izquierdo, A. Colina, S. Palmero y A. Heras, «Optical fiber spectroelectrochemical device for detection of catechol at press-transferred single-walled carbon nanotubes electrodes.», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, pp. 3593-3602, 2013.
- [436] D. Aurbach, R. Turgeman, O. Chusid y Y. Gofer, «Spectroelectrochemical studies of magnesium deposition by in situ FTIR spectroscopy.», *Electrochemistry Communications*, vol. 3, pp. 252-261, 2001.
- [437] M. R. Mucalo y Q. Li, «In situ infrared spectroelectrochemical studies of the corrosion of a nickel electrode as a function of applied potential in cyanate, thiocyanate and selenocyanate solutions.», *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 269, pp. 370-380, 2004.
- [438] A. Bewick, K. Kunitatsu y B. S. Pons, «Infrared spectroscopy of the electrode-electrolyte interphase.», *Electrochimica Acta*, vol. 25, pp. 465-468, 1980.
- [439] P. A. Brooksby y W. R. Fawcett, «Determination of the electric field intensities in a mid-infrared spectroelectrochemical cell using attenuated total reflection spectroscopy with the Otto optical configuration.», *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 1155-1160, 2001.
- [440] P. B. Graham y D. J. Curran, «Characterization of a gold minigrad cell for Fourier transform infrared spectroelectrochemistry: Experimental vs digitally simulated response.», *Analytical Chemistry*, vol. 64, pp. 2688-2692, 1992.
- [441] W.-Y. Shih y J. Yang, «A new infrared spectroelectrochemical cell for the detection of species generated by platinum and screen-printed carbon electrodes.», *Electroanalysis*, vol. 18, pp. 267-274, 2006.
- [442] D. B. Parry, M. G. Samant, H. Seki, M. R. Philpott y K. Ashley, «In situ Fourier transform infrared spectroelectrochemical study of bisulfate and sulfate adsorption on gold, with and without the underpotential deposition of copper.», *Langmuir*, vol.



- 9, pp. 1878-1887, 1993.
- [443] S. Park, Y. Ye, A. Wieckowski y M. J. Weaver, «Infrared spectral comparison of electrochemical carbon monoxide adlayers formed by direct chemisorption and methanol dissociation on carbon-supported platinum nanoparticles.», *Langmuir*, vol. 18, pp. 3233-3240, 2002.
- [444] J. Niu y S. Dong, «An integrated calcium fluoride crystal IR thin-layer cell and its application to identification of electrochemical reduction product of bilirubin.», *Electrochimica Acta*, vol. 40, pp. 823-828, 1995.
- [445] P. A. Mosier-Boss, R. Newberry, S. Szpak y S. H. Lieberman, «Versatile, low-volume, thin-layer cell for in situ spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 3277-3282, 1996.
- [446] P. Liu, B. Jin y F. Cheng, «A low temperature in situ infrared reflected absorbance spectroelectrochemical (LT IRRAS) cell.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 603, pp. 269-274, 2007.
- [447] J. D. Roth y M. J. Weaver, «Potential-difference surface infrared spectroscopy under forced hydrodynamic flow conditions: Control and elimination of adsorbate solution-phase interferences.», *Analytical Chemistry*, vol. 63, pp. 1603-1606, 1991.
- [448] R. J. Nichols y A. Bewick, «SNIFTIRS with a flow cell: the identification of the reaction intermediates in methanol oxidation at Pt anodes.», *Electrochimica Acta*, vol. 33, pp. 1691-1694, 1988.
- [449] J. D. Roth y M. J. Weaver, «The electrooxidation of carbon monoxide on platinum as examined by surface infrared spectroscopy under forced hydrodynamic conditions.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 307, pp. 119-137, 1991.
- [450] J. O. Bockris y B. Yang, «A thin-layer flow cell for in-situ infrared reflection-absorption spectroscopic measurements of the electrode/electrolyte interphase.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 252, pp. 209-214, 1988.
- [451] G. Sundholm y P. Talonen, «Modelling of a spectroelectrochemical cell with radial liquid flow for in situ external reflection IR measurements.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 377, pp. 91-99, 1994.
- [452] H. Visser, A. E. Curtright, J. K. McCusker y K. Sauer, «Attenuated total reflection design for in situ FT-IR spectroelectrochemical studies.», *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 4374-4378, 2001.
- [453] C. M. Burba y R. Frech, «In situ transmission FTIR spectroelectrochemistry: A new technique for studying lithium batteries.», *Electrochimica Acta*, vol. 52, pp. 780-785, 2006.



- [454] P. A. Flowers y G. Mamantov, «Thin-layer transmittance cell for infrared spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 61, pp. 190-192, 1989.
- [455] W. E. Geiger, «Deducing structures of 19-electron complexes from studies of metal polyolefin radicals.», *Accounts of Chemical Research*, vol. 28, pp. 351-357, 1995.
- [456] M. J. Shaw y W. E. Geiger, «A new approach to infrared spectroelectrochemistry using a fiber-optic probe: Application to organometallic redox chemistry.», *Organometallics*, vol. 15, pp. 13-15, 1996.
- [457] M. J. Shaw, R. L. Henson, S. E. Houk, J. W. Westhoff, M. W. Jones y G. B. Richter-Addo, «Fiber-optic infrared reflectance spectroelectrochemistry: isomerization of a manganese pyranil complex.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 534, pp. 47-53, 2002.
- [458] A. R. Hind, S. K. Bhargava y A. McKinnon, «At the solid/liquid interface: FTIR/ATR - the tool of choice.», *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 93, pp. 91-114, 2001.
- [459] B. K. Purushothaman, M. Pelsozy, P. W. Morrison Jr., V. F. Lvovich y H. B. Martin, «In situ infrared attenuated total reflectance spectroelectrochemical study of lubricant degradation.», *Journal of Applied Electrochemistry*, vol. 42, pp. 111-120, 2012.
- [460] H. Neugebauer, C. Kvarnström, A. Cravino, T. Yohannes y N. S. Sariciftci, «Photoexcited spectroscopy and in situ electrochemical spectroscopy in conjugated polymers: a comparative study.», *Synthetic Metals*, vol. 116, pp. 115-121, 2001.
- [461] H. B. Martin y P. W. Morrison Jr., «Application of a diamond thin film as a transparent electrode for in situ infrared spectroelectrochemistry.», *Electrochemical and Solid State Letters*, vol. 4, pp. E17-E20, 2001.
- [462] P.-Y. Chen, D.-J. Chien y G.-G. Huang, «Spiral nanoporous gold electrode: A simple strategy for enhancing the attenuated-total-reflection infrared spectroelectrochemical sensitivity.», *Electrochimica Acta*, vol. 114, pp. 309-317, 2013.
- [463] J.-S. Yu, C. Yang y H.-Q. Fang, «Variable thickness thin-layer cell for electrochemistry and in situ UV-vis absorption, luminiscence and surface-enhanced Raman spectroelectrochemistry.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 420, pp. 45-55, 2000.
- [464] L. Zhang, V. Liao y Z. Yu, «Raman spectroelectrochemistry of a single-wall carbon nanotube bundle.», *Carbon*, vol. 48, pp. 2582-2589, 2010.
- [465] A. J. McQuilliant y R. E. Hester, «Raman spectral studies at rotating pyrolytic graphite electrodes.», *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 15, pp. 15-19, 1984.
- [466] J. L. Anderson y J. R. Kincaid, «Coupled resonance Raman, visible absorption and electrochemistry - Applications of a novel circulating cell to multispectral and redox



- investigations of the heme proteins carboxyhemoglobin.», *Applied Spectroscopy*, vol. 32, pp. 356-362, 1978.
- [467] V. Gouveia, I. G. Gutz y J. C. Rubim, «A new spectroelectrochemical cell for flow injection analysis and its application to the determination of Fe(II) down to the femtomol level by surface-enhanced resonance Raman scattering (SERRS).», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 371, pp. 37-42, 1994.
- [468] H.-Y. Chen y Y.-T. Long, «Study of biomolecules by combining electrochemistry with UV/Vis, IR and surface enhanced Raman scattering spectroscopy by a novel flow microcell.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 382, pp. 171-177, 1999.
- [469] H. Luo y M. J. Weaver, «A versatile surface Raman spectroelectrochemical flow cell: applications to chemisorbate kinetics.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 501, pp. 141-150, 2001.
- [470] B. Ren, X.-B. Lian, J.-F. Li, P.-P. Fang, Q.-P. Lai y Z.-Q. Tian, «Spectroelectrochemical flow cell with temperature control for investigation of electrocatalytic systems with surface-enhanced Raman spectroscopy.», *Faraday Discussions*, vol. 140, pp. 155-165, 2008.
- [471] G. Niaura, A. K. Gaigalas y V. L. Vilker, «Moving spectroelectrochemical cell for surface Raman spectroscopy.», *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 28, pp. 1009-1011, 1997.
- [472] A. Bonifacio, D. Millo, C. Gooijer, R. Boegschoten y G. Van der Zwan, «Linearly moving low-volume spectroelectrochemical cell for microliter-scale surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of heme proteins.», *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 1529-1531, 2004.
- [473] L. Kavan, P. Janda, M. Krause, F. Ziegls y L. Dunsch, «Rotating cell for in situ Raman spectroelectrochemical studies of photosensitive redox systems.», *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 2017-2021, 2009.
- [474] S. D. Schwab, R. L. McCreery y F. T. Gamble, «Normal and resonance Raman spectroelectrochemistry with fiber optic light collection.», *Analytical Chemistry*, vol. 58, pp. 2486-2492, 1986.
- [475] A. M. Robinson, S. G. Harroun, J. Bergman y C. L. Brosseau, «Portable electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy system for routine spectroelectrochemical analysis.», *Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 1760-1764, 2012.
- [476] M. Froment, *Passivity of Metals and Semiconductors.*, Amsterdam: Elsevier, 1983.
- [477] M. R. Antonio, L. Soderholm y I. Song, «Design of spectroelectrochemical cell for in situ X-ray absorption fine structure measurements of bulk solution species.», *Journal of Applied Electrochemistry*, vol. 27, pp. 784-792, 1997.



- [478] C. A. Melendres y A. N. Mansour, «X-ray absorption spectroelectrochemical cell for "in situ" studies of thin films.», *Electrochimica Acta*, vol. 43, pp. 631-634, 1998.
- [479] N. Farley, S. J. Gurman y A. R. Hillman, «Simple cell for in situ X-ray absorption spectroelectrochemistry.», *Electrochemistry Communications*, vol. 1, pp. 449-452, 1999.
- [480] D. A. Smith, R. C. Elder y W. R. Heineman, «Extended x-ray absorption fine structure thin-layer spectroelectrochemistry.», *Analytical Chemistry*, vol. 57, pp. 2361-2365, 1985.
- [481] H. D. Dewald, J. W. Watkins, R. C. Elder y W. R. Heineman, «Development of extended x-ray absorption fine structure spectroelectrochemistry and its application to structural studies of transition-metal ions in aqueous solution.», *Analytical Chemistry*, vol. 58, pp. 2968-2975, 1986.
- [482] M. P. Soriaga, *Electrochemical Surface Science.*, Washington DC: American Chemical Society, 1988.
- [483] M. G. Samant, G. L. Borges, J. G. Gordon II, O. R. Melroy y L. Blum, «In situ surface extended x-ray absorption fine structure spectroscopy of a lead monolayer at a silver(111) electrode/electrolyte interface.», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 109, pp. 5970-5974, 1987.
- [484] M. E. Kordesch y R. W. Hoffman, «Electrochemical cells for in situ EXAFS.», *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, vol. 222, pp. 347-350, 1984.
- [485] J. McBreen, W. E. O'Grady, K. I. Pandya, R. W. Hoffman y D. E. Sayers, «EXAFS study of the nickel oxide electrode.», *Langmuir*, vol. 3, pp. 428-433, 1987.
- [486] U. Schröder y F. Scholz, «Microscopic in situ diffuse reflectance spectroelectrochemistry of solid state electrochemical reactions of particles immobilized on electrodes.», *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 1, pp. 62-67, 1997.
- [487] S. Komorsky-Lovric, V. Mirceski, C. Kabbe y F. Scholz, «An in situ microscopic spectroelectrochemical study of a three-phase electrode where an ion transfer at the water/nitrobenzene interface is coupled to an electron transfer at the interface ITO/nitrobenzene.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 566, pp. 371-377, 2004.
- [488] N. Pantelic, S. E. Andria, W. R. Heineman y C. J. Seliskar, «Characterization of partially sulfonated polystyrene-block-poly(ethylene-ran-butylene)-block-polystyrene thin films for spectroelectrochemical sensing.», *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 6756-6764, 2009.
- [489] S. Chatterjee, A. S. Del Negro, M. K. Edwards y S. A. Bryan, «luminescence-based spectroelectrochemical sensor for $[\text{Tc}(\text{dpme})_3]^{2+/+}$ within a charge-selective



- polymer film.», *Analytical Chemistry*, vol. 83, pp. 1766-1772, 2011.
- [490] M. Serdechnova, P. Volovitch y K. Ogle, «Atomic emission spectroelectrochemistry study of the degradation mechanism of model high-temperature paint containing sacrificial aluminum particles.», *Surface & Coatings Technology*, vol. 206, pp. 2133-2139, 2012.
- [491] M. Trojanovic, *Flow Injection Analysis: Instrumentation and Applications.*, London: World Scientific, 2000.
- [492] L. T. Skeggs, «An automatic method for colorimetric analysis.», *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 28, pp. 311-322, 1957.
- [493] J. Ruzicka y E. H. Hansen, «Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 78, pp. 145-157, 1975.
- [494] J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis.*, New York: John Wiley & Sons, 1987.
- [495] O. Chailapakul, P. Ngamukot, A. Yoosamran, W. Siangproh y N. Wangfuengkanagul, «Recent electrochemical and optical sensors in flow-based analysis.», *Sensors*, vol. 6, pp. 1383-1410, 2006.
- [496] C. E. Lenehan, N. W. Barnett y S. W. Lewis, «Sequential injection analysis.», *Analyst*, vol. 127, pp. 997-1020, 2002.

CAPÍTULO 2

*Construcción, optimización y evaluación de la celda.
Demostración del concepto con el par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4+}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$*



1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Desde su introducción a mediados de los años 60 [1], las técnicas electroquímicas han sido muy utilizadas para estudiar procesos electroquímicos y otros fenómenos asociados, y se han convertido en una herramienta habitual para una gran cantidad de investigaciones [2]. Sin embargo, hasta la fecha, estos métodos han sido utilizados relativamente poco para aplicaciones con fines puramente analíticos [3].

El diseño y desarrollo de nuevos dispositivos sensores es un área en la que la investigación continúa produciendo resultados dirigidos a la obtención de métodos analíticos más sensibles y selectivos, con mayores rangos de aplicabilidad y menores interferencias en las medidas. Elegir la propiedad relacionada con la concentración que se usará para la obtención de las señales analíticas es crucial para mejorar los aspectos analíticos antes mencionados.

Es posible llevar a cabo la oxidación o reducción de un analito mediante el empleo de agentes químicos o mediante electrolisis en una celda electroquímica. En este último caso, la señal amperométrica puede usarse para la cuantificación del analito en cuestión. Sin embargo, esta estrategia puede presentar algunas



desventajas derivadas de la presencia de otros analitos interferentes que sufran transformaciones electroquímicas al mismo potencial que el analito de estudio. Otro método de detección muy común es la determinación espectrofotométrica de productos coloreados en disolución. La mayor desventaja de estos últimos es el riesgo de interferencias por otros analitos coloreados, que pueden variar en las diferentes muestras o formulaciones comerciales, y que pueden absorber en la longitud de onda seleccionada para el analito de interés.

Como puede verse, ninguno de estos métodos es totalmente satisfactorio. Sin embargo, la combinación de estas dos aproximaciones en una técnica espectroelectroquímica puede ser ventajosa para resolver el problema analítico, ya que ofrece una selectividad mejorada ofrecida por el control simultáneo de la longitud de onda y el potencial de electrolisis.

De esta forma, los interferentes espectroscópicos no suponen un problema si no son electroquímicamente activos en el potencial de electrolisis empleado, ya que lo que se mide es el cambio en la señal óptica. De la misma forma, los componentes de la muestra que son electroquímicamente activos a potenciales cercanos al potencial rédox del analito no interfieren en la medida si no absorben a la longitud de onda de interés, es decir, si no son también interferentes espectroscópicos.

Para eliminar interferencias de los compuestos que son tanto interferentes electroquímicos como espectroscópicos, sería necesario utilizar métodos de adquisición de datos y procedimientos de análisis más complejos, como la deconvolución o las medidas a diferentes longitudes de onda.

Los primeros ejemplos del uso de las técnicas espectroelectroquímicas para fines analíticos vinieron dados por los trabajos de West y Tyson [4], en la década de los 70. La primera publicación de West versaba sobre estudios preliminares para la determinación de metales electrogenerados en disolución mediante absorción atómica y espectrometría de fluorescencia. Posteriormente, Tyson y West publicaron demostraciones más específicas sobre el uso general de las técnicas espectroelectroquímicas para análisis de iones metálicos [5] y compuestos orgánicos [6].



Xie y Dong publicaron, al principio de la década de los 90, estudios teóricos y verificaciones experimentales sobre determinaciones espectroelectroquímicas de analitos involucrados en procesos electródicos reversibles [7], reacciones electródicas electrocatalíticas [8] y procesos de electrodeposición. El grupo de Yao publicó, también durante los 90, un estudio teórico y experimental sobre la determinación espectroelectroquímica de analitos reversibles [9], con ejemplos específicos de la determinación de trazas de hierro [10] y cobre [11].

Más recientemente, desde 1997 hasta la actualidad, Heineman y su grupo han publicado un extenso grupo de artículos detallando varias aplicaciones de un sensor espectroelectroquímico que emplea electrodos transparentes en técnicas de reflexión total atenuada. Desde la demostración del concepto [3], este grupo ha investigado diversos aspectos del sensor, como se describe en casi dos docenas de artículos científicos ([12] y sus referencias).

A pesar de que el uso de las técnicas espectroelectroquímicas está cada vez más extendido, tanto para el estudio de procesos electródicos como para fines analíticos, la instrumentación comercial de la que se dispone es aún muy escasa. Por esta razón, la combinación de aparatos electroquímicos y espectroscópicos se hace de diferente forma en cada laboratorio. La celda espectroelectroquímica es la interfase entre ambas técnicas y, a pesar de que existen varias celdas comerciales, hasta el momento no hay un modelo estándar que sea utilizado por la mayor parte de la comunidad científica.

El diseño y construcción de las celdas espectroelectroquímicas puede presentar distintos grados de sofisticación [13][14]. El diseño de estas celdas está limitado por los requerimientos del problema a resolver, de la técnica espectroscópica que se vaya a emplear, o de las características del espectrómetro. Parámetros tales como la orientación de la celda con respecto a la posición de la fuente de radiación y del detector, así como la transparencia de los electrodos, influyen en cómo se produzcan los cambios ópticos; es decir, si se producen por transmisión, refracción, reflexión o por dispersión de la luz. También es importante la disposición de los electrodos dentro de la celda con el fin de minimizar la caída óhmica y maximizar el contacto entre la disolución y el electrodo de trabajo.



Un factor importante es el tiempo de respuesta del sistema, sobre todo en los casos en los que los intermedios tengan periodos de vida cortos o sufran rápidas reacciones posteriores (procesos irreversibles). Las técnicas espectroscópicas, habitualmente, tienen tiempos de respuesta que van desde los 10 segundos hasta varios minutos. Estos tiempos son algo mayores que los que se emplean en técnicas electroquímicas de barrido como la voltamperometría cíclica. Frecuentemente, las reacciones marcadas como totalmente reversibles, siguiendo el criterio estándar de voltamperometría cíclica [15] se vuelven menos reversibles durante los largos periodos de tiempo necesarios en espectroelectroquímica, debido a las reacciones más lentas que pueden sufrir los productos electrogenerados. Sin embargo, el tiempo de electrolisis puede acortarse significativamente de varias formas: disminuyendo el volumen de la disolución de electrolito dentro de la celda, aumentando el tiempo o la superficie de contacto con el electrodo de trabajo, o usando una etapa previa de polarización mediante barridos lentos de potencial. Para comprobar la reversibilidad en espectroelectroquímica es necesario revertir el potencial para la regeneración del 100% de reactivo. Los pequeños volúmenes también minimizan las interferencias de fondo debidas al disolvente y al electrolito soporte.

La celda suele construirse de forma que sea posible colocarla en el portacubetas de un espectrómetro convencional o de fibra óptica. El electrodo de referencia y el contraelectrodo deben ser lo suficientemente pequeños como para situarse en el hueco creado para ellos, o bien pueden fijarse a la ventana no conductora de la celda.

También es frecuente eliminar el oxígeno mediante burbujeo de nitrógeno o argón a través de la disolución, en una etapa previa a la electrolisis, y mantener la atmósfera inerte mientras tiene lugar la reacción electródica.

Algunos dispositivos experimentales han incluido también el uso de soportes de teflón (PTFE) o polietileno (PE) en los que se incorporan las ventanas ópticas. Se han diseñado para reemplazar el portacubetas de los espectrómetros convencionales, introduciendo la posibilidad de controlar la temperatura mediante el flujo de nitrógeno a baja temperatura.



Los espectrómetros más modernos tienen una amplia gama de opciones para los portacubetas, incluyendo el control de la temperatura.

Las medidas en las regiones UV e IR se ven limitadas por la absorción de los componentes de las ventanas o de la disolución de electrolito. Por lo tanto, es necesario el empleo de materiales especiales como CaF_2 o disolventes deuterados para las medidas de IR.

Otros parámetros importantes que hay que considerar son el empleo de materiales inertes a las disoluciones de trabajo, la fácil manipulación de la celda, así como la facilidad de limpieza y llenado de la misma. También es importante que el diseño de la celda facilite la sustitución de los electrodos en caso del deterioro de los mismos o por requerimientos del problema analítico a resolver.

Como se ha podido comprobar con lo expuesto hasta el momento, el diseño de una celda espectroelectroquímica requiere establecer diferentes compromisos. Por ejemplo, un tiempo de respuesta corto requiere poco volumen de la disolución de analito. Sin embargo, un pequeño volumen de analito puede mostrar una absorbancia demasiado pequeña para su uso práctico, a menos que el diseño de la celda asegure la multiplicación de la respuesta óptica, aumentando la sensibilidad, por ejemplo, gracias al múltiple paso del haz de luz a través de la disolución.

Todas estas consideraciones a tener en cuenta hacen que el diseño de una celda espectroelectroquímica sea bastante complejo. Este hecho se acentúa aún más cuando se pretende diseñar una celda espectroelectroquímica de flujo. Por ello, la mayoría de las celdas descritas en la bibliografía están diseñadas para medidas en batch [16][17][18][19][20], y sólo existen unos pocos ejemplos de celdas diseñadas para medidas en flujo [21][22][23].

El objetivo de este capítulo es construir una celda espectroelectroquímica de flujo muy simple, con bajo coste económico y con posibilidad de adoptar múltiples configuraciones. La simplicidad y efectividad, pero, sobre todo, la versatilidad de este nuevo dispositivo, revela nuevas posibilidades para explorar las técnicas espectroelectroquímicas en aplicaciones analíticas. La celda puede usarse para experimentos de transmisión o reflexión con un gran camino óptico. Además, es



posible el uso de electrodos transparentes, electrodos planos pulidos o electrodos tubulares, incluyendo la combinación de dos de ellos en aplicaciones donde será necesario el uso de un bipotenciostato. Además, la celda puede colocarse directamente sobre el portacubetas de un espectrofotómetro convencional, sin necesidad de realizar grandes modificaciones en el mismo.

En este capítulo, se describe además el desarrollo de un método espectroelectroquímico de análisis por inyección en flujo para la determinación de ferricianuro potásico usando dos tipos de electrodos de trabajo en dos configuraciones distintas de la celda. Al igual que en otros ejemplos de la bibliografía [3][24], esta aplicación se emplea para la evaluación analítica del nuevo sensor en algunas de sus posibles configuraciones.

2. FABRICACIÓN DE LA CELDA

Se fabricó una primera versión de la celda, a la que se fueron haciendo sucesivas modificaciones para resolver los problemas operativos y técnicos que se fueron presentando, así como para aumentar sus posibilidades de uso. Una vez resueltos dichos problemas, se optimizó el diseño original construyendo un nuevo sensor.

Todos los diseños aquí presentados permiten el uso de la celda en muchas situaciones diferentes. Puede usarse como sensor espectroscópico simple, colocando dos ventanas ópticas en los huecos habilitados para este fin. También es posible su uso para detección electroquímica, usando la celda como electrolizador. Pero los usos más interesantes derivan de la combinación de estas aplicaciones más simples: es posible el uso de dos electrodos de trabajo para una determinación electroquímica dual, en la que uno de los electrodos actuará como electrolizador y el otro como indicador. Incluso, es posible combinar la detección electroquímica con la detección óptica.

Además, todos los diseños facilitan el uso de diferentes materiales y formas para el electrodo de trabajo. Es posible el uso de diferentes materiales para los electrodos transparentes, además del ITO, e incluso es posible el uso de electrodos planos no transparentes para determinaciones electroquímicas. Otra posibilidad es



el uso de electrodos planos pulidos como espejos, que pueden reflejar la luz que entra por la otra ventana óptica, lo que permitiría el uso de técnicas de reflectancia óptica.

También se pueden utilizar diferentes materiales para las agujas. Además del acero inoxidable, es posible el uso de Pt, Cu, Ag, etc. Una última opción es el posible uso de electrodos tridimensionales situados en el interior de la cámara de muestra, ó el empleo de electrodos serigrafiados, transparentes o no, en sustitución de las ventanas ópticas.

2.1. Diseño inicial

A partir de una barra cilíndrica de nylon y con ayuda de un torno, realizamos un prisma con las dimensiones de una cubeta espectrofotométrica macro estandarizada (45×12.5×12.5 mm), lo que permite su uso en la instrumentación comercial disponible en el laboratorio (Figura 1A).

En la parte inferior del prisma, se ha realizado un canal de 6 mm de diámetro que atraviesa la celda de forma horizontal. Este orificio servirá como cámara de muestra y será por donde pase el haz de luz proveniente del espectrofotómetro.

Para conseguir un camino óptico de 10 mm, se han rebajado las dos caras de la celda que limitan el canal. En los extremos del mismo, y aprovechando los huecos que quedan tras el rebaje, se han colocado las ventanas ópticas o los electrodos transparentes. En concreto, en un lado se ha colocado una ventana óptica de vidrio y en el otro una ventana de óxido de indio y estaño (ITO) soportando sobre PET, que actuará como electrodo de trabajo. Ambas ventanas, fijadas al cuerpo de la celda con sellador de silicona, tienen unas dimensiones de 10×10×1 mm.

El electrodo de ITO se construye cortando las piezas del tamaño deseado de una hoja de ITO soportado sobre PET adquirida en Aldrich (Código nº 639311). El material presenta una resistividad superficial de 35 Ω /sq. A dicha ventana se le realiza una pequeña pestaña en la parte superior para realizar el contacto eléctrico.

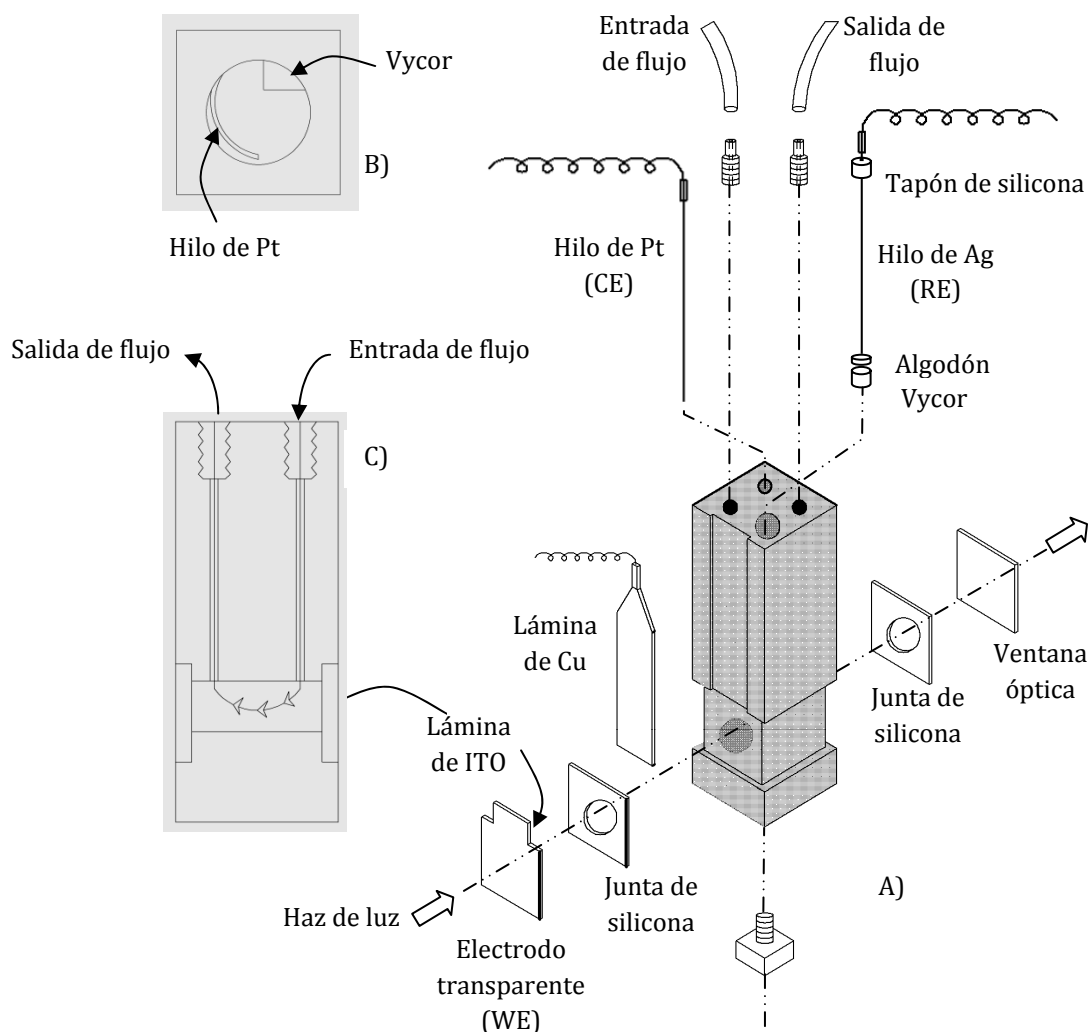


Figura 1. Esquema de la celda espectroelectroquímica. A) Despiece de la celda. B) Vista a través de la ventana óptica de la celda. C) Esquema de la situación del flujo a su paso por la celda.

Todos los contactos para los electrodos se han realizado en la base superior de la celda. Se han realizado dos canales que atraviesan el cuerpo de la celda de manera longitudinal, uno de 1 mm de diámetro, que contendrá el electrodo auxiliar, y otro de 3.5 mm para el electrodo de referencia. Ambos canales llegan hasta la cámara de muestra. El canal para el electrodo de referencia se ha situado cerca del electrodo de trabajo para minimizar la resistencia eléctrica no compensada a través de la disolución.



Como electrodo auxiliar, se emplea un hilo de Pt de 0.6 mm (Goodfellow, código n° PT005155), que se coloca dentro del canal correspondiente. Para aumentar al máximo la superficie electródica en contacto con la disolución, se dobla el final del hilo, una vez que éste se encuentra dentro de la cámara de muestra, acercando el mismo a las paredes de la celda para evitar que bloquee el paso de luz (Figura 1B).

Para fabricar el electrodo de referencia de Ag/AgCl, se coloca en el fondo del canal correspondiente una pieza de Vycor (BAS, código n° MF-2064) para crear el contacto líquido entre la disolución del electrodo y la de trabajo y, a continuación, se introduce un trozo de algodón. Seguidamente, se introduce un hilo de Ag previamente recubierto con AgCl mediante electrolisis, y se rellena el canal con disolución saturada de NaCl. Por último se cierra el canal colocando un tapón de silicona.

Tanto el hilo de Pt como el de Ag tienen soldados unos cables en la parte superior para realizar las conexiones con el potenciostato.

El contacto eléctrico del electrodo de trabajo se realiza en la cara de la celda donde se sitúa la ventana de ITO. Para ello, se realizó un canal donde se coloca una lámina de Cu que tiene soldado un cable en la parte superior, por donde se conectará al potenciostato. Para poner en contacto la lámina de Cu y la de ITO se emplea una pintura conductora hecha a base de polvo de grafito, que se añade entre la pestaña de la ventana de ITO y la lámina de cobre.

Para determinar la mejor proporción de componentes para la pintura conductora, se prueban diferentes composiciones y se mide la resistencia de la pintura usando el método de las cuatro puntas [25]. Además, se prueba a variar el número de capas para una misma composición. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en los diferentes experimentos, donde se concluye que la pintura que presenta una menor resistencia eléctrica y, por tanto, una mayor conductividad eléctrica, es la compuesta por 2 mL de esmalte de uñas y 2 mL de acetona por cada 4 mL de polvo de grafito. El mejor resultado se obtiene para dos capas de dicha pintura.



Tabla 1. Diferentes experiencias para determinar la composición óptima de la pintura conductora.

Esmalte (mL)	Acetona (mL)	Grafito (mL)	Nº capas	Resistencia (Ω)
1	2	3	3	8.3
2	2	3	1	9.6
2	2	3	2	8.7
2	2	4	1	8.2
2	2	4	2	4.8

En la base superior de la celda se realizan dos canales adicionales de 1.5 mm de diámetro para la entrada y salida de la disolución de trabajo. Inicialmente, se probó a introducir directamente los tubos de teflón en dichos canales ejerciendo un poco de presión. Sin embargo, con esta configuración era muy frecuente la aparición de fugas, por lo que, hubo que cambiar de estrategia.

Finalmente, se fabricaron dos terminales roscados (M3) de plástico que se colocaron en la base superior de ambos canales. Estas piezas, que consisten en unos cilindros roscados de 1.25 mm de diámetro con un canal interior de 0.75 mm de diámetro por donde pasa el fluido, se introducen en la parte superior de los canales, previamente procesados para el perfecto ajuste de los mismos. Como puede observarse en la Figura 2, dichos terminales tienen un estrechamiento en la parte superior para ajustar los tubos de teflón para la entrada y salida de fluido. Estos tubos se introducen ejerciendo un poco de presión y se adhieren a la pieza roscada usando pegamento líquido. De esta forma, se evitan las fugas.



Figura 2. Esquema de los terminales roscados que se fabricaron para evitar las fugas en los tubos de entrada y salida de fluido.



El canal para la entrada de fluido se sitúa cerca del electrodo de trabajo para maximizar el tiempo en que la especie electrogenerada se encuentra en el camino del haz de luz (Figura 1C).

En la base inferior del cuerpo de la celda se coloca un tornillo (M5) para regular la altura del paso de luz a través del detector, en función del espectrofotómetro empleado.

Por último, para prevenir fugas de líquido y para dar mayor rigidez estructural a la celda, se recubren con silicona las conexiones de los electrodos y los tubos de entrada y salida de fluido utilizando un molde.

2.2. Introducción de nuevos electrodos

Para mejorar la versatilidad de la celda y no limitar su aplicación sólo a electrodos transparentes, vamos a introducir un nuevo electrodo de trabajo (Figura 3). Para ello, se elimina la lámina de Cu y la ventana de ITO, y en su lugar, se coloca una nueva ventana de vidrio. Además, se elimina el hilo de Pt que actuaba como electrodo auxiliar y se sella el canal del mismo con silicona.

Seguidamente, se eliminan las piezas roscadas que sostenían los tubos de entrada y salida de fluido y se agrandan ambos canales en la parte superior hasta obtener un diámetro de 2.5 mm en una profundidad de 22 mm (Figura 4). En estos nuevos canales se colocan dos agujas de catéter (calibre 14G, diámetro externo de 1.57 mm) de acero inoxidable de 5 cm de longitud recubiertas de una funda de teflón termo retráctil para conseguir que la aguja se ajuste perfectamente al hueco del canal. En la parte superior de ambas agujas se sueldan unos cables para realizar el contacto con el potencióstato y se colocan los tubos de teflón para entrada y salida de fluido con unos manguitos de tygon.

La aguja colocada en el canal de entrada de flujo actuará como electrodo de trabajo, aumentando así el tiempo de residencia de la especie electrogenerada en la celda, mientras que la aguja colocada en el canal de salida actuará como



electrodo auxiliar evitando que los productos de la reacción en el contraelectrodo interfieran en el método analítico.

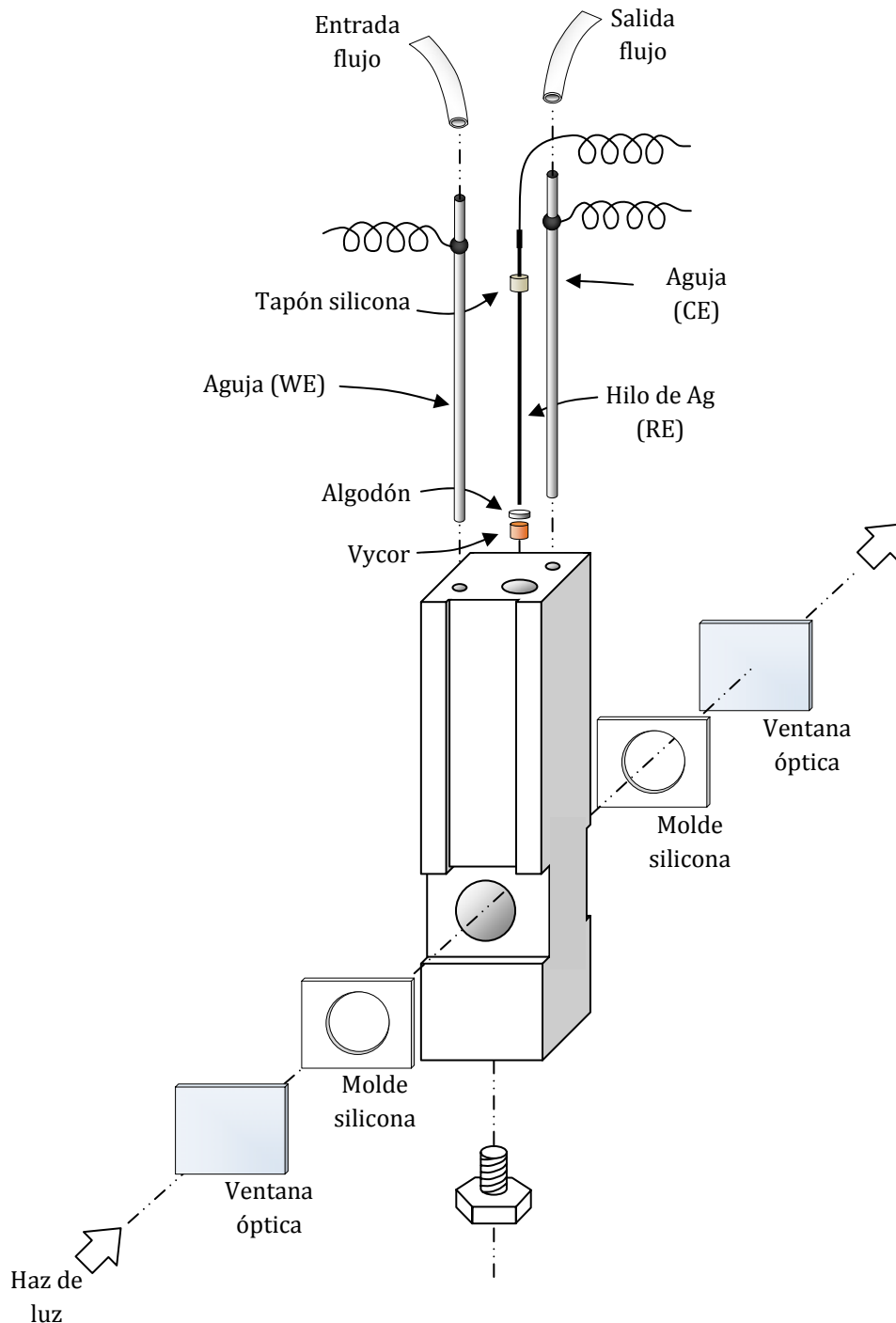


Figura 3. Esquema de la celda tras la introducción de las agujas de acero inoxidable.

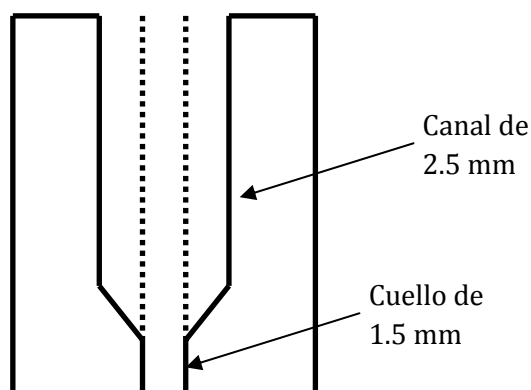


Figura 4. Corte transversal de la celda donde se muestran los cambios realizados en los canales para entrada y salida de flujo. La línea continua muestra el estado final del canal, mientras que la línea discontinua muestra cómo era antes de su procesado.

2.3. Diseño final optimizado

Tras dar solución a los diversos problemas que se han ido presentando durante el uso de la nueva celda espectroelectroquímica, se construye el modelo definitivo en PEEK, un material mucho más inerte que el nylon usado en la primera versión.

El cuerpo de la nueva celda consiste en un prisma totalmente rectangular, cuyas dimensiones son ahora de $35 \times 12 \times 10$ mm, al que se le han eliminado los huecos que contenían las ventanas ópticas. Estas nuevas dimensiones permiten prescindir del tornillo que regulaba la altura del paso de luz y eliminar los problemas derivados de la corrosión del mismo. Además, permite introducir una nueva modificación: se colocan ventanas ópticas de $35 \times 12 \times 1$ mm en lugar de las anteriores de $10 \times 10 \times 1$ mm (Figura 5). De esta forma, aumenta la superficie de adhesión entre las ventanas y el cuerpo de la celda, por lo que es más difícil que se produzcan fugas a través de las mismas por sobrepresión. En esta ocasión, se han colocado ventanas ópticas de cuarzo, lo que permite el uso de la celda para medidas en el rango UV. Este cambio podría haber sido introducido en cualquiera de las dos versiones anteriores, simplemente sustituyendo las ventanas de vidrio por unas de dicho material.

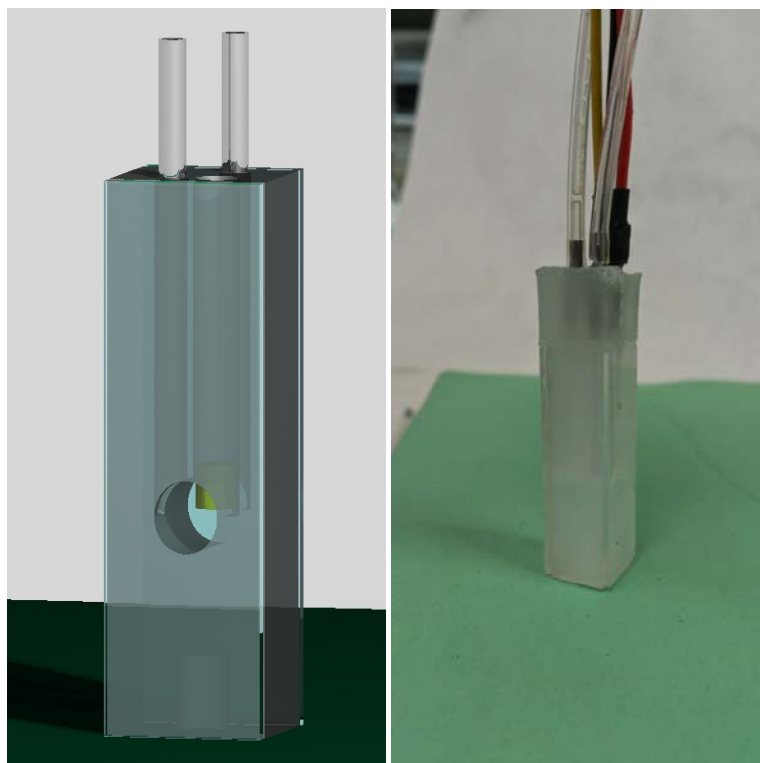


Figura 5. *Diseño final de la celda espectroelectroquímica de flujo. A la izquierda, esquema 3D del detector; y a la derecha, fotografía real de la celda.*

Lo que no ha cambiado en esta versión definitiva del detector es el sistema eléctrico, que sigue estando compuesto por dos agujas de acero inoxidable que actúan como electrodo auxiliar y electrodo de trabajo; y un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y disoluciones

Todas las disoluciones fueron preparadas usando agua de baja conductividad (18 M Ω /cm) purificada por un sistema Millipore Milli-Q a partir de agua destilada.

Todos los reactivos usados son de grado PA y se emplearon tal y como se recibieron del suministrador. Las disoluciones de trabajo se prepararon pesando la cantidad de reactivo necesaria y disolviéndolas en los diferentes búferes o en agua.



Como búferes para las pruebas de estabilidad del electrodo de trabajo, se emplearon los siguientes: búfer $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ a pH 9.7, búfer $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ a pH 7.0, búfer NaAc/HAc a pH 4.9 y búfer NaAc/HAc a pH 3.4 [26].

Todas las experiencias se realizaron a temperatura ambiente. Para evitar la oxidación de las disoluciones de ferrocianuro por el aire, éstas se preparaban diariamente y se mantenían en atmósfera inerte mediante burbujeo de N_2 .

3.2. Instrumentación

Los estudios de estabilidad del electrodo de ITO se realizaron en un estativo C3 para electrodos sólidos de BASi, usando una celda electroquímica convencional de 15 mL (BASi, MR-1208). Se empleó un electrodo de Ag/AgCl (BASi, MF-2079) como electrodo de referencia y un electrodo de punta de Pt como electrodo auxiliar. Como electrodo de trabajo se emplearon diferentes tiras de ITO de 7.5 cm de longitud y 5 mm de anchura.

Todas las medidas electroquímicas realizadas para el electrodo de ITO, incluidas las de los estudios previos de estabilidad, se realizaron usando un potenciostato de tres electrodos Epsilon EC (BASi, West Lafayette, IN), mientras que para las medidas electroquímicas del electrodo de acero inoxidable se utilizó un potenciostato de tres electrodos BAS 100B (BASi, West Lafayette, IN). Ambos potenciostatos estaban conectados a un ordenador para procesar los datos.

Los espectros de absorción se realizaron en un espectrofotómetro UV-visible de doble haz Varian Cary 1E (Aligent Inc., Santa Clara, CA) usando cubetas de cuarzo o la celda electroquímica que se evalúa. Además, en los experimentos para comprobar las diferencias existentes entre la detección mixta y la secuencial, se empleó una cubeta de flujo Hellma (176.000-QS).

Para el montaje FIA se empleó una bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 (Gilson Inc., Middleton, WI) acoplada a una válvula de seis vías Omnifit de inyección manual (Diba Industries Inc., Danbury, CT; Código nº 001106). Todos los tubos del



sistema de flujo, con un diámetro interno de 0.8 mm y fabricados en teflón, fueron adquiridos en Supelco (Sigma-Aldrich).

4. ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DEL ELECTRODO DE ITO

Antes de elegir el sistema químico que se va a utilizar para la calibración del nuevo sensor, es necesario conocer las limitaciones que presenta el electrodo de ITO. Para ello, se va a estudiar la influencia del pH en la respuesta electroquímica del mismo.

Para estudiar todo el rango de pH, se emplean diferentes búferes [26]: búfer $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ a pH 9.7, búfer $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ a pH 7.0, búfer NaAc/HAc a pH 4.9 y búfer NaAc/HAc a pH 3.4

Para ver la influencia del pH en la respuesta electroquímica del electrodo de ITO se cortan varias tiras de 7.5 cm de longitud y 5 mm de anchura, que actuarán como electrodos indicadores. A estas tiras de ITO, se le añaden dos capas de pintura conductora en la parte superior para mejorar el contacto eléctrico con el cable del potencióstato y se sumergen durante 3 días en los distintos búferes. Además, una de ellas se introduce en una disolución acuosa 0.1 M de NaCl y otra se reserva en seco, sin preacondicionar.

Pasado este tiempo, y tras lavarlas convenientemente con un chorro de agua, se utilizaron como electrodo de trabajo en experimentos de voltametría cíclica introduciéndolas en una celda electroquímica convencional de 15 mL que contenía una disolución acuosa 1 mM de ferrocianuro potásico y 0.1 M de NaCl.

Con cada electrodo de ITO se realizan barridos de potencial entre 1500 y -900 mV con una velocidad de barrido de 200 mV/s (Figura 6).

Según los resultados obtenidos, los electrodos que dan una mayor intensidad de corriente son los acondicionados en medios ligeramente ácidos y básicos. Sin embargo, se obtiene poca intensidad de corriente cuando el electrodo ha estado sumergido en disoluciones más ácidas o no ha sido acondicionado previamente.

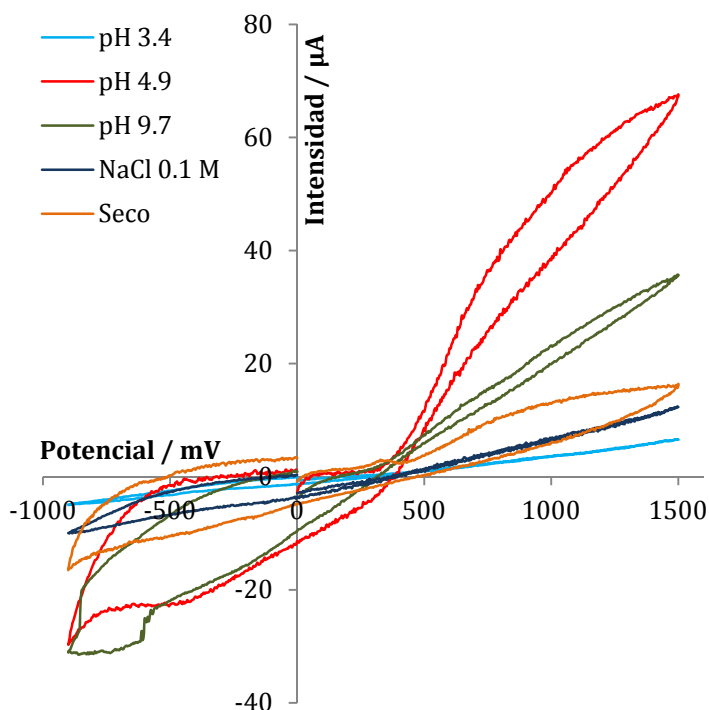


Figura 6. Voltagramas cíclicos de ferrocianuro potásico 1 mM en una disolución acuosa 0.1 M en NaCl. Los barridos se hicieron entre 1500 y -900 mV vs Ag/AgCl a 200 mV/s utilizando diferentes tiras de ITO, previamente acondicionadas en diversos medios, como electrodo de trabajo.

En la Figura 7 se muestra el detalle de la zona de los voltagramas donde aparece la onda debida a la oxidación del ferrocianuro potásico. De esto se puede deducir que la mejor condición para trabajar con electrodos de ITO es usar una tira recién cortada, sin preacondicionamiento.

A continuación, se estudia la influencia del pH cuando el electrodo está polarizado tanto a potencial positivo como negativo.

Para conocer la influencia de la polarización anódica a diferentes pH, se realizan experimentos de electrolisis a un potencial controlado de 1000 mV en cada una de las disoluciones de búfer anteriores. Para ello, se utiliza una celda electroquímica convencional con un sistema electródico formado por un electrodo de Pt como auxiliar, un electrodo de Ag/AgCl como referencia y una tira de ITO como electrodo de trabajo. El tiempo de electrolisis fue de 60 minutos.

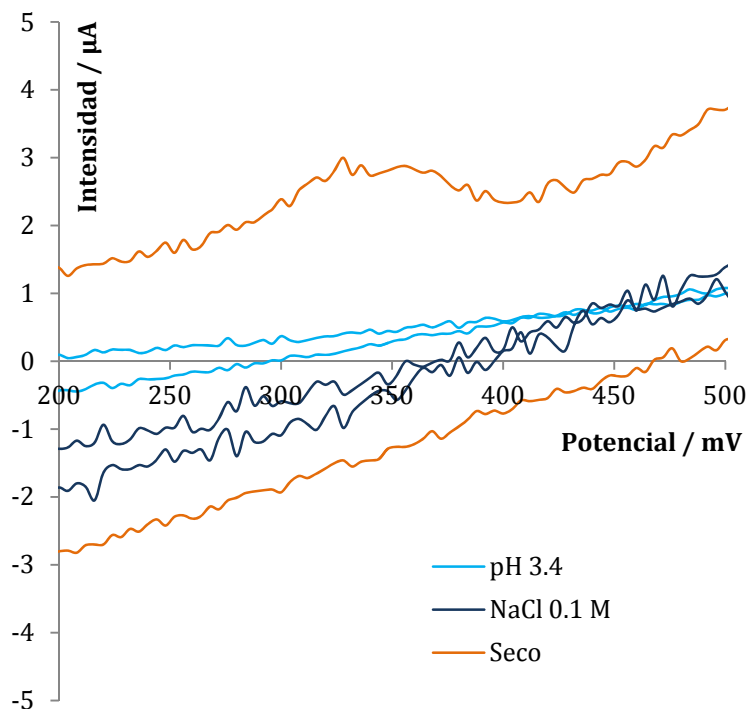


Figura 7. Detalle de los voltagramas de la Figura 6 en los que se observa la zona donde aparece la onda debida a la oxidación del ferrocianuro potásico.

Para conocer la influencia de la polarización catódica se realizó el mismo experimento pero aplicando un potencial de -1000 mV. Tanto a este potencial como a 1000 mV se produce la descarga del fondo.

Tras los 60 minutos de electrolisis aplicando un potencial alto de oxidación no se observó ningún cambio en la superficie del electrodo de ITO. Sin embargo, cuando se aplica un potencial de reducción se observa un oscurecimiento de la superficie electródica (Figura 8) tanto en medio básico como en medio ácido. Sin embargo, esta coloración no aparecía a pH 7.

El oscurecimiento de la superficie se debe principalmente a la reducción de los óxidos de Sn^{4+} e In^{3+} que forman la película conductora de ITO, hacia estados de oxidación más bajos, lo que provoca la destrucción del electrodo [27]. Para comprobar este hecho se midió la resistencia eléctrica de las tiras de ITO usando el método de las cuatro puntas [25]. Se observó que la tira sumergida en búfer a



pH 7.0 conserva la misma resistencia que la hoja de ITO comercial mientras que el resto de las tiras han aumentado su resistencia eléctrica.

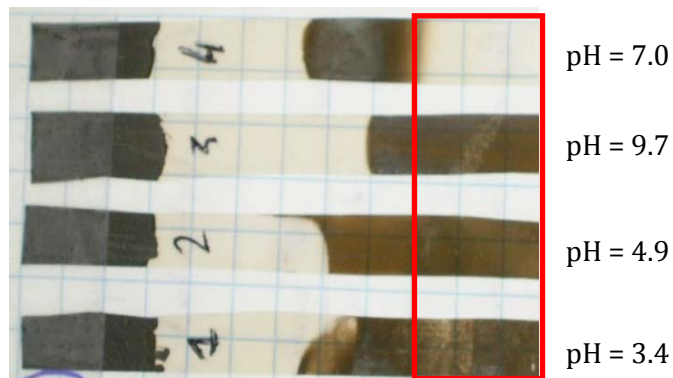


Figura 8. Fotografía del estado de los diferentes electrodos de ITO tras 60 minutos de electrolisis a un potencial constante de -1000 mV en diferentes pH. La tira 1 estuvo sumergida en buffer a pH 3.4, la tira 2 a pH 4.9, la tira 3 a pH 9.7 y la tira 4 a pH 7.0. En rojo se ha marcado la zona sumergida en la disolución durante el periodo de electrolisis.

A la vista de estos resultados, es posible concluir que sólo es posible emplear el electrodo de ITO en reacciones de oxidación, ya que es la única forma de mantener tanto su transparencia óptica como su conductividad eléctrica.

En resumen, es aconsejable emplear un electrodo de ITO previamente hidratado o, en cualquier caso, seco. Estos electrodos se emplearán para hacer oxidaciones en medio neutro o ligeramente ácidos o básicos.

Teniendo en cuenta las limitaciones del electrodo de trabajo, se eligió el par redox ferrocianuro/ferricianuro potásico para comprobar el correcto funcionamiento de la celda construida como detector espectroelectroquímico. Este sistema electroquímico de referencia se caracteriza por sufrir una transferencia monoeléctronica reversible, donde el $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ incoloro se transforma en $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, de color amarillo. De esta forma, sólo la especie oxidada del par redox puede ser detectada espectroscópicamente.

La principal ventaja de este sistema electroquímico es que permite utilizar agua como disolvente, además de electrolitos soporte convencionales como NaCl, lo que lo hace muy adecuado para la evaluación de la celda construida.



5. EVALUACIÓN DE LA CELDA

Se han evaluado tres de los múltiples usos de la nueva celda espectroelectroquímica. Ésta ha sido probada como detector espectroscópico, como detector electroquímico y como detector espectroelectroquímico. Además, para la evaluación electroquímica y espectroelectroquímica se han usado dos electrodos de trabajo diferentes.

En primer lugar, se ha usado una ventana de ITO soportado en PET, que se ha cortado de una lámina comercial. Este electrodo presenta una resistividad superficial de $35 \Omega/\text{sq}$ y un promedio de transmitancia óptica de en torno al 80% en el rango de longitudes de onda del visible [28] [29].

El ITO es un material electródico muy empleado en experimentos espectroelectroquímicos, gracias a las características ópticas y eléctricas de este material, que también lo hacen adecuado para su empleo en dispositivos fotovoltaicos. Además, actualmente, es posible obtener ITO soportado en diversos materiales y con diferentes características técnicas de forma comercial, y también es accesible económicamente hablando.

Las propiedades ópticas del electrodo de ITO soportado en PET son similares a las del ITO soportado sobre cristal que emplean otros autores [3][16][30], pero es más sencillo de cortar y adaptar a la forma y tamaño deseado y, además, es mucho más barato.

En segundo lugar, se ha usado una aguja de acero inoxidable quirúrgico, que actuará a la vez como electrodo de trabajo y como tubo para la entrada de fluido. Se ha seleccionado este material por su resistencia mecánica y química, además de por su facilidad para ser pulido o procesado. También, porque es más barato que otros metales nobles normalmente usados como electrodos.

Para las diferentes pruebas realizadas para la evaluación del nuevo sensor en sus distintas variantes se ha montado un dispositivo FIA como el que se muestra en la Figura 9. Se utiliza una disolución acuosa 0.1 M de NaCl como disolución portadora con un flujo de 3 mL/min. El volumen de inyección en todas las medidas fue de 1 mL.

Todos los datos obtenidos se realizan por quintuplicado, calculando la media y la desviación estándar relativa (RSD) en todos los casos.

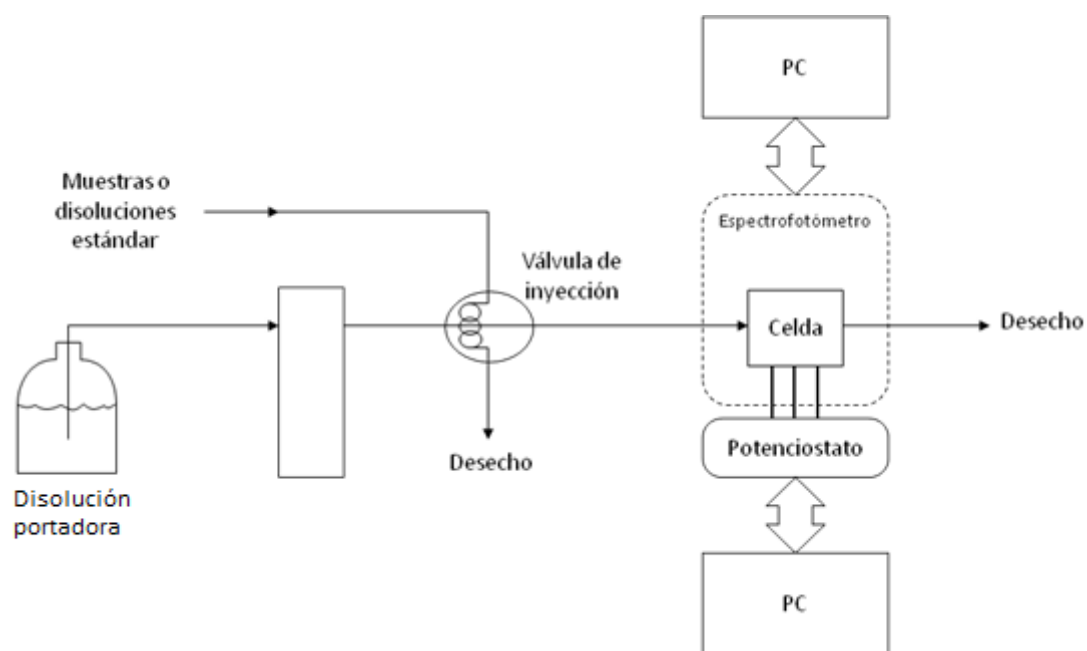


Figura 9. Diagrama del dispositivo FIA empleado para la evaluación de la nueva celda.

5.1. Evaluación espectroscópica

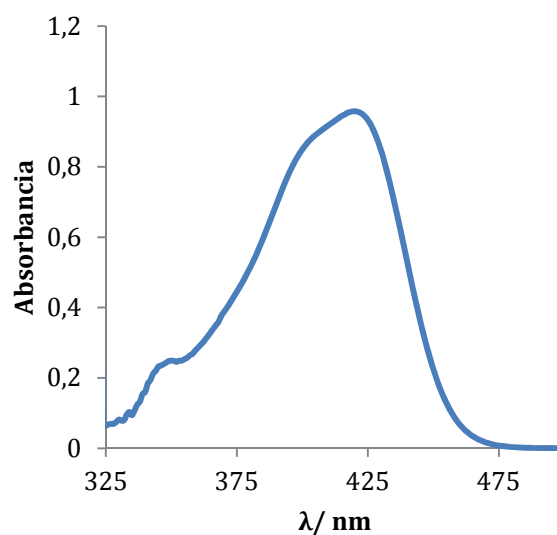


Figura 10. Espectro de absorción de una disolución acuosa 1 mM de ferricianuro potásico.



Para determinar la longitud de onda de absorción del ferricianuro, se realizan barridos entre 325 y 500 nm de una disolución acuosa 1 mM de ferricianuro potásico. Para estas medidas se utilizan cubetas de cuarzo. El espectro obtenido (Figura 10) muestra un máximo de absorción a 420 nm, que será la longitud de onda de trabajo.

Así, el sensor fue evaluado como detector óptico midiendo la absorbancia debida al $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ a 420 nm. Se observó una dependencia lineal de la absorbancia máxima del pico FIA con la concentración de ferricianuro inyectado en un rango comprendido entre 1×10^{-5} y 1×10^{-3} M (Figura 11).

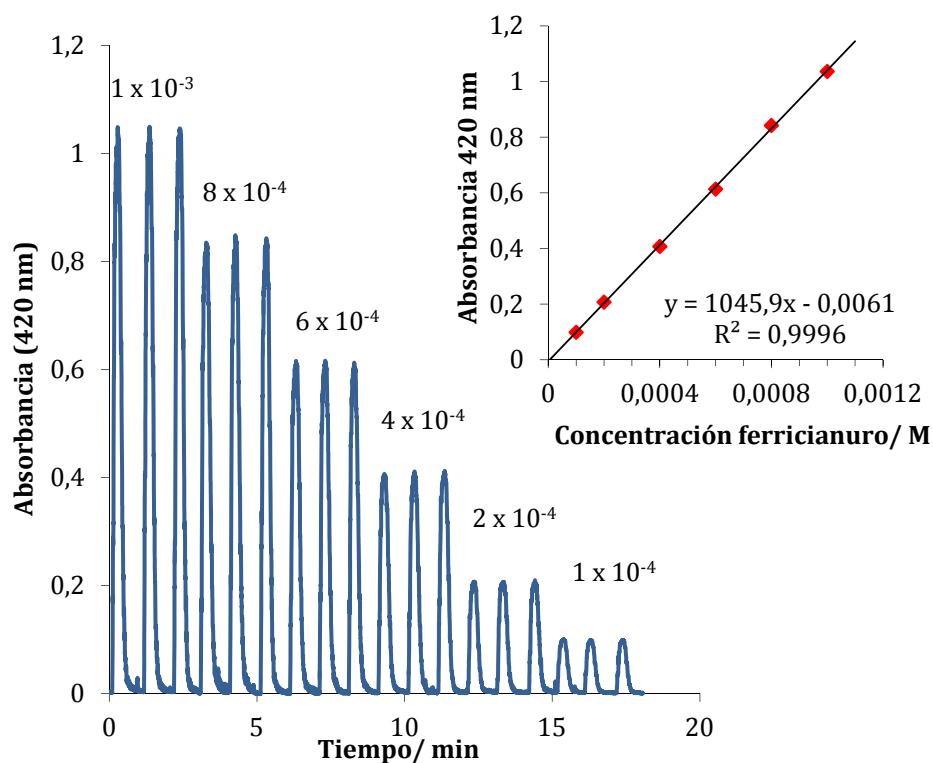


Figura 11. Respuesta espectroscópica del sistema FIA para inyecciones de 1 mL de ferricianuro potásico a diferentes concentraciones. INSERTO: Representación de la ley de Beer y respuesta lineal.

Se obtiene una buena reproducibilidad y una RSD prácticamente constante en todo el rango lineal de en torno al 1% para 10 medidas ($n=10$). El límite de detección (LOD), estimado como tres veces la desviación estándar de las medidas para la concentración más baja dividida por la pendiente ($3\sigma/\text{pendiente}$) [31] es



de 2.6×10^{-6} M. El límite de cuantificación (LOQ), definido como 10σ /pendiente, es de 8.6×10^{-6} M. Por último, el rendimiento analítico del sistema es de 60 picos/hora.

5.2. Evaluación electroquímica

Igual que para la evaluación espectroscópica era necesario conocer la longitud de onda del máximo de absorción del ferricianuro potásico, en este caso, es necesario conocer cuál es el potencial de oxidación del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ para cada uno de los electrodos evaluados.

Para determinar el potencial de oxidación del ferrocianuro en el electrodo de ITO, se realizan experimentos de voltametría de pulso diferencial mientras que una disolución acuosa 1 mM de ferrocianuro potásico y 0.1 M de NaCl circula a través de la celda con una velocidad de flujo de 3 mL/min. El voltagrama obtenido (Figura 12) muestra un máximo en torno a 400 mV. De acuerdo con este resultado, se elige un potencial de 420 mV, que se corresponde con el potencial para una altura del 80% del pico una vez que ha pasado el máximo. Seleccionando este potencial, nos aseguramos que el equilibrio del sistema va a estar desplazado hacia la reacción de oxidación del ferrocianuro.

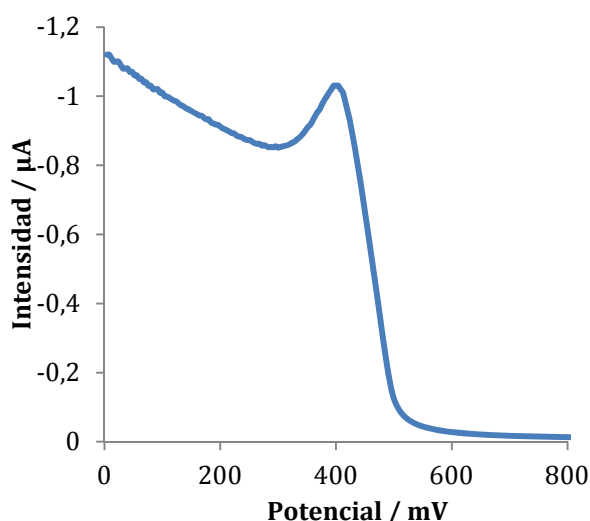


Figura 12. VPD hidrodinámico para una disolución de ferrocianuro potásico 1 mM y 0.1M en NaCl que circula a 3 mL/min sobre un electrodo de ITO.



Esta metodología, empleada para el electrodo de ITO, no es adecuada para el electrodo de acero inoxidable, ya que, debido a su geometría y a su gran superficie, se obtienen voltagramas deformados. En este caso, se construye un voltabsortograma como el que se muestra en la Figura 13 aplicando diferentes valores de potencial y midiendo la señal óptica obtenida por la inyección de 1 mL de una disolución 2 mM de ferrocianuro potásico y 0.1 M en NaCl.

El potencial óptimo se elige como un compromiso entre obtener la mayor señal óptica posible y prevenir la oxidación del electrolito soporte o el electrodo, lo que ocasionaría evolución de gases o altas corrientes de fondo. Este hecho se observa para potenciales superiores a 360 mV, por lo que se ha elegido 350 mV como el potencial de oxidación óptimo del ferrocianuro potásico en el electrodo de acero inoxidable.

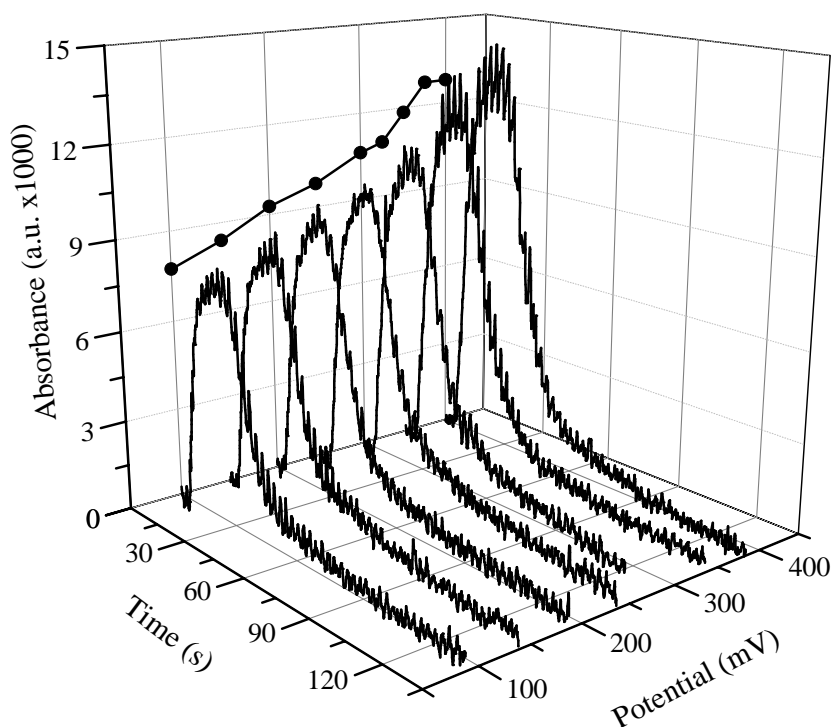


Figura 13. Respuesta espectroscópica a 420 nm del sistema FIA para inyecciones de 1 mL de ferricianuro potásico 2 mM en NaCl 0.1 M cuando el electrodo de acero inoxidable está polarizado a diferentes valores de potencial. Flujo de 3 mL/min.

Una vez determinados los potenciales de oxidación para ambos electrodos, se evaluó el nuevo sensor como detector electroquímico midiendo la corriente debida

a la oxidación del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ cuando se aplica un potencial constante de 350 mV en el caso del electrodo de acero inoxidable y de 420 mV para el electrodo de ITO.

Cabría esperar que los mejores resultados se obtuvieran para el caso del electrodo de acero inoxidable ya que presenta una mayor superficie electródica y el tiempo de contacto entre analito y electrodo es mayor; sin embargo, al igual que ocurría para los VPD, se obtienen señales amperométricas distorsionadas (Figura 14). Estas señales carecen de la forma característica de los picos cromatográficos por lo que son difíciles de procesar, ya que no es posible determinar la altura máxima del pico para correlacionarla con la concentración de analito inyectada.

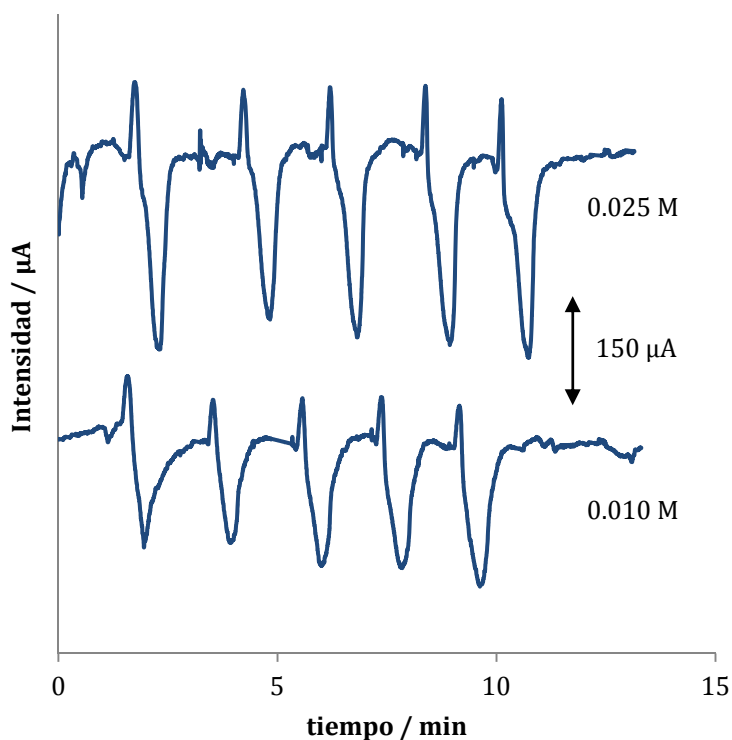


Figura 14. Respuesta amperométrica del sensor cuando se realizan inyecciones de 1 mL de disoluciones de ferrocianuro potásico a diferentes concentraciones, mientras que el electrodo de acero inoxidable se encuentra polarizado a 350 mV.

Para el electrodo de ITO, se obtiene una respuesta lineal del máximo del pico amperométrico con la concentración de ferrocianuro inyectada (Figura 15) para concentraciones entre 3×10^{-5} y 6×10^{-4} M, con una RSD constante en todo el rango lineal del 2.5% para 9 medidas ($n=9$). El LOD y el LOQ, definidos como en el apartado anterior, son 8.5×10^{-6} y 2.8×10^{-5} M, respectivamente.



En este punto, es importante resaltar que la respuesta electroquímica del electrodo de ITO depende de los detalles de construcción; algo que no es fácil de controlar. Algunos factores que influyen en la respuesta pueden ser la superficie electródica expuesta a la disolución, la resistencia eléctrica de la pintura de grafito, etc. Como consecuencia, pueden observarse variaciones de hasta el 50% en las medidas electroquímicas cuando se renueva el electrodo de ITO, por lo que se hace imprescindible la calibración electroquímica del sensor con disoluciones estandarizadas justo antes de cada determinación analítica.

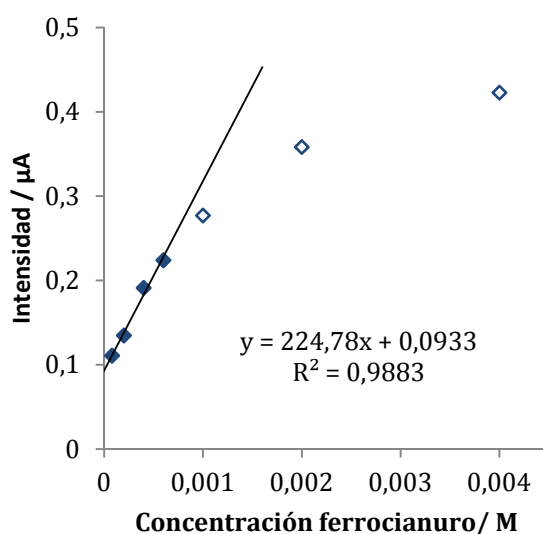


Figura 15. Respuesta amperométrica del sensor cuando se realizan inyecciones de 1 mL de disoluciones de ferrocianuro potásico con el electrodo de ITO polarizado a 420 mV. El valor de cada punto es el promedio de tres medidas.

5.3. Evaluación espectroelectroquímica

Finalmente, la celda ha sido evaluada como sensor espectroelectroquímico midiendo la absorbancia a 420 nm debida al $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ electrogenerado dentro de la celda por la oxidación del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ inyectado en el sistema FIA.

Para el electrodo de acero inoxidable se obtienen RSD superiores al 30% cuando mantenemos la polarización en 350 mV. Para obtener señales más reproducibles, se establece un programa de potenciales para acondicionar el electrodo antes de



cada inyección. De esta forma, se aplica un potencial inicial de -300 mV durante 20 s tras el encendido de la celda y mientras circula la disolución portadora de NaCl. Pasado ese tiempo, se aplica un potencial de 350 mV durante 280 s, en los que se llevan a cabo la inyección y la obtención de las señales analíticas correspondientes. Por último, la celda se apaga, y vuelve a comenzar el ciclo.

Trabajando con este programa de potencial, se obtiene una respuesta con dos tramos lineales (Figura 16), uno entre 4×10^{-5} y 4×10^{-4} M y otro entre 4×10^{-4} y 5×10^{-3} M. La RSD (n=5) para ambos tramos lineales es del 5.4%, mientras que el LOD y el LOQ, definidos como en apartados anteriores, son 3.7×10^{-5} y 1.2×10^{-4} M, respectivamente.

A pesar de que el programa de potenciales mejora los resultados ópticos, las señales electroquímicas siguen apareciendo deformadas, haciendo imposible su tratamiento analítico.

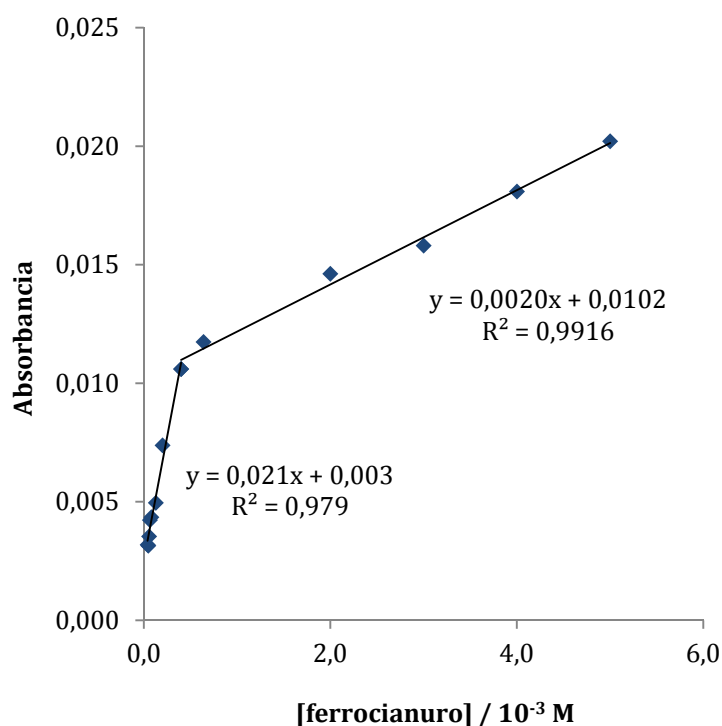


Figura 16. Respuesta óptica obtenida para la inyección de 1 mL de disoluciones con diferentes concentraciones de ferrocianuro, tras su oxidación in situ a ferricianuro, usando un electrodo de acero inoxidable polarizado a 350 mV.



Para el electrodo de ITO se obtiene un único rango lineal para concentraciones entre 1×10^{-3} y 8×10^{-3} M, con una RSD (n=9) del 6.7% en todo el rango lineal (Figura 17). El LOD y el LOQ, calculados como en la sección anterior, son 5.6×10^{-4} y 1.6×10^{-3} M, respectivamente.

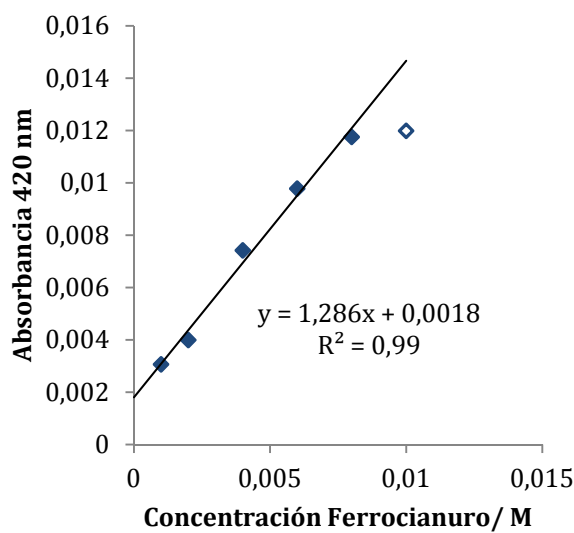


Figura 17. Respuesta óptica obtenida para la inyección de 1 mL de disoluciones con diferentes concentraciones de ferrocianuro, tras su oxidación *in situ* a ferricianuro, usando un electrodo de ITO polarizado a 420 mV.

Usando la recta de calibrado obtenida en la evaluación espectroscópica del nuevo detector es posible calcular la conversión. De esta forma, se obtiene una conversión máxima del 22% para las concentraciones más bajas que se han medido con el electrodo de acero inoxidable, y ese valor decrece exponencialmente cuando aumenta la concentración de ferrocianuro inyectado. Con estos resultados es posible encontrar una explicación a la obtención de dos tramos lineales en la calibración espectroelectroquímica del sensor para dicho electrodo.

Se obtiene un mayor valor de sensibilidad para las concentraciones más bajas, que se corresponden con un régimen de alta conversión, en el que se puede asumir que el factor limitante es la concentración de ferrocianuro inyectada. Sin embargo, cuando las concentraciones son mayores, el factor limitante pasa a ser el tiempo de



residencia de la especie a determinar en la región cercana al electrodo. En este caso, la sensibilidad dependerá más de la velocidad de flujo que de la cantidad de analito inyectada.

Para el electrodo de ITO, la sensibilidad presenta un valor similar al obtenido para el rango de altas concentraciones del electrodo de acero inoxidable, lo que se corresponde también con un valor de conversión muy pequeño, de en torno al 1% para las concentraciones más bajas que se han medido. Este valor de conversión puede justificarse teniendo en cuenta la pequeña superficie electródica que presenta la ventana de ITO y la forma en que el flujo incide sobre dicha superficie, lo que implica un tiempo de contacto relativamente pequeño entre el electrodo y el analito.

Como cabía esperar, los mejores resultados de conversión se obtienen para el electrodo de acero inoxidable, lo que lo hace más adecuado que el ITO para determinaciones espectroelectroquímicas. El electrodo de ITO resultaría más útil para el estudio de especies coloreadas que se adsorben en la superficie electródica o para el estudio de intermedios de reacción con tiempos de vida cortos, que sólo pueden ser detectados espectroscópicamente si se generan en el camino del haz de luz.

5.4. Estudio de la influencia de la velocidad de flujo en la calibración

En todos los experimentos realizados para la calibración de la celda espectroelectroquímica construida, se ha elegido arbitrariamente una velocidad de flujo de 3 mL/min. Sin embargo, es necesario realizar una serie de experimentos que pongan de manifiesto la influencia de la velocidad de flujo en las señales ópticas y eléctricas obtenidas. Para estudiar este efecto, se realizan medidas ópticas y eléctricas variando el flujo entre 1 y 5 mL/min.

Los resultados muestran, como era de esperar, que la anchura de las señales aumenta conforme disminuye la velocidad de flujo. Este hecho afecta al área de las señales cromatográficas, pero también a su forma y a la estabilidad de la línea base. Cuando aumenta el flujo, el segmento inyectado se mezcla mejor con la disolución



portadora y la disolución de la cámara de muestra es más homogénea, por tanto, las señales son más limpias. De esta forma, hay que establecer un compromiso entre obtener las señales más limpias y las más altas.

Otro hecho que se ha observado es que hay un aumento de la sensibilidad al disminuir la velocidad de flujo cuando se usa el electrodo de ITO o cuando se emplea el electrodo de acero en el tramo lineal de concentraciones más altas. Estos resultados están de acuerdo con la explicación dada en la sección anterior, ya que, cuando la velocidad de flujo disminuye, el tiempo de residencia y, por tanto, la conversión aumentan, lo que conduce a señales más altas.

Este comportamiento no ha sido observado en el rango lineal de bajas concentraciones del electrodo de acero inoxidable, donde se ha argumentado que la conversión depende de la concentración de la muestra y la sensibilidad no depende del flujo.

5.5. Recopilación de datos

Los parámetros analíticos obtenidos en los diferentes experimentos se encuentran resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen de los resultados analíticos.

Método	Analito	LOD ^a (M)	LOQ ^b (M)	LL ^c (M)	RSD ^d (%)	Sens. ^e	Coef.
Óptico	Fe(CN) ₆ ³⁻	2.6 × 10 ⁻⁶	8.6 × 10 ⁻⁶	1 × 10 ⁻³	≈1 (n=10)	1045.9	0.9996
EQ (ITO)	Fe(CN) ₆ ⁴⁻	8.5 × 10 ⁻⁶	2.8 × 10 ⁻⁵	6 × 10 ⁻⁴	2.5 (n=9)	224.8	0.98
EQ (Acero)	Fe(CN) ₆ ⁴⁻	-	-	-	-	-	-
EEQ (ITO)	Fe(CN) ₆ ⁴⁻	5.6 × 10 ⁻⁴	1.9 × 10 ⁻³	8 × 10 ⁻³	6.7 (n=9)	1.286	0.990
EEQ (Acero)	Fe(CN) ₆ ⁴⁻	3.7 × 10 ⁻⁵	1.2 × 10 ⁻⁴	5 × 10 ⁻³	5.4 (n=5)	20.88 1.988	0.98 0.991

^a LOD (Límite de detección): 3σ/sens

^b LOQ (Límite de cuantificación): 10σ/sens

^c LL (Límite de comportamiento lineal)

^d RSD (Desviación estándar relativa): 100 × σ/promedio de n medidas

^e Sens (Sensibilidad): Señal analítica (absorbancia o intensidad de corriente)/concentración (M)

6. CONFIGURACIÓN MIXTA FRENTE A CONFIGURACIÓN SECUENCIAL

Las técnicas espectroelectroquímicas (Figura 18C) muestran numerosas ventajas respecto a los métodos que combinan las técnicas espectroscópicas y electroquímicas de forma secuencial (Figura 18A y 18B) [32]. Las ventajas de estas técnicas incluyen: el uso de reducidos volúmenes de muestra, ya que el volumen muerto disminuye; el aumento de la sensibilidad y la resolución de las señales, el requerimiento de tiempos de análisis cortos y la posibilidad de interrelacionar los datos espectroscópicos y electroquímicos.

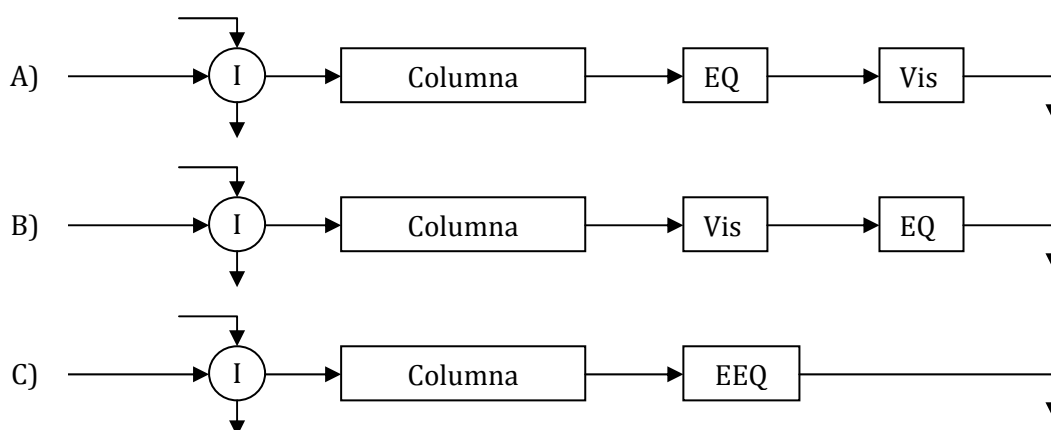


Figura 18. Diferentes configuraciones para detectores secuenciales o mixtos en sistemas cromatográficos.

Estas ventajas pueden demostrarse usando la celda espectroelectroquímica aquí descrita. Para ello, se coloca una celda espectroscópica de flujo comercial inmediatamente después del detector espectroelectroquímico, que, en este caso, actuará únicamente como electrolizador para oxidar el ferrocianuro inyectado. El ferricianuro electrogenerado pasará a la celda comercial, donde se realizará la determinación espectroscópica.

La Figura 19 muestra los resultados obtenidos para el electrodo de acero inoxidable. Se observa que las señales obtenidas para el detector mixto son casi



cinco veces más intensas que las que se obtienen en el caso de la determinación secuencial en dispositivos separados.

En el caso del electrodo de ITO, se obtienen resultados similares con señales hasta diez veces más intensas para la determinación mixta que para la determinación secuencial. Esta diferencia puede explicarse fácilmente, ya que, como este electrodo es más pequeño, genera una menor cantidad de ferricianuro, lo que hace más evidentes los efectos de la dilución que se ponen de manifiesto cuando el analito se traslada desde el electrolizador hasta el detector óptico.

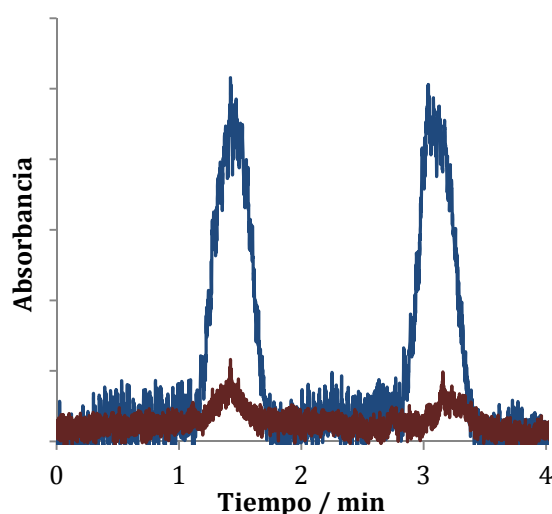


Figura 19. Comparación de los resultados obtenidos para inyecciones de 1 mL de ferrocianuro potásico 1.6×10^{-4} M en un detector espectroelectroquímico mixto (trazo azul) o usando un electrolizador seguido de un detector óptico (trazo rojo). Todos los parámetros analíticos se mantienen constantes en ambos experimentos.

7. CONCLUSIONES

Se ha descrito un detector espectroelectroquímico de flujo muy versátil, con múltiples configuraciones, y fácil de usar y construir. Esta celda ha sido evaluada determinando la concentración de diferentes disoluciones de ferrocianuro y ferricianuro potásico usando un sistema de análisis por inyección en flujo. Los parámetros analíticos obtenidos para cada experimento se han recogido en la Tabla 2.



Los límites de detección obtenidos en estos experimentos son similares a los que han sido anteriormente publicados para el mismo sistema químico [3], pero utilizando una instrumentación más accesible económicamente hablando y con un método de análisis en flujo.

El sensor ha sido diseñado para ser incorporado en los portacubetas de cualquier espectrofotómetro comercial, por lo que es posible su uso con la instrumentación habitual de un laboratorio sin necesidad de incluir grandes modificaciones. Sólo es necesario realizar la conexión externa para los electrodos y los tubos del sistema FIA en la cámara de muestras de un espectrofotómetro de sobremesa.

Otra ventaja importante de este diseño es la posibilidad de usar diferentes electrodos y materiales electródicos: como electrodos transparentes, planos o electrodos tridimensionales. Esta versatilidad permite estudiar una gran variedad de analitos con sólo una ligera modificación en la celda.

El electrodo de ITO utilizado presenta una serie de limitaciones y no puede ser usado con valores extremos de pH (especialmente los ácidos) o con potenciales de reducción muy negativos. Para facilitar el uso de diferentes electrodos planos, el electrodo de ITO se coloca fuera de la celda, en un lugar accesible. Este tipo de electrodos, a pesar de que presentan una superficie electródica muy pequeña, son muy interesantes para estudiar procesos electródicos de adsorción. También es posible usar electrodos transparentes soportados en cuarzo para realizar medidas en el rango UV.

Se ha demostrado que un detector espectroelectroquímico ofrece mejores niveles de sensibilidad que el mismo sistema con los dos detectores en serie. Esto se debe a que las especies que absorben se diluyen cuando abandonan el electrolizador y entran en el detector óptico. Por esta razón, es mucho mejor analizar la especie en el mismo lugar en el que se ha generado.



8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] T. Kuwana, R. Darlington y D. W. Leedy, «Electrochemical studies using conducting glass indicator electrodes.», *Analytical Chemistry*, vol. 36, pp. 2023-2025, 1964.
- [2] R. J. Gale, *Spectroelectrochemistry*, New York: Plenum, 1988.
- [3] Y. Shi, A. F. Slaterbeck, C. J. Seliskar y W. R. Heineman, «Spectroelectrochemical sensing based on multimode selectivity simultaneously achievable in a single device. 1. Demonstration of concept with ferricyanide.», *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 3679-3686, 1997.
- [4] T. S. West, «Atomic-fluorescence and atomic-absorption spectrometry for chemical analysis.», *Analyst*, vol. 99, pp. 886-899, 1974.
- [5] J. F. Tyson y T. S. West, «Analytical aspects of absorption spectroelectrochemistry at a platinum electrode I: Study of metals ions.», *Talanta*, vol. 26, pp. 117-125, 1979.
- [6] J. F. Tyson y T. S. West, «Analytical aspects of absorption spectroelectrochemistry at a platinum electrode II: Quantitative basis and study of organic compounds.», *Talanta*, vol. 27, pp. 335-342, 1980.
- [7] Y. Xie y S. Dong, «Theory of analytical spectroelectrochemistry: Reversible reactions.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 284, pp. 279-288, 1990.
- [8] Y. Xie y S. Dong, «Theory of analytical spectroelectrochemistry: Catalytic process.», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 291, pp. 1-10, 1990.
- [9] Q. Xie, W. Wei, L. Nie y S. Yao, «Theory and application of potential-step transmission chronoabsorptometry of long-pathlength spectroelectrochemical cells: Single reversible electrode reaction.», *Analytical Chemistry*, vol. 65, pp. 1888-1890, 1993.
- [10] Q. Xie, W. Kuang, L. Nie y S. Yao, «Determination of traces of iron by thin-layer spectroelectrochemistry.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 276, nº 2, pp. 411-417, 1993.
- [11] Q. Xie, L. Nie y S. Yao, «Determination of iron and copper by spectroelectrochemistry.», *Analytical Science: Japan*, vol. 13, nº 3, pp. 453-456, 1997.
- [12] S. D. Conklin, W. R. Heineman y C. J. Seliskar, «Spectroelectrochemical sensing based on multimode selectivity simultaneously achievable in a single device. 18. Preparation and characterization of cross-linked quaternized poly(4-vinylpyridinium) films.», *Electroanalysis*, vol. 17, pp. 1433-1440, 2005.
- [13] X. Q. Lin y K. M. Kadish, «Vacuum-tight thin-layer spectroelectrochemical cell with a doublet platinum gauze working electrode.», *Analytical Chemistry*, vol. 57, nº 7, pp.



1498-1501, 1985.

- [14] W. Kaim y J. Fiedler, «Spectroelectrochemistry: the best of two worlds.», *Chemical Society Reviews*, vol. 38, pp. 3373-3382, 2009.
- [15] A. J. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical methods: Fundamentals and applications*, 2nd Ed., New York: Wiley, 2001.
- [16] R. A. Wilson, C. J. Seliskar, G. Talaska y R. Heineman, «Spectroelectrochemical sensing of pyrene metabolites 1-hydroxypyrene and 1-hydroxypyrene-glucuronide.», *Analytical Chemistry*, vol. 83, nº 10, pp. 3725-3729, 2011.
- [17] J. M. Brisendine, A. C. Mutter, J. F. Cerda y R. L. Koder, «A three-dimensional printed cell for rapid, low-volume spectroelectrochemistry.», *Analytical Biochemistry*, vol. 439, pp. 1-3, 2013.
- [18] P. A. Murray, D. Collison, S. Daff, N. Austin, R. Edge, B. W. Flynn, L. Jack, F. Leroux, E. J. McInnes, A. F. Murray, D. Sells, T. Stevenson, J. Wolowska y L. J. Yellowlees, «An in situ electrochemical cell for Q- and W- band EPR spectroscopy.», *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 213, pp. 206-209, 2011.
- [19] G. Neophytides, L. Quaroni, F. N. Büchi, A. Orfanidi, S. G. Neophytides y T. J. Schmidt, «A new in-situ spectroelectrochemical setup for FTIR measurements in operating high temperature polymer electrolyte fuel cells.», *Electrochemistry Communications*, vol. 34, pp. 200-203, 2013.
- [20] A. Santasalo-Aamio, E. Sairanen, R. M. Arán-Ais, M. C. Figueiredo, J. Hua, J. M. Feliu, J. Lehtonen, R. Karinen y T. Kallio, «The activity of ALD-prepared PtCo catalysts for ethanol oxidation in alkaline media.», *Journal of Catalysis*, vol. 309, pp. 38-48, 2014.
- [21] D. Daniel y I. Gutz, «Long-optical-path thin-layer spectroelectrochemical flow cell with inexpensive gold electrodes.», *Electroanalysis*, vol. 13, nº 8-9, pp. 681-685, 2001.
- [22] E. Muñoz, Á. Colina, A. Heras, V. Ruiz, S. Palmero y J. López-Palacios, «Electropolymerization and characterization of polyaniline films using a spectroelectrochemical flow cell.», *Analytica Chimica Acta*, Vols. 573-574, pp. 20-25, 2006.
- [23] R. Meunier-Prest, G. Lamblin, A. Mailfert y S. Raveau, «In situ spectroelectrochemical study of the reductive coupling of benzaldehyde catalyzed by Ti(III) complexes in the presence of Mg(II).», *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 541, pp. 175-183, 2003.
- [24] J. Niu y S. Dong, «An integrated calcium fluoride crystal IR thin-layer cell and its application to identification of electrochemical reduction product of bilirubin.», *Electrochimica Acta*, vol. 40, nº 7, pp. 823-828, 1995.



- [25] D. K. Schroder, *Semiconductor material and device characterization*, New York: Wiley & Sons, 1998.
- [26] D. D. Perrin y B. Dempsey, *Buffers for pH and metal ion control*, London: Chapman & Hall Ltd., 1974.
- [27] M. Senthilkumar, J. Mathiyasaru, J. Joseph, K. Phani y V. Yegnaraman, «Electrochemical instability of indium tin oxide (ITO) glass in acidic pH range during cathodic polarization.», *Materials Chemistry and Physics*, vol. 108, pp. 403-407, 2008.
- [28] L. Hao, X. Diao, H. Xu, B. Gu y T. Wang, «Thickness dependence of structural, electrical and optical properties of indium tin oxide (ITO) films deposited on PET substrates.», *Applied Surface Science*, vol. 254, pp. 3504-3508, 2008.
- [29] Y. S. Kim, Y. C. Park, S. G. Ansari, J. Y. Lee, B. S. Lee y H. S. Shin, «Influence of O₂ admixture and sputtering pressure on the properties of ITO films deposited on PET substrate using RF reactive magnetron sputtering.», *Surface and Coatings Technology*, vol. 173, pp. 299-308, 2003.
- [30] R. A. Wilson, T. S. Pinyayev, N. Membrero y W. R. Heineman, «Rapid prototyped optically transparent thin-layer electrode holder for spectroelectrochemistry in bench-top spectrophotometers.», *Electroanalysis*, vol. 22, n^o 19, pp. 2162-2166, 2010.
- [31] H. P. Look y P. D. Wentzell, «Detection limits of chemical sensors: applications and misapplications.», *Sensors and Actuators B*, vol. 173, pp. 157-163, 2012.
- [32] L. Kavan y L. Dunsch, «Spectroelectrochemistry of carbon nanostructures.», *ChemPhysChem*, vol. 8, pp. 974-998, 2007.

CAPÍTULO 3

*Determinación secuencial de Cu (I) y Cu (II) en agua
mediante análisis por inyección en flujo*



1. INTRODUCCIÓN

El cobre es un elemento traza muy importante presente en sistemas biológicos, minerales y otros sistemas naturales de interés. A pesar de que en la naturaleza es común encontrarlo como un metal o formando compuestos de Cu (II), hay una gran cantidad de materiales de interés tecnológico donde este elemento está presente formando sales de Cu (I). Entre estos materiales, se pueden destacar las espinelas [1], u otros compuestos sintéticos con propiedades superconductoras [2], catalíticas [3][4], etc.

El cobre es también un nutriente esencial para la salud humana así como para el crecimiento de plantas y animales [5][6]. Al ser un micronutriente, se necesita en el cuerpo en muy pequeñas cantidades, mientras que un exceso del mismo puede provocar problemas intestinales y estomacales como náuseas, vómitos o diarrea.

El cobre es necesario para muchos procesos metabólicos, combinándose con ciertas proteínas para formar enzimas, que actúan como catalizadores en un gran número de funciones corporales. Además, aporta la energía necesaria en muchas reacciones bioquímicas.



En lo que a las plantas se refiere, cuando se produce un déficit de cobre, se reduce el crecimiento y desarrollo de las mismas [7], mientras que, en altas concentraciones, el cobre actúa como toxina, causando estrés oxidativo e inhibiendo incluso la fotosíntesis [8].

Este metal está también presente de forma abundante en la atmósfera, formando parte de la niebla, las nubes y la lluvia [9]; y está implicado en muchas reacciones redox que afectan a la capacidad oxidante de la troposfera [10]. Sin embargo, es importante destacar que su reactividad depende en gran medida de su especiación.

Como puede verse, tanto la concentración como la especiación de cobre juega un papel muy importante en el medio ambiente, ya que decide si resulta vital o tóxico para los sistemas biológicos allí presentes [11][12]. Así, la determinación de trazas de cobre se está volviendo cada vez más importante debido al aumento del interés por la contaminación ambiental [13]. Para poder evaluar con precisión los efectos de los contaminantes metálicos como el cobre es necesario obtener información sobre su especiación y su biodisponibilidad, ya que la determinación de la cantidad total de metal no proporciona suficiente información [14]. Por esta razón, es muy importante desarrollar diferentes procedimientos de rutina que sean simples, baratos y de fácil manejo, para conocer a tiempo real la concentración de trazas metálicas y su especiación [15].

En análisis químico, el método más común para la determinación de iones metálicos en diferentes matrices es la formación de complejos y la posterior determinación espectrofotométrica de los mismos. Se han publicado numerosos artículos donde se usan técnicas espectroscópicas para la determinación de cobre, sobre todo de Cu (II), usando agentes complejantes específicos [13][16][17][18] o no específicos [19], estos últimos en combinación con agentes enmascarantes [20].

La mayoría de estos métodos consumen gran cantidad de tiempo y emplean una gran cantidad de reactivos, tanto para desarrollar el color del complejo como para extraerlo de la matriz. Sin embargo, presentan la ventaja de que son simples, baratos y fácilmente adaptables.



A pesar del gran desarrollo de los métodos espectroscópicos, los métodos de mayor sensibilidad para el análisis de trazas de cobre se basan en la voltametría de redisolución [21][22]. Otras técnicas analíticas usadas para este fin son la espectrometría de absorción atómica [23][24] o la potenciometría con electrodos selectivos de iones [25], entre otras [26][27][28]. Además, algunas de estas técnicas han sido adaptadas para determinaciones en flujo [29][30][31].

La mayoría de las técnicas anteriores sólo determinan una de las valencias del cobre, o la cantidad total de cobre en la muestra, mediante oxidación o reducción total antes del análisis. Otros autores usan una combinación de ambas estrategias para realizar la especiación cuantitativa indirecta de los iones de cobre, lo que da lugar a un aumento significativo de la complejidad del método.

2. OBJETIVOS

En este capítulo, se muestra un nuevo método para la especiación directa de iones de cobre en muestras acuosas. El uso de un dispositivo de detección mixta permite la cuantificación individual e independiente de cada uno de los estados de oxidación del cobre a través de diferentes técnicas: un método colorimétrico para la determinación de Cu (II) y un método electroquímico para la determinación de Cu (I). El método propuesto se basa en un sistema de análisis mediante inyección en flujo reverso (r-FIA) para la determinación espectroscópica de Cu (II) con cuprizona. La determinación amperométrica de Cu (I) se ha sincronizado con las medidas ópticas para evitar las posibles interferencias entre ambos métodos, habiéndose estudiado los posibles efectos que cada una de las técnicas pueda tener sobre la otra. Esta estrategia permite el uso de instrumentación económicamente accesible y supone un consumo mínimo de reactivos.

El objetivo de este capítulo es demostrar que el uso de un detector mixto facilita y acelera el análisis de múltiples analitos que puedan estar presentes simultáneamente en algunos tipos de muestra e ilustra las precauciones prácticas que deben tenerse en cuenta para evitar interferencias entre ellos. Para ello, se ha elegido un sistema químico que puede ser tanto de interés medioambiental



(muestras de aguas contaminadas de ríos, pantanos o aguas potables) como biológico (muestras de tejidos o alimentos), y cuya especiación sólo ha sido resuelta en la bibliografía mediante el uso de secuencias complejas de análisis ó mediante determinaciones indirectas.

3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. *Reactivos y disoluciones*

Todos los reactivos usados eran de grado PA y se emplearon tal y como se recibieron del distribuidor. Todas las disoluciones fueron preparadas usando agua de baja conductividad (18 M Ω /cm) purificada por un sistema Millipore Mili-Q a partir de agua destilada.

Se preparó una disolución patrón de 1000 μ g/mL de Cu (II) disolviendo 3.14 g de acetato de cobre (II) en agua y diluyendo hasta 1 L.

Las disoluciones de cuprizona se prepararon disolviendo 0.07 g del reactivo en 7.14 mL de etanol absoluto y diluyendo hasta 50 mL con agua de baja conductividad. Para disolver completamente el reactivo es necesario someter esta disolución a agitación en ultrasonido y a un delicado calentamiento durante unos 15 minutos. Por último, se realiza un filtrado de la disolución resultante antes de introducirla en el sistema, para eliminar por completo las partículas no disueltas y evitar, por tanto, la obstrucción de los canales de flujo y de la celda.

Las disoluciones de búfer de citrato amónico a pH 9.5 se prepararon disolviendo 214.38 g de ácido cítrico en la menor cantidad posible de agua desionizada. Seguidamente, se añadieron 271.14 mL de una disolución de NH₃ al 25%, llevando la mezcla hasta un volumen final de 1 L.

La disolución patrón de Cu (I) de 30 μ g/mL se preparó diariamente tomando 3 mL de la disolución patrón de Cu (II) anteriormente descrita, y diluyendo con agua desionizada hasta un volumen de 100 mL. A continuación, se le añaden unos cristales de hidrocloreuro de hidroxilamina para conseguir la reducción del Cu (II) a Cu (I). Finalmente, se elimina el exceso de reductor mediante ebullición durante



15 minutos. La disolución patrón de Cu (I) se mantiene en atmósfera inerte de N₂ para evitar su reoxidación con el aire.

Las disoluciones con diferentes cantidades de Cu (I) y Cu (II) se prepararon diariamente tomando las correspondientes alícuotas de las disoluciones patrón de ambos analitos y diluyéndolas en el búfer de citrato amónico hasta el volumen deseado.

3.2. Instrumentación

Todas las medidas espectroscópicas se realizaron usando el espectrofotómetro UV-visible de doble haz de Varian Cary 1E (Aligent Inc., Santa Clara, CA) y la celda electroquímica previamente descrita en la bibliografía [32] y en esta tesis, en la configuración en la que dos agujas de acero inoxidable actúan como electrodo de trabajo y auxiliar, a la vez que hacen de canales de entrada y salida de fluido, respectivamente.

Todas las medidas electroquímicas se realizaron usando el potencióstato de tres electrodos BAS 100B (BASi, West Lafayette, IN) conectado a un ordenador y a la celda anteriormente citada.

Para la instalación FIA se empleó una bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 (Gilson Inc., Middleton, WI) acoplada a una válvula de inyección manual de seis vías Omnifit (Diba Industries Inc., Danbury, CT; Código nº 001106). Todos los tubos del sistema de flujo, con un diámetro interno de 0.8 mm y fabricados en teflón, fueron adquiridos en Supelco (Sigma-Aldrich).

4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La determinación de Cu (II) se basa en la formación cuantitativa del quelato azul obtenido por la reacción entre el ion metálico de cobre y la cuprizona en medio alcalino: $\text{Cu}^{2+} + 2 \text{CPZ} \rightarrow \text{Cu}(\text{CPZ})_2$ que presenta un máximo de absorción a 595 nm [33]. Este agente colorimétrico es muy selectivo para el Cu (II), lo que permite su



determinación sin necesidad de separarlo de matrices complejas como aceros, aleaciones, aguas naturales o muestras biológicas, como ya ha sido demostrado por varios autores [29][30].

La magnitud analítica usada para determinar el contenido de Cu (II) en la muestra es el área bajo la señal de respuesta espectrofotométrica a 595 nm.

De acuerdo con la bibliografía [30], se ha decidido que la configuración de FIA reverso, que consiste en utilizar la muestra como disolución portadora e inyectar en ella el reactivo, es la más adecuada para obtener una mayor sensibilidad en la determinación de Cu (II). El sistema FIA (Figura 1A) consiste en una única línea de flujo donde la muestra disuelta en búfer es impulsada continuamente por una bomba peristáltica. En este sistema, se incorpora la adecuada cantidad de cuprizona a la corriente de flujo a través de una válvula de inyección manual de seis vías. Entre la válvula de inyección y la celda de detección se coloca un segmento adicional de conductos de una longitud adecuada para permitir la lenta formación del complejo cobre-cuprizona.

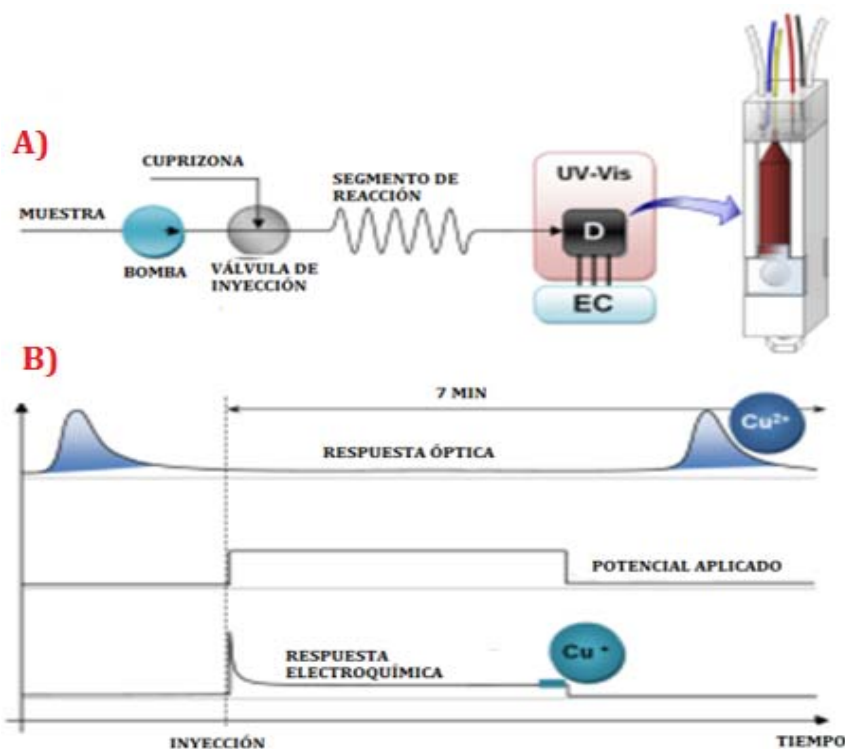


Figura 1. A) Esquema FIA utilizado para el método analítico. B) Diagrama de tiempo para la determinación sincronizada de Cu (I) y Cu (II).



Para determinar el Cu (I), se emplea una técnica amperométrica, que consiste en aplicar un potencial adecuado para la oxidación de Cu (I) a Cu (II), midiendo la corriente en el estado estacionario. El tiempo que transcurre entre la inyección de la cuprizona y la respuesta espectroscópica es utilizado para registrar la respuesta electroquímica. Para evitar interferencias entre ambas determinaciones, el potencial de oxidación es activado o desactivado según las necesidades. La Figura 1B muestra el diagrama de tiempo para la determinación sincronizada de ambas valencias del cobre.

5. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ÓPTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE Cu(II)

Como ya se ha mencionado antes, se ha empleado un sistema FIA reverso para la determinación de Cu (II) con cuprizona. Se han investigado y seleccionado algunos de los parámetros que pueden influir en el rendimiento del método, con el objetivo de obtener los mejores resultados posibles en la determinación de Cu (II) en ausencia de Cu (I).

De acuerdo con publicaciones anteriores [30][34] y ensayos preliminares en nuestro laboratorio, las concentraciones seleccionadas para las disoluciones de búfer y cuprizona fueron 1.0 M y 5.13 mM respectivamente. A continuación, se detalla cómo se han optimizado los otros parámetros de trabajo.

5.1. Corrección del efecto Schlieren

El efecto Schlieren se caracteriza por una dispersión en la luz, originada por la mezcla incompleta de varias disoluciones con diferentes concentraciones o componentes, lo que contribuye negativamente al registro de las señales ópticas.

El espectrofotómetro utilizado en nuestros experimentos no dispone de un detector de array de diodos, lo que hace imposible la corrección del efecto Schlieren mediante la medida simultánea de la absorbancia a dos longitudes de



onda y la resta de ambos resultados [35]. Para prevenir estas distorsiones hay que elegir una adecuada combinación de reactivos tanto en la disolución portadora como en las disoluciones de inyección. Para ello, se probaron diferentes composiciones en ambas disoluciones, comparando las señales ópticas obtenidas en cada caso.

Para minimizar el número de ensayos, hay que tener en cuenta que la suma de ambas disoluciones debe contener todos los reactivos necesarios para obtener el complejo coloreado: la disolución de Cu (II), el tampón a pH básico, la cuprizona y el EtOH. Por tanto, se han probado diferentes composiciones de disolución portadora (donde siempre deberá estar presente el ión metálico) y de disolución de inyección (donde siempre deberá incluirse la cuprizona). El resto de los reactivos se han probado en ambas disoluciones hasta obtener un buen resultado.

En la Tabla 1 se muestran los ensayos realizados, junto con un comentario sobre los resultados obtenidos. La Figura 2 muestra los picos obtenidos para los ensayos con mejores resultados. Como puede comprobarse, el efecto Schlieren está totalmente corregido en el ensayo V (Figura 2B); en el ensayo I se obtiene un pico con demasiada cola, efecto de una mezcla incompleta, y en el VI, aunque se obtiene un pico cromatográfico bien definido, la línea base es muy inestable.

Tabla 1. Resumen de los diferentes ensayos realizados para la corrección del efecto Schlieren.

Ensayo	Disolución portadora	Inyección	Comentarios
I	Cu(II) acuoso ^a	Cuprizona + búfer ^b	Figura 2.A
II	Cu(II) acuoso + EtOH ^c	Cuprizona + búfer	Línea base inestable por evolución de gases
III	Cu(II) acuoso + EtOH + búfer ^d	Cuprizona + búfer	No se observan señales
IV	Cu(II) acuoso + búfer ^e	Cuprizona + búfer	Señales ruidosas y deformadas
V	Cu(II) acuoso + búfer	Cuprizona ^f	Figura 2.B
VI	Cu(II) acuoso + EtOH + búfer	Cuprizona	Figura 2.C

^a Disolución acuosa de 2 µg/mL de Cu(II)
^b Cuprizona 5.13 mM en búfer citrato-amoniaco 1M al 14.28% de etanol
^c Disolución acuosa de 2 µg/mL de Cu(II) al 14.28% de etanol
^d Disolución de 2 µg/mL de Cu(II) en búfer citrato-amoniaco 1M al 14.28% de etanol
^e Disolución de 2 µg/mL de Cu(II) en búfer citrato-amoniaco 1M
^f Disolución acuosa de cuprizona 5.13 mM al 14.28% de etanol

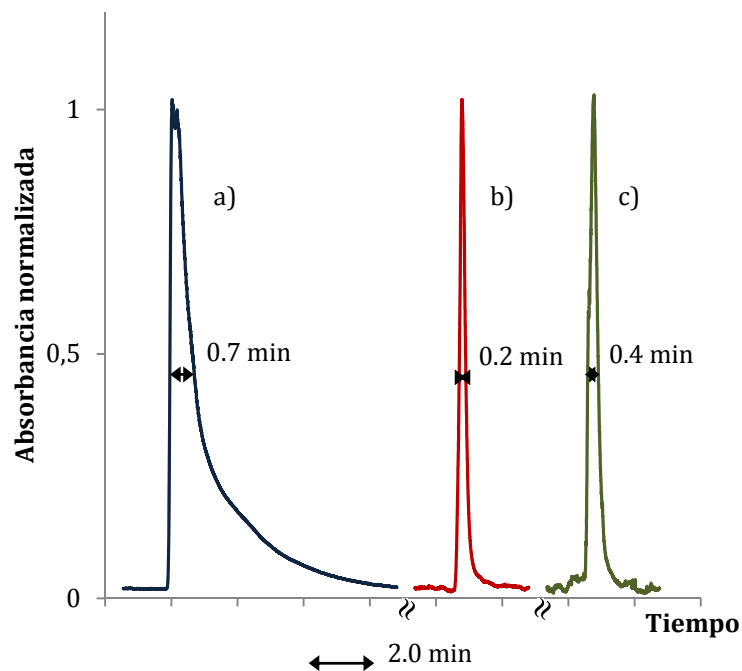


Figura 2. Comparación de las señales ópticas obtenidas para las diferentes composiciones de la disolución portadora y de la disolución de inyección. a) Disolución portadora: Cu (II) acuoso; Inyección: cuprizona en búfer. b) Disolución portadora: Cu (II) acuoso + búfer; Inyección: Cuprizona. c) Disolución portadora: Cu (II) acuoso + búfer + EtOH; Inyección: Cuprizona. Otras condiciones de operación son: pH 9.5; segmento de reacción de 5.7 m; volumen de inyección = 25 μ L; flujo = 3 mL/min y [Cu (II)] = 2 μ g/mL.

5.2. Velocidad de flujo

La Figura 3 muestra los diferentes valores obtenidos en absorbancia calculando el área bajo los picos cuando la velocidad de flujo varía entre 0.5 y 6.5 mL/min.

A la vista de los resultados, se ha elegido una velocidad de flujo de 0.5 mL/min porque con ella se obtienen los valores de área más altos. Este parámetro también afecta al rendimiento analítico del sistema, por lo que debe tomarse un valor de compromiso atendiendo a la sensibilidad y la velocidad de análisis deseadas.

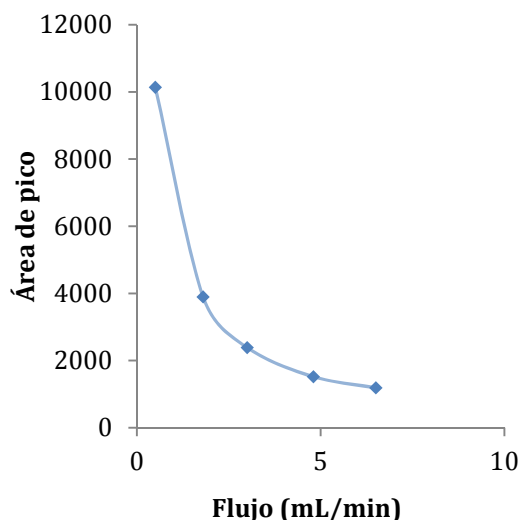


Figura 3. Efecto de la velocidad de flujo en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μ L, segmento de reacción de 5.7 m, pH = 9.5 y [Cu (II)] = 2 μ g/mL.

5.3. Volumen de inyección

La Figura 4 muestra los diferentes valores de área obtenidos cuando el volumen de inyección varía entre 25 y 100 μ L. Como se observa, el volumen de inyección no tiene una marcada influencia en la señal óptica de respuesta, por lo que se elige un valor de 25 μ L, ya que implica un menor consumo de reactivo.

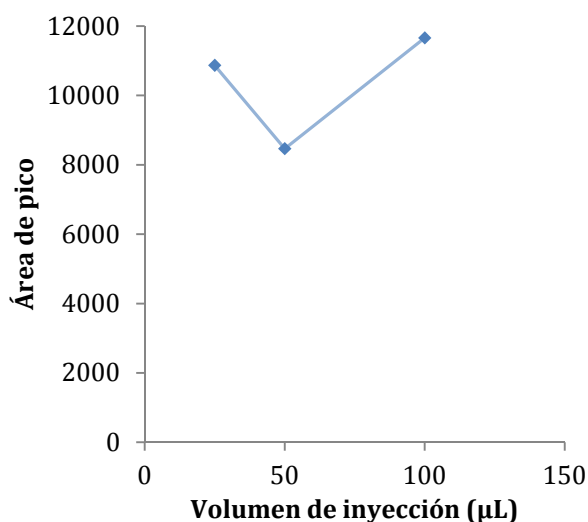


Figura 4. Efecto del volumen de inyección en la absorbancia. Otras condiciones: segmento de reacción de 5.7 m, velocidad de flujo = 0.5 mL/min, pH = 9.5 y [Cu (II)] = 2 μ g/mL.



5.4. Longitud del segmento de reacción

La Figura 5 muestra los diferentes valores obtenidos para el área de pico cuando la longitud del segmento de reacción aumenta desde 2 hasta 5.7 m.

Una longitud mayor da más tiempo para que la reacción se complete. Por tanto, se ha seleccionado la longitud mayor (5.7 m), ya que es cuando se obtienen los mejores valores de área. Seleccionar un valor mayor hubiera afectado al rendimiento analítico del procedimiento sin mostrar diferencias muy significativas en los valores de área obtenidos ya que se observa un descenso claro en la pendiente de la Figura 5, por lo que se opta por no elegir una longitud más alta.

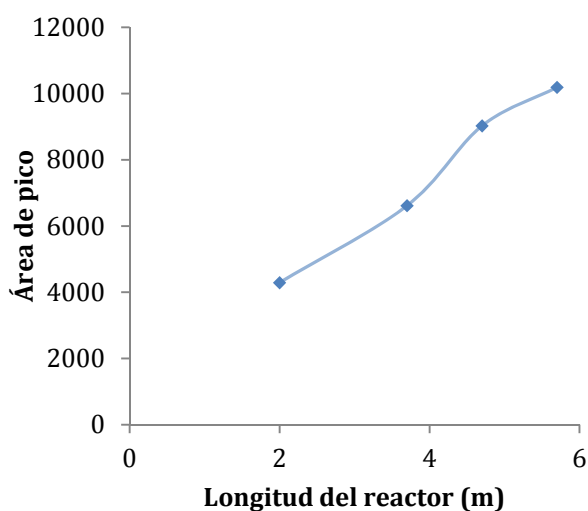


Figura 5. Efecto de la longitud del segmento de reacción en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μL , velocidad de flujo = 0.5 mL/min, pH = 9.5 y $[\text{Cu(II)}] = 2 \mu\text{g/mL}$.

5.5. pH

La Figura 6 muestra los diferentes valores de área de pico obtenidos cuando el pH de la disolución varía entre 7 y 10 modificando la proporción citrato-amoniaco en el búfer. Como puede observarse, el valor de pH tiene una influencia muy poco significativa en la señal registrada, siempre que el valor de pH esté dentro del rango apropiado para la formación del quelato. Por esta razón, y de acuerdo con la información publicada sobre las mejores condiciones sintéticas del complejo [30], no se ha estudiado un rango de pH mayor. Finalmente, se ha elegido un pH de 9.5



porque es el valor que se obtiene con la composición original del búfer, lo que hace innecesario la adición de otros reactivos.

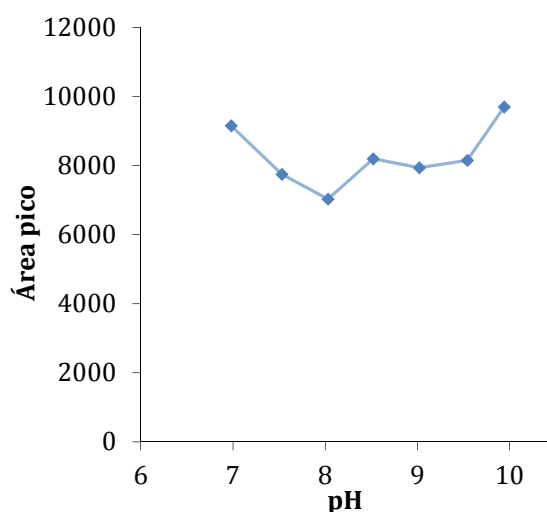


Figura 6. Efecto del pH en la absorbancia. Otras condiciones: volumen de inyección = 25 μ L, longitud del segmento de reacción = 5.7 m, velocidad de flujo = 0.5 mL/min y [Cu (II)] = 2 μ g/mL.

5.6. Parámetros finales

Teniendo en cuenta los resultados de los estudios previamente descritos, se han establecido los siguientes valores para los diferentes parámetros operativos que influyen en la respuesta espectrofotométrica del sistema: pH del búfer, 9.5; concentración de búfer, 1.0 M; concentración de cuprizona, 5.13 mM; velocidad de flujo, 0.5 mL/min; volumen de inyección de cuprizona, 25 μ L; longitud del segmento de reacción, 5.7 m.

6. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ELECTROQUÍMICO PARA LA DETERMINACIÓN DE Cu(I)

El Cu (I) se determina mediante electrolisis potencioestática, oxidando el analito hasta Cu (II), mientras que se mantiene el flujo de la disolución bajo análisis. El potencial de electrodo debe ser cuidadosamente seleccionado para evitar las



posibles interferencias de otros iones como Sn^{2+} , $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ ó Tl^+ , cuyos potenciales estándares son menores que el del par Cu(II)/Cu(I) .

Para determinar el potencial de oxidación del Cu(I) , se realiza un voltograma de pulso diferencial hidrodinámico (Figura 7) mientras que una disolución tamponada de $30 \mu\text{g/mL}$ de Cu(I) fluye a través de la celda con una velocidad de 0.5 mL/min . Se ha elegido un potencial de electrolisis de 700 mV , frente a un electrodo de referencia de Ag/AgCl/NaCl(sat) ; valor que se corresponde con el potencial del pico voltamétrico obtenido.

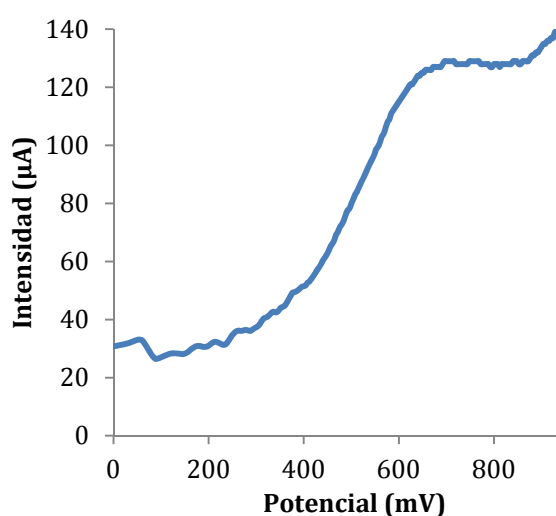


Figura 7. VPD hidrodinámico para una disolución tamponada de Cu(I) de $30 \mu\text{g/mL}$ sobre un electrodo de acero inoxidable. Las otras condiciones experimentales se encuentran recogidas en el texto.

Es posible cuantificar la concentración de Cu(I) en la muestra midiendo la carga total consumida tras un periodo de tiempo determinado, o midiendo la corriente límite alcanzada después del transitorio debido a la conexión electródica. En ambos casos, es necesario mantener el potencial durante un tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario, que suele ser de 1-2 minutos. Los mejores resultados se obtuvieron midiendo la corriente límite durante 5 a 10 segundos hacia el final de la electrolisis y tomando el valor promedio de ese periodo. De esta forma, se minimiza el ruido que pueda afectar a los datos obtenidos.



Otros parámetros como la velocidad de flujo o el pH, entre otros, no se han analizado y se mantienen en los valores optimizados para la determinación de Cu (II), con el fin de poder sincronizar ambas medidas.

Teniendo en cuenta los resultados de los estudios previamente descritos, se han establecido los siguientes valores para los diferentes parámetros operativos que influyen en la respuesta electroquímica del sistema: pH del búfer, 9.5; concentración de búfer, 1.0 M; velocidad de flujo, 0.5 mL/min; potencial de electrolisis, 700 mV; tiempo de electrolisis, 1 minuto; tiempo de medida de la corriente, 10 segundos.

7. RESULTADOS ANALÍTICOS

7.1. Determinación espectroscópica de Cu(II)

Para cada disolución estándar de Cu(II), se hicieron medidas por triplicado, calculándose el valor promedio del área bajo la señal. Bajo estas condiciones se obtiene un rango lineal de respuesta para disoluciones de Cu(II) cuya concentración está entre 1.2 y 12 $\mu\text{g/mL}$, con una ecuación $A=2973.5 + 1090.5 [\text{Cu}^{2+} (\mu\text{g/mL})]$ y un coeficiente de correlación de 0.98, donde A es el área del pico espectrofotométrico obtenido (Figura 8).

El límite de detección, estimado como tres veces la desviación estándar de las concentraciones más bajas medidas dividida por la pendiente [36], es 0.11 $\mu\text{g/mL}$. El límite de cuantificación, calculado como diez veces la desviación estándar de las concentraciones más bajas medidas dividida por la pendiente [36], es 0.35 $\mu\text{g/mL}$. La desviación estándar relativa (RSD) obtenida para una disolución de 4 $\mu\text{g/mL}$ (n=12) es de 3.82%.

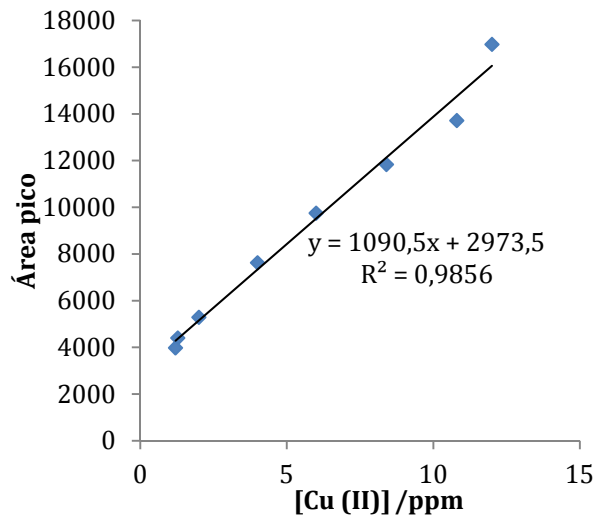


Figura 8. Respuesta óptica obtenida a 595 nm tras la inyección de cuprizona a disoluciones con diferentes concentraciones de Cu (II). Cada punto representa el promedio de tres medidas.

El rendimiento analítico del sistema es de 12 picos/hora, y los consumos de muestra y de disolución de cuprizona son de 30 mL/hora y 300 μ L/hora, respectivamente.

7.2. Determinación amperométrica de Cu(I)

Para cada disolución estándar de Cu (I), se realizaron medidas por triplicado, calculando el valor promedio de la intensidad límite alcanzada tras 1 minuto de electrolisis. Bajo estas condiciones se obtiene un rango lineal de respuesta para disoluciones con concentraciones de Cu (I) entre 0.04 y 0.80 μ g/mL, con una ecuación $I_{lim}(\mu A) = 8.52 + 66.43[Cu^+ (\mu g/mL)]$ y un coeficiente de correlación de 0.99, donde I_{lim} es el valor de corriente límite alcanzada en el estado estacionario (Figura 9).

El límite de detección, estimado como tres veces la desviación estándar de las concentraciones más bajas medidas dividida por la pendiente[36], es 7.7 ng/mL. El límite de cuantificación, calculado como diez veces la desviación estándar de las concentraciones más bajas medidas dividida por la pendiente[36], es 26 ng/mL. La RSD obtenida para una disolución de 0.4 μ g/mL (n=12) es de 2.01%.



El rendimiento analítico del sistema es de alrededor de 60 medidas/hora y el consumo de muestra es de 30 mL/hora.

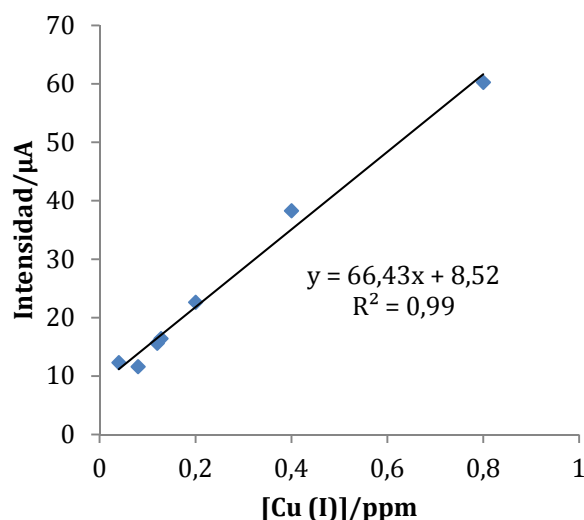


Figura 9. Respuesta amperométrica del sensor cuando se toma el valor de corriente límite en el estado estacionario para disoluciones de Cu(I) de diferentes concentraciones con el electrodo de acero inoxidable polarizado a 700 mV. El valor de cada punto es el promedio de tres medidas.

8. ESPECIACIÓN DE COBRE EN MEZCLAS

De acuerdo con la información publicada y tras elegir las condiciones de operación óptimas, ambos métodos de cuantificación deben estar libres de interferencias debidas a la presencia de iones cobre en el otro estado de oxidación.

Si se programa la determinación secuencial propuesta, las medidas amperométricas se llevan a cabo en ausencia de cuprizona y la determinación de Cu(I) dará siempre el mismo resultado, incluso cuando haya diferentes concentraciones de Cu(II) en la muestra (Figura 10A).

Por otra parte, las medidas espectrofotométricas se realizan sin aplicar potencial de oxidación, por lo que el Cu(I) no debe afectar a la formación del complejo de cuprizona, cuya concentración sólo es proporcional a la concentración de Cu(II) presente en la muestra, como puede observarse en la Figura 10B.

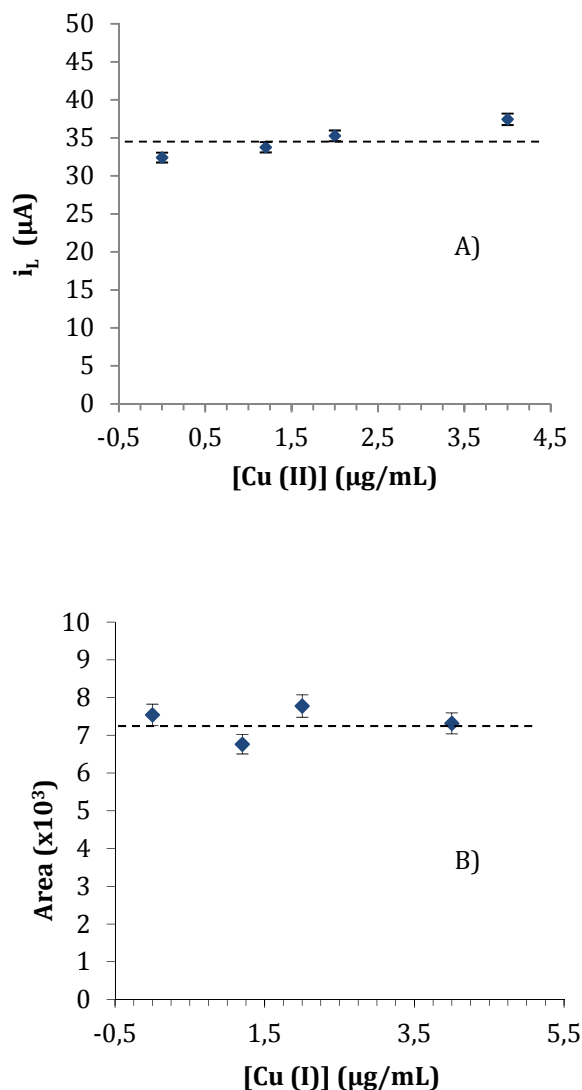


Figura 10. Estudio de las interferencias debidas a la presencia de ambos analitos en la disolución portadora. A) Respuesta electroquímica para una concentración de $0.4 \mu\text{g/mL}$ de Cu (I) y diferentes concentraciones de Cu (II) . B) Respuesta óptica para una concentración de $0.4 \mu\text{g/mL}$ de Cu (II) y diferentes concentraciones de Cu (I) .

Los resultados obtenidos ofrecen la posibilidad de una determinación simultánea de ambas especies, lo que podría contribuir a aumentar el rendimiento analítico general del método. Sin embargo, es necesario tener en cuenta otras precauciones, como, por ejemplo, el efecto de la presencia de cuprizona en las medidas electroquímicas o las interferencias que cada una de las técnicas analíticas empleadas pueden producir en la otra cuando ambas funcionan simultáneamente.



Por un lado, es importante considerar la influencia de la polarización electródica en las medidas espectroscópicas. En este caso, no se han encontrado distorsiones adicionales en la línea base espectroscópica cuando el electrodo está polarizado. Este es un resultado esperado ya que el electrodo está fuera del camino óptico de la celda y las especies que pueden verse afectadas por el potencial aplicado (tanto reactivos como productos) son transparentes a la longitud de onda utilizada.

Por otro lado, hay que verificar si la presencia de cuprizona en el medio afecta de algún modo a las medidas electroquímicas. Para ello, se inyectaron alícuotas de dicho ligando mientras una disolución de 4 $\mu\text{g/mL}$ de Cu (I) fluye a través de la celda cuando el electrodo se encuentra permanentemente polarizado. La misma experiencia se realiza con una disolución portadora que contiene una concentración de 4 $\mu\text{g/mL}$ de ambos estados de oxidación del cobre.

El resultado de estas experiencias fue un decrecimiento transitorio en el valor alcanzado de la corriente límite, de igual magnitud en ambos casos y con diferencias mínimas. Para dar explicación a este resultado, se inyecta una alícuota que sólo contiene el disolvente de la disolución de cuprizona en las mismas condiciones del experimento anterior. De nuevo, se observa una disminución de la corriente límite. En conclusión, la principal contribución al decrecimiento de la corriente es el descenso de concentración de Cu (I) en la celda durante el paso del volumen inyectado, libre de analito, ante el electrodo.

Para explicar las pequeñas diferencias en los resultados experimentales antes mencionados, puede considerarse la influencia de la cuprizona en el potencial redox del Cu (I) y la posible formación de otras especies electroactivas como $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{CPZ})_2$ y $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{CPZ})_2$. Yamamoto y su grupo [37] publicaron el potencial redox de estas especies y lo compararon con el potencial estándar del par Cu (II)/Cu (I). Sin embargo, la formación de estas especies puede evitarse por completo si el ligando cuprizona no está presente cuando el electrodo está polarizado.

En base a los resultados obtenidos y a la información publicada, es más adecuado aplicar el potencial de oxidación cuando la cuprizona no está presente en la disolución, hecho que no permite la determinación simultánea de ambas especies, pero sí su determinación secuencial.



Una determinación individual de ambas valencias del Cu puede completarse en sólo 7 minutos, por lo que el rendimiento analítico del método es de 8.6 medidas/hora. El consumo total de muestra disuelta en búfer es 30 mL/h, mientras que sólo se necesitan 187.5 μL /hora de la disolución de cuprizona. La cantidad de búfer de citrato de amonio empleada depende de la concentración de la muestra. Es necesario considerar los rangos dinámicos obtenidos para cada método de análisis y la concentración de la muestra. Generalmente, una proporción búfer/muestra del 50% o menor, dada la concentración usada en la disolución de búfer, es suficiente para que la disolución de muestra esté convenientemente tamponada.

9. CONCLUSIONES

Se ha propuesto un método en flujo para el análisis secuencial de los iones libres de Cu en disoluciones acuosas. Las condiciones de operación se han optimizado para la determinación colorimétrica del Cu (II) con cuprizona y estos parámetros se mantienen para la determinación electroquímica del Cu (I).

Las condiciones finales fueron: pH del búfer, 9.5; concentración de búfer, 1.0 M; concentración de cuprizona, 5.13 mM; volumen de cuprizona inyectado, 25 μL ; velocidad de flujo, 0.5 mL/min; longitud del segmento de reacción, 5.7 m, potencial de electrolisis, 700 mV; tiempo de electrolisis, 1 minuto; tiempo de muestreo de corriente, 10 segundos.

Con estos parámetros ya optimizados, se obtiene un comportamiento lineal entre 1.2 y 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para la determinación espectroscópica de Cu (II) con límites de detección y cuantificación de 0.11 y 0.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente, y una RSD de 3.82%. Para la determinación electroquímica de Cu (I), se obtiene un rango lineal entre 0.04 y 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con límites de detección y cuantificación de 7.7 y 26 ng/mL, respectivamente, y una RSD de 2.01%.

Como se muestra en la Tabla 2, el método propuesto ofrece rangos dinámicos algo más estrechos que los previamente publicados para la determinación de



Cu (II) [20][30][31] y límites de detección ligeramente más altos, aunque su rango de aplicación incluye el límite máximo regulado por la OMS para este metal en agua potable [38], que es de 2.2 µg/mL. En cambio, este método ofrece la posibilidad de la especiación de cobre de acuerdo con su estado de oxidación en una única medida, un tipo de análisis que puede ser interesante en tejidos biológicos o en muestras de aguas naturales con bajas concentraciones de oxígeno. Por otra parte, las figuras de mérito para la determinación de Cu (I) son considerablemente mejores que las de Cu (II).

Tabla 2. Métodos para la determinación de cobre presentes en la bibliografía

Ref.	Analito	Método	Reactivo	LOD	Rango lineal	Muestra
[13]	Cu(II)	Colorimetría	Neocuproina	0.12 ng/mL	-	Agua
[17]	Cu(II)	Colorimetría	Cefixima	0.0319 µg/mL	1.0-8.1 µg/mL	Agua
[18]	Cu(II)	Colorimetría	Cloro(fenil) glioxima	10 µg/L	0.1-10 mg/L	Agua y medicamentos
[20]	Cu(II)	Colorimetría	2,5-dimercapto-1,3,4-tiadiazolina	-	0.1-20 µg/mL	Agua, suelo y tejidos
[21]	Cu(II)	AdS-LV	tiosemicarbazida	0.007 ng/mL	0.01-90 ng/mL	Alimentos
[23]	Cu	AAS	Ditiocarbamato amónico de pirrolidina	0.1 ng/mL	-	Agua de mar
[24]	Cu	AAS	Ditiocarbamato amónico de pirrolidina	0.6 ng/mL	2-60 ng/mL	Agua
[25]	Cu(II)	Electrodo selectivo de iones	-	-	0.05-2 µg/mL	Vino blanco
[26]	Cu(I)/Cu(II)	Titulación	Yoduro	-	5.8-100 mg	Agua
[27]	Cu(I)	Fluorimetría	Disulfonato de batocuproína	0.1 µM	0.01-2 µM	Biológicas
[29]	Cu(II)	Colorimetría FIA	Cuprizona	0.13 µg/mL	> 20 µg/mL	Aleaciones
[30]	Cu(II)	Colorimetría FIA	Cuprizona	13 ng/mL	0.06-4 µg/mL	Agua
[31]	Cu(II)	Colorimetría MSFIA	Zincon	0.1 ng/mL	> 100 ng/mL	Agua
Este trabajo	Cu(I)	Amperometría FIA	-	7.7 ng/mL	0.04-0.8 µg/mL	Agua
	Cu(II)	Colorimetría FIA	Cuprizona	0.11 µg/mL	1.2-12 µg/mL	Agua



Aunque los rendimientos analíticos de los métodos individuales son similares a otros que han sido previamente publicados, la cuantificación de ambas especies en un mismo experimento no había sido publicada todavía.

Una importante ventaja de este método es que ofrece la posibilidad de automatización, sincronizando las dos técnicas, incluso utilizando una instrumentación accesible económicamente.

En conclusión, se presenta un método secuencial, simple y barato para la rápida especiación de los iones inorgánicos de cobre en medio acuoso. El consumo de bajas cantidades de reactivos permite incluir este método dentro del concepto de "Química Verde".

10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] N. Matsumoto, R. Endoh, S. Nagata, T. Furubayashi y T. Matsumoto, «Metal-insulator transition and superconductivity in the spinel-type $\text{Cu}(\text{Ir}_{1-x}\text{Rh}_x)_2\text{S}_4$ system.», *Physical Review B*, vol. 60, pp. 5258-5265, 1999.
- [2] J. M. Tranquada, H. Woo, T. G. Perring, H. Goka, G. D. Gu, G. Xu, M. Fujita y K. Yamada, «Quantum magnetic excitations from stripes in copper oxide superconductors.», *Nature*, vol. 429, pp. 534-538, 2004.
- [3] C. G. Bates, R. K. Gujadhur y D. Venkataraman, «A general method for the formation of aryl-sulfur bonds using copper(I) catalysts.», *Organic Letters*, vol. 4, nº 16, pp. 2803-2806, 2002.
- [4] D. A. Evans, K. A. Woerpel y M. J. Scott, «"Bis(oxazolines)" as ligands for self-assembling chiral coordination polymers - Structure of a copper(I) catalyst for the enantioselective cyclopropanation of olefins.», *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 31, nº 4, pp. 430-432, 1992.
- [5] J. L. Burkhead, K. Reynolds, S. E. Abdel-Ghany, C. M. Cohu y M. Pilon, «Copper homeostasis.», *New Phytologist*, vol. 182, pp. 799-816, 2009.
- [6] L. R. Babu y K. Kiran, «Determination of copper in various environmental samples using 4-dimethyl amino benzyl thiourea following solid phase extraction.», *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, vol. 4, nº 1, pp. 57-62, 2013-2014.



- [7] P. Marschner, Mineral nutrition of higher plants., Waltham, MA: Academic Press, 2012.
- [8] L. L. Martins y M. P. Mourato, «Effect of excess copper on tomato plants: growth parameters, enzyme activities, chlorophyll and mineral content.», *Journal of Plant Nutrition*, vol. 29, pp. 2179-2198, 2006.
- [9] R. J. Kieber, S. A. Skrabal, C. Smith y J. D. Willey, «Redox speciation of copper in rainwater: temporal variability and atmospheric deposition.», *Environment Science & Technology*, vol. 38, pp. 3587-3594, 2004.
- [10] I. Grgic, M. Poznic y M. Bizjak, «S(IV) autooxidation in atmospheric liquid water: the role of Fe(II) and the effect of oxalate.», *Journal of Atmospheric Chemistry*, vol. 33, pp. 89-102, 1999.
- [11] I. H. Scheinberg y A. G. Morell, Inorganic Biochemistry., New York: Elsevier, 1973.
- [12] N. N. Greenwood y A. Earnshaw, Chemistry of the Elements., Oxford: Butterworth-Heinemann, 2005.
- [13] Y. Yamini y A. Tamaddon, «Solid-phase extracton and spectrophotometric determination of trace amounts of copper in water samples.», *Talanta*, vol. 49, nº 1, pp. 119-124, 1999.
- [14] D. M. Di Toro, J. D. Mahoney, D. H. Hansen, K. J. Scott, A. R. Carlson y G. T. Ankley, «Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments.», *Environmental Science & Technology*, vol. 26, pp. 96-101, 1992.
- [15] J. Pei, M. Tercier-Waeber y J. Buffle, «Simultaneous determination and speciation of zinc, cadmium, lead and copper in natural water with minimum handling and artifacts, by voltammetry on a gel-integrated microelectrode array.», *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 161-171, 2000.
- [16] I. Mori, T. Fujimoto, Y. Fujita y T. Matsuo, «Selective and sensitive spectrophotometric determination of copper(II) and benzoylperoxide with N-ethyl-2-naphthylamine.», *Talanta*, vol. 42, pp. 77-81, 1995.
- [17] Lutfullah, S. Sharma, N. Rahman, S. Azmi, B. Iqbal, M. Amburk y Z. Al-Barwani, «UV spectrophotometric determination of Cu(II) in synthetic mixture and water samples.», *Journal of the Chinese Chemical Society*, vol. 57, pp. 622-631, 2010.
- [18] O. Turkoglu y M. Soylak, «Spectrophotometric determination of copper in natural waters and pharmaceutical samples with chloro(phenyl)glyoxime.», *Journal of the Chinese Chemical Society*, vol. 52, pp. 575-579, 2005.
- [19] V. K. Reddy, S. M. Reddy, P. R. Reddy y T. S. Reddy, «Simultaneous spectrophotometric determination of copper(II), vanadium(V), and iron(III) using 2-hydroxy-1-naphthaldehyde benzoylhydrazone.», *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 55, nº 5, pp.



435-439, 2000.

- [20] M. J. Ahmed, I. Jahan y S. Banoo, «A simple spectrophotometric method for the determination of copper in industrial, environmental, biological and soil samples using 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazoline.», *Analytical Sciences*, vol. 18, nº 7, pp. 805-810, 2002.
- [21] S. Abbasi, H. Khani y R. Tabaraki, «Determination of ultra trace levels of copper in food samples by a highly sensitive adsorptive stripping voltammetric method.», *Food Chemistry*, vol. 123, nº 2, pp. 507-512, 2010.
- [22] E. Deaver y J. H. Rodgers, «Measuring bioavailable copper using anodic stripping voltammetry.», *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 15, nº 11, pp. 1925-1930, 1996.
- [23] R. R. Brooks, B. J. Presley y I. R. Kaplan, «APDC-MIBK extraction system for the determination of trace elements in saline waters by atomic-absorption spectrophotometry.», *Talanta*, vol. 14, nº 7, pp. 809-816, 1967.
- [24] R. E. Santelli, M. Gallego y M. Valcárcel, «Preconcentration and atomic absorption determination of copper traces in waters by on-line adsorption-elution on a activated carbon minicolumn.», *Talanta*, vol. 41, nº 5, pp. 817-823, 1994.
- [25] C. Wiese y G. Schwedt, «Strategy for copper speciation in white wine by differential pulse anodic stripping voltametry, potentiometry with an ion-selective electrode and kinetic photometric determination.», *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, vol. 358, nº 6, pp. 718-722, 1997.
- [26] M. Jabber y W. I. Stephen, «The titrimetric determination of copper(I), copper(II) and copper metal in admixture.», *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie*, vol. 311, nº 3, pp. 259-264, 1982.
- [27] V. A. Rapisarda, S. I. Volentini, R. N. Farias y E. M. Massa, «Quenching of bathocuproine disulfonate fluorescence by Cu(I) as a basis for copper quantification.», *Analytical Biochemistry*, vol. 307, nº 1, pp. 105-109, 2002.
- [28] W. G. Sunda y S. A. Huntsman, «The use of chemiluminescence and ligand competition with EDTA to measure copper concentration and speciation in seawater.», *Marine Chemistry*, vol. 36, pp. 137-163, 1991.
- [29] N. Chimpalee, D. Chimpalee, S. Srithawepoon, T. Patjarut y D. T. Burns, «Flow-injection spectrophotometric determination of copper using bis(cyclohexanone)oxalyldihydrazone.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 304, nº 1, pp. 97-100, 1995.
- [30] P. Rumori y V. Cerdà, «Reversed flow injection and sandwich sequential injection methods for the spectrophotometric determination of copper(II) with cuprizone.»,



Analytica Chimica Acta, vol. 486, nº 2, pp. 227-235, 2003.

- [31] R. Páscoa, I. V. Tóht y A. Rangel, «Spectrophotometric determination of zinc and copper in a multi-syringe flow injection analysis using a liquid waveguide capillary cell: Application to natural waters.», *Talanta*, vol. 84, nº 5, pp. 1267-1272, 2011.
- [32] L. León, J. J. Maraver, J. Carbajo y J. D. Mozo, «Simple and multi-configurational flow-cell detector for UV-vis spectroelectrochemical measurements in commercial instruments.», *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 186, pp. 263-269, 2013.
- [33] L. Messori, A. Casini, C. Gabbiani, L. Sorace, M. Muniz-Miranda y P. Zatta, «Unravelling the chemical nature of copper cuprizone.», *Dalton Transactions*, vol. 21, pp. 2112-2114, 2007.
- [34] J. D. Mozo, M. Galán y E. Roldán, «Application of light emitting diodes to chemical analysis: Determination of copper in water.», *Journal of Chemical Education*, vol. 78, nº 3, pp. 355-357, 2001.
- [35] E. Zagatto, M. Arruda, A. O. Jacintho y I. L. Mattos, «Compensation of the Schlieren effect in flow-injection analysis by using dual-wavelength spectrophotometry.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 234, pp. 153-160, 1990.
- [36] H. P. Loock y P. D. Wentzell, «Detection limits of chemical sensors: applications and misapplications.», *Sensors and Actuators B*, vol. 173, pp. 157-163, 2012.
- [37] N. Yamamoto y K. Kuwata, «DFT studies on redox properties of copper-chelating cuprizone: Unusually high-valent copper(III) state.», *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, vol. 895, nº 1-3, pp. 52-56, 2009.
- [38] W. H. Organization, *Guidelines for Drinking-Water Quality.*, Geneve, 2011.
- [39] J. O. Nriagu, *Copper in the Environment. Part I. Ecological Cycling.*, New York: John Wiley & Sons, 1979.

CAPÍTULO 4

*Determinación de imazapir por espectrofotometría UV
mejorada mediante polarización electroquímica*



1. INTRODUCCIÓN

El imazapir (IZP), cuya estructura química se muestra en la Figura 1, es un herbicida no selectivo de amplio espectro que pertenece a la familia de las imidazolinonas [1][2], una familia de compuestos inaugurada en 1981 por la compañía American Cyanamid con la síntesis del herbicida imazapir y un conjunto de otros derivados cuya actividad herbicida es modulada mediante la adición de un sustituyente en la posición 5 del anillo de piridina, o alternativamente, intercambiando el sistema aromático por benceno o naftaleno.

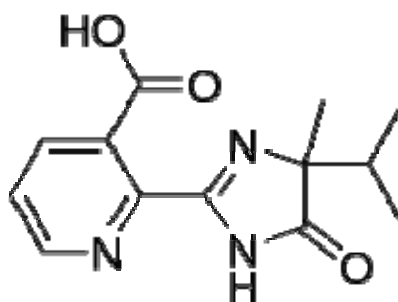


Figura 1. Molécula de imazapir.



Esta familia de herbicidas presenta una excelente actividad contra la vegetación perenne y la maleza, por lo que se usa principalmente para controlar la vegetación en bosques, estuarios, zonas residenciales e industriales, campos de golf o vías de ferrocarril. También se emplea en agricultura, en cultivos de caña de azúcar, maíz, girasol, palma aceitera, caucho y pastos.

Estas moléculas funcionan mediante la inhibición de la acetolactato-sintasa, una enzima esencial para la producción de aminoácidos de cadena larga como valina, leucina o isoleucina [2]. Esta enzima no está presente en animales, por lo que estos herbicidas presentan una baja toxicidad para humanos, mamíferos, peces y abejas, siendo una alternativa a otros herbicidas perjudiciales para la salud [3][4].

La degradación de los herbicidas imidazolínicos se ha estudiado ampliamente en medios naturales [5]. Esta degradación consiste principalmente en la oxidación redox inducida por la luz del sol [6] con o sin la participación activa de los componentes del suelo y microorganismos del mismo [7][8]. En ambos mecanismos, las reacciones redox están además moduladas por los procesos de adsorción con iones metálicos en el suelo [9][10]. La mayoría de los estudios sobre la degradación de plaguicidas se basan en los procesos fotoquímicos y microbianos [11], aunque algunos autores han presentado métodos de degradación electroquímica a través de la oxidación [12].

El imazapir puede sufrir una hidrólisis rápida cuando se disuelve en agua, con tiempos de vida media de 3-4 días [13]. Sin embargo, su persistencia en suelos puede ser superior a varios meses, en función del pH y la composición del suelo [14].

La movilidad en suelos de las imidazolinonas ácidas está fuertemente influenciada por las propiedades del mismo, las más importantes de las cuales son el pH, la cantidad de materia orgánica y la cantidad de arcilla [15]. Estos herbicidas se protonan cuando disminuye el pH, disminuyendo las fuerzas de repulsión presentes cuando la molécula se encuentra disociada y aumentando la adsorción molecular [16]. Por su parte, los herbicidas básicos se adsorben sobre los coloides con carga negativa presentes en el suelo.



De todo esto se deduce que es necesario controlar cuidadosamente las dosis utilizadas y los periodos de seguridad para prevenir los riesgos ambientales que afecten a las plantas que no se desean tratar con el herbicida y a los demás cultivos. Sin embargo, estos herbicidas se caracterizan por un bajo nivel de aplicación, del orden de 100 g de ingrediente activo por hectárea. Consecuentemente, las concentraciones medioambientales esperadas a las que se podrían encontrar estos analitos hacen que su detección y análisis sean más complicados que los de otros herbicidas tradicionales.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, *Environmental Protection Agency*) establece tolerancias legales de imazapir que van desde 0.01 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en varias matrices como maíz, hierba, leche, carne, pollo, huevos, pescado y algunos otros derivados.

Además, la Administración de Comida y Fármacos (FDA, *Food and Drug Administration*) ha publicado varios métodos para analizar residuos de imazapir en diferentes productos agrícolas y alimenticios [17], para hacer cumplir con los requisitos legales. Todos estos métodos analíticos se basan en la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) o en la electroforesis capilar con detección ultravioleta (CE-UV), con límites de cuantificación de 0.01 y 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. Estos métodos también incluyen instrucciones para realizar un análisis de confirmación utilizando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS).

Otros métodos analíticos publicados posteriormente presentan límites de cuantificación muy bajos, del orden de 1 ng/mL , en muestras de suelo o en disolución. La mayoría de ellos se basan en métodos cromatográficos con etapas previas de extracción y preconcentración [18][19][20][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30][31][32][33], pudiéndose encontrar también alguna publicación que emplea inmunoensayos [34][35] o quimioluminiscencia fotoinducida [36][37].

Como puede comprobarse, todos los métodos analíticos publicados para la determinación del herbicida imazapir tienen una cosa en común: el empleo de una instrumentación de altas prestaciones, lo que requiere una gran inversión económica, tanto para su adquisición como para su mantenimiento. Esta



instrumentación también requiere de personal técnico altamente cualificado y bien entrenado para poner en práctica los diferentes protocolos de uso. Otro inconveniente que presentan estos métodos es que, debido a las estrictas necesidades de los mismos, no es posible el análisis in situ de las muestras de interés.

El comportamiento electroquímico del imazapir ha sido ampliamente estudiado sobre electrodos de mercurio. Éste muestra un primer pico asociado a la reducción del doble enlace 2,3-C=N del anillo imidazolínico [38] y otros picos a potenciales más negativos correspondientes a la reducción del anillo de piridina [39]. La posición de todos estos picos depende del pH, originándose los procesos de reducción a potenciales menos negativos en medios fuertemente ácidos.

Por otro lado, tanto el imazapir como sus productos de reducción absorben en la región ultravioleta del espectro. Además, los productos de reacción absorben también en la región visible presentando diferentes tonalidades en función del pH de la disolución de electrolisis, que van desde el amarillo pálido que se obtiene a pH muy ácidos hasta el naranja obtenido en medios alcalinos.

Toda esta información electroquímica y espectroscópica hace del imazapir un analito adecuado para intentar su determinación mediante un método espectroelectroquímico que permita obtener unos adecuados niveles de detección.

2. OBJETIVOS

En este capítulo se ha desarrollado un método espectroelectroquímico de análisis mediante inyección en flujo para determinar el imazapir presente en muestras acuosas. El equipamiento requerido para tal fin es un fotómetro UV, un sistema de propulsión de baja presión y un potencióstato de potencial único. Toda esta instrumentación es muy asequible económicamente y muy fácil de utilizar. También es necesario el empleo de un detector de flujo diseñado en nuestro laboratorio [40] y adaptado para este fin, permitiendo tanto la determinación óptica como la polarización de un electrodo de trabajo adecuado para mejorar el



rango lineal de respuesta y el límite de detección hasta conseguir alcanzar los valores de tolerancia legal establecidos para el imazapir.

Además, la instrumentación empleada en este nuevo método permite la automatización de las medidas e incluso la miniaturización para llevar a cabo el análisis de muestras in situ con equipos portátiles.

3. MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y disoluciones

El imazapir (Pestanal) fue adquirido en Riedel como estándar analítico (pureza superior al 99,9%) y fue usado sin purificaciones posteriores. Todos los demás reactivos usados eran de grado PA y se emplearon tal y como se recibieron del distribuidor.

Todas las disoluciones fueron preparadas usando agua de baja conductividad (18 M Ω /cm) purificada por un sistema Millipore Mili-Q a partir de agua destilada.

Las disoluciones de imazapir se almacenaron en recipientes cerrados y protegidos de la luz solar para evitar la descomposición del analito. Las disoluciones se desechaban después de tres días y se preparaban otras nuevas.

Se emplearon varias disoluciones de búfer para estudiar el comportamiento del imazapir a diferentes pH. Se prepararon los siguientes tampones [41]: NaAc/HAc a pH 3.4 y 5.0, K₂HPO₄/KH₂PO₄ a pH 7.0 y H₃BO₃/NaOH a pH 10.0. La fuerza iónica de todos estos búferes se ajustó a 0.6 M añadiendo las correspondientes cantidades de NaCl. Finalmente se eligió como disolución de trabajo una disolución acuosa de HCl 0.3 M (pH 0.5) con una fuerza iónica 0.6 M ajustada mediante la adición de NaCl.

Se probaron varios baños de electrolisis para la electrodeposición de los diferentes metales y aleaciones sobre un electrodo plano y una aguja, ambos de acero inoxidable.



Para el Pb se hicieron varios ensayos: a) disolución 0.1 M de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en HNO_3 0.1 M, b) disolución 0.1 M de $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en HNO_3 0.1 M, c) disolución de 70 g/l de PbSiF_6 y 75 g/l de H_2SiF_6 [42]. Con éste último baño se hicieron diversas pruebas añadiendo al mismo diferentes cantidades de agar-agar, ácido cítrico o gelatina como aditivo.

Para el Sn se empleó una disolución acuosa de $\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Para la aleación Sn/Pb se preparó con una disolución equimolar de Pb y Sn 0.1 M realizada disolviendo las cantidades necesarias de granalla de ambos metales en HNO_3 0.1 M. Para la electrodeposición de Zn se empleó una disolución de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 0.1 M.

Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente. Para los experimentos de reducción electroquímica, se eliminó el oxígeno mediante burbujeo previo de N_2 en las disoluciones de trabajo.

3.2. Instrumentación

Todas las medidas espectroscópicas se realizaron usando el espectrofotómetro UV-visible de doble haz de Varian Cary 1E (Aligent Inc., Santa Clara, CA), usando cubetas estándares de cuarzo y/o la celda espectroelectroquímica previamente descrita en la bibliografía y en esta tesis [40], en la configuración en la que dos agujas de acero inoxidable actúan como electrodo de trabajo y auxiliar, a la vez que hacen de canales de entrada y salida de fluido, respectivamente. La aguja de acero que actúa como electrodo de trabajo se recubre de Pb electrolítico en su interior.

Las medidas potencioestáticas se realizaron usando el potencioestado de tres electrodos BAS 100B (BASi, West Lafayette, IN) conectado a un ordenador. El recubrimiento galvanostático de Pb se lleva a cabo utilizando un analizador electroquímico Autolab PGSTAT20 (EcoChemie, Netherlands) también conectado a un ordenador. Para los estudios preliminares sobre las mejores condiciones de electrodeposición se utilizó un estativo C3 para electrodos sólidos de BASi, con un sistema de tres electrodos formado por un electrodo de Ag/AgCl (BASi, MF-2079) como electrodo de referencia y un electrodo de punta de Pt como electrodo auxiliar. Como electrodo de trabajo se emplearon electrodos sólidos de diferentes



metales que fueron fabricados en nuestro laboratorio o la aguja de acero inoxidable de la celda de flujo.

Para la instalación FIA se empleó una bomba peristáltica Gilson Minipuls 3 (Gilson Inc., Middleton, WI) acoplada a una válvula de inyección manual de seis vías Omnifit (Diba Industries Inc., Danbury, CT; Código nº 001106). Todos los tubos del sistema de flujo, con un diámetro interno de 0.8 mm y fabricados en teflón, fueron adquiridos en Supelco (Sigma-Aldrich).

4. ESTUDIOS PARA LA ELECCIÓN DEL ELECTRODO DE TRABAJO

Como ya se ha comentado, casi todos los estudios electroquímicos publicados del imazapir y los herbicidas imidazolínicos se han realizado sobre un electrodo de mercurio [38][39]. Este electrodo tiene una amplia ventana de potenciales de trabajo en disoluciones acuosas, con medidas altamente reproducibles. Sin embargo, este material electródico presenta problemas medioambientales, por lo que no es adecuada su utilización para análisis de residuos en muestras naturales. En este caso, es necesario encontrar un material electródico donde el imazapir muestre un comportamiento redox similar al reportado para el electrodo de mercurio.

Cuando se utilizan otros materiales electródicos convencionales como carbono o platino, no se observa ningún pico de reducción para la molécula de imazapir porque la reducción del disolvente tiene lugar a potenciales menos negativos que la del herbicida, independientemente de cuál sea pH de trabajo.

Los materiales más adecuados para ser empleados como electrodo de trabajo para reducciones en este tipo de estudios serán metales *sp* como Pb, Sn, Zn, Cd, Al, In, etc., ya que éstos tienen los mayores valores de sobrepotencial para la descarga de hidrógeno [43], y favorecerán el desplazamiento de la descarga del fondo hacia potenciales mucho más negativos, permitiendo entonces la observación del pico debido a la reducción del herbicida.



Los materiales seleccionados como posibles candidatos a electrodo de trabajo fueron Zn, Pb y Sn puros y las mezclas azeotrópicas Sn/Pb (62/38) y Sn/Zn (15/85). Se hicieron dos tipos de estudios: por un lado, se estudió el comportamiento electroquímico del imazapir sobre electrodos sólidos de cada uno de estos materiales, y por otro, se repitió dicho procedimiento sobre electrodos de acero inoxidable recubiertos electrolíticamente con cada uno de estos metales o aleaciones, para lo que ha sido necesario ensayar diferentes procedimientos de electrodeposición.

4.1. Fabricación de los electrodos sólidos

Puesto que no es habitual encontrar electrodos comerciales de los materiales seleccionados, es necesario fabricarlos, de forma que sean de fácil manipulación, robustos y compatibles con el estativo C3 de BASi en el que se realizarán las posteriores medidas voltamétricas. Por este motivo, se tomó como modelo el electrodo de carbono de 3.0 mm de diámetro, MF-2012, comercializado por BASi.

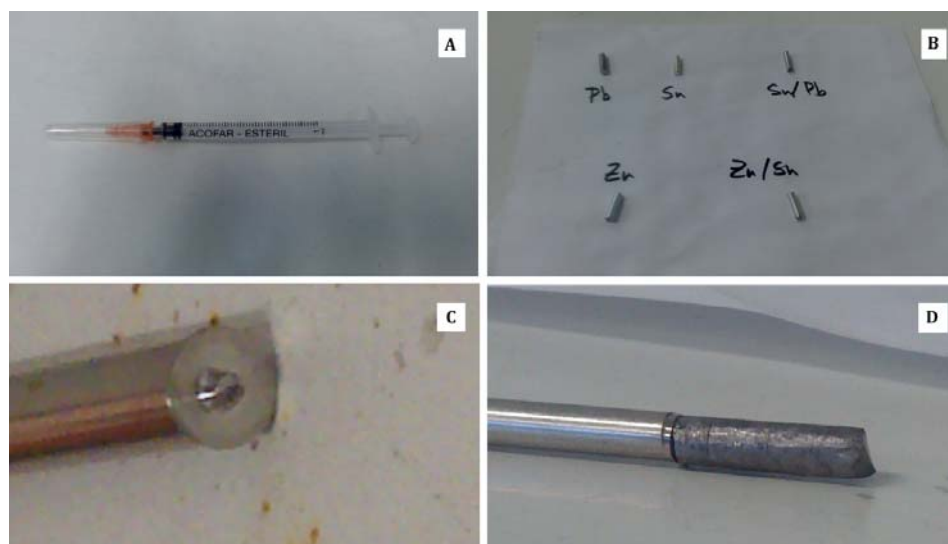


Figura 2. A) Jeringa de 1 mL empleada para realizar la funda exterior de los electrodos sólidos. B) Cilindros de los diferentes materiales electródicos. C) Detalle de la forma puntiaguda tallada en la barra de acero inoxidable para realizar el contacto con el cilindro metálico. D) Unión de la barra de acero inoxidable y el cilindro del metal correspondiente.



Para fabricarlos, se emplea una jeringa de insulina como base para fabricar la funda aislante del electrodo (Figura 2A). Una vez mecanizada para darle el diámetro adecuado, se coloca en el interior una pieza cilíndrica del material deseado (Figura 2B y 2C). Una barra cilíndrica de acero inoxidable se comprime contra la pieza anterior para favorecer un buen contacto entre ambas, ya que esta barra servirá para hacer el contacto eléctrico con el potencióstato en su parte superior (Figura 2D).

Finalmente, se rellena el interior de la jeringa con pegamento epoxi y, una vez que ha curado el adhesivo, se corta la punta de la jeringa para exponer el material (Figura 3), que debe ser rectificad con papel abrasivo y pulido con polvo de alúmina hasta obtener una superficie de espejo.

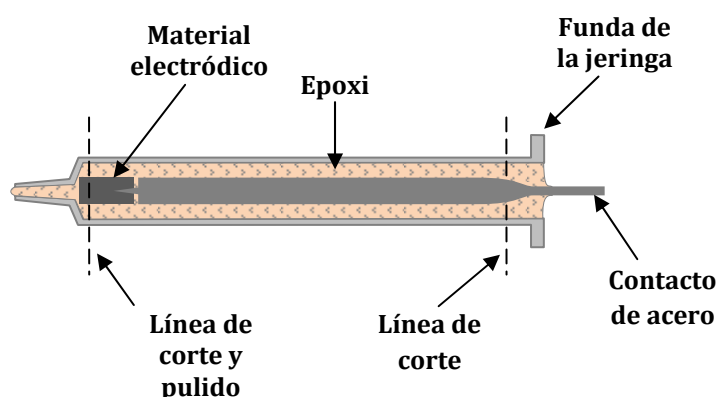


Figura 3. Diagrama de los electrodos sólidos fabricados con diferentes materiales metálicos.

El electrodo tendrá finalmente una longitud de 7.5 cm y un diámetro externo de 6.4 mm, mientras que el diámetro de la superficie metálica será de 3.0 mm.

Los cilindros de los diferentes metales y aleaciones mostrados en la Figura 2B se fabrican fundiendo granalla de los diferentes metales en una mufla, según los puntos de fusión indicados en la Tabla 1.



Tabla 1. Algunas propiedades físicas de los diferentes metales y aleaciones empleados.

Metal	Punto de fusión (°C)	Densidad (g/cm ³)	%
Pb	328	11.34	
Sn	232	7.39	
Zn	420	7.14	
Sn/Pb	183	-	61.9 Sn 38.1 Pb
Sn/Zn	199	-	14.9 Sn 85.1 Zn

Una vez fundidos se vierten en moldes tallados sobre un ladrillo refractario y se espera a que se enfríen (Figura 4). A continuación, se tornean para obtener piezas cilíndricas de 3.0 mm de diámetro.



Figura 4. Barras de los diferentes metales y aleaciones obtenidas tras verter granalla fundida en un molde tallado sobre un ladrillo refractario.

Por otro lado, para realizar los experimentos de deposición de los diferentes metales y aleaciones, se construyen dos electrodos de acero inoxidable mediante un proceso similar. Para ello, se realizan dos barras de dicho material como la que se muestra en la Figura 5. Con una de esas barras se trabaja como en el caso de los electrodos anteriores, introduciéndola en una funda de jeringa y rellenándola de pegamento epoxi. Seguidamente, se corta la punta de la jeringa y se pule la superficie del electrodo.



Figura 5. Barra de acero inoxidable empleada en la fabricación de los electrodos en los que se realizarán las pruebas de electrodeposición.

A la otra barra de acero inoxidable se le coloca una funda de plástico termo retráctil, obteniéndose un electrodo como el mostrado en la Figura 6, que se empleará para probar procedimientos de deposición que requieran altas temperaturas y, por tanto, la introducción de este electrodo en la mufla.



Figura 6. Electrodo de acero inoxidable para pruebas de recubrimiento a alta temperatura.

4.2. Determinación de la ventana de potencial para cada metal o aleación

En primer lugar, se va a determinar la ventana de potenciales de trabajo del electrodo plano de acero inoxidable a diferentes valores de pH, para ver si con este electrodo es posible observar la reducción del imazapir. Para ello, se realizan voltagramas cíclicos de reducción de dos disoluciones tamponadas a pH 1 y pH 10 en una celda electroquímica convencional situada en el estativo C3 de BAS para



electrodos sólidos. El sistema electródico está formado por un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un electrodo auxiliar de Pt y el electrodo de disco de acero inoxidable como electrodo de trabajo.

Para ambos valores de pH, se observa que la descarga del fondo tiene lugar a un potencial cercano a -1000 mV. Con este dato, se realizan voltagramas cíclicos de reducción de disoluciones de imazapir 1 mM en los dos búferes anteriores, no observándose señales debidas a la reducción del herbicida. Estos resultados llevan a la conclusión de que el acero no es un material electródico adecuado para estudiar la reducción del imazapir.

Una vez alcanzada esta conclusión, se pasó a determinar las ventanas de potenciales de trabajo de los diferentes electrodos construidos con metales masivos, usando para ello una disolución de búfer a pH 3.3. Se ha elegido este búfer de forma arbitraria teniendo en cuenta que el pico de reducción de imazapir se sitúa a un potencial más negativo cuanto más alto sea el valor de pH [38]. Por esta razón, será más sencillo detectar la señal debida a la reducción del herbicida si se emplea una disolución a pH ácido.

En una celda electroquímica convencional, llena de la disolución de búfer antes mencionada y situada en el estativo C3 para electrodos sólidos de BAS, se realizan experimentos de voltametría de pulso diferencial con cada uno de los electrodos metálicos previamente pulidos con polvo de alúmina.

La Figura 7 muestra los voltagramas obtenidos para los diferentes electrodos, en los que se pueden observar las diferentes ventanas de potenciales de trabajo obtenidas.

De ella, se puede concluir que el Zn y la aleación Sn/Zn son los materiales menos adecuados, ya que la descarga del fondo tiene lugar a potenciales muy positivos. Por el contrario, el Sn y el Pb son los metales que muestran mejores resultados, ya que, con ellos, la descarga del fondo se produce a partir de -1200 mV, mejorando por tanto, la ventana de trabajo que se había obtenido para el acero inoxidable. Por último, la aleación Sn/Pb presenta un comportamiento muy similar al del acero inoxidable.

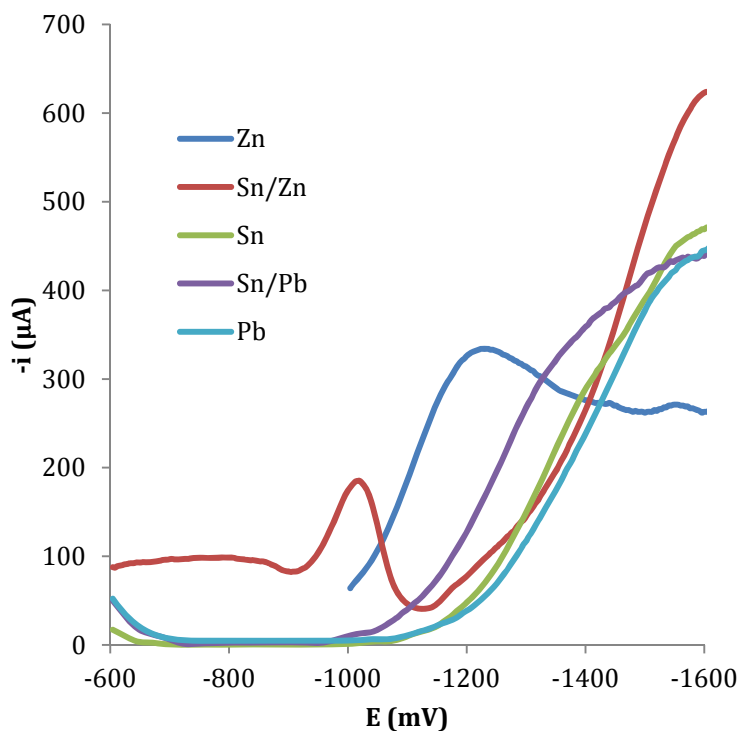


Figura 7. Voltagramas de pulso diferencial obtenidos con electrodos de trabajo masivos de diferentes metales o aleaciones en una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3.

4.3. Electrodeposición de diferentes metales y aleaciones sobre el electrodo plano de acero inoxidable

Puesto que el fin último de todas estas experiencias es encontrar un electrodo adecuado para observar la reducción de imazapir que además sea compatible con la celda electroquímica de flujo, se va a estudiar la electrodeposición de los diferentes metales y aleaciones antes citados sobre un electrodo plano de acero inoxidable. El objetivo es tener una idea aproximada del resultado de dichos procesos para luego realizar el recubrimiento interno de la aguja de acero inoxidable que actúa como electrodo de trabajo en la celda de flujo.

Todas las electrolisis se realizaron a potencial controlado, registrando la carga que se deposita sobre el electrodo. Para todas ellas, se empleó un sistema electródico formado por un electrodo de referencia de Ag/AgCl, un electrodo



auxiliar de Pt y el electrodo de disco de acero recién pulido (Figura 8) como electrodo de trabajo.

Con todos los metales y aleaciones se procede de igual forma: se prepara el baño electrolítico, se realiza un voltagrama de pulso diferencial para elegir el potencial de reducción y se realiza la electrolisis al potencial seleccionado.

● **Electrodeposición de Pb.** Para depositar el plomo, se probaron dos sales diferentes: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Se realizaron dos disoluciones, una con cada sal de plomo, con una concentración 0.1 M en HNO_3 0.1 M.

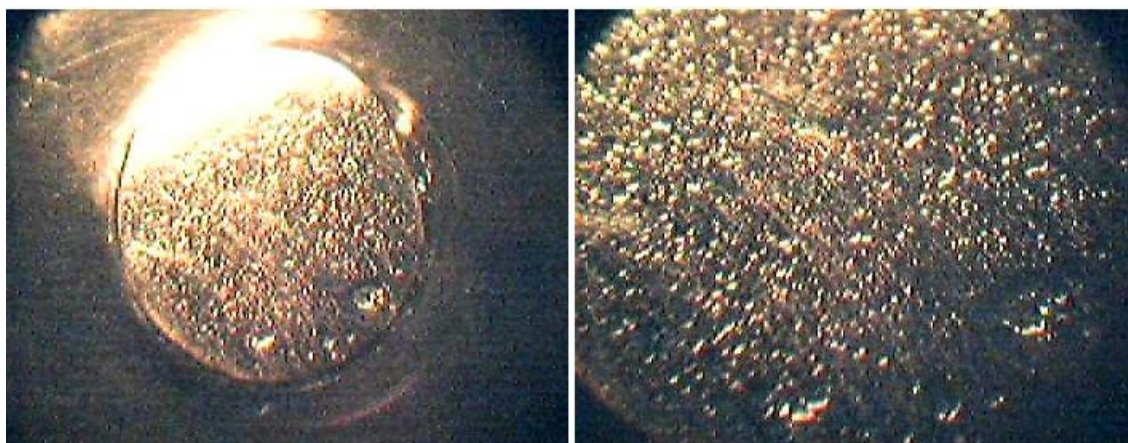


Figura 8. Fotografías que muestran el estado de la superficie de acero inoxidable tras el proceso de pulido. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces.

El VPD para la disolución de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ muestra un pico debido a la reducción del $\text{Pb}(\text{II})$ con un máximo sobre -700 mV. Antes de realizar las electrodeposiciones, se calcula la cantidad de carga que debe pasar para tener una película de Pb de $5 \mu\text{m}$ de espesor y 3 mm de diámetro sobre la superficie electródica de acero inoxidable. Se obtiene una carga teórica de 0.37 C.

Se eligió en primer lugar un potencial de electrolisis de -740 mV, pero la capa de Pb obtenida se desprendía con facilidad de la superficie. Entonces, se decidió tomar un valor de potencial donde la corriente de reducción fuera más baja. Se



probaron diversos valores de potencial hasta que se obtuvo una capa uniforme y resistente de Pb sobre la superficie a un potencial de -450 mV.

Seguidamente, se probó con la disolución de $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ para ver si se obtenían resultados diferentes. El VPD de esta disolución muestra un pico debido a la reducción del Pb(II) con un máximo sobre -600 mV.

Se eligió este valor de potencial para comenzar con las pruebas de electrolisis, pero, de nuevo, se obtenían capas de plomo poco uniformes y débilmente adheridas a la superficie. Actuando como con la disolución anterior, se probaron diversos valores de potencial hasta obtener una capa de plomo que cubrió totalmente la superficie electródica a -450 mV. La Figura 9 muestra el estado de la superficie de plomo, donde se puede ver que ésta no es uniforme, sino que presenta claramente la formación de múltiples cristales metálicos.

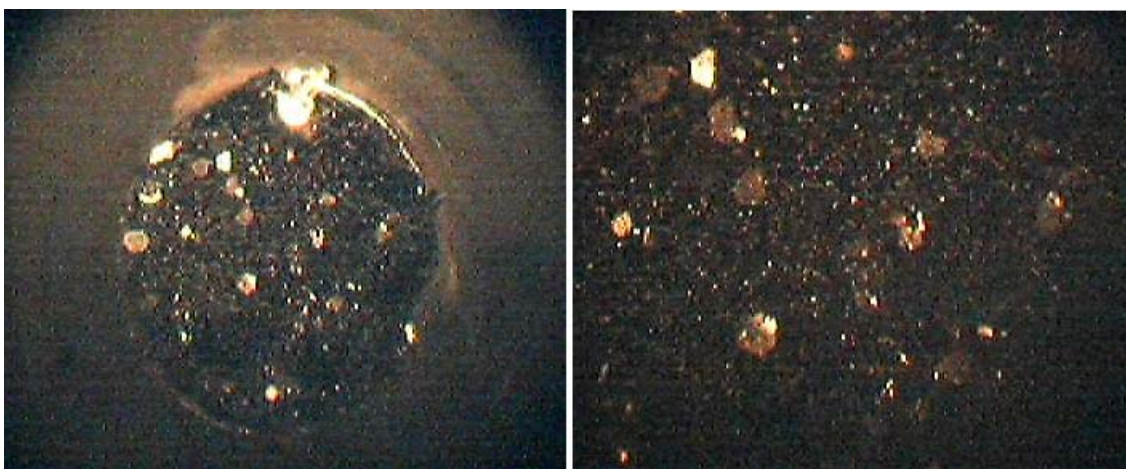


Figura 9. Fotografías que muestran el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces.

Una vez obtenida la superficie de Pb, se utiliza este electrodo como electrodo de trabajo para realizar un VPD de una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3 para comprobar la ventana de trabajo del mismo. En dicho voltograma, se observa la descarga del fondo sobre -1300 mV, un valor similar al obtenido con el electrodo de plomo masivo.



● **Electrodeposición de Sn.** Para depositar el estaño, se utilizó una disolución de $\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1 M. El VPD para dicha disolución muestra dos picos debidos a la reducción del estaño: el primero, con un máximo sobre -450 mV, correspondiente con el paso de Sn(IV) a Sn(II), y el segundo, con máximo a -515 mV, debido al paso de Sn(II) a estaño metálico.

Antes de realizar las electrodeposiciones, se calcula la cantidad de carga que debe pasar para tener una película de Sn de 5 μm de espesor y 3 mm de diámetro sobre la superficie electródica de acero inoxidable. Se obtiene una carga teórica de 0.84 C.

Se eligió en primer lugar un potencial de electrolisis de -475 mV, considerando el tomar un valor de potencial donde la corriente de reducción fuera baja para intentar obtener un depósito estable. Sin embargo, para este valor de potencial, era necesario un tiempo de electrolisis de casi 20 minutos para alcanzar la carga requerida. Por esta razón, se probaron diferentes valores de potencial hasta alcanzar un compromiso entre un tiempo de electrolisis no muy elevado y la obtención de un depósito metálico estable. Finalmente, se decidió que el valor más adecuado para realizar la electrodeposición de estaño es -600 mV. Con este potencial se obtiene un recubrimiento como el que se muestra en la Figura 10, donde se observa que el depósito no es totalmente uniforme, sino que presenta zonas con aspecto cristalino rodeadas de un material más mate.

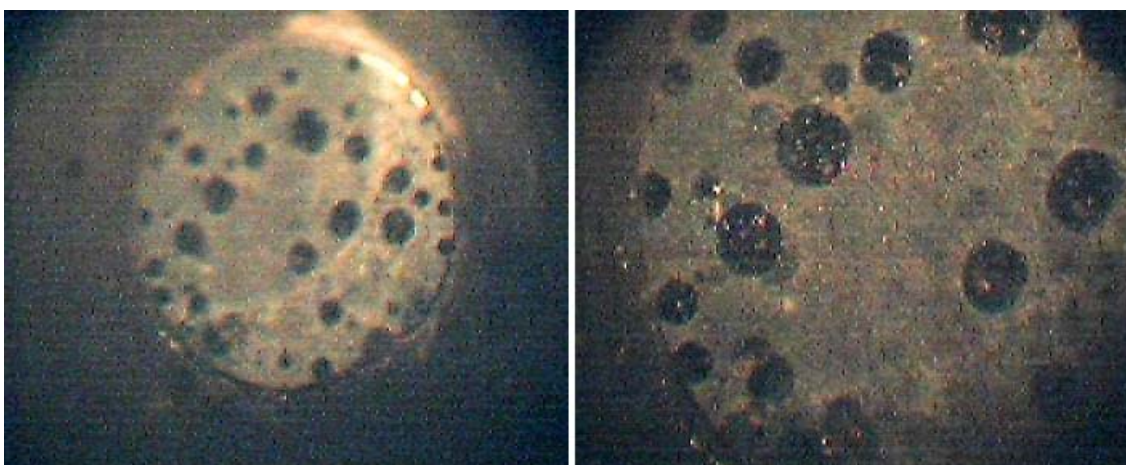


Figura 10. Fotografías que muestran el estado de la superficie de estaño tras el proceso de electrodeposición. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces.



Una vez obtenida la superficie de Sn, se utiliza este electrodo como electrodo de trabajo para realizar un VPD de una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3 para comprobar la ventana de trabajo del mismo. En dicho voltagrama, se observa la descarga del fondo comienza sobre -1250 mV, de nuevo un valor similar al obtenido con el electrodo de estaño masivo.

● **Electrodeposición de Zn.** Para depositar el zinc, se utilizó una disolución de $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1 M. El VPD para dicha disolución muestra un pico debido a la reducción del zinc, con un máximo sobre -1250 mV.

Antes de realizar las electrodeposiciones, se calcula la cantidad de carga que debe pasar para tener una película de Zn de 5 μm de espesor y 3 mm de diámetro sobre la superficie electródica de acero inoxidable. Se obtiene una carga teórica de 0.74 C.

Se eligió en primer lugar un potencial de electrolisis de -1250 mV, para ver qué resultado se obtenía. Sin embargo, para este valor de potencial, se obtenía un recubrimiento muy poco uniforme, con zonas no recubiertas. Por esta razón, se probaron diferentes valores de potencial hasta obtener un depósito totalmente uniforme de estaño a -1450 mV. En la Figura 11 se observa el resultado obtenido, mostrando una superficie totalmente recubierta y uniforme.



Figura 11. Fotografías que muestran el estado de la superficie de zinc tras el proceso de electrodeposición. La imagen de la izquierda muestra la superficie aumentada 40 veces, y la de la derecha, 90 veces.



Una vez obtenida la superficie de Zn, se utiliza este electrodo como electrodo de trabajo para realizar un VPD de una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3 para comprobar la ventana de trabajo del mismo. En dicho voltograma, se observa la descarga del fondo comienza sobre -1400 mV, un valor mejor que el obtenido con Pb y Sn y que el obtenido con el electrodo masivo de cinc.

● **Electrodeposición de Sn/Pb.** Se decidió utilizar una disolución equimolar de ambos metales para realizar la electrodeposición conjunta de estaño y plomo. Para ello, se decidió sintetizar las sales de nitrato de ambos metales a partir de granalla y HNO₃ concentrado. Se prepararon ambas por separado añadiendo los mismos moles de ambos metales para obtener una disolución equimolar. Con este procedimiento se evitaría la posible precipitación de sales de Pb por reacción con los aniones de la sal de Sn.

Una vez obtenida la mezcla, de aspecto lechoso por la suspensión de partículas, se realiza un VPD para seleccionar el potencial de electrolisis. El voltograma muestra un pico muy estrecho y alto debido a la reducción del Sn y otro, más ancho, a -675 mV, probablemente debido a la contribución de ambos iones.

Antes de realizar las electrodeposiciones, se calcula la cantidad de carga que debe pasar para tener una película de Sn/Pb de 5 μm de espesor y 3 mm de diámetro sobre la superficie electródica de acero inoxidable. Se obtiene una carga teórica de 0.6 C, suponiendo una contribución al 50% de ambos metales. Sin embargo, en la práctica, el Sn tendrá una mayor contribución puesto que se reduce a un potencial menos negativo.

En una primera deposición, eligiendo un valor de potencial de -675 mV, se observa que ha crecido una capa oscura similar a la de Pb en la parte exterior del electrodo. Esta capa era muy débil y se eliminó con un chorro de agua, dejando al descubierto una capa interna con aspecto similar a la obtenida para el estaño. Este hecho hace pensar que primero se produjo el depósito de Sn y posteriormente, en su superficie, se depositó el plomo.



Para intentar obtener una deposición conjunta y no por capas, se probaron distintos valores de potencial y distintos tiempos de electrolisis, sin obtener resultados satisfactorios, por lo que se decidió dejar a un lado la electrodeposición de esta aleación, y por extensión, la de la aleación Sn/Zn.

4.4. Elección del material electródico

La Figura 12 muestra los diferentes voltagramas de pulso diferencial obtenidos para una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3 cuando se emplean los electrodos de diferentes metales electrodepositados sobre acero inoxidable. La aparición de un pico sobre -900 mV para el caso del Pb es debido a que la superficie electródica no está totalmente recubierta o a que el depósito obtenido es relativamente poroso, ya que este pico se corresponde con la reducción del fondo sobre el acero inoxidable insuficientemente recubierto.

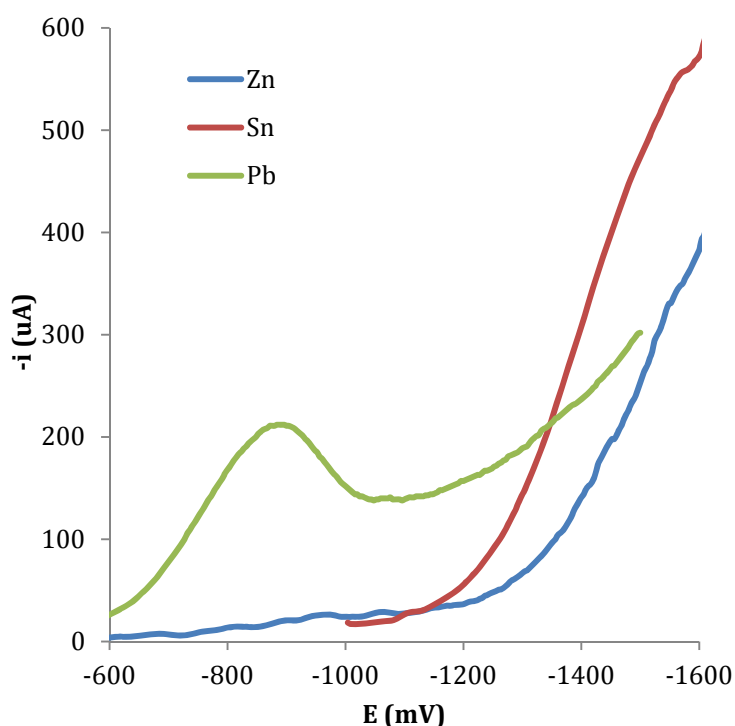


Figura 12. Voltagramas de pulso diferencial obtenidos con electrodos de diferentes metales electrodepositados sobre acero inoxidable en una disolución de búfer NaAc/HAc a pH 3.3.



A la hora de elegir el material más adecuado para estudiar la reducción del herbicida imazapir, deben tenerse en cuenta muchos factores e intentar alcanzar una situación de compromiso entre todos ellos.

Según la Figura 7, los electrodos masivos que presentan una ventana de potencial más adecuada son el Pb y el Sn. De entre estos dos, el Pb es el que presenta un menor potencial de electrodeposición y menos complicaciones a la hora de llevar a cabo este proceso. Además, se obtiene una superficie bastante uniforme.

Sin embargo, como puede observarse en la Figura 12, es necesario optimizar el proceso de electrolisis para evitar la aparición del pico debido a la reducción del protón sobre el acero subyacente, que puede interferir en la señal analítica del imazapir. A pesar de este hecho, se elige el plomo como material más adecuado, esperando que sea posible encontrar el pico de reducción del imazapir en su ventana de trabajo. Para ello será necesario optimizar el procedimiento de electrodeposición, tal y como se describe en el apartado 6 de este capítulo.

5. ESTUDIO DE IMAZAPIR SOBRE ELECTRODO MASIVO DE PLOMO

Para comprobar que efectivamente el plomo es un material adecuado para observar la reducción de imazapir, se van a realizar varias experiencias utilizando el electrodo de plomo masivo.

En primer lugar, se van a hacer voltagramas de pulso diferencial de varias disoluciones tamponadas con diferentes valores de pH. Su utilizó búfer $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ a pH 10, búfer $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ a pH 7 y búferes NaAc/HAc a pH 5 y pH 3.4.

Al introducir el electrodo de plomo recién pulido en las disoluciones de búfer básico y neutro, se observa la formación de un precipitado, presumiblemente de $\text{Pb}(\text{OH})_2$. Este hecho, hace que estos dos valores de pH sean descartados, ya que podrían provocar la destrucción de la capa electrodepositada de Pb.



Se utilizaron por tanto, las disoluciones de búfer de NaAc/HAc con valores de pH ácidos. Además, de las disoluciones a pH 5 y pH 3.4 ya preparadas, se prepararon otras tres disoluciones a pH 2.3, pH 1.2 y pH 0.5, acidificando la disolución tampón a pH 3.3 mediante adición de HCl concentrado.

Para elegir el valor óptimo de pH en el que se observa mejor el pico de reducción del IZP, se realizaron voltagramas de pulso diferencial de diferentes disoluciones de imazapir 1 mM en los diferentes búferes, realizando además otros voltagramas similares con las disoluciones de fondo sin el herbicida.

La Figura 13 muestra el resultado obtenido para la disolución de herbicida en la disolución tamponada a pH 0.5, en el que se muestra claramente la presencia de imazapir, con un hombro sobre -1000 mV y un pico bien definido a un potencial de -1100 mV, aproximadamente. La Figura 14 muestra la representación de los potenciales de pico para la reducción del IZP frente al pH, tras promediar y restar los voltagramas de fondo a los de imazapir.

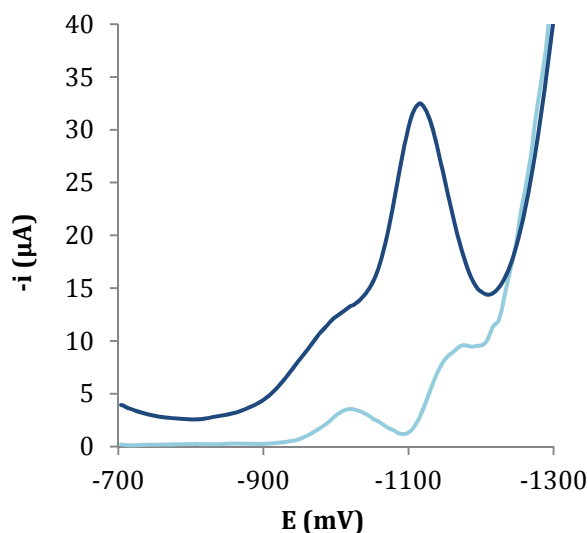


Figura 13. Voltagramas de pulso diferencial de una disolución tampón NaAc/HAc cuyo pH se ha ajustado a 0.5 mediante adición de HCl concentrado (línea celeste) y de imazapir 1mM en dicho fondo (línea azul) sobre un electrodo masivo de Pb/PbCl₂.

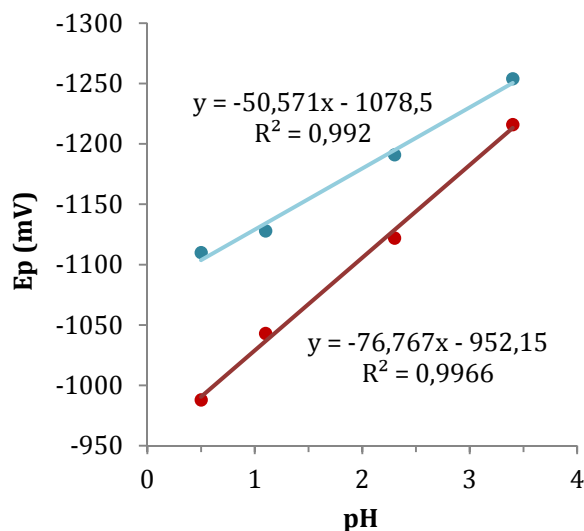


Figura 14. Representación del potencial de pico frente al pH de la disolución para la reducción del IZP en un electrodo masivo de Pb/PbCl₂. La serie roja se corresponde con la posición del primer pico de reducción y la serie azul con la posición del segundo pico.

Según lo obtenido en la Figura 14, y como ya se había descrito previamente en la bibliografía [38], los potenciales de pico se desplazan hacia valores más negativos conforme aumenta el valor de pH, siendo este desplazamiento mucho más pronunciado para el caso del primer pico de reducción. De esta gráfica se concluye que el pH más adecuado para trabajar es el más ácido; es decir, el búfer NaAc/HAc a pH 3.4, cuyo pH ha sido ajustado a un valor de 0.5 mediante la adición de HCl. Por este motivo, a partir de este momento se decide trabajar con disoluciones acuosas de HCl 0.3 M (pH = 0.5) con una fuerza iónica constante de 0.6 M, ajustada mediante la adición de NaCl. De esta forma, se eliminan otros reactivos presentes en el búfer y que no son necesarios.

Una vez optimizado el valor de pH, se realizan medidas de voltametría de pulso diferencial para una disolución acuosa de HCl 0.3 M a pH 0.5. Este mismo fondo se emplea para realizar una disolución de imazapir 1mM a la que también se le realizan las mismas medidas. Para ello, se emplea el electrodo masivo de Pb como electrodo de trabajo, un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un electrodo auxiliar de Pt. El objetivo es comprobar que es posible observar los picos debidos a la reducción del imazapir con este electrodo de trabajo. El resultado obtenido es similar al mostrado en la Figura 13.

Una vez registrados los voltagramas se observa que la superficie de plomo se ha vuelto blanquecina tras la realización de las medidas, posiblemente debido a la formación de una capa de PbCl_2 sobre la superficie de plomo, tras la interacción del metal con los iones Cl^- de la disolución de fondo. Por esta razón, se puede concluir que finalmente se trabaja con un electrodo masivo de Pb/PbCl_2 .

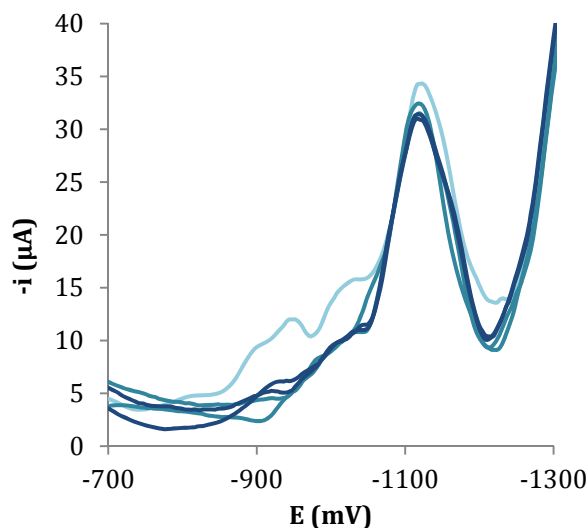


Figura 15. Voltagramas sucesivos de pulso diferencial de una disolución de IZP 1 mM en HCl 0.3 M ($\text{pH} = 0.5$) sobre un electrodo masivo de Pb/PbCl_2 .

La siguiente prueba a realizar fue comprobar que es posible obtener medidas reproducibles sin necesidad de pulir el electrodo, lo que se acercaría aún más a las condiciones de trabajo que tendrán lugar en la celda electroquímica. La Figura 15 muestra una serie de VPD realizados en la disolución de imazapir 1 mM en HCl 0.3 M. Estas medidas se han realizado de forma consecutiva, sin pulir el electrodo entre medida y medida.

Como puede observarse, el primer voltagrama (celeste) es diferente, pero todos los demás son bastante similares. De esta forma, puede deducirse que es posible trabajar con el electrodo de Pb/PbCl_2 sin necesidad de pulir entre medidas, lo que hace posible su empleo en medidas de flujo. En este punto se debe recordar que el Pb recubrirá la superficie interior de una aguja de acero inoxidable, donde es difícil, por no decir imposible, pulir entre medidas sucesivas.



6. FABRICACIÓN DEL ELECTRODO TUBULAR DE ACERO RECUBIERTO DE PLOMO

El siguiente desafío que se presentó fue la optimización del proceso de deposición del plomo sobre la superficie de acero inoxidable, con el fin de obtener una capa gruesa y compacta que no se deteriore en condiciones de flujo. Para ello, se utilizó en primer lugar el electrodo plano de acero inoxidable, y una vez optimizado el proceso, se pasó a realizar el recubrimiento interior del catéter de acero inoxidable que actúa como electrodo de trabajo en la celda espectroelectroquímica de flujo.

Para mejorar el depósito de plomo sobre la superficie de acero inoxidable se probaron numerosas opciones que iban desde el cambio de la disolución de electrolisis, hasta la realización de operaciones intermedias de modificación de la superficie. Tras cada una de las pruebas se realizaron voltagramas de pulso diferencial de una disolución 1 mM de imazapir en el fondo de HCl 0.3 M a pH 0.5 para comprobar que no aparece el pico debido a la reducción del disolvente sobre acero que se observó en la Figura 12 a un potencial cercano a -900 mV. La desaparición de este pico será la señal de que la superficie electródica está totalmente recubierta y de que se ha construido un electrodo de plomo.

A continuación se describen las pruebas más importantes que se llevaron a cabo:

► Las primeras pruebas se realizaron empleando la disolución de electrolisis descrita anteriormente, que consistía en una disolución de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0.1 M en HNO_3 0.1 M. Para llevar a cabo la electrolisis se establecía un potencial de -450 mV que se mantenía constante hasta que se superaba la carga necesaria para obtener una superficie metálica de 5 μm de espesor y 3 mm de diámetro. Se probaron distintos tiempos de electrolisis para aumentar el grosor de la capa electrodepositada, sin embargo, se observó la aparición de un crecimiento desordenado y dendrítico del plomo, lo que disminuía considerablemente la adhesión de la capa metálica en la superficie electródica.



Para intentar solucionar este problema, se probó con diferentes potenciales de electrolisis y diferentes tiempos de electrodeposición, pero en todos los casos se obtenían capas más o menos gruesas, poco adheridas a la superficie del electrodo. Estas capas eran fácilmente eliminadas cuando se lavaba la superficie con un chorro de agua, por lo que se decidió que este procedimiento de electrolisis no era adecuado.

► La siguiente opción que se contempló fue realizar una electrodeposición modulada. Esto es, intercalar etapas de reducción y oxidación para intentar pulir la superficie electrodepositada. En la tabla 2 se muestra un resumen de las diferentes pruebas que se realizaron, indicando el potencial aplicado en cada etapa, el tiempo que duró cada una de ellas y el número de ciclos que se realizaron.

Como se observa en la Tabla 2, con este procedimiento de electrolisis se podían dar tres situaciones fundamentalmente: o no se producía depósito, o el depósito era poco homogéneo o se formaba una capa de Pb muy ramificada que estaba poco adherida a la superficie de acero y, por lo tanto, acababa desprendiéndose tras su lavado con chorro de agua.

Tabla 2. Resumen de los ensayos realizados para la electrodeposición modulada.

	ETAPA 1	ETAPA 2	Nº CICLOS	RESULTADOS
PRUEBA 1	-425 mV (10 s)	-50 mV (1 s)	240	No hay depósito
PRUEBA 2	-500 mV (10 s)	-150 mV (1 s)	240	Se forma una bola de Pb
PRUEBA 3	-450 mV (10 s)	-150 mV (1 s)	240	No hay depósito
PRUEBA 4	-475 mV (10 s)	-150 mV (1 s)	240	Depósito poco homogéneo
PRUEBA 5	-475 mV (10 s)	-200 mV (1 s)	240	No hay depósito
PRUEBA 6	-500 mV (10 s)	-200 mV (1 s)	240	Se forma una bola de Pb
PRUEBA 7	-475 mV (10 s)	-250 mV (1 s)	240	Se forma una bola de Pb
PRUEBA 8	-475 mV (10 s)	-225 mV (1 s)	240	Se forma una bola de Pb
PRUEBA 9	-450 mV (10 s)	-200 mV (1 s)	240	Depósito poco homogéneo
PRUEBA 10	-450 mV (10 s)	-200 mV (1 s)	360	Depósito poco homogéneo
PRUEBA 11	-450 mV (10 s)	-200 mV (1 s)	480	Se forma una bola de Pb



▶ Otro procedimiento ensayado fue el que se conoce como electrodeposición dinámica. En este caso, se realizan barridos de reducción para realizar la electrodeposición hasta un determinado potencial y barridos de oxidación para pulir la superficie hasta otro potencial menos negativo. Este proceso se repite de forma cíclica. Es una estrategia similar al anterior, pero en este caso, el potencial va variando en cada etapa en lugar de permanecer constante.

Tabla 3. Resumen de los ensayos realizados para la electrodeposición dinámica.

	E deposición	E limpieza	Nº CICLOS	RESULTADOS
PRUEBA 1	-450 mV	-300 mV	160	No hay depósito
PRUEBA 2	-450 mV	-350 mV	240	No hay depósito
PRUEBA 3	-500 mV	-350 mV	160	No hay depósito
PRUEBA 4	-550 mV	-150 mV	60	No hay depósito
PRUEBA 5	-550 mV	-350 mV	120	Depósito ramificado
PRUEBA 6	-500 mV	-300 mV	120	Depósito poco homogéneo
PRUEBA 7	-500 mV	-300 mV	240	Depósito poco compacto

Este procedimiento consiste en hacer diversos ciclos de barrido lineal de potenciales desde un potencial inicial hasta un potencial negativo donde se produzca la reducción del plomo. Seguidamente, desde ese potencial, se hace un barrido de oxidación hasta un potencial menos negativo en el que se pule la superficie electródica eliminando las zonas de crecimiento desordenado (electropulido), y posteriormente, un nuevo barrido de vuelta al potencial inicial, para comenzar un nuevo ciclo. La velocidad de barrido fue de 20 mV/s para todas las experiencias. La Tabla 3 muestra un resumen de las otras condiciones de trabajo empleadas.

A partir de la prueba 7 se modificó un poco la estrategia, ya que cada 120 ciclos de electrodeposición y pulido se presionaba la superficie electródica sobre un vidrio para compactar la capa de plomo electrodepositada. Se probó a hacer hasta 7 etapas de deposición de 120 ciclos cada una (840 ciclos en total) con esta etapa intermedia de compactación. Sin embargo, aunque este procedimiento dio buenos



resultados, esta opción fue descartada debido a que es inviable a la hora de recubrir la cara interior de la aguja de acero inoxidable de la celda de flujo.

► Basada en los buenos resultados obtenidos en el procedimiento anterior, se diseñó una nueva estrategia que consistía en realizar barridos de electrodeposición y limpieza entre -500 y -300 mV, como en el último ensayo del procedimiento anterior. Tras cada etapa de 120 ciclos, se metía el electrodo en la mufla a 350°C durante 15 minutos. De esta forma, la capa de plomo depositada se funde y se reordena. Para estos experimentos se empleó el electrodo de acero recubierto con una funda termo retráctil, ya que el electrodo enfundado en resina epoxi se deforma a estas temperaturas tan elevadas.

Tras cada etapa de fusión en la mufla se observa que la superficie del electrodo adquiere un color amarillento. Este procedimiento no dio resultados satisfactorios, por lo que se desechó rápidamente.

► En este punto se cambió totalmente de estrategia de electrodeposición. Se empezó a trabajar con el método Betts para la purificación industrial de plomo [42]. Este procedimiento se basa en electrodeposiciones a corriente controlada de 15-25 mA/cm², obteniéndose un valor de potencial que oscila entre -300 y -600 mV. Con estas condiciones se obtienen depósitos metálicos mucho más compactos que en los casos anteriores.

En este procedimiento, la disolución de electrolisis tiene una concentración de 80 g/L de PbSiF₆·2H₂O y 100 g/L de H₂SiF₆. Con este baño electrolítico, se probaron diferentes tiempos de electrolisis y diferentes intensidades de electrodeposición (siempre dentro del rango recomendado en la bibliografía), hasta que se obtuvo un recubrimiento aceptable imponiendo una corriente de 10 mA/cm² durante 3 horas de electrolisis.

Con el electrodo de Pb obtenido se realizaron voltagramas de pulso diferencial de una disolución acuosa de HCl 0.3 M (pH 0.5) y de una disolución de imazapir 1 mM en dicho fondo. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 16, donde se observa claramente la aparición de un pico debido a la reducción del imazapir



sobre el fondo de la disolución, lo que indica que este procedimiento de electrodeposición es el adecuado.

Además, se observa la desaparición del pico que aparecía a -900 mV debido a la descarga del disolvente sobre el acero subyacente del electrodo. Esto indica que ahora el depósito de Pb es poco poroso y que recubre por completo el acero sobre el que está soportado, a diferencia de lo que ocurría con los otros baños ensayados.

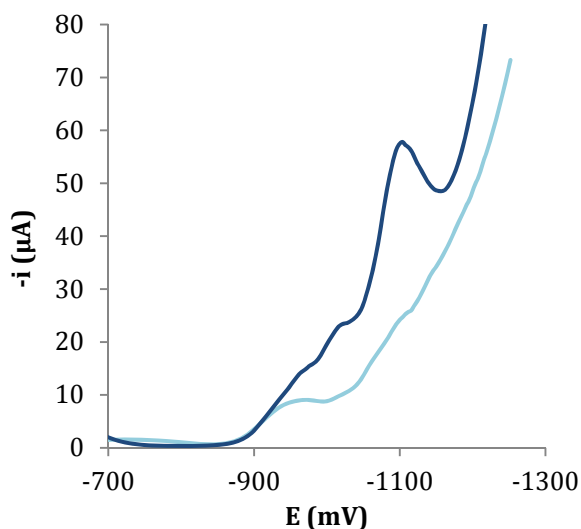


Figura 16. Voltagramas de pulso diferencial de una disolución de HCl 0.3 M a pH 0.5 (celeste) y de una disolución de IZP 1 mM en el fondo anterior (azul) sobre un electrodo de Pb/PbCl₂ depositado sobre acero inoxidable.

Al igual que ocurría para el electrodo masivo de plomo, tras la realización de los voltagramas se observa la formación de una capa blanquecina de PbCl₂ sobre la capa de plomo electrodepositada, por lo que se puede concluir que el electrodo de trabajo construido será SS/e-Pb/PbCl₂, donde SS es la abreviatura en inglés de acero inoxidable y la *e* indica que el plomo metálico se ha generado de forma electrolítica.

A pesar de obtener unos excelentes resultados, se probaron otras electrodeposiciones añadiendo al baño electrolítico diferentes aditivos con el fin de obtener una superficie más uniforme de Pb. En todas estas pruebas se mantuvieron los valores de densidad de corriente y de tiempo de electrodeposición anteriormente empleados.



La primera opción ensayada fue la adición de agar-agar, no observándose mejorías en los resultados. Otra opción fue la adición de diferentes cantidades de ácido cítrico, observándose un depósito bastante uniforme en la superficie del electrodo, pero granuloso en los bordes del mismo, como el que se muestra en la Figura 17. Sin embargo, a la hora de realizar los voltagramas de pulso diferencial de la disolución de fondo se observan nuevos picos que antes no aparecían y que pueden interferir en las medidas de imazapir, por lo que se concluye que este aditivo no es adecuado.



Figura 17. Fotografía que muestra el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición en el que se emplea ácido cítrico como aditivo para mejorar la calidad de la superficie electródica. La imagen muestra un aumento de 50 veces el tamaño real.

Finalmente, se probó con la adición de diferentes cantidades de gelatina comestible al baño de electrolisis, obteniéndose el mejor resultado tras la adición de 300 mg de la misma a los 10 mL de disolución de electrolisis, como se muestra en la Figura 18. En la fotografía se observa un depósito muy uniforme de plomo sobre la superficie de acero inoxidable. Los voltagramas de pulso diferencial obtenidos son muy similares a los mostrados en la Figura 16.

En resumen, las condiciones óptimas para la electrodeposición de plomo sobre una superficie de acero inoxidable son: densidad de corriente de 10 mA/cm², tiempo de electrolisis de 3 horas y una disolución formada por un 3% (peso/volumen) de PbSiF₆·2H₂O, un 14% (volumen/volumen) de H₂SiF₆ y 1% (peso/volumen) de gelatina alimentaria.

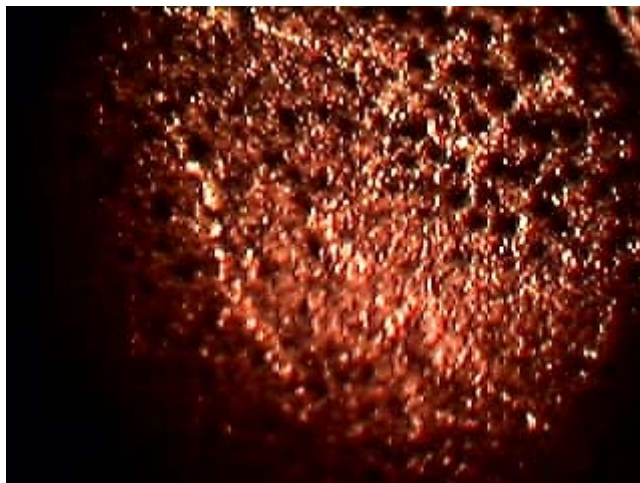


Figura 18. Fotografía que muestra el estado de la superficie de plomo tras el proceso de electrodeposición en el que se emplea gelatina comestible como aditivo para mejorar la calidad de la superficie. La imagen muestra un aumento de 80 veces el tamaño real.

Una vez optimizados todos los parámetros, se monta un dispositivo como el de la Figura 19 para realizar la electrodeposición de la cara interior de la aguja de acero inoxidable.

Previamente, se calcula el tiempo teórico necesario para recubrir toda la superficie de la aguja con una capa de 100 μm de espesor, obteniéndose un tiempo de casi 4 días. Como este tiempo es muy elevado, se probó a electrolizar durante 24 horas, haciendo pasar la disolución de electrolisis a través de la aguja con una velocidad de 3 mL/min.

El dispositivo de la Figura 19 no es muy adecuado para la realización de electrolisis, ya que los electrodos se encuentran a mucha distancia, lo que repercute en un aumento excesivo de la resistencia en la celda. Por esta razón, tras las primeras pruebas en las que se optimizaron los diferentes parámetros de electrodeposición, se pasó a electrolizar la aguja una vez que se encuentra colocada en la celda espectroelectroquímica de flujo. Para ello se hace recircular la disolución de electrolisis a una velocidad de 2 mL/min a través del catéter mientras se establece una densidad de corriente de 10 mA/cm² durante 3 horas.

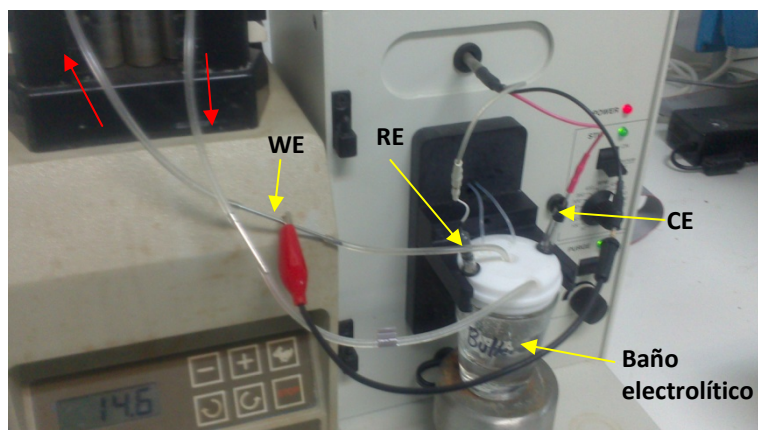


Figura 19. Fotografía que muestra el montaje empleado para las primeras pruebas de electrodeposición en la superficie interna de la aguja de acero inoxidable. Las flechas rojas indican el sentido del flujo.

Una vez transcurrido el tiempo de electrolisis se observa un crecimiento de la capa de plomo que aparece en la zona corriente abajo del electrodo de trabajo (Figura 20). Esto es totalmente previsible, debido a la disposición geométrica de los electrodos en la celda de flujo, ya que en esta parte del electrodo de trabajo es donde la resistencia eléctrica es menor y por tanto donde se depositará preferentemente el plomo.

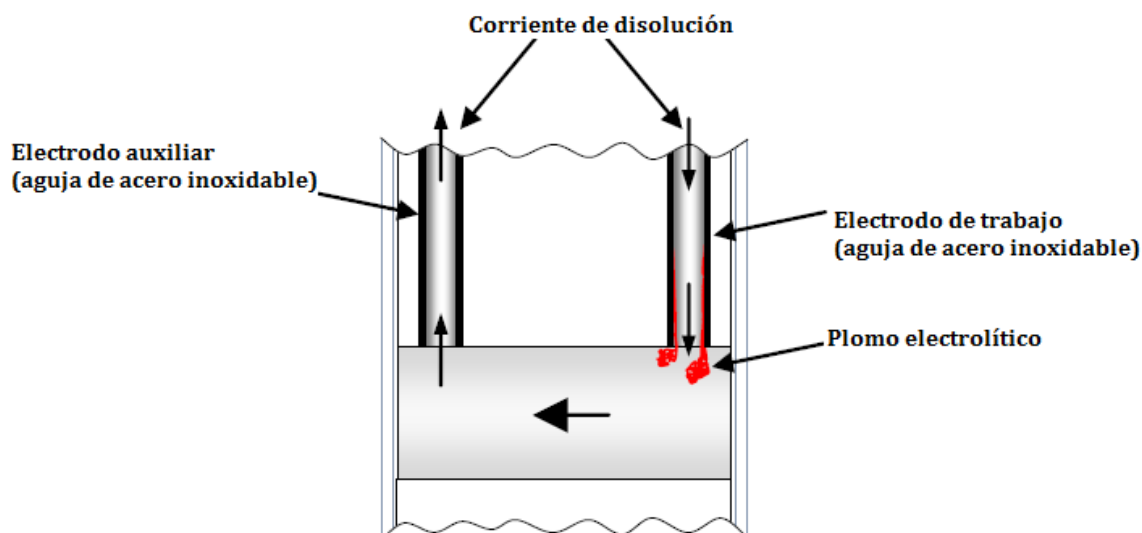


Figura 20. Diagrama que muestra la disposición geométrica de los electrodos en la celda de flujo y la forma en la que se deposita el plomo sobre el electrodo de trabajo (en rojo).



Como consecuencia habrá una parte de la aguja del acero que permanecerá insuficientemente recubierta de plomo, pero esto no va a afectar a la reducción de imazapir porque también existirá demasiada resistencia en dicha zona del electrodo como para que la reacción de reducción (tanto del imazapir como del disolvente) se lleve a cabo sobre esa parte de la superficie, por lo que este hecho no afectará de forma significativa a los resultados analíticos finales.

7. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La configuración elegida para el sistema FIA consiste en un único canal de flujo, como se muestra en la Figura 21. En él, la disolución de HCl 0.3 M a pH 0.5 se utiliza como disolución portadora, fluyendo a 1 mL/min. Se realizan inyecciones de 200 μ L de imazapir a diferentes concentraciones en dicha disolución portadora.

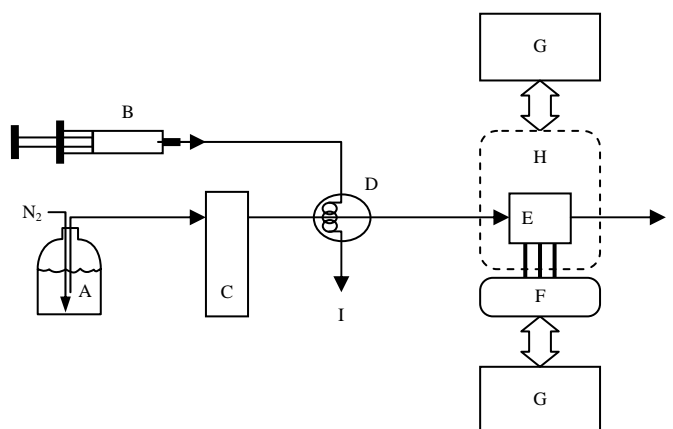


Figura 21. Diagrama del dispositivo FIA. A, disolución portadora; B, muestras o disoluciones estándares; C, bomba peristáltica; D, válvula de inyección de seis vías; E, celda espectroelectroquímica; F, potencióstato; G, ordenador; H, espectrofotómetro; I, residuos.

7.1. Optimización del potencial de trabajo

Según el voltagrama de pulso diferencial de la Figura 16, el potencial al que se reduce el imazapir sobre el electrodo de plomo electrodepositado sobre acero es de unos -1100 mV. Sin embargo, estas medidas se realizaron sobre un electrodo

plano en condiciones estáticas y ahora se pretende trabajar en condiciones de flujo utilizando la aguja de acero inoxidable con un recubrimiento de plomo electrofítico en su superficie interior.

Para la optimización del potencial de reducción del imazapir se realizaron varios experimentos en los que se mantenían constantes el flujo (2 mL/min), la concentración de imazapir (1 mM en HCl 0.3 M) y el volumen de inyección de las muestras de imazapir (500 μ L).

En estos experimentos se varió el potencial de electrolisis desde -450 hasta -650 mV. Se ha comprobado experimentalmente que los potenciales más negativos que -650 mV dan lugar a evolución de hidrógeno con la consecuente inestabilidad de la línea base. También se ha observado que al aplicar potenciales menores a -410 mV se produce la oxidación del plomo electrodepositado, lo que origina la destrucción del electrodo.

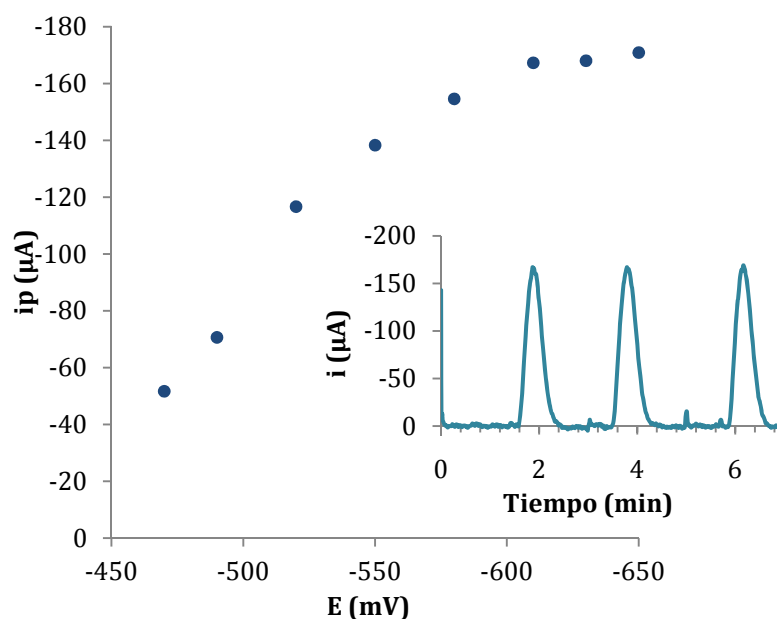


Figura 22. Dependencia de la intensidad de pico con el potencial aplicado. Cada punto representa el valor medio de tres inyecciones de 500 μ L de imazapir 1 mM en una disolución portadora de HCl 0.3 M a pH 0.5 que fluye a 2 mL/min. Inserto: respuesta electroquímica del sistema FIA cuando se aplica un potencial de -610 mV.

La Figura 22 muestra la gráfica que se obtiene al representar la intensidad máxima del pico de reducción obtenido frente al potencial aplicado. De estos datos



se puede concluir que el potencial óptimo para llevar a cabo la reducción del imazapir es -610 mV.

7.2. Optimización de la longitud de onda de trabajo

Puesto que la celda espectroelectroquímica de flujo permite hacer medidas de absorbancia tanto en la región visible como en el rango UV, es posible determinar espectrofotométricamente el producto de electrolisis del imazapir, ya que éste tiene un máximo de absorción en torno a 390 nm. Es posible, por tanto, seleccionar dicha longitud de onda y registrar cómo varía la absorbancia cuando el imazapir de la disolución que fluye por el detector es electrolizado a un potencial de -610 mV.

La Figura 23 muestra el resultado obtenido cuando se inyectan volúmenes de 500 μ L de una disolución 1 mM de imazapir en una disolución portadora de HCl 0.3 M a pH 0.5. Como puede observarse, la señal obtenida es apenas apreciable, con una relación señal/ruido menor a 3, que es el mínimo establecido para que una señal sea considerada significativa.

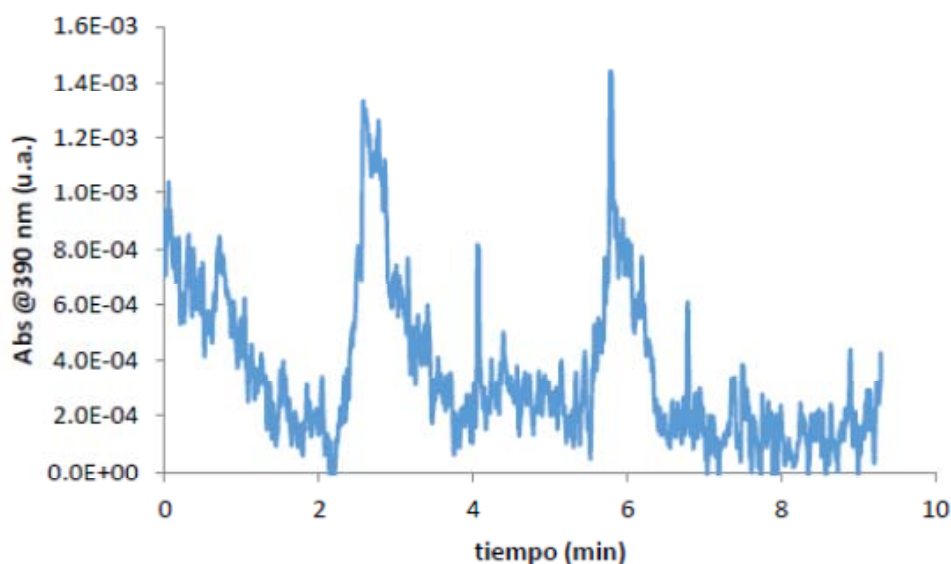


Figura 23. Respuesta óptica a 390 nm obtenida tras dos inyecciones de 500 μ L de imazapir 1 mM en HCl 0.3 M a pH 0.5. Flujo = 2 mL/min, E = -610 mV.



Es difícil mejorar este resultado, puesto que la banda de absorción de este compuesto en el visible tiene una intensidad relativamente baja y, además, ya se ha establecido en los capítulos anteriores que la conversión alcanzada en el detector es pequeña. Además, para aumentar la señal debida a la reducción de la molécula sería necesario aumentar el tiempo en el que tiene lugar la reacción electrofítica, bien aumentando el tiempo de contacto entre el electrodo y la disolución o aumentando la superficie electrofítica. Cualquiera de las dos opciones planteadas supondría modificar profundamente la geometría del detector, por lo que no se consideran viables.

Sin embargo, existe la posibilidad de realizar medidas en la zona ultravioleta del espectro electromagnético. Tanto el imazapir como sus productos de electrolisis tienen un amplio sistema de resonancia de dobles enlaces en la molécula: un anillo de piridina y uno de imidazol parcialmente conectados [12], por lo que presentan una marcada absorción en la zona ultravioleta (entre 220 y 280 nm). Como además la estructura molecular no cambia drásticamente tras la reducción, tanto el reactivo como el producto absorben en la misma zona.

En estas condiciones debería ser irrelevante mantener polarizado el electrodo de plomo para provocar la electrolisis del imazapir, puesto que el propio compuesto ya absorbe en la región ultravioleta. Sin embargo, cuando se registran espectros durante el proceso de electrolisis de una disolución de imazapir que se hace recircular continuamente por el detector, se observa que, conforme pasa el tiempo y avanza el proceso de reducción, la absorbancia va aumentando en la zona ultravioleta. Este hecho se debe a que el producto de la reacción de electrolisis tiene un coeficiente de absorción molar más grande que el imazapir de partida. Por lo que es conveniente polarizar el electrodo aunque se pretenda realizar una detección óptica, ya que esto aumentará considerablemente la sensibilidad del detector.

En la Figura 24 se muestra el aumento de absorbancia que tiene lugar en la zona ultravioleta cuando se hace recircular una disolución de 10 mL de imazapir 2×10^{-5} M en HCl 0.3 M a pH 0.5 con un flujo de 2 mL/min. Se registra un espectro de absorbancia cada 5 minutos de electrolisis.



El primer espectro (cero) se registra antes de aplicar el potencial de reducción. Este espectro, que corresponde exclusivamente al imazapir reactivo, se resta de los posteriores para que éstos reflejen sólo la ganancia de absorción debida a la aparición del producto de reducción. Se observa un aumento neto de la absorbancia, con un máximo a 242 nm, a medida que aumenta el tiempo de electrolisis. A este valor de longitud de onda se puede conseguir la mejor sensibilidad, ya que la señal muestra un incremento de 0,25 unidades de absorbancia cada 5 minutos de electrolisis. Por tanto, se selecciona este valor como longitud de onda de trabajo.

Hay que indicar que la Figura 24 muestra sólo los primeros 20 minutos de electrolisis, pasados los cuales, se supera la absorbancia unidad. Para consumir todo el reactivo fueron necesarias un total de 3 horas de electrolisis.

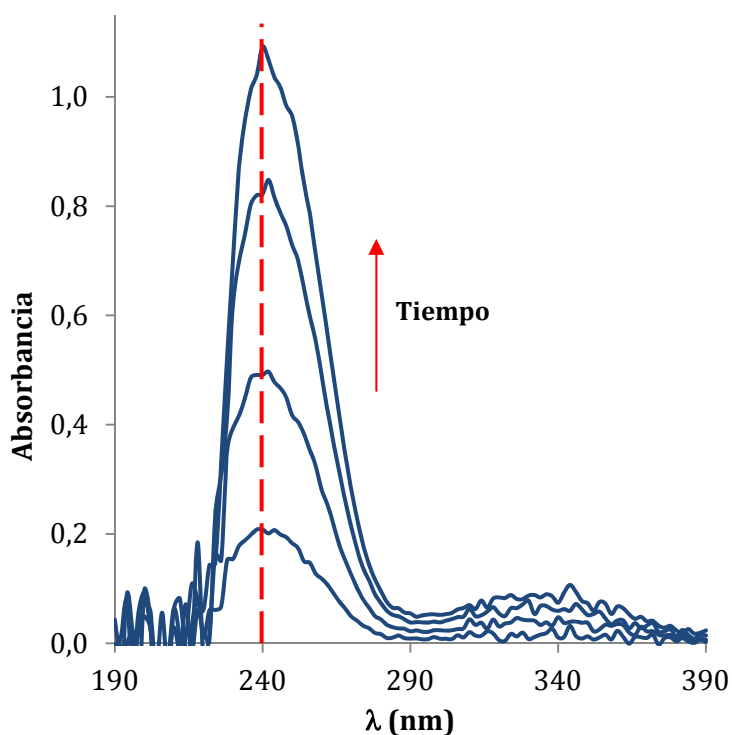


Figura 24. Espectro UV del seguimiento de la electrolisis a -610 mV de una disolución 2×10^{-5} M de imazapir. La disolución de imazapir se ha realizado con HCl 0.3 M a pH 0.5. El flujo de la disolución de electrolisis es 2 mL/min y el tiempo entre medidas espectrofotométricas es 5 minutos.



7.3. Optimización de los parámetros de flujo

Desafortunadamente, las condiciones de trabajo en sistemas de análisis mediante inyección en flujo [44] no permiten largos periodos de residencia de los analitos dentro del detector, lo que limita la conversión alcanzada en la reducción de imazapir. Es necesario por tanto optimizar el flujo y el volumen de inyección para alcanzar la máxima conversión posible, lo que repercutirá en la sensibilidad y el límite de detección del método.

En lo referente al flujo, es necesario imponer una velocidad lenta para aumentar el tiempo de residencia del analito en el detector. Esto afecta al rendimiento analítico del sistema FIA por lo que es necesario alcanzar una situación de compromiso de forma que el flujo sea lo suficientemente lento como para aumentar la sensibilidad del sistema, pero sin aumentar demasiado el tiempo necesario para realizar las medidas.

Por otra parte, es necesario considerar el rendimiento del sistema de propulsión, ya que un flujo demasiado lento da lugar a la generación de pulsos de flujo en la bomba peristáltica que se reflejan en la obtención de una línea base inestable.

Todas estas consideraciones conducen a la selección de un flujo de 1 mL/min, que es el flujo más lento que puede alcanzarse con la bomba peristáltica disponible sin que aparezcan pulsos.

Otro factor que influye en la conversión alcanzada en un proceso electroquímico, además del tiempo de contacto entre el electrodo y la disolución, son la relación superficie electródica/volumen de disolución, la concentración de analito o el potencial aplicado.

Una forma de aumentar la conversión consiste en disminuir el volumen de reactivo inyectado, lo que provocará que la mayor parte del analito esté en contacto con el electrodo, aumentando el rendimiento de la reacción electroquímica. Sin embargo, la disminución de volumen inyectado afecta también a la señal obtenida y al límite de detección del método. De nuevo, se requiere



establecer una situación de compromiso que permita la optimización de ambos parámetros. En este caso se eligió un volumen de inyección de 200 μL .

8. RESULTADOS ANALÍTICOS

Una vez optimizados todos los parámetros necesarios para la puesta en marcha del sistema FIA, se comprueba la capacidad del método propuesto para la determinación de imazapir. Para ello, se preparó una disolución madre de imazapir 1×10^{-3} M en HCl 0.3 M a pH 0.5. Esta disolución se utilizó para preparar disoluciones diluidas de diferentes concentraciones.

Se realizaron 5 inyecciones de cada una de las disoluciones hija, obteniéndose la curva de calibración mostrada en la Figura 25, donde cada punto representa el valor promedio obtenido para la absorbancia a 242 nm de las 5 inyecciones de muestra.

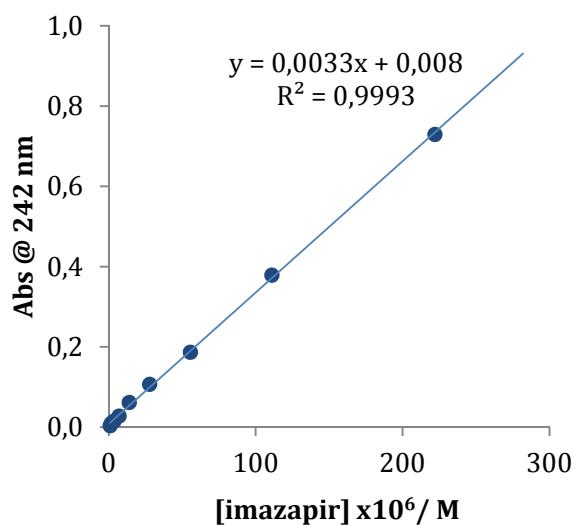


Figura 25. Curva de calibración para la determinación de imazapir. Potencial de electrolisis: -610 mV; longitud de onda: 242 nm; velocidad de flujo: 1 mL/min; volumen inyectado: 200 μL ; disolución portadora: HCl 0.3 M con fuerza iónica 0.6 M y pH 0.5.

Se obtiene un comportamiento lineal durante más de dos décadas de concentración entre 1×10^{-6} y 2.2×10^{-4} M. Se observa además una buena reproducibilidad y una RSD prácticamente constante en todo el rango lineal de en



torno al 5%. El límite de detección (LOD), estimado como tres veces la desviación estándar de las medidas para la concentración más baja dividida por la pendiente ($3\sigma/\text{pendiente}$) [45] es de 0.7×10^{-6} M. El límite de cuantificación (LOQ), definido como $10\sigma/\text{pendiente}$ es de 2.5×10^{-6} M. Si el LOQ se transforma en $\mu\text{g/mL}$, se obtiene un valor de 0.6, que se encuentra dentro del intervalo de tolerancias legales de IZP admitido por la EPA.

La determinación de una muestra de IZP puede llevarse a cabo en 30 s, por lo que el rendimiento analítico del sistema es de 120 muestras/hora. El único tratamiento previo que debe hacerse es acidificar la muestra con HCl hasta obtener un pH de 0.5, y ajustar la fuerza iónica hasta 0.6 M.

Algunos autores han usado disoluciones salinas para extraer el imazapir presente en muestras de suelo [22] [25]. Estos extractos podrían ser analizados directamente con el método FIA aquí descrito, tras un sencillo acondicionamiento de las muestras. De esta forma, sería posible evitar las etapas de extracción en fase sólida previas al análisis cromatográfico, lo que simplificaría bastante el método de determinación de imazapir.

9. CONCLUSIONES

Los resultados analíticos obtenidos demuestran que la espectroelectroquímica es una estrategia adecuada para analizar el contenido de imazapir presente en muestras acuosas. Se ha demostrado también que controlando el tiempo de electrolisis, es posible aumentar la absorbancia en el rango UV hasta alcanzar el límite de detección deseado.

Se ha realizado un estudio profundo para seleccionar el material electródico más adecuado y fabricar con él un electrodo que permita su instalación en la celda espectroelectroquímica de flujo empleada. Se ha desarrollado un método de electrodeposición en flujo para recubrir con plomo la superficie interior de una aguja de acero inoxidable, creando un electrodo de SS/*e*-Pb/PbCl₂; es decir, un electrodo soportado sobre acero inoxidable de plomo electrolítico sobre el que se



forma una capa de PbCl_2 debido a la inmersión de dicho electrodo en una disolución ácida que contiene iones Cl^- .

Seguidamente, se optimizan los parámetros operativos para la detección de imazapir como el potencial y la longitud de onda de trabajo, así como los parámetros de flujo. Una vez obtenidos, se construye una curva de calibración.

El rendimiento del método propuesto permite su uso potencial en análisis de rutina de muestras acuosas de imazapir en un amplio rango de concentraciones. Los reactivos utilizados en el mismo son muy accesibles y económicos, cada ensayo consume sólo 200 μL de muestra y dura 30 s.

Este trabajo demuestra que los métodos no cromatográficos, como el método espectroelectroquímico de inyección en flujo presentado, pueden tener un rendimiento analítico adecuado para controlar los límites legales establecidos para diversos reactivos usados en agricultura o en la industria alimenticia, evitando el empleo de etapas previas de purificación o concentración.

En general, los métodos FIA emplean un equipamiento mucho más accesible económicamente hablando que los métodos cromatográficos, y también permiten la automatización del análisis. Estos métodos posibilitan la miniaturización ya que es posible diseñar instrumentación portátil y compacta. Estos métodos además, no necesitan optimizar un amplio número de parámetros, por lo que son más sencillos de utilizar que los métodos cromatográficos.

10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] American Cyanamid, Arsenal Herbicide Technical Report., American Cyanamid Agricultural Division, 1986.
- [2] D. L. Shaner y S. L. O'Connor, The imidazolinone herbicides., Boca Ratón: CRC Press, 1991.
- [3] C. Accinelli, R. Mallegni, C. Screpanti y A. Vicari, «Herbicide losses in subsurface drainage water from a wheat field.», *Italian Journal of Agronomy*, vol. 7, pp. 33-40,



2003.

- [4] C. K. Grisolia, M. R. Bilich y L. M. Formigli, «A comparative toxicologic and genotoxic study of the herbicide arsenal, its active ingredient imazapyr and the surfactant nonylphenol ethoxylate.», *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 59, pp. 123-126, 2004.
- [5] G. Kaichouh, N. Oturan, M. A. Oturan, K. El Kacemi y A. El Hourch, «Degradation of the herbicide imazapyr by Fenton reactions.», *Environmental Chemical Letters*, vol. 2, pp. 31-33, 2004.
- [6] P. Pizarro, C. Guillard, N. Perol y J. M. Herrmann, «Photocatalytic degradation of imazapyr in water: Comparison of activities of different supported and unsupported TiO₂-based catalysts.», *Catalysis Today*, vol. 101, pp. 211-218, 2005.
- [7] M. M. Mallipudi, S. J. Stout, A. R. DaCunha y A. H. Lee, «Photolysis of imazapyr (AC 243997) herbicide in aqueous media.», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 39, pp. 412-417, 1991.
- [8] E. Quivet, R. Faure, J. Georges, J. O. Paissé y P. Lantéri, «Influence of metal salts on the photodegradation of imazapyr and imidazolinone pesticide.», *Pest Management Science*, vol. 407, pp. 407-413, 2006.
- [9] L. S. Erre, E. Garribba, G. Micera, A. Pusino y D. Sanna, «Copper(II) complexes of imidazolinone herbicides.», *Inorganica Chimica Acta*, vol. 255, pp. 215-220, 1997.
- [10] L. S. Erre, E. Garribba, G. Micera y N. Sardone, «Metal complexes of imazapir, a herbicide provided with efficient metal-chelating ability: crystal structure of the cobalt(III) and manganese(II) complexes.», *Inorganica Chimica Acta*, vol. 272, pp. 68-73, 1998.
- [11] M. Carrier, N. Perol, J. M. Hermann, C. Bordes, S. Horikoshi, J. O. Paise, R. Baudot y C. Guillard, «Kinetics and reactional pathway of imazapyr photocatalytic degradation influence of pH and metallic ions.», *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 65, pp. 11-20, 2006.
- [12] M. El Azzouzi, H. Mountacer y M. Mansour, «Kinetics of photochemical degradation of imazapyr in aqueous solutions.», *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 8, pp. 709-717, 1999.
- [13] M. Mekkaoui, M. El Azzouzi, A. Bouhaouss, M. Ferhat, A. Dahchour, S. Guittonneau y M. Meallier, «Factors influencing imazapyr herbicide photolysis in water.», *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 9, pp. 783-790, 2000.
- [14] M. Tu, C. Hurd y J. M. Randall, «Imazapyr.», de *Weed control of methods handbook: Tools & techniques for use in natural areas*, Utah, All U.S. Government Documents, 2001, pp. 7h.1-7h.2.



- [15] G. W. Bailey y J. L. White, «Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soils.», *Residue Reviews*, vol. 32, pp. 29-92, 1970.
- [16] M. Che, M. M. Loux, S. J. Traina y T. J. Logan, «Effect of pH on sorption and desorption of imazaquin and imazethapyr on clays and humic acid.», *Journal of Environmental Quality*, vol. 21, pp. 698-703, 1992.
- [17] Food and Drug Administration, Pesticide analytical manual., vol II., U.S.A., 2002.
- [18] E. T. Furlong, M. R. Burkhardt, P. M. Gates, S. L. Werner y W. A. Battaglin, «Routine determination of sulfonylurea, imidazolinone and sulfonamide herbicides at nanogram-per-liter concentrations by solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry.», *The Science of the Total Environment*, vol. 248, pp. 135-146, 2000.
- [19] A. Anisuzzaman, M. Amin, N. Ogg, F. Hoq, M. R. Kanithi y R. E. Jenkins, «Synthesis of dimethyl derivatives of imidazolinone herbicides: Their use in efficient gas chromatographic methods for the determination of these herbicides.», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 5893-5902, 2000.
- [20] A. Laganá, G. Fago y A. Marino, «Simultaneous determination of imidazolinone herbicides from soil and natural waters using soil column extraction and off-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography with UV detection or liquid chromatography/electrospray mass spectroscopy.», *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 121-130, 1998.
- [21] S. J. Stout, A. R. daCunha, G. L. Picard y M. M. Safarpour, «Rapid, direct determination of imidazolinone herbicides in water at the 1 ppb level by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry.», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, pp. 2182-2186, 1996.
- [22] S. Marchese, A. Gentili, D. Perret y A. Faberi, «Pressurized-liquid extraction for determination of imidazolinone herbicides in soil.», *Chromatographia*, vol. 54, pp. 531-535, 2001.
- [23] M. Rodriguez y D. B. Orescan, «Confirmation and quantification of selected sulfonylurea, imidazolinone and sulfonamide herbicides in surface water using electrospray LC/MS.», *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 2710-2717, 1998.
- [24] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese y D. Perret, «Development of a method based on liquid chromatography-electrospray mass spectrometry for analyzing imidazolinone herbicides in environmental water at part-per-trillion levels.», *Journal of Chromatography A*, vol. 800, pp. 109-119, 1998.
- [25] W. Liu, A. Pusino y C. Gessa, «High-performance liquid chromatographic determination of the herbicide imazapyr residues in water and soil.», *The Science of*



the Total Environment, Vols. 123-124, pp. 39-43, 1992.

- [26] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino y D. Perret, «Multiresidue method for determination of post-emergence herbicides in water by HPLC/ESI/MS in positive ionization mode.», *Environmental Science & Technology*, vol. 32, pp. 1340-1347, 1998.
- [27] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino y D. Perret, «Rapid and simple method for extraction and determination of imidazolinone herbicides in soil.», *Analisis*, vol. 26, pp. 251-255, 1998.
- [28] G. F. Pang, Y. M. Liu, C. L. Fan, J. J. Zhang, Y. Z. Cao, X. M. Li, Z. Y. Li, Y. P. Wu y T. T. Guo, «Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry.», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 384, pp. 1366-1408, 2006.
- [29] A. Laganá, G. Fago, A. Marino y V. M. Penazzi, «Liquid chromatography mass spectrometry tandem for multiresidue determination of selected post-emergence herbicides after soil column extraction.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 415, pp. 41-56, 2000.
- [30] V. G. Amelin, D. S. Bol'shakov y A. V. Tret'yakov, «Dispersive liquid-liquid microextraction and solid-phase extraction of polar pesticides from natural water and their determination by micellar electrokinetic chromatography.», *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 386-397, 2013.
- [31] D. S. Bol'shakov, V. G. Amelin y A. V. Tret'yakov, «Determination of polar pesticides in soil by micellar electrokinetic chromatography using quEChERS sample preparation.», *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 89-97, 2014.
- [32] L. Chen, F. Song, Z. Liu, Z. Zheng, J. Xing y S. Liu, «Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry.», *Journal of Chromatography A*, vol. 1225, pp. 132-140, 2012.
- [33] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino y D. Perret, «Optimization of high performance liquid chromatography/mass spectrometry apparatus for determination of imidazolinone herbicides in soil at levels of a few ppb.», *Rapid Communications in mass spectrometry*, vol. 12, pp. 1359-1365, 1998.
- [34] J. B. Fischer y J. L. Michael, «Use of ELISA immunoassay kits as a complement to HPLC analysis of imazapyr and triclopyr in water samples from forest watersheds.», *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 59, pp. 611-618, 1997.
- [35] D. Knopp, «Application of immunological methods for the determination of environmental pollutants in human biomonitoring. A review.», *Analytica Chimica Acta*, vol. 311, pp. 383-392, 1995.



- [36] I. Sahuquillo-Ricart y J. V. García-Mateo, «Photoinduced-chemiluminometric determination of imidazolinone pesticides in a multi-commutated flow-assembly.», *Journal of Flow Injection Analysis*, vol. 30, pp. 37-44, 2013.
- [37] R. Curini, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino y D. Perret, «Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-ionspray interface-mass spectrometry for monitoring of herbicides in environmental water.», *Journal of Chromatography A*, vol. 874, pp. 187-198, 2000.
- [38] J. D. Mozo, M. López-López, J. L. Olloqui-Sarriego, V. M. Molina, J. J. Maraver y J. Carbajo, «Stereoselective electrochemical reduction of imazapyr in aqueous media without chiral auxiliaries.», *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 157, pp. E149-E157, 2010.
- [39] S. Pintado, M. Ruiz-Montoya y J. M. Rodríguez-Mellado, «Imidazolinone herbicides in strongly acidic media: Speciation and electroreduction.», *Comptes Rendus Chimie*, vol. 14, pp. 957-962, 2011.
- [40] L. León, J. J. Maraver, J. Carbajo y J. D. Mozo, «Simple and multiconfigurational flow-cell detector for UV-vis spectroelectrochemical measurements in commercial instruments.», *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 186, pp. 263-269, 2013.
- [41] D. D. Perrin y B. Dempsey, *Buffers for pH and metal ion control.*, London: Chapman & Hall Ltd., 1974.
- [42] A. G. Betts, *Lead refining by electrolysis.*, Read Books, 2008.
- [43] S. Torii, *Electroorganic reduction synthesis (Vol. I).*, Weinheim: Wiley-VCH, 2006.
- [44] J. Ruzicka y E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, New York: John Wiley & Sons, 1987.
- [45] H. P. Loock y P. D. Wentzell, «Detection limits of chemical sensors: applications and misapplications.», *Sensors and Actuators B*, vol. 173, pp. 157-163, 2012.

CONCLUSIONES FINALES

CONCLUSIONES FINALES

- Tras realizar un amplio recorrido por las diferentes publicaciones en el campo de la espectro-electroquímica se ha comprobado que la técnica espectroscópica más versátil para este tipo de estudios es la espectroscopía UV-visible, por lo que se ha optado por esta técnica para desarrollar los diferentes métodos de análisis propuestos.

- Se ha descrito un detector espectro-electroquímico de flujo muy versátil, con múltiples configuraciones, y fácil de usar y construir. El sensor ha sido diseñado para ser incorporado en los portacubetas de cualquier espectrofotómetro comercial, por lo que es posible su uso con la instrumentación habitual de un laboratorio sin necesidad de incluir grandes modificaciones. Otra ventaja importante de este diseño es la posibilidad de usar diferentes electrodos y materiales electródicos: como electrodos transparentes, planos o electrodos tridimensionales. Esta versatilidad permite estudiar una gran variedad de analitos con sólo una ligera modificación en la celda.

- Esta celda ha sido evaluada como sensor espectroscópico, electroquímico y espectro-electroquímico utilizando el par $\text{Fe}(\text{CN}_6)^{4+}/\text{Fe}(\text{CN}_6)^{3+}$, un sistema electroquímico de referencia usado para la evaluación de muchos dispositivos sensores. Los parámetros analíticos obtenidos en dicha calibración se asemejan a los ya publicados para este mismo sistema químico, aunque en esta ocasión se ha empleado una instrumentación mucho más asequible económicamente hablando.

- Se ha demostrado que un detector espectro-electroquímico en un sistema en flujo ofrece mejores niveles de sensibilidad que dos detectores en serie en el mismo sistema. Esto se debe a que las especies que absorben se diluyen cuando abandonan el electrolizador en el que se generan y pasan al detector óptico. Por esta razón, es mucho mejor analizar la especie intermedia electro-generada en el mismo lugar en el que se ha generado.

- Se ha desarrollado un nuevo método para la especiación directa de iones de cobre en muestras acuosas. Se ha propuesto el empleo del detector espectro-electroquímico construido en un sistema de análisis mediante inyección en flujo reverso (r-FIA) para la determinación espectroscópica del complejo de Cu(II) con cuprizona. La determinación amperométrica de Cu(I) se ha sincronizado con las medidas ópticas para evitar las posibles interferencias entre ambos métodos, habiéndose estudiado los posibles efectos que cada una de las técnicas pueda tener sobre la otra.

- Con este método de especiación se ha demostrado que el uso de un detector mixto facilita y acelera el análisis de múltiples analitos que puedan estar presentes simultáneamente en algunos tipos de muestra e ilustra las precauciones prácticas que deben tenerse en cuenta para evitar interferencias entre ellos.

- Se ha desarrollado también un método espectro-electroquímico de análisis mediante inyección en flujo para determinar el imazapir presente en muestras acuosas. El empleo de un detector mixto permite tanto la determinación óptica como la polarización de un electrodo de trabajo adecuado para mejorar el rango lineal de respuesta y el límite de detección hasta conseguir alcanzar los valores de tolerancia legal establecidos para el imazapir.

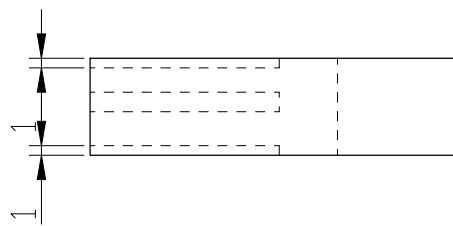
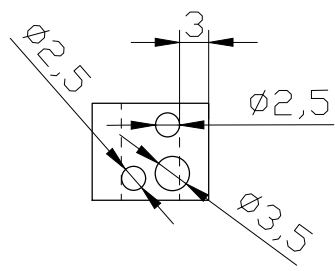
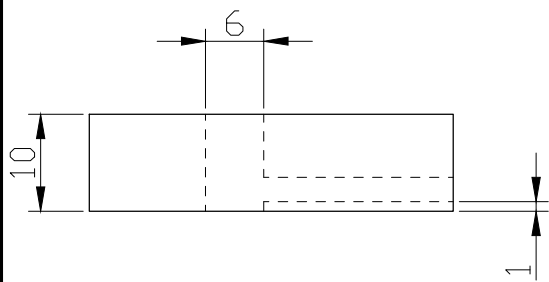
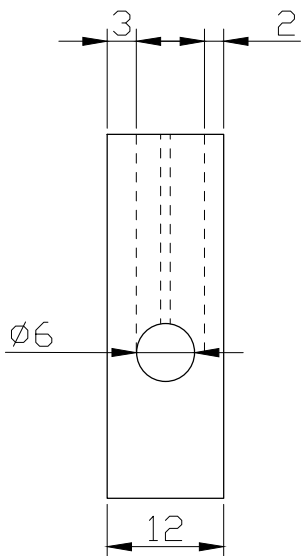
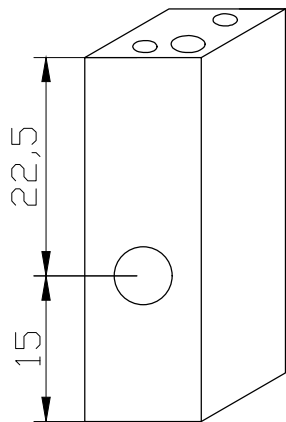
- Con este método de análisis se demuestra que los métodos no cromatográficos pueden alcanzar rendimientos analíticos adecuados para controlar los límites legales establecidos para diversos reactivos usados en agricultura o en diferentes industrias, a la vez que evitan el empleo de etapas previas de purificación o concentración.

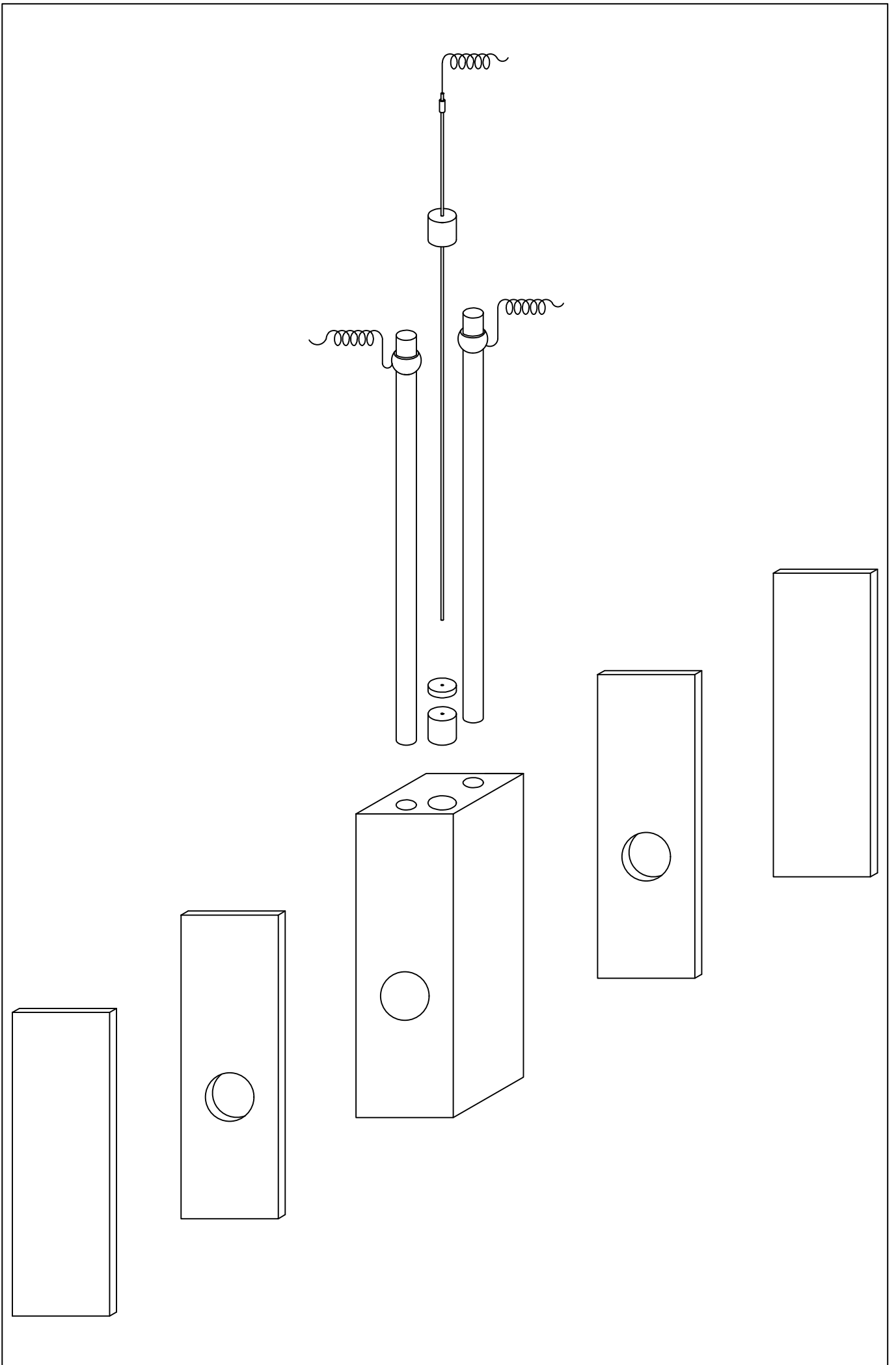
- Con los dos métodos de análisis propuestos se ha demostrado que el acoplamiento de técnicas espectro-electroquímicas y métodos de análisis mediante inyección en flujo puede ser muy ventajoso, sobre todo, si se desarrollan sensores espectro-electroquímicos adecuados, ya que además permitiría la automatización de las medidas.

APÉNDICES

ANEXO I

Planos de la celda espectroelectroquímica de flujo





ANEXO II

Publicaciones científicas derivadas de la tesis

ANEXO II

Los artículos que forman parte del Anexo II han sido retirados de la tesis debido a restricciones relativas a los derechos de autor. Dichos artículos han sido sustituidos por la referencia bibliográfica, enlace al texto completo (solo miembros de la UHU) y/o enlace Arias Montano, Repositorio Institucional de la Universidad de Huelva, así como resumen.

- León Gómez, L., Maraver Puig, J., Carbajo Timoteo, J.C., Mozo Llamazares, J.D.: "Simple and multi-configurational flow-cell detector for UV-vis spectroelectrochemical measurements in commercial instruments". *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol. 186, págs. 263–269, (2013). DOI: 10.1016/j.snb.2013.06.024

Enlace al texto completo del artículo (solo para miembros de la UHU):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.024>

RESUMEN:

An original, simple and sensitive flow-detector for quantitative determination by electrochemical, UV-vis absorption or spectro-electrochemical techniques has been developed. It allows variable configurations for use in a number of analytical situations besides the possibility to use different types of electrodes and materials. The dimensions and format of the detector are suitable for fitting in a standard cell holder for macro cuvettes in commercial UV-vis spectrometers. The sensor has been verified as an optical detector measuring absorbance at 420 nm, due to ferricyanide, with a linear relationship for molar concentrations of between 10^{-5} and 10^{-3} , with dispersions in the measurements of less than 1%. As an electrochemical detector, two different working electrodes, one made with a stainless steel (SS) pipe and another based on an indium tin oxide (ITO) layer, have been tested by measuring the current due to the oxidation of ferrocyanide while a constant potential is applied. The best results were obtained using the ITO layer because the SS electrode produces distorted chromatographic signals. Lastly, it was tested as a spectro-electrochemical sensor for both electrodes following absorbance at 420 nm of the ferricyanide electro-generated in the detector from the oxidation of injected ferrocyanide. Here, the best results were obtained using the SS electrode with a linear behaviour ranging from 1.2×10^{-4} M to 5×10^{-3} M and dispersions of 5.4% in terms of % RSD.

- León Gómez, L., Carbajo Timoteo, J.C., Maraver Puig, J., Mozo Llamazares, J.D.: "Sequential Determination of Mono- and Divalent Copper in Water by Flow-Injection Analysis". *Journal of The Electrochemical Society*. Vol. 161, n. 4, págs. H183-H188, (2014). DOI: 10.1149/2.040404jes

Enlace al texto completo del artículo:

<http://dx.doi.org/10.1149/2.040404jes>

RESUMEN:

A simple and sequential method is presented for the fast speciation of copper in aqueous media. The use of a spectroelectrochemical flow-cell allows the quantification of individual copper oxidation states using a combination of spectroscopical and electrochemical techniques. The proposed method is based on a reverse flow injection system (r-FIA) for the spectrophotometric determination of Cu (II) with cuprizone, with a linear fit between 1.2 and 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and a detection limit of 0.11 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Amperometric determination of Cu (I) is synchronized with the optical measurement to avoid interferences and has a linear behavior ranged from 0.04 to 0.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and a detection limit of 7.7 ng mL^{-1} .