



Departamento de Química Analítica
Facultad de Ciencias
Universidad de Cádiz

***Caracterización Estructural y Electroquímica
de Materiales Sonogel-Carbono modificados y
su empleo como sensores electroquímicos
selectivos.***

*Laura Cubillana Aguilera
Tesis Doctoral
2007*

***Caracterización Estructural y Electroquímica de Materiales
Sonogel-Carbono modificados y su empleo como sensores
electroquímicos selectivos***

Tesis Doctoral
LAURA CUBILLANA AGUILERA

Director

Director

José Luis Hidalgo Hidalgo de
Cisneros
Profesor Titular del Departamento
de Química Analítica de la
Universidad de Cádiz

Ignacio Naranjo Rodríguez
Profesor Titular del Departamento
de Química Analítica de la
Universidad de Cádiz

*Memoria presentada para optar al grado
de Doctor en Ciencias Químicas*

Laura Cubillana Aguilera

JOSÉ LUIS HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS, PROFESOR TITULAR E IGNACIO NARANJO RODRÍGUEZ, PROFESOR TITULAR, DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ, ,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo de investigación se ha realizado en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz bajo nuestra dirección, y reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Y para que conste, expedimos y firmamos el presente certificado.

Cádiz, 1 de abril de 2007.

J. L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros

I. Naranjo Rodríguez

JOSÉ LUIS HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS, PROFESOR TITULAR Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ,

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación, realizado en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz bajo la dirección conjunta de los Profesores José Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros e Ignacio Naranjo Rodríguez, reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado.

Cádiz, 1 de abril de 2007.

J. L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros

AGRADECIMIENTOS

Ha llegado la hora de dar las gracias a todas aquellas personas que me han ayudado en algún momento del camino que me ha traído aquí, y gracias a las cuales ha sido posible en cierta medida que esta Tesis Doctoral haya llegado a término.

En primer lugar quiero dar las gracias a mis directores José Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros e Ignacio Naranjo Rodríguez, por dirigirme en mis comienzos en el mundo de la investigación y confiar en mí, y darme la oportunidad de llegar a ser doctora en este mundo tan difícil, como es la investigación científica en España. Gracias por apoyarme en este trabajo y darme vuestra opinión sincera cada vez que me surgía un problema. Gracias de todo corazón.

También quiero dar las gracias a mis compañeros del departamento, comenzando por José Luis Insúa y Pepe Reino, por esas mañanas tan agradables y por ser tan buenos amigos y profesionales, atendiendo mis peticiones aunque a veces fueran extrañas y urgentes; a Clara y Pepa, por su simpatía y buen hacer en las tareas del departamento; a M^a Purificación Hernández y Dolores Bellido por estar ahí dándome su apoyo en mi trabajo diario y por esos ratitos de charla que hacían que me despejara un poco del agobio del trabajo; a mis compañeros de grupo: a Jose, por su paciencia y empeño en que todo saliera bien, aunque tuviera mil cosas que hacer, a M^a del Mar, mi madrina científica, mi amiga y primera compañera de trabajo y, por supuesto, la culpable de mis inicios en el mundo del sol-gel, a Carlos por sus tardes de trabajo compartidas en el laboratorio, a Anabel Oñate por su compañía y sus despistes que amenizaban las jornadas largas de trabajo, a Osvaldo mi cubano atípico, gracias al cual hemos comenzado en el “oloroso” mundo de las tioureas; a Mohammed, Hicham, Hanane, Nissrin, nuestros visitantes marroquíes que, aunque a veces nos traían de cabeza, se adaptaron a

nuestro trabajo en el laboratorio, a José Antonio, Esther, Sergio, Juani, Marta, Dani y tantos otros que han pasado por el grupo de investigación, que han compartido las largas esperas por sentarnos en el ordenador alguna vez. No me quiero olvidar tampoco de mis compañeros de sufrimiento experimental: Patricia, Miguel Blázquez, Gerardo, Miguel Castro, M^a Ángeles, Cristina, Mariló, Juan José, Mónica, Mauricio, Quique, Raquel, Maria Jesús, José Antonio (los becarios -“precarios”- del departamento) y todos los que han compartido algunas horas en el laboratorio.

Quiero también dar las gracias al resto de personas que integran el departamento de Química Analítica, que más de una vez me han brindado su ayuda y su apoyo, y se han preocupado por mi cuando no me han visto por allí, o cuando me veían un poco agobiada.

Un agradecimiento, especialmente importante para mi, lo merece la Doctora Almoraima Gil. Gracias por esos ratos divertidos, por las curiosidades, por tu apoyo en el trabajo diario en el laboratorio, por brindarte tantas veces a ayudarme y a enseñarme cosas, así como en interesarte en lo que yo hacía y aprendía con mi trabajo diario en Sonogel y valorar mis humildes conocimientos en algunos campos nuevos para mi como la microscopía, la difracción de rayos X y algunas otras técnicas en las que, poco a poco, nos hemos ido sumergiendo y aprendiendo juntas.

Quiero agradecer a los miembros del departamento de Física de la Materia Condensada, por ayudarnos en nuestros comienzos en el mundo del sol-gel, en especial a Eduardo Blanco, Milagrosa del Solar, Rocío Litrán, Nicolás de la Rosa, Luis Esquivias, Miguel Blázquez y Lole.

También quiero agradecer a José M^a Geraldía (Chema) su simpatía, dedicación e interés por el microscopio electrónico, por todas esas sesiones de

SEM y en las de TEM, en las que me ha preguntado y enseñado tantas cosas, en las que ha demostrado su calidad humana y profesional; al profesor Manuel Domínguez de la Vega por su inestimable ayuda con el AFM.

Quiero dar las gracias a mis padres, Miguel y Paqui, por apoyarme en mi decisión de seguir la carrera investigadora y animarme, aún sabiendo que es dura y complicada. Y también a mis hermanos Miguel y María, por aguantar los malos humores. No puedo olvidarme tampoco de mi segunda familia, Pedro, María y Alfonso, gracias por hacerme ese huequito en vuestra casa cada tarde y quererme como a uno más de la familia. Tampoco me olvido de mis amigos: Marco y Mar; de mis "compis" del coro: Lito, Virginia, Carlos, Mamen, Jose, Ana, Emilio, Begoña, Juan Carlos, Inma, Ismael, Chari, Inma, Antonio, Cati, Javi, Carmen, Jesús y los peques; y de mis compis de sufrimiento en la Escuela de Idiomas: Begoña, Charo, Cari, Cristino, Vicente y tantos otros; un abrazo a todos y gracias por vuestro apoyo.

Por último, aunque es el más importante, quiero dar las gracias a la persona más especial que he conocido, por darme todo su apoyo, compartir sus opiniones, ayudarme en el trabajo que hemos realizado desde que comenzó mi andadura en el mundo de la Química Analítica, por echarme esa mano cada vez que se me venía todo encima, aunque estuviera a 500 kilómetros de distancia, por estar ahí y por querer compartir su vida conmigo, tanto la personal como la profesional. ¡Por fin nos casamos! Sin su ayuda no me habría sido posible llevar a cabo este trabajo. Gracias por todo Jose. xxxooooxxxxzzz

A mis padres, a mis hermanos y a mi segunda familia.

A la persona más importante de mi vida, Jose.

“La grandezza dell'uomo si misura
in base a quel che cerca e all'insistenza
con cui egli resta alla ricerca.”
(Heidegger)



Índice

0.Indice.	Pág
1. Introducción y Objetivos.....	3
1.1. Introducción.....	3
1.2. Breve descripción de los orígenes.	3
1.3. Procedimiento general de fabricación del Sonogel.....	4
1.4. Factores que influyen en el proceso sol-gel.....	10
1.5. Sonogeles. Empleo de ultrasonidos en la síntesis de geles.	17
1.6. Antecedentes y estado actual.	20
1.7. Técnicas de caracterización.....	25
1.7.1. Microscopía electrónica: Teoría y Fundamentos.....	25
1.7.1.1. Introducción: ¿en qué consiste la microscopía electrónica?	26
1.7.1.2. Funcionamiento de un microscopio electrónico: generalidades... ..	28
-Interacciones electrón-materia.	30
-Límite de resolución de los microscopios electrónicos.	31
-Fuente o cañón de electrones.....	31
-Volumen de interacción del espécimen.....	33
1.7.1.3. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	34
-Modos de formación de la imagen	35
-Preparación de muestras	38
1.7.1.5. Microscopía electrónica de barrido (SEM).	39
-Modos de operación.....	41
1.7.2. Espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS).	42
1.7.3. Microscopía de Fuerza Atómica	47
1.7.3.1. Introducción.....	47
1.7.3.2. Componentes de un AFM	47
1.7.3.3. Funcionamiento del AFM	50
1.7.3.4. Modos alternativos de obtención de imágenes	57
1.7.4. Difracción de Rayos X.....	60

1.7.4.1. Introducción histórica	60
1.7.4.2. Introducción a la difracción	64
1.7.4.3. Introducción a la difracción de rayos X	66
-Ley de Bragg.....	67
-Difracción de rayos X.....	69
-Método de Laue	70
-Método de Laue en modo reflexión	71
-Método de Laue en modo transmisión.....	72
-Método de polvo	73
1.7.5. Espectroscopía Infrarroja.	74
1.7.5.1. Principios teóricos.....	75
-Teoría de la absorción infrarroja	76
-Rotaciones moleculares.....	76
-Vibraciones moleculares.....	76
-Acoplamientos vibracionales	78
1.7.5.2. Instrumentación	78
-Componentes Instrumentales	79
-Tipos de instrumentos.....	81
1.7.6. Técnicas voltamperométricas.	85
1.7.6.1. Antecedentes	85
1.7.6.2. Fundamentos teóricos	88
1.7.6.3. Voltametría de barrido lineal	89
1.7.6.4. Voltamperometría diferencial de impulsos.....	91
1.7.6.5. Voltamperometría cíclica.	93
1.8. Tioureas en la Química Analítica.....	95
1.8.1. Principales métodos de síntesis de aciltioureas.	98
1.8.2. Electrodo Sonogel-Carbono modificados para la determinación de Cd(II)	99

2. Materiales y Métodos.....	103
2.1. Materiales.	103
-Materiales.....	103
-Reactivos empleados.....	104
-Preparación de las disoluciones.	105
-Aparatos.....	106
2.2. Métodos.	108
-Procedimiento de fabricación del Sonogel.....	108
2.3. Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiureas3-monosustituidas.....	113
-Especies orgánicas	114
-Disolventes y desecantes	115
-Especies inorgánicas	115
-Procedimientos de síntesis de los compuestos	116
• Síntesis del cloruro de furoilo	116
• Síntesis de 1-furoiltiureas-3-monosustituidas (serie 1) y 3,3-disustituidas (serie 2) a partir de aminas aromáticas	116
• Síntesis de 1-furoiltiureas-3-monosustituidas (serie 1) y 3,3-disustituidas (serie 2) a partir de aminas alifáticas.....	119
-Purificación.....	120
-Criterio de pureza.....	120
-Aparatos.....	121
Resultados y Discusión.....	125
3. Caracterización electroquímica de los materiales Sonogel-Carbono....	127
3.1. Electrodo Sonogel con base en carbono APS.	129
3.1.1. Proceso de fabricación.....	129
3.1.2. Comportamiento electroquímico.	131
- Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV).	131
3.2. Electrodo Sonogel con base en carbono Ultra F Purity.	139

3.2.1. Proceso de fabricación.	139
3.2.2. Comportamiento electroquímico.	141
- Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV).	141
3.3. Electrodo Sonogel con base en carbono RW-B.	144
3.3.1. Proceso de fabricación.	144
3.3.2. Comportamiento electroquímico.	145
- Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV).	145
3.4. Electrodo Sonogel con base en carbono APS frente a carbono UF.	146
3.4.1. Pruebas con 4-cloro-3-metilfenol como analito.	148
3.5. Voltamperometría Cíclica.	149
4. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono	157
4.1. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono:	
Microscopía electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía	
Dispersiva de Rayos X (EDS).	159
4.2. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono:	
Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	185
4.3. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono:	
Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	194
4.4. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel Carbono:	
Difracción de Rayos X (XDR).	197
4.5. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono:	
Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)	203
5. Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea	213
5.1. Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea.	213
5.1.1. Proceso de fabricación de los electrodos.	213
5.1.2. Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV)	214
5.1.2.1. Rectas de Calibrado	220
5.1.2.2. Estudio de la influencia del pH.	232

5.1.2.3. Estudio de la influencia del potencial de acumulación.	233
5.1.2.4. Estudio de la influencia del tiempo de acumulación.....	234
5.1.2.5. Estudio de la amplitud del impulso.....	235
5.1.2.6. Interferencias.....	236
5.2. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea: Microscopía electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS).....	240
5.3. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	255
5.4. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiou- reas: Difracción de Rayos X (XDR).....	258
6. Conclusiones	267
7. Bibliografía	277
Anexos	293



Objeto del Trabajo

Objeto del Trabajo

El objetivo principal de este trabajo de investigación es abordar la caracterización estructural (en su superficie) y electroquímica de materiales Sonogel-Carbono con y sin modificantes. Estos estudios deben permitir el conocimiento de la estructura del material base, así como la influencia de los modificantes sobre dicha estructura.

Las metas que se pretenden alcanzar con esta línea de investigación son:

- Estudio de la estructura del material base sin incorporación de grafito con el fin de conocer la estructura de partida.
- Estudio de los materiales Sonogel, con modificantes, pero sin grafito, de modo que nos permita conocer el efecto de tales modificantes sobre la estructura base.
- Incorporación de grafitos diversos (diferentes grados de pureza, diferente tamaño de partícula y diferentes casas comerciales suministradoras) y estudio de su influencia sobre la estructura y el comportamiento electroquímico de cada uno de los materiales sintetizados, mediante técnicas voltamperométricas.
- Incorporación de modificantes selectivos a las matrices de Sonogel.
- Estudio comparativo de todos los materiales mediante microscopía electrónica de barrido y de transmisión (SEM/ TEM) y espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS), así como mediante difracción de rayos X (XDR) y Microscopía de fuerza atómica (AFM).
- Estudio de la naturaleza de la respuesta electroquímica en base a los estudios realizados por voltamperometría cíclica (CV).



Capítulo I: Introducción

1. Introducción.

1.1. Introducción

La técnica sol-gel viene siendo aplicada en nuestro grupo desde hace ya varios años y ha sido objeto, además de este trabajo de investigación, de tres tesis doctorales [1,2,3] una tesis de licenciatura (DEA) [4], varias publicaciones internacionales [5-19], numerosas comunicaciones a congresos, tanto nacionales como internacionales, así como de varios proyectos de investigación, uno de ellos de reciente concesión.

Por este motivo, en la presente introducción se abordará el tema de los antecedentes históricos y el fundamento de la técnica de manera breve y sencilla, procediendo a hacer un resumen de los orígenes y los últimos avances. También se abordará la introducción teórica de las técnicas de análisis empleadas en el desarrollo del trabajo experimental.

1.2. Breve descripción de los orígenes.

El origen de la técnica sol-gel como método de fabricación de materiales, data de 1840, fecha en la que Ebelman [20] sintetizó, de manera casual, una sustancia de aspecto cristalino (SiO_2), cuando llevaba a cabo la hidrólisis de tetraetoxisilano (TEOS) en condiciones ácidas. En 1864 surge una primera teoría basada en el estudio de materiales obtenidos por esta técnica [21], aunque ésta no fue aceptada plenamente hasta los años 30, después de que Hurd [22] publicara sus trabajos. En los años 50-60, comienza a utilizarse este proceso en la industria cerámica para la obtención de redes inorgánicas de diversos metales [22,23].

Las investigaciones de Levene y Thomas [24] y Dislich [25] sobre la obtención de materiales cerámicos multicompuestos, y la utilización en los años 70 de una cuidadosa etapa de secado para la obtención de monolitos (piezas rígidas)

del material [26-28] (ampliamente utilizado hoy día en la industria), dieron lugar a grandes avances en la química sol-gel.

En la actualidad, el proceso sol-gel se aplica ya para conseguir diversos tipos de configuraciones tales como fibras, recubrimientos, películas delgadas, etc.; teóricamente, cualquier forma física es posible si se dispone del molde adecuado.

1.3. Procedimiento general de fabricación del Sonogel

De un modo muy resumido, el proceso sol-gel consiste en la hidrólisis a baja temperatura de un alcóxido monomérico precursor, seguida de una policondensación que conduce a una red porosa de tipo óxido. Teóricamente, de acuerdo con lo que acabamos de decir, sólo es necesaria la existencia de alcóxido y agua, pero por lo general, suele emplearse también un catalizador ácido o básico, que acelera el inicio de la hidrólisis, y un alcohol para lograr homogeneidad entre las fases acuosa y orgánica, inmiscibles.

La hidrólisis inicial del alcóxido, seguida de reacciones de condensación en regiones localizadas, origina una suspensión de partículas coloidales denominada **sol**. La policondensación de dichas partículas aumenta la interconexión entre éstas, de manera que la viscosidad crece rápidamente y conduce a la formación de una red rígida, polimérica y húmeda denominada **gel**, compuesta fundamentalmente de unidades de siloxano (SiO_2); en el caso más frecuente, las unidades están conectadas entre sí por puentes de oxígeno.

Durante las etapas de hidrólisis y polimerización se produce un alcohol y agua, respectivamente, que junto con el agua en exceso que habíamos añadido en la mezcla precursora y la humedad del medio externo, se encuentran encapsulados en el interior de la red que se ha formado. Se van liberando a medida que el proceso va avanzando, aunque no se liberan completamente. Incluso después del

punto de gelificación, en el cual todo el volumen del sólido está interconectado, la estructura y propiedades del gel continúan evolucionando puesto que existe disolvente en los poros y el gel permanece húmedo. Además, siguen produciéndose reacciones de policondensación, con lo que se extiende el entrecruzamiento.

Como consecuencia, y de forma dinámica, el gel experimenta una progresiva contracción espontánea, produciéndose la expulsión de líquido de los poros, un aumento en las fuerzas internas del gel y una disminución del tamaño de los poros. Sin embargo, la mayor parte del agua y del alcohol generados durante todo el proceso quedan retenidos en la red durante la gelificación. Por ello, un gel envejecido puede definirse como un material vítreo en fase sólida con una fase acuosa interna.

Una vez que obtenemos este gel envejecido, podemos someterlo a un tratamiento térmico suave (generalmente menos de 100°C), obteniendo un gel seco, denominado *xerogel* que no experimenta pérdidas de líquido posteriores y que se puede considerar estable en el tiempo. Si en vez de someter al gel a este proceso suave, lo sometemos a un tratamiento térmico a altas temperaturas, se produce una densificación del material, que conduce a un cristal totalmente compacto.

Podemos esquematizar el proceso sol-gel en tres etapas fundamentales, si lo vemos desde un punto de vista químico:

- 1. Preparación del sol:** dispersión coloidal de las partículas en un líquido.
- 2. Gelificación del sol:** esta etapa da como resultado una red rígida interconectada de cadenas poliméricas y poros microscópicos.

3. Eliminación del disolvente de la red: en esta etapa obtenemos un sólido condensado.

Todo el proceso anterior se produce a temperatura ambiente, lo que constituye una de las principales características de este tipo de ruta sintética.

Gracias a ello, pueden introducirse diferentes especies durante la primera etapa, incluso en el caso de especies termolábiles. Ciertos sólidos sintetizados vía sol-gel poseen capacidad para la conducción iónica o electrónica y esta propiedad los convierte en adecuados para, por ejemplo, técnicas electroquímicas convencionales como las voltamperometrías.

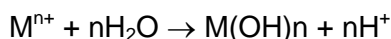
Existen, en principio, dos opciones para sintetizar materiales mediante procesos sol-gel: métodos acuosos y métodos alcohólicos. Los primeros parten de una disolución de una sal metálica y los segundos de un precursor organometálico disuelto en el alcohol apropiado (en función de los sustituyentes orgánicos del metal). La formación del sol y posterior gelificación es diferente en cada uno de ellos. En los métodos acuosos, el sol se genera cuando se hidroliza la sal metálica y el gel se forma por eliminación del disolvente o por un aumento del pH, evolucionando posteriormente desde una agrupación de partículas coloidales hacia la formación de una red. En los métodos alcohólicos, por el contrario, no se distingue una etapa de formación del sol sino que progresan simultáneamente reacciones de hidrólisis y condensación hasta que se origina el gel que después evoluciona, transformándose también en una red de conexiones tridimensionales.

A continuación, se realiza una descripción general de todas las etapas teóricas que constituyen un proceso sol-gel. En esta descripción, se contempla también la utilización (descrita en la bibliografía) de otros tipos de precursores, si bien los alcóxidos son los más utilizados:

1. Hidrólisis y Condensación (métodos acuosos –precursores inorgánicos– y métodos alcohólicos –precursores organometálicos–).
2. Gelificación (métodos acuosos –precursores inorgánicos– y métodos alcohólicos –precursores organometálicos–).
3. Envejecimiento.
4. Secado.
5. Aglutinación.

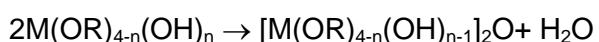
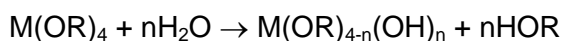
1.-Hidrólisis y Condensación

Precursores inorgánicos. La sal metálica se disuelve en agua y los cationes metálicos se disocian y quedan solvatados por las moléculas acuosas, completándose la hidrólisis en el momento que el medio acuoso alcanza suficiente acidez, pudiéndose añadir una base para desplazar la reacción hacia la derecha.



La condensación tiene lugar bien mediante sustitución nucleofílica o bien por adición nucleofílica.

Precursores organometálicos. En este caso, el proceso comienza con la hidrólisis del alcóxido metálico y se propaga por condensación de su producto principal teniendo el siguiente esquema:



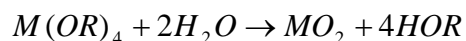
Generalmente, se añade un ácido o una base para catalizar la hidrólisis. En la mayoría de los sistemas, la condensación comienza antes de que la hidrólisis sea completa. Puesto que el agua y los alcóxidos son inmiscibles, para homogeneizar

las fases, suele emplearse un disolvente común (un alcohol), aunque también es posible la preparación de un gel sin añadir ningún disolvente ya que el alcohol producido en la reacción de hidrólisis es suficiente para conseguir la homogeneización [29].

2.- Gelificación

Precursores inorgánicos. Un aumento de pH o la eliminación del agua provoca la coagulación espontánea del sol y se origina el gel.

Precursores organometálicos. La simultaneidad de la hidrólisis y la condensación da como resultado la siguiente reacción global:



De esta manera se origina la red de óxido metálico M—O—M (gel). En esta etapa, la viscosidad aumenta drásticamente, produciéndose una sustancia sólida.

3.- Envejecimiento

Esta etapa comprende un periodo de tiempo determinado durante el cual el gel evoluciona, experimentando una reducción que se extiende progresiva y simultáneamente a todo su volumen. Este envejecimiento tiene lugar en cuatro etapas: polimerización (durante la cual continúan las reacciones de condensación y aumenta el número de conexiones), sinéresis (contracción espontánea del gel con expulsión de líquido de los poros), engrosamiento de partículas (se produce la disolución de partículas pequeñas que reprecipitan como partículas mayores) y transformaciones de fase (en regiones localizadas, la fase sólida puede separarse de la fase líquida o bien la fase líquida puede separarse a su vez en dos fases). El resultado final es un aumento de la dureza del sólido, de donde se deduce que

cuanto más duradero sea este período, más fuerte será la red.

4.- Secado

Esta etapa implica la eliminación del líquido existente en los poros de la red. En primer lugar, el sólido experimenta una reducción de volumen equivalente al del líquido evaporado; cuando se llega a un punto en que la rigidez es ya muy elevada, el líquido retrocede hacia el interior del sólido donde queda aislado en huecos. Sólo la posterior evaporación de este líquido interno y su difusión hacia el exterior se traduciría en un secado más completo del gel. Cuando esta evaporación ocurre en condiciones ambientales, se obtiene un xerogel; sin embargo, cuando la supresión de esta fase se lleva a cabo operando en condiciones hiper-críticas, se obtiene un aerogel [30].

5.- Aglutinación

Se produce aquí una densificación del material regida por la energía de superficie para eliminar los poros que existen en la red de gel. Esta etapa puede llevarse a cabo a temperaturas menores de 1000°C. El valor más adecuado depende del tamaño de los poros, el grado de conexión de estos y el área superficial del gel.

La contracción y densificación de un gel se asocian con mecanismos de contracción de capilares, condensación, relajación estructural y aglutinación viscosa. Una vez completada esta etapa, el gel está “cocido” y equivale a un material cerámico preparado por métodos convencionales. Por lo general, esta etapa no se aplica cuando el gel va a ser utilizado con fines analíticos.

1.4. Factores que influyen en el proceso sol-gel.

La micro-estructura de un material obtenido mediante un proceso sol-gel depende de la interacción de un gran número de parámetros de proceso, y la variación de más de uno simultáneamente puede conducir a resultados bastante complejos. De manera general, los factores más relevantes son aquellos que influyen sobre las velocidades de hidrólisis y de condensación, ya que durante estas etapas, en la que se origina el sol, quedan establecidos, de alguna manera, las características finales que poseerá el gel. No vamos a entrar en la discusión detallada de estos parámetros, ya que han sido objeto de estudio en las dos tesis doctorales que se han realizado con anterioridad en el grupo de investigación, pero si los enumeramos a continuación.

Los factores de los que dependen principalmente las cinéticas de reacción de hidrólisis y condensación son los siguientes:

- Tipo de alcóxido precursor.
- Relación molar inicial alcóxido precursor:agua.
- Tipo (ácido o básico) y concentración del catalizador.
- Tipo de disolvente.
- Temperatura.

1. Naturaleza del alcóxido precursor. Existen muchas posibilidades en cuanto a la elección del alcóxido precursor teniendo en cuenta que, básicamente, puede emplearse cualquier compuesto del tipo metal-alcóxido de fórmula $M(OR)_n$, donde M corresponde a Al, Si, V, Cr, Mo, W, etc. y R puede ser un H o un grupo alquílico. Centrándonos en los alcoxisilanos (alcóxidos de silicio), los más utilizados en los procesos sol-gel son el tetraetoxisilano y el tetrametoxisilano (TMOS). Existe la posibilidad de reducir la reactividad de estos silanos y dar

carácter parcialmente orgánico a la red final utilizando derivados de los compuestos anteriores que contengan uno o más grupos orgánicos no hidrolizables [31]. Estos derivados tendrían las fórmulas genéricas que se indican a continuación, donde R' es el grupo no hidrolizable referido. Los precursores del tipo silicatos orgánicamente modificados $-R'Si(OR)_n-$ se denominan ORMOSILs (siglas de ORganically MOdified SILicates), mientras que los precursores más genéricos $-R'M(OR)_n-$ son denominados ORMOCERs (siglas de ORganically MOdified CERamics). Ejemplos de los primeros son el etiltriatoxisilano y el metiltrimetoxisilano. En función del precursor o precursores elegidos y de la proporción en que éstos se encuentren, obtendremos materiales finales de diferentes propiedades. Así, la presencia de grupos alquilo origina una disminución del grado de entrecruzamiento en la red. Por otro lado, desde el punto de vista estérico, un aumento en la longitud o ramificación (principalmente) de la cadena alquílica retarda la hidrólisis y la condensación del alcoxisilano [32-34]. También, la presencia de estos grupos alquilo proporciona la posibilidad de conferir a la superficie del material resultante carácter hidrofóbico y polaridad variables.

En general, la reactividad química de los alcóxidos metálicos $M(OR)_n$ con respecto a la hidrólisis y condensación depende, principalmente, tanto de la electroafinidad del átomo metálico como de su capacidad para admitir un aumento en su número de coordinación. En concreto, los precursores del tipo $Si(OR)_4$ tienen una electroafinidad baja y su número de coordinación es estable, de lo cual se deriva que la hidrólisis será lenta y las reacciones de polimerización estarán fundamentalmente controladas por la catálisis.

2. Relación molar agua:alcóxido. Es un factor influyente en la velocidad de hidrólisis pero no existe una correlación clara porque el efecto es diferente en cada sistema. Podríamos establecer de forma muy general que

relaciones molares H₂O:alcóxido elevadas aumentan la velocidad de hidrólisis del alcóxido pero disminuyen la velocidad de condensación, lo que conduce a un aumento de la porosidad y de la superficie específica del gel. A medida que esta relación se sitúa por debajo de la estequiométrica, la velocidad de condensación es la que empieza a regir el grado de polimerización, de manera que para relaciones más bajas, la estructura está principalmente constituida por cadenas largas y poliméricas y es muy probable la existencia de grupos sin hidrolizar.

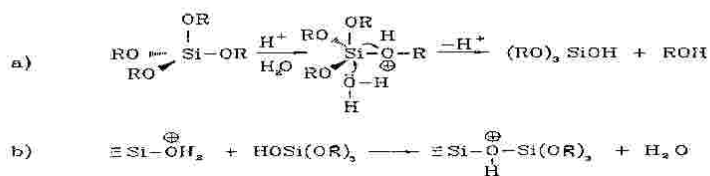
3. Tipo de catálisis. En teoría, las reacciones que conducen a la obtención de un gel pueden realizarse sin catálisis. Sin embargo, es frecuente modificar el pH de la mezcla precursora alcóxido-agua para variar el tiempo de gelificación y la textura del gel resultante.

La velocidad de hidrólisis puede incrementarse mediante catálisis ácida o básica [30].

- En medio ácido, dicha velocidad es proporcional a la concentración de iones H⁺, de manera que tales iones libres en el medio permiten la protonación del alcóxido y favorecen su disociación.
- En medio básico, la velocidad de hidrólisis es independiente de la concentración de H⁺, siendo el efecto, en este caso, menor.

La velocidad de condensación sólo puede incrementarse en medio básico [33,35], ya que un medio ácido dificulta la formación de puentes oxo. La **Figura 1.1.** muestra mecanismos propuestos para las reacciones de hidrólisis y condensación con ambos tipos de catálisis.

MEDIO ACIDO:



MEDIO BASICO:

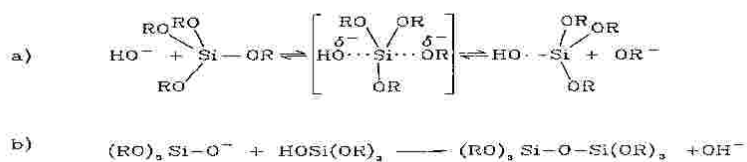


Figura 1.1. Mecanismos propuestos para las reacciones de a) hidrólisis y b) condensación según el tipo de catálisis utilizada en un proceso sol-gel.

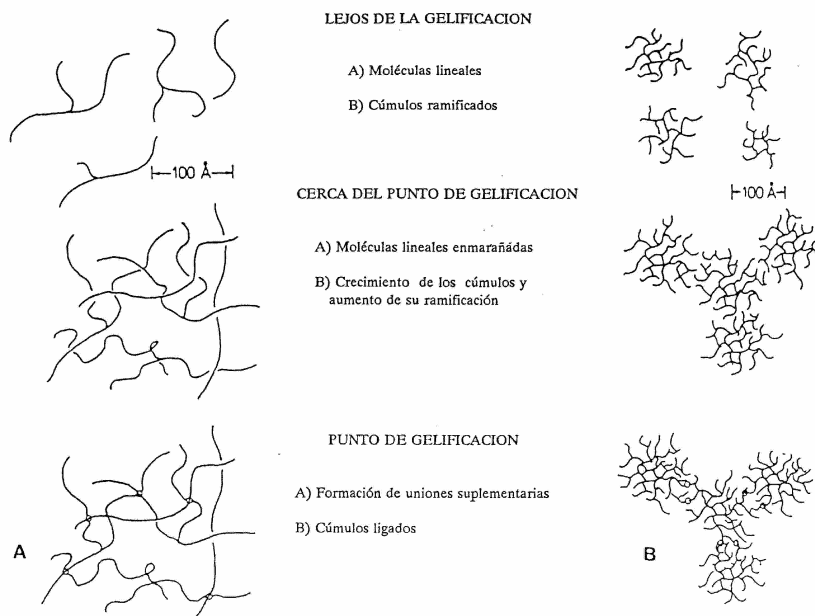


Figura 1.2. Evolución estructural de los soles durante la gelificación: A) En catálisis ácida y B) En catálisis básica.

En la catálisis ácida, se forman polímeros de cadena lineal que se encuentran muy encadenados entre sí antes de la gelificación, lo que origina geles de elevada interconexión con poros de pequeño tamaño generalmente (**Figura 1.2.A**).

En la catálisis básica, los polímeros quedan como cúmulos discretos muy ramificados (por la rápida condensación) pero menos interconectados entre sí. Así, el gel resultante es particulado y con poros más grandes (**Figura 1.2.B**).

4. Tipo de disolvente. En general, un disolvente que forme puentes de hidrógeno con los iones OH⁻ (disolvente prótico) reducirá la actividad catalítica en condiciones básicas, ralentizando el proceso, mientras que un disolvente aprótico ejercerá el efecto contrario. El uso de disolventes polares se aplica normalmente en el caso de alcoxisilanos tetrafuncionales mientras que los no polares se utilizan en el caso de alcoxisilanos sustituidos con grupos alquilo porque la presencia de estos disminuye el carácter hidrofílico de la molécula.

5. Temperatura. El aumento de la temperatura a la que transcurre el proceso de gelificación determina un incremento en las velocidades de las reacciones de hidrólisis y condensación. Este aumento de la velocidad se produce en igual proporción en medio ácido y neutro [36,37].

Globalmente, la razón velocidad de hidrólisis: velocidad de condensación determina la forma y el tamaño del esqueleto polimérico del gel. Si dicha razón es elevada, entonces predominarán las cadenas poliméricas lineales, mientras que en caso contrario, razón baja, predominará un alto grado de entrecruzamiento entre polímeros.

Desde el punto de vista estructural, los factores que quizá más influyen en el

proceso de gelificación son el pH y la proporción de agua. Así, el crecimiento de cadenas poliméricas conduce a coloides a no ser que la hidrólisis se realice con gran exceso de agua y elevado pH. Por otro lado, si se pretende preparar geles monolíticos, las velocidades de reacción no deben ser muy altas, porque esto llevaría al rápido crecimiento, quedando así grupos –OR y –OH encerrados, que no podrían condensar por impedimento estérico.

Las restantes etapas del proceso sol-gel dependen de la estructura inicial que tenga el gel dentro de la mezcla precursora cuando comience la gelificación. En función del método empleado para realizar el proceso, la **gelificación** es distinta; en los métodos acuosos, implica una agregación de partículas, mientras que, en los métodos alcohólicos, conlleva una condensación de polímeros con formación de grupos extensos. Se ha definido el *punto de gelificación* como aquél en que tales grupos quedan unidos entre sí para originar una única red sólida continua. En este momento, la viscosidad de la mezcla es la característica que experimenta un cambio más drástico, hecho que fuerza al gel a “cuajarse”. Controlando la viscosidad durante la gelificación, el producto final puede ser moldeado en una forma determinada y esta propiedad hace que el proceso sol-gel sea muy atractivo como método para preparar sólidos inorgánicos. Puesto que la viscosidad depende del tamaño de las partículas que se van formando en la mezcla precursora, cuanto mayores sean éstas, mayor será la viscosidad y, de igual modo, cualquier variable que contribuya a aumentar el tamaño molecular, tendrá el mismo efecto sobre la viscosidad. Es evidente, además, que la viscosidad se verá acrecentada a medida que transcurra el tiempo de reacción.

Tiempo, temperatura y pH son los factores que influyen en la etapa de **envejecimiento** en el proceso sol-gel, en la cual continúan las reacciones de

policondensación (después de haber alcanzado el punto de gelificación), produciéndose fortalecimiento, endurecimiento y encogimiento de la red. En esta etapa, pues, se puede alterar aún más la estructura del gel.

En el caso de la preparación de materiales con cierto volumen, uno de los principales problemas que se plantean es evitar fracturas en el gel durante la etapa de **secado**. Las fracturas se generan como consecuencia de las tensiones causadas por las fuerzas capilares asociadas con las interfases gas-líquido y se inician si las diferencias de tensión son mayores que las fuerzas tensiles del material. Para prevenir este problema, la vía más directa es permitir a la fase líquida evaporarse a una velocidad muy lenta. Sin embargo, esta estrategia (aunque efectiva) no es practicable en la realidad por los largos tiempos de secado que se requerirían para conseguir un xerogel monolítico. Existe otra alternativa para acelerar la etapa de secado y es la adición de aditivos químicos para el control del secado (DCCAs, Drying Control Chemical Additives). Estos DCCAs modifican la tensión superficial de los líquidos intersticiales permitiendo la eliminación rápida de los residuos no deseados. Su incorporación a la mezcla precursora se realiza antes de que comience la gelificación. Algunos investigadores han estudiado los factores que originan tensiones y fracturas en los geles durante el secado. Según expone Zarzycki [38], la tensión durante dicha etapa depende del tamaño de poro y de la velocidad de evaporación de líquido alojado en el poro, que a su vez depende de la presión de vapor del líquido. Se ha demostrado que, mediante la adición de DCCAs en la mezcla precursora del sol, se consigue controlar la velocidad de hidrólisis y condensación, la distribución del tamaño de poros, la presión de vapor del líquido alojado en los poros y las tensiones que se originan durante la etapa de secado. Así, el hecho de añadir DCCAs, por ejemplo, en sistemas de SiO_2 , reduce los tiempos de gelificación, envejecimiento y secado y las tensiones y aumenta el

tamaño de los monolitos de gel. Este efecto se produce, concretamente, mediante la adición de formamida y los monolitos se secan con mucha más rapidez pero sin fracturarse. En general, los resultados obtenidos en diversas investigaciones aportan varias ideas en cuanto al mecanismo de control de los DCCAs. En principio, si no se utiliza un DCCA, tras la gelificación, se obtiene una red sólida con bastante diversidad de tamaño y diámetro de poro y, en consecuencia, durante la etapa de envejecimiento se producirá un crecimiento diferencial de la red, siendo el efecto final una estructura envejecida de gel con muchas regiones susceptibles de fracturarse durante el secado. Por el contrario, la adición de un DCCA (ácido –por ejemplo, ácido oxálico– o básico –por ejemplo, formamida–) origina una distribución más uniforme de poros a lo largo de la red lo que provoca una minimización de las diferencias en las velocidades de evaporación minimizando, pues, las diferencias de tensión durante el secado. Por otro lado, un DCCA debe poder salir de la red durante la densificación de ésta y antes del cierre de los poros y también debe ser capaz de salir durante el secado sin dejar residuos sensibles a la humedad.

1.5. Sonogeles. Empleo de ultrasonidos en la síntesis de geles.

En función del efecto que estudiemos, podemos clasificar en dos las diferentes aplicaciones de los ultrasonidos.

Una primera área está relacionada con el efecto del medio sobre la onda [39,40], mientras que la segunda área se centra en el estudio del efecto de la onda sobre el medio, como la formación de emulsiones, basándose en la utilización de ultrasonidos de alta intensidad y/o baja frecuencia. Los estudios llevados a cabo en relación con esta última área [41,42] coinciden en que debe tener lugar el fenómeno de la cavitación ultrasónica para que los efectos de la onda sobre el medio se hagan patentes.

Podemos definir de una forma general la cavitación ultrasónica como la formación de una nueva superficie en el seno del líquido mediante la irradiación de ondas ultrasónicas.

Aplicando ultrasonidos en sistemas inmiscibles, puede ampliarse la superficie de contacto entre ambas fases de manera notable, facilitando el intercambio de moléculas entre ellas, obteniendo de esta manera emulsiones extremadamente finas. La aplicación de ultrasonidos a una mezcla precursora alcoxido-agua, que es inmiscible, en presencia de un catalizador ácido, constituye una alternativa diferente para sintetizar geles, sin necesidad de disolventes, y se denomina **sonocatálisis**. Mediante el empleo de este método se obtiene materiales con características diferentes, denominados **sonogeles**. [43]

En la sonocatálisis, las ondas ultrasónicas van a actuar sobre la interfase líquido-líquido de la mezcla alcoxido-agua y van a provocar la formación de burbujas disueltas en el líquido, alcanzando condiciones extremas de presión y temperatura (en las burbujas). Durante el colapso de estas burbujas se produce la hidrólisis, obteniéndose un líquido homogéneo que posteriormente polimerizará para formar el *gel*.

La cavitación inducida mediante el empleo de ultrasonidos, junto con la ausencia de disolvente, configuran un medio excepcional para la consecución del proceso sol-gel, que se traduce en la existencia de características particulares en los sonogeles como son: alta densidad, textura fina, estructura homogénea, etc.

Para la preparación de un sonogel, la hidrólisis de la mezcla precursora se lleva a cabo, pues, sometiendo ésta a ondas ultrasónicas en un contenedor de cristal abierto. Para ello, el equipo más sencillo y accesible sería un baño de ultrasonidos. Sin embargo, tiene el inconveniente de que la potencia suministrada

por el aparato oscila según el tamaño del baño, el vaso de reacción y su posición dentro del baño, de manera que la energía se dispersa en un volumen mayor, por lo que no alcanza en la mezcla reaccionante los niveles requeridos para la cavitación.

Sin duda, el método más eficaz para la transmisión de energía ultrasónica a la mezcla es la inmersión directa de una sonda en el líquido reaccionante. La función de esta sonda es amplificar el movimiento vibracional originado en el generador (el cuál suele resultar insuficiente para casos prácticos). El material más adecuado para la fabricación de sondas acústicas es una aleación de titanio. Gracias a la inmersión directa de la sonda en el sistema reaccionante es posible acceder a potencias ultrasónicas muy superiores a las alcanzadas en el baño, ya que en este sistema no existen pérdidas de energía en la transferencia de ultrasonidos entre la sonda y la mezcla reaccionante. La cantidad de energía comunicada al sistema viene determinada por el tiempo de insonación, principalmente, existiendo pues un parámetro adicional para controlar las propiedades del sol-gel.

En comparación con los métodos clásicos de obtención de geles, que pueden incluir la presencia de un alcohol como disolvente, el primer efecto notable es la considerable disminución del tiempo de gelificación. Este parámetro disminuye, además, al aumentar la dosis de ultrasonidos aplicada a la mezcla. Cuando se emplea el método clásico, la dilución existente al principio origina una gran disminución de la densidad del gel debido al exceso de porosidad resultante de la eliminación del disolvente. Este efecto no es deseable cuando se requieren matrices de alta densidad y escasa posibilidad de contracción.

1.6. Antecedentes y estado actual

La tecnología sol-gel encuentra numerosas aplicaciones en el campo de la química: matrices ópticamente transparentes [44-48], dispositivos electrocrómicos [49-52], construcción de cátodos [53-57], soportes para extracciones en fase sólida (SPE) [58,59] y en cromatografía líquida y gaseosa [60-64].

En el ámbito del electroanálisis las aplicaciones de esta tecnología son relativamente recientes y requieren un tipo especial de materiales sol-gel que ha de ser conductor de la corriente eléctrica [53]. Las sustancias más utilizadas para proporcionar la conductividad eléctrica al material sol-gel son los metales finamente divididos, como el polvo de oro, y el grafito.

Las investigaciones relacionadas con electrodos modificados con óxidos sintetizados mediante procesos sol-gel, y más concretamente con óxidos de silicio (SiO_2 -Mes), comenzaron lentamente a principios de los 90. Un ejemplo de aplicación de material electroactivo obtenido vía sol-gel, en forma de película delgada, fue desarrollado por Lundgren y Murray [60] en 1987. Estas investigaciones experimentaron un rápido auge hacia 1994 en el campo de los biosensores amperométricos, gracias al descubrimiento de la posibilidad de incorporar enzimas en la matriz inorgánica conservando intacta la actividad biológica de aquellas. Podemos encontrar algunas aplicaciones más recientes relacionadas con materiales electroactivos en los trabajos llevados a cabo por Maruszewski [65] y Kim [66].

Quizá el más importante grupo de electrodos sol-gel es el que utiliza el carbono como material base. En 1994 el grupo de Lev inicia el estudio de electrodos sólidos compuestos de carbono y sílice (comúnmente denominados CCEs-Carbon Ceramic Electrodes-) [67,68]. Estos CCEs estaban constituidos por

una red de sílice porosa con un contenido de carbono distribuido homogéneamente. Mediante una adecuada selección de precursores podían obtenerse tanto materiales hidrofóbicos como hidrofílicos. Los materiales hidrofóbicos presentaban una buena relación señal/corriente de fondo porque repelían el agua, de modo que la superficie más externa del electrodo estaba en contacto con el medio electrolítico; presentaban también ciertas ventajas sobre los electrodos de pasta de carbono, como una mayor resistencia mecánica y las posibilidades de preparación en diversas configuraciones y de utilización en un mayor número de disolventes.

La mayor ventaja que presentan los materiales sol-gel modificados orgánicamente, es la de combinar las propiedades de cristales inorgánicos con las propiedades intrínsecas de las moléculas orgánicas. Wang et al. [69] ampliaron esta posibilidad fabricando electrodos compuestos de sol-gel y carbono modificados con dimetilglioxima para la detección voltamperométrica de trazas de níquel, aprovechando así en un mismo dispositivo las ventajas de la química sol-gel y la preconcentración electroquímica. Más tarde se han utilizado numerosos modificantes orgánicos: dos de los más recientemente empleados han sido polidimetilsiloxano (PDMS) [70] y tetrapropiortitanato (TPOT) [71].

Y. Guo y Ana R. Guadalupe [72] desarrollan en 1998 un procedimiento de preparación de electrodos compuestos grafito/sol-gel, aplicando la mezcla precursora con técnicas de impresión por serigrafía. No utilizan codisolventes alcohólicos ni catalizadores, sino únicamente una sustancia tensioactiva que realiza esas funciones.

Z. Ji y Ana R. Guadalupe [73] informan un año más tarde sobre la preparación de un electrodo compuesto grafito/sol-gel modificado con un ligando y con polietilenglicol (PEG), para controlar la reducción de la red de sílice, mejorar la estabilidad operacional del sensor y controlar su porosidad. Más recientemente,

Sonawane et al [74] describen también en su trabajo el efecto de la adición de PEG como modificante en un material sol-gel, dando especial relevancia al efecto del PEG sobre el tamaño y el número de poros que presenta el material.

Pueden encontrarse también en la literatura ejemplos de utilización específica de sensores y biosensores electroquímicos sol-gel en el campo del análisis aplicado, tales como análisis de alimentos, de bebidas y control de agua potable, mostrando especial interés en especies que permitan establecer propiedades de los alimentos y bebidas que se relacionan directamente con su sabor y estabilidad [75-78].

El tema que estamos tratando es de evidente interés y actualidad, por lo que continuamente aparecen artículos relacionados en un amplio número de revistas internacionales. En la bibliografía se recogen algunos de los más recientes [79-81].

Con respecto a la caracterización estructural de los materiales sol-gel, son numerosos los grupos de investigación que se han adentrado en este tema. Destacan sobre todo los grupos dirigidos por los profesores Esquivias (Universidad de Cádiz) [82-84] y Vollet (Universidad de Brasilia) [85-87].

Existe un amplio abanico de técnicas utilizadas en la caracterización estructural, que pueden ser empleadas de forma independiente, para obtener datos de una característica física o estructural determinada del material, o bien de manera conjunta, con el propósito de alcanzar una caracterización más completa del mismo. En este caso, podemos destacar la Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) [88-91], las Técnicas Termogravimétricas [88-90], los diferentes tipos de Microscopía Electrónica [92-95], la Resonancia Magnética Nuclear de sólidos [95-98], las técnicas de difracción de Rayos X [99-101], etc.

En el grupo de Instrumentación y Ciencias Ambientales, dentro del cuál se ha desarrollado el presente trabajo de investigación, las investigaciones de los últimos años se han orientado hacia la utilización de grafito pulverizado como material para la fabricación de sensores electroquímicos.

Nuestras investigaciones sobre las aplicaciones de la tecnología sol-gel en el campo electroquímico se inician en colaboración con el grupo de "Geles" del Departamento de Física de la Materia condensada de la Universidad de Cádiz, hacia 1998, como una derivación natural de la experiencia del grupo en el campo de los sensores electroquímicos basados en pasta de carbono. Desde entonces nuestro grupo ha recorrido buena parte del camino previamente trazado, con la finalización de tres tesis doctorales previas en este campo [1,2,3], un trabajo de investigación para la obtención del Diploma de Estudios Avanzados (DEA) [4], la obtención de una patente [5], numerosas contribuciones a congresos, tanto nacionales como internacionales, varias publicaciones en diferentes revistas internacionales [6-19], así como de varios proyectos de investigación, uno de ellos de reciente concesión.

Todo este trabajo ha cristalizado en el reciente desarrollo de un nuevo material y de electrodos/(bio)sensores, lo que ha constituido una importante novedad a nivel internacional.

Los procedimientos habituales para sintetizar materiales sol-gel para electrodos implican una catálisis ácida de la mezcla precursora, en presencia de un disolvente alcohólico, requiriendo un tiempo de insonación de más de 10 minutos (al menos), en un baño de ultrasonidos para que se inicie la hidrólisis. La posterior evaporación del disolvente, conlleva una marcada reducción en el volumen del material, con formación de poros, lo que es completamente indeseable para la preparación de electrodos sólidos.

Nuestra propuesta difiere bastante de este método de fabricación, y está basada en el empleo de ultrasonidos de alta energía aplicados directamente sobre los precursores, consiguiendo que se produzca una cavitación ultrasónica, que promueve la hidrólisis ácida en ausencia de cualquier disolvente adicional, obteniéndose una fase única en unos pocos segundos. Esto se conoce como sonocatálisis. La mezcla con grafito de grado espectroscópico de este sonogel que hemos desarrollado conduce a un nuevo tipo de electrodo sol-gel.

El desarrollo de este material y la fabricación de electrodos a partir del mismo, ha dado lugar, como ya se ha mencionado anteriormente, a una patente de invención [5] y a la publicación de varios artículos en prestigiosas revistas internacionales [6-19]. Al no existir ninguna referencia bibliográfica anterior con la aplicación de este sistema para preparar electrodos cerámicos de carbono (CCEs), puede considerarse que nuestras investigaciones han sido las primeras en describir los electrodos a los que hemos denominado Sonogel-Carbono.

Los electrodos Sonogel-Carbono muestran las buenas propiedades comunes a los electrodos cerámicos de carbono, como la inercia química, superficie renovable, posibilidad de modificación química o biológica y estabilidad en varios disolventes. Junto a ellas, presentan propiedades electroquímicas especialmente favorables, como un amplio rango operacional de voltaje y valores muy bajos de capacidad de carga observada (C_{obs}), en comparación con otros electrodos de carbono. Además, los electrodos responden directamente a un amplio grupo de compuestos orgánicos y a varios iones metálicos lo que, junto a las propiedades mencionadas, los hace muy adecuados para ser utilizados como sensores electroquímicos.

En el grupo también se ha llevado a cabo la utilización de técnicas

avanzadas de análisis quimiométrico para su aplicación en electroanálisis [13-16], aplicándolas a medidas, obtenidas con electrodos Sonogel-Carbono, de mezclas conteniendo varios fenoles. En este tema mantenemos una estrecha relación con el grupo del Profesor Seeber, de la Universidad de Módena, Italia, como demuestra la publicación de varios artículos científicos en común.

Actualmente, en nuestros laboratorios, se trabaja en temas relacionados con los sensores Sonogel-Carbono, llevando a acabo modificaciones y estudios electroquímicos y estructurales al emplear modificantes de diversa naturaleza, como enzimas, cadenas carbonadas tipo C18, ciclodextrina y polímeros conductores. Algunos de estos trabajos están ya publicados [11,12,102,103] y otros enviados [104,105], comprobando así la versatilidad y posibilidades de estudio de nuestro material.

1.7. Técnicas de Caracterización.

1.7.1. Microscopía Electrónica: Teoría y Fundamentos.

A continuación, se describirán los aspectos más relevantes de la microscopía electrónica, centrándonos principalmente en la microscopía electrónica de barrido (SEM), así como de la espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS), por tratarse de dos de las técnicas empleadas en el presente trabajo de investigación. Aspectos más profundos y descripciones más detalladas de los fundamentos de las mismas pueden encontrarse en [106-108].

1.7.1.1. Introducción: ¿en qué consiste la microscopía electrónica?

La microscopía electrónica es una técnica instrumental que emplea haces de electrones muy acelerados y de muy elevada energía (desde cientos de eV hasta decenas de KeV), con el propósito de observar las características más

íntimas de la materia (escala nanométrica).

La información que puede obtenerse a partir de un examen de este tipo puede ser muy diversa:

- topográfica: los detalles de la superficie de un objeto, su textura;
- morfológica: la forma y el tamaño de las partículas constituyentes del objeto;
- composicional: los elementos y compuestos que forman parte del objeto y la cantidad relativa de los mismos;
- cristalográfica: cómo están dispuestos los átomos en el objeto;

permitiendo establecer relaciones directas entre el tipo de información obtenida y las propiedades del material de que se trate: dureza, ductilidad, reflectancia, reactividad, punto de fusión, conductividad, propiedades eléctricas, etc.

1.7.1.2. Orígenes de la microscopía electrónica y tipos de microscopios.

La microscopía electrónica fue desarrollada como consecuencia de las limitaciones físicas que poseía la microscopía óptica: el máximo número de aumentos alcanzaba los 500x o 1000x, mientras que el límite de resolución se hallaba en 0,2 micrómetros. Alrededor de 1930, el deseo científico de contemplar los detalles de las estructuras internas de las células orgánicas (núcleo, mitocondria, etc.), se topó con la barrera teórica comentada anteriormente. La satisfacción del citado anhelo requería de aumentos superiores a los 10000x, los cuales eran imposibles de alcanzar empleando microscopía óptica.

El microscopio electrónico de transmisión (TEM) fue el primer aparato desarrollado para llevar a cabo microscopía electrónica. Dicho aparato fue ideado en 1931 por Max Knoll y Ernst Ruska en Alemania. Su diseño era exactamente

igual al de un microscopio de transmisión de luz, con la salvedad de que, para “ver a través de” la muestra, se enfocaba un haz de electrones en vez de un haz de luz.

Por otro lado, el primer microscopio electrónico de barrido (SEM), basado en el microscopio de reflexión de luz, fue empleado en 1942; sin embargo, no comenzó a distribuirse comercialmente hasta 1965. Los requerimientos de una tecnología electrónica adecuada para realizar el “barrido” o “scanning” del haz de electrones a través de la muestra fueron los responsables de su desarrollo tardío. A pesar de ser posterior al TEM, los microscopios SEM fueron los que realmente revolucionaron la microscopía electrónica.

Actualmente existe toda una familia de microscopios electrónicos surgidos tras las numerosas investigaciones llevadas a cabo en los últimos veinte años. Podemos destacar el microscopio electrónico de transmisión-barrido (STEM), el cual es una combinación de los dos anteriores; y otros dos, menos conocidos, que son el microscopio de emisión de iones (FIM) y el de efecto túnel (STM). Mientras que el primero de ellos permite observar la estructura atómica de la superficie de algunas muestras (energías de enlace de átomos absorbidos, corrosión de superficies metálicas, imperfecciones cristalinas de algunos metales), con el segundo se obtiene una imagen topográfica a escala atómica (reconstrucción de numerosas superficies de materiales de gran interés tecnológico).

Todos estos aparatos combinan la posibilidad de obtener imágenes de gran resolución con el análisis químico de pequeñas áreas del material, por ello se ha incrementado notablemente el campo de aplicación de esta técnica. Dado el gran abanico de posibilidades es necesario conocer las ventajas e inconvenientes de cada uno de los microscopios para así decidir cuál es el más apropiado para nuestros objetivos: geología, biología, medicina, tecnología, etc.

1.7.1.3. Funcionamiento de un microscopio electrónico: generalidades.

Un microscopio electrónico funciona exactamente como su homólogo óptico. La única diferencia estriba en que los primeros emplean un haz de electrones en vez de un haz de luz para ver la muestra o espécimen, obteniendo así información relevante acerca de su estructura y composición. En la **Figura 1.3**, se recoge un esquema donde se observan las analogías y diferencias entre a) un microscopio óptico, b) un microscopio electrónico de transmisión (TEM), y c) un microscopio SEM. El microscopio óptico se muestra invertido, para subrayar sus similitudes con los microscopios electrónicos.

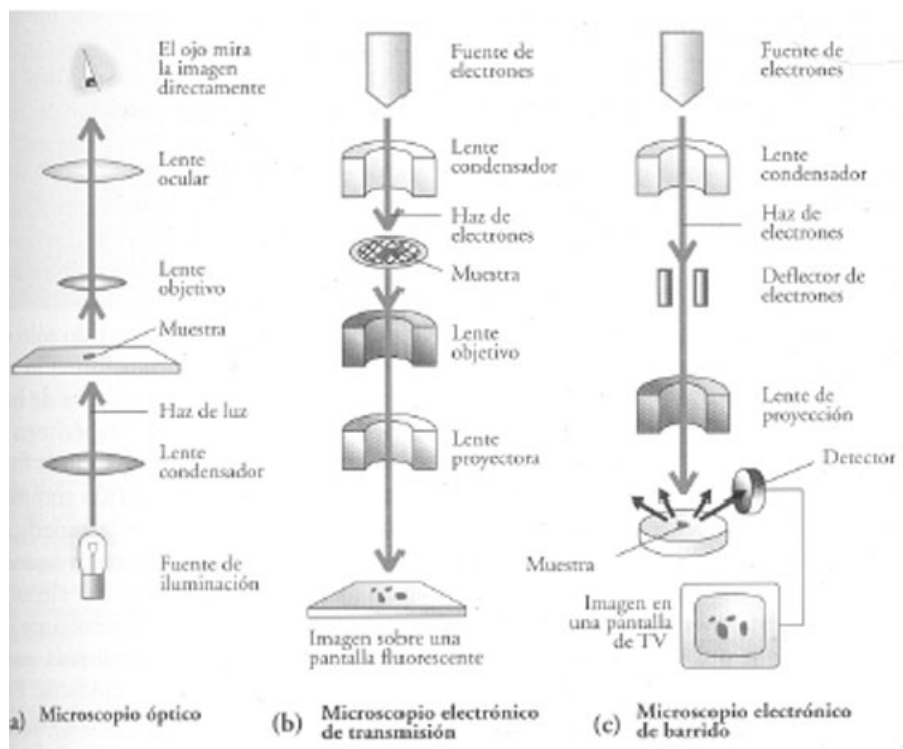


Figura 1.3: Esquema comparativo de tres tipos diferentes de microscopía.

Las lentes de enfoque en el microscopio óptico son de vidrio o de cuarzo; las del microscopio electrónico son bobinas magnéticas. Mientras que en el microscopio óptico y en el electrónico de transmisión, el haz de iluminación o de electrones atraviesa el espécimen, en el microscopio electrónico de barrido éste es dispersado desde la superficie.

Como puede observarse, la diferencia principal entre el funcionamiento de un microscopio TEM y uno SEM radica en el punto donde se coloca la muestra para su observación (esto se relaciona con el tipo de interacción electrón-materia medido, como se verá posteriormente), así como en la forma de presentación de la imagen. En el caso del TEM, además, el “camino óptico” del haz de electrones es ligeramente más complejo que en el SEM, puesto que aquél emplea una lente magnética más, en vez del deflector de electrones utilizado en el SEM.

Las etapas básicas del funcionamiento de un microscopio electrónico genérico son las siguientes:

1. La fuente de electrones emite un haz de partículas, las cuales se aceleran hacia el espécimen gracias a un potencial eléctrico positivo.
2. Dicho haz de electrones se hace pasar a través de un conjunto de aperturas y lentes magnéticas, las cuales lo enfocan sobre la superficie de la muestra.
3. Al incidir dicho haz sobre el espécimen, se generan una serie de interacciones denominadas interacciones electrón-materia.
4. Dichas interacciones y efectos son detectadas y transformadas en una imagen.

Interacciones electrón-materia.

La interacción de los electrones incidentes con la muestra produce una serie de radiaciones secundarias: electrones secundarios, electrones retrodispersados, electrones transmitidos, radiación X, electrones Auger, catodoluminiscencia y energía absorbida (por la muestra). La utilización de una u otra nos permite obtener distintas informaciones sobre la muestra. En la siguiente figura, se muestra un esquema de los diferentes tipos de interacciones electrón-materia, así como de la información que puede obtenerse a partir de cada una de ellas:

Las interacciones señaladas por la parte superior del espécimen se emplean al examinar muestras gruesas (SEM), mientras que las interacciones reflejadas en la parte inferior se utilizan con muestras delgadas (TEM).

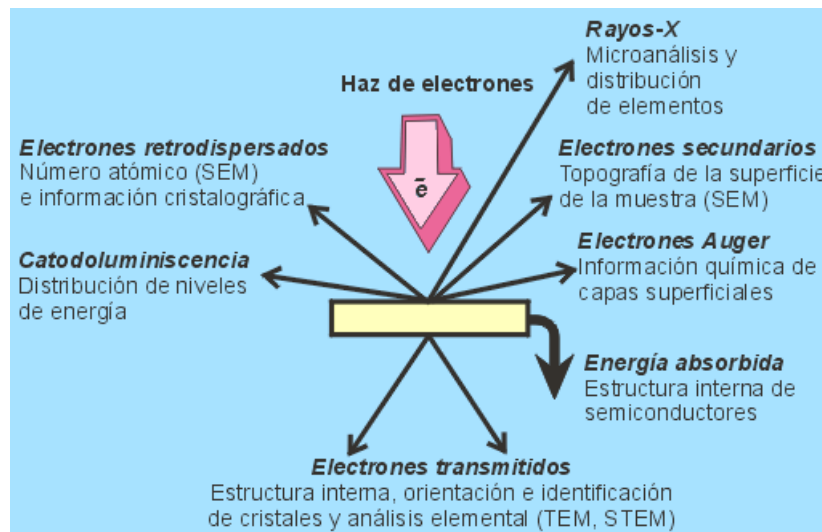


Figura 1.4: Tipos de interacciones electrón-materia

Límite de resolución de los microscopios electrónicos.

Uno de los parámetros más importantes en el uso de las técnicas microscópicas es el **límite de resolución**. En un microscopio óptico, aquél viene determinado por la longitud de onda de la luz con la que se ilumina el objeto. El límite de resolución puede disminuirse si se emplea una radiación con una menor longitud de onda. La longitud de onda efectiva de un haz de electrones fuertemente acelerados es muchos órdenes de magnitud menor que la de la luz visible, e incluso que la de la luz ultravioleta: 0,004 nm a 100 kV (criterio de De Broglie) frente a los 800-200 nm de la luz (criterio de Rayleigh). La ventaja que tienen los electrones sobre otras partículas de pequeña longitud de onda es que los electrones son fácilmente acelerados mediante una diferencia de potencial y además es posible, al estar cargados, modificar su trayectoria en presencia de campos eléctricos o magnéticos.

Por otro lado, hay que resaltar que en microscopía electrónica se trabaja siempre en el vacío. Esto se debe a que al operar con electrones que viajan con una trayectoria prefijada desde la fuente hasta su destino, es imprescindible que esta trayectoria no sea desviada por la presencia de átomos o moléculas que no sean las de la muestra a analizar. Por ello la columna debe estar lo más libre posible de moléculas de gas, esto se consigue con potentes bombas de vacío. Las presiones a las que se trabaja oscilan entre los 10^{-7} y los 10^{-10} bares, es decir, se reduce la presión por debajo de una millonésima parte de la presión atmosférica.

Fuente o cañón de electrones.

Todos los microscopios electrónicos poseen algún tipo de fuente de electrones, siendo el cañón termoiónico la más comúnmente empleada. Su esquema es el que aparece representado en la siguiente figura (**Figura 1.5**):

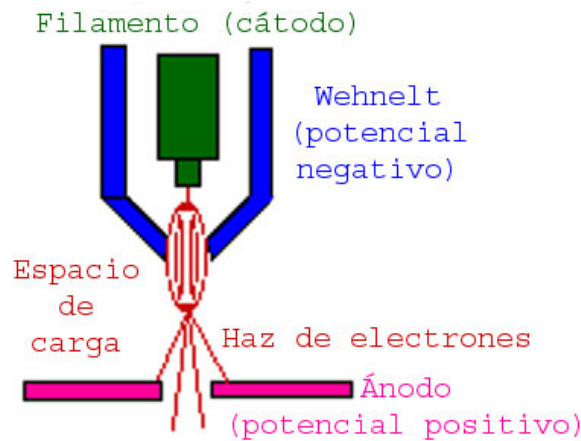


Figura 1.5: Esquema de fuente de electrones de un microscopio electrónico

El cañón termoiónico de electrones presenta el funcionamiento descrito a continuación:

1. Se aplica un potencial eléctrico positivo en el ánodo.
2. El filamento (cátodo) se somete a calentamiento hasta generar un chorro de electrones.
3. Posteriormente, los electrones son acelerados hacia abajo en la columna gracias al potencial positivo.
4. Se aplica un potencial eléctrico negativo (~500 V) en el Wehnelt.
5. Como los electrones se desplazan hacia el ánodo, cualquiera de los emitidos desde los lados del filamento son repelidos por el Wehnelt hacia el eje óptico (la vertical centrada del cañón).
6. En el espacio existente entre la punta del filamento y el Wehnelt se produce una recolección de electrones. Dicha recolección se denomina espacio de carga.
7. Los electrones situados en la zona inferior del espacio de carga (la más próxima al ánodo) salen expulsados del área del cañón a través de un pequeño agujero (<1 mm) existente en el Wehnelt.
8. El haz de electrones se desplaza luego hacia abajo por la columna con

el fin de ser empleados para generar una imagen.

El proceso descrito asegura varias cosas:

- Los electrones que posteriormente se utilizan para generar la imagen han sido emitidos desde una fuente puntual casi perfecta (espacio de carga).
- Los electrones que componen el haz poseen todos una energía similar (haz monocromático).
- Aquellos electrones casi paralelos al eje óptico serán, única y exclusivamente, los que salgan del área del cañón.

Volumen de interacción del espécimen.

Se define como tal el volumen en el interior de la muestra en el cual se producen las interacciones cuando golpea el haz de electrones. Dicho volumen depende de varios factores:

- El número atómico (Z) del material que se está examinando: cuanto mayor sea Z , el material absorberá o detendrá mayor cantidad de electrones, poseyendo, por tanto, un menor volumen de interacción.
- El voltaje de aceleración empleado: voltajes más elevados generan un haz de electrones mucho más penetrante y, por consiguiente, volúmenes de interacción más grandes.
- El ángulo de incidencia del haz de electrones: a mayor ángulo (más alejado de la dirección normal), menor volumen.

La figura presentada a continuación (**Figura 1.6**) constituye un claro ejemplo de un volumen de interacción típico para un espécimen con las características siguientes:

- En el espécimen predominan, fundamentalmente, elementos de número atómico $Z = 28$.
- El voltaje de aceleración es de 20 kV.
- El ángulo de incidencia del haz de electrones es 0° , completamente normal a la superficie del espécimen.

Hay que prestar especial atención a las distintas profundidades máximas de muestreo aproximadas para los diferentes tipos de interacciones electrón-materia.

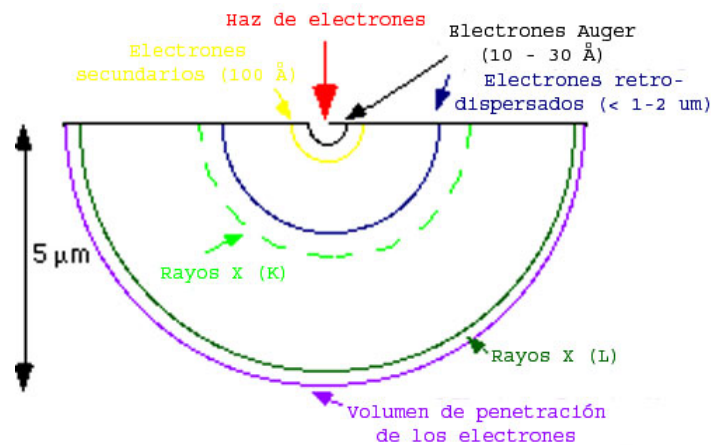


Figura 1.6: Ejemplo de volumen de interacción típico entre el haz de electrones y la muestra

1.7.1.4. Microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Los microscopios electrónicos más sencillos constan de dos lentes formadoras de la imagen de manera muy parecida a los microscopios ópticos convencionales. La iluminación proviene de un cañón de electrones emitidos por un filamento de W o LaB₆. Los electrones son acelerados al aplicar un potencial negativo (100 - 1000 kV) y enfocados mediante dos lentes condensadoras sobre una muestra delgada, transparente a los electrones.

Después de pasar a través de la muestra los electrones son recogidos y focalizados por la lente objetivo dentro de una imagen intermedia ampliada. La imagen es ampliada aún más gracias a las lentes proyectoras, las cuales controlan la ampliación de la imagen en la pantalla fluorescente. La imagen final se proyecta sobre una pantalla fluorescente o una película fotográfica.

Un TEM de dos lentes puede llegar a aumentar la imagen alrededor de 1000 veces. El poder de resolución podría llegar hasta 5 nm siempre y cuando se consiguiera aumentos de 50.000x, lo que es posible utilizando un vidrio de aumento sobre la imagen fluorescente en el microscopio, o un incremento fotográfico de la imagen registrada en la película.

Los microscopios de gran resolución (tres lentes generadoras de imagen) son capaces de ampliar la imagen hasta 500.000 veces y tienen poderes de resolución de unas fracciones de nm. Normalmente poseen aumentos de entre 1000 - 200.000x ó de 2500 - 500.000x.

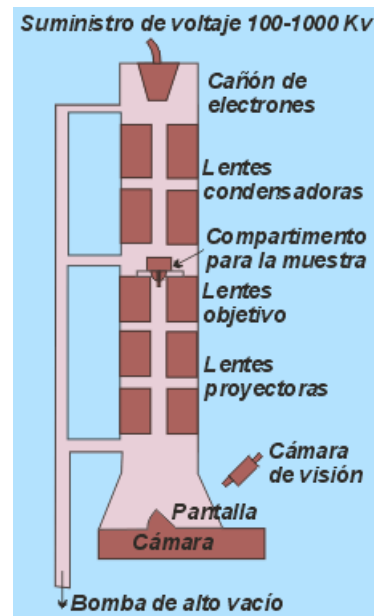


Figura 1.7: Esquema de un TEM

Modos de formación de la imagen.

Existen diferentes modos de formación de la imagen en un microscopio de transmisión:

1. **Imagen de campo claro:** si la imagen se forma a partir del haz transmitido, que no ha sufrido dispersión, entonces la imagen del objeto es oscura sobre un fondo brillante.

2. **Imagen de campo oscuro:** si, por el contrario, se utilizan los electrones dispersados, en este caso, la imagen aparece brillante sobre un fondo oscuro.

El primero de los modos es el más comúnmente empleado. En la siguiente figura, se recoge un esquema explicativo del mismo.

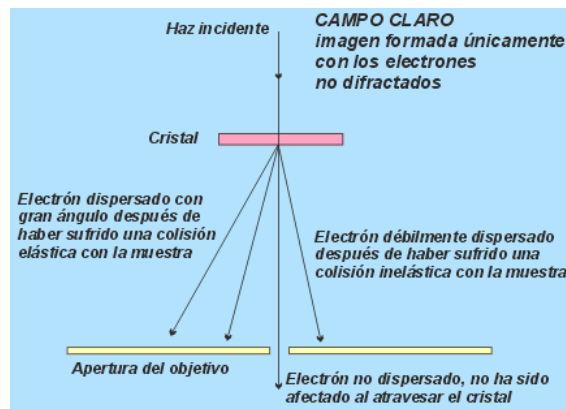


Figura 1.8.: Esquema de formación de imágenes mediante el modo de imagen de campo claro

Por otra parte con este microscopio se puede obtener un diagrama de difracción de la muestra, lo que nos aporta una valiosa información sobre la estructura cristalina de la misma. Esto es posible si hacemos incidir el haz de electrones sobre un cristal con un ángulo capaz de satisfacer la ley de Bragg para una determinada distancia entre planos atómicos d_{hkl} . Como la longitud de onda de los electrones es muy pequeña, ese ángulo también lo es, por lo que el haz debe incidir prácticamente paralelo a los planos reticulares. El diagrama de difracción está formado por los puntos de corte de los haces difractados y transmitido con el plano de la pantalla. Representa, por tanto, la sección de la red recíproca del cristal en el plano normal al haz de electrones.

La microscopía TEM permite obtener los siguientes tipos de información:

- Morfológica: el tamaño, forma y distribución de las partículas que conforman el espécimen, así como también las relaciones existentes entre ellas a escala de diámetros atómicos.
- Cristalográfica: la disposición de los átomos en la muestra y su número de coordinación; además, permite la detección de defectos a escala atómica en áreas de unos pocos nanómetros de diámetro.
- Composicional: los elementos y los compuestos de los que se compone el espécimen y su proporción relativa, en áreas de unos pocos nanómetros de diámetro.

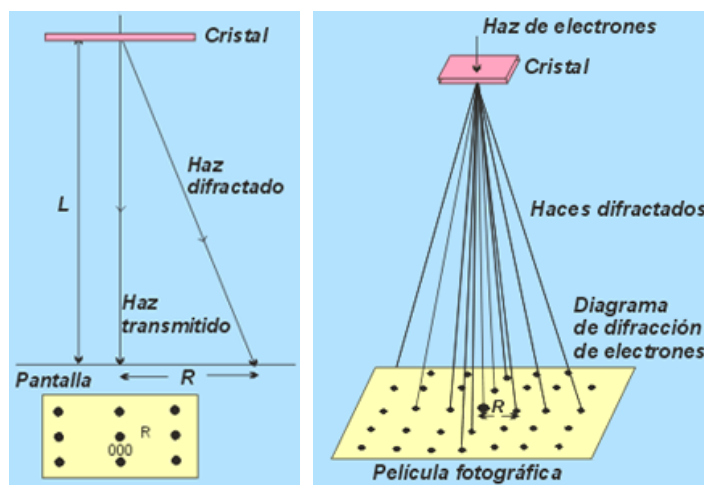


Figura 1.9.: Esquema de obtención de un diagrama de difracción de electrones.

La posibilidad de combinar la difracción de electrones con los distintos modos de formación de la imagen hace del microscopio de transmisión una de las mejores herramientas en el estudio de la red cristalina y sus defectos. Se utiliza fundamentalmente en dos campos: el de las Ciencias de Materiales en el que analizan semiconductores, metales, aleaciones, aislantes y cerámicas, entre otros,

y en el campo de la Biología, en el que se estudian bacterias, virus, macromoléculas, tejidos, etc.

Preparación de muestras.

Finalmente, hay que poner de relieve que, a la hora de desarrollar un análisis TEM, la preparación de la muestra es de vital importancia. La calidad de dicho proceso de preparación contribuirá en gran medida a que la micrografía sea buena o mala. Por ello, a la hora de la preparación de la muestra son necesarias una gran diligencia, paciencia y pulcritud.

En este apartado, sólo se nombrarán los métodos más utilizados para la preparación de los especímenes. Para mayor información sobre dichos métodos, remitimos al lector a la bibliografía.

Las muestras pueden ser de dos tipos:

- **Muestras autoportadas:** se preparan en dos etapas:
 - 1) **Adelgazamiento inicial y corte:** en esta primera etapa, se hace uso del clivado, los discos o muelas de corte, el hilo de diamante, el microtomo, etc.
 - 2) **Adelgazamiento hasta electrón-transparencia:** en la segunda etapa, se utilizan el pulido químico, el pulido electroquímico, el bombardeo iónico y la ultramicrotomía.
- **Muestras soportadas:** los soportes más comúnmente empleados son las microrejillas de carbón microagujereado y las resinas epoxi. Dependiendo de los casos, se utilizan diferentes tipos de técnicas de deposición de las partículas o fibras.

1.7.1.5. Microscopía electrónica de barrido (SEM).

En el microscopio electrónico de barrido se hace incidir un delgado haz de electrones acelerados, con energías desde unos cientos de eV hasta unas decenas de keV (50 KeV), sobre una muestra gruesa, opaca a los electrones. Este haz se enfoca sobre la superficie de la muestra, de forma que realiza un barrido de la misma siguiendo una trayectoria de líneas paralelas.

De todas las formas de radiación resultantes de la interacción del haz incidente y la muestra (ver **Figura 1.4**) hay dos realmente fundamentales en el microscopio de barrido: los electrones secundarios y los electrones retrodispersados. Los primeros son electrones de baja energía (decenas de eV) que resultan de la emisión por parte de los átomos constituyentes de la muestra (los más cercanos a la superficie), debido a la colisión con el haz incidente. Con ellos se obtiene una imagen de apariencia tridimensional del espécimen, tal y como se muestra en la **Figura 1.10**.

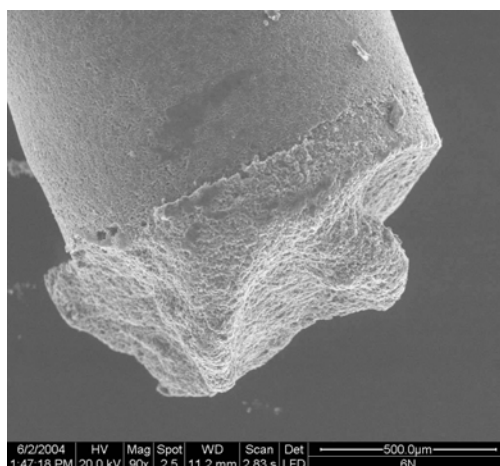


Figura 1.10.: Imagen de microscopía electrónica de barrido obtenida en los servicios centrales, a partir de una de nuestras muestras.

Los electrones retrodispersados, sin embargo, son electrones del haz incidente que han interactuado (colisionado) con los átomos de la muestra y han sido reflejados. La intensidad de ambas emisiones varía en función del ángulo que forma el haz incidente con la superficie del material, es decir, depende de la topografía de la muestra. Una imagen originada por estos electrones revela diferencias en la composición química por diferencias de contraste.

La señal emitida por los electrones y la radiación resultantes del impacto se recoge mediante un detector y se amplifica para cada posición de la sonda. Las variaciones en la intensidad de la señal que se producen conforme la sonda barre la superficie de la muestra se utilizan para variar la intensidad de la señal en un tubo de rayos catódicos que se desplaza en sincronía con la sonda. De esta manera, existe una relación directa entre la posición del haz de electrones y la fluorescencia producida en el tubo de rayos catódicos. El resultado es una imagen topográfica muy ampliada de la muestra.

El aumento de la imagen producido por el microscopio de barrido resulta de la relación entre las dimensiones de la imagen final y el área de la muestra que ha sido barrida. Así, por ejemplo, si la sonda barre un área de 1 mm^2 de la muestra y la imagen en la pantalla es de 100 mm^2 , ésta ha sido ampliada 100 veces. Este microscopio tiene un rango de aumentos que varía desde 10 hasta 200.000x, con una distancia focal de 35 mm. El poder de resolución del microscopio es determinado directamente por el área mínima que la sonda es capaz de escanear: el menor diámetro de la sonda con un número mínimo de electrones.

En el caso en que la muestra no sea buena conductora, para su correcta visualización en el microscopio SEM, se acostumbra a recubrirla con una película conductora metálica o de carbono para evitar que aquella se cargue cuando sea irradiada.

Modos de operación.

Si el microscopio dispone de varios sistemas de detección es posible diferenciar entre energías electrónicas, principalmente, entre la señal producida por los electrones secundarios y la generada por los electrones retrodispersados.

Con los **electrones secundarios**, se obtiene una imagen de apariencia tridimensional de la muestra. Las imágenes generadas de este modo son las más comunes en microscopía SEM (**Figura 1.10**).

La intensidad de emisión de los **electrones retrodispersados** depende del número atómico medio de los átomos de la muestra; así los átomos más pesados producen mayor cantidad de electrones retrodispersados. Una imagen originada por los electrones retrodispersados revela diferencias en la composición química por diferencias de contraste.

En resumen, la información que puede obtenerse a partir de un SEM puede ser de varios tipos:

- Topográfica: las características superficiales de un objeto, “su apariencia”, su textura, a escala nanométrica.
- Morfológica: la forma, el tamaño y la disposición de las partículas que componen el espécimen y que, o bien se encuentran sobre la superficie de la muestra, o bien han sido expuestas mediante adelgazamiento o pulido químico (también a escala nanométrica).
- Composicional: los elementos y compuestos de los que se componen la muestra, así como su proporción relativa, en áreas de aproximadamente 1 μm de diámetro.
- Cristalográfica: la disposición de los átomos en el espécimen y su

número de coordinación; este tipo de información sólo es útil en partículas monocristalinas de tamaño superior a 20 μm .

Por otro lado, y para terminar con este apartado, el bombardeo de electrones sobre la muestra genera **rayos X** que son exhaustivamente analizados. Así, con la longitud de onda o la intensidad de las líneas en el espectro de rayos X, los elementos presentes pueden ser identificados y sus concentraciones estimadas. Dicho procedimiento se lleva a cabo mediante la *espectroscopia de energía dispersiva de rayos X* o *EDS*, cuyo fundamento teórico se describe a continuación.

1.7.2. Espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS).

Esta técnica de análisis, también denominada EDAX, se emplea para la identificación de la composición elemental del espécimen, o de un área de interés del mismo, normalmente del orden de 1 mm^2 [108].

Durante el análisis EDS, que puede llevarse a cabo con un microscopio SEM, equipado con el detector adecuado, o bien con una microsonda electrónica, el espécimen se bombardea con un haz de electrones (energía cinética de 10 - 30 KeV), penetrando en la muestra hasta una profundidad de aproximadamente 1 μm , extendiéndose lateralmente a una distancia similar. Dichos electrones colisionan con los propios electrones de los átomos constituyentes, expulsando algunos de ellos en el proceso (Ver **Figura 1.4**). La posición vacante dejada por una partícula eyectada de una capa más interna puede ser ocupada eventualmente por un electrón más energético procedente de una capa más externa. Para que esto sea posible, sin embargo, dicho electrón debe abandonar parte de su energía, emitiéndola en forma de rayos X.

La magnitud de la energía desprendida por el electrón transferido depende de la capa de procedencia, así como también de la capa a la cual es transferido.

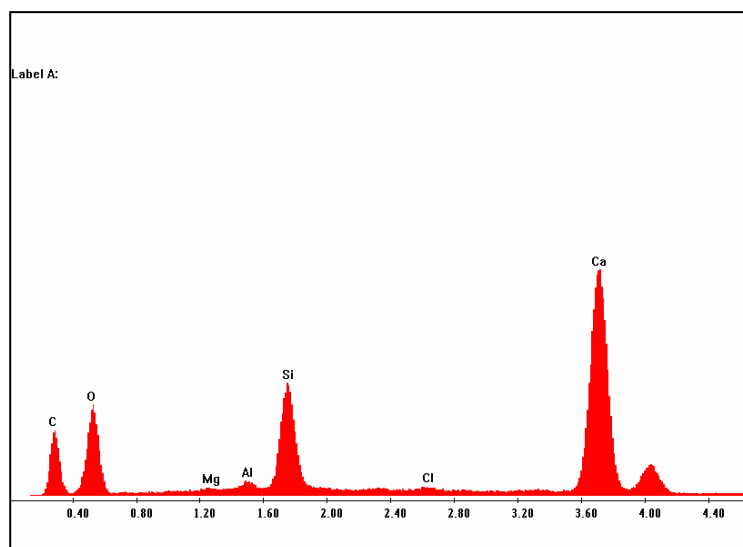


Figura 1.11.: Espectro EDS obtenido en los servicios centrales a partir de una de nuestras muestras.

Más aún, durante el proceso de transferencia, los átomos de cada elemento emiten radiación X con una energía característica. De este modo, determinando la cantidad de energía presente en los rayos X emitidos por un espécimen durante el bombardeo por el haz de electrones, puede ponerse de manifiesto la identidad de los átomos que componen la muestra.

Un espectro EDS (**Figura 1.11**) consiste sólo en una representación de la frecuencia con la que se reciben los rayos X para cada nivel de energía. En dicho espectro, normalmente, aparecen una serie de picos correspondientes a los niveles de energía para los cuales se han recibido la mayoría de los rayos X. Cada uno de estos picos son únicos para cada átomo en particular, pudiendo establecerse, de este modo, la correspondencia con un determinado elemento (la identificación se lleva a cabo mediante tablas de referencias). La información obtenida de esta forma se denomina **análisis EDS cualitativo**. De este modo, pueden detectarse elementos cuyo número atómico se encuentra entre el del berilio y el del uranio. El valor mínimo para el límite de detección varía desde 0,1 hasta unas pocas unidades de porcentaje en peso, dependiendo del elemento y de la matriz.

En los **análisis cuantitativos** de muestras planas y bien pulidas, las intensidades de las líneas de rayos X del espécimen son comparadas con aquellas originadas por estándares (patrones) de composición conocida. Cuanto mayor sea el pico en el espectro, mayor será la concentración de dicho elemento en el espécimen. Las intensidades medidas requieren ciertas correcciones instrumentales, incluyendo la eliminación del fondo, de la que es origen principalmente el "espectro continuo" (fotones emitidos por electrones desacelerados en las colisiones con átomos). La composición en el punto analizado es calculada a partir de las intensidades, corregidas por la "matriz de correcciones", que tiene en cuenta los diferentes factores que gobiernan la relación entre intensidad y composición. Esto es lo que comúnmente se conoce con el nombre de correcciones ZAF. Dichos factores de corrección son individuales y dependen del número atómico (Z), de la absorción (A) y de la fluorescencia (F). La precisión de un análisis cuantitativo normalmente es mayor del $\pm 2 \%$ y los límites de detección están alrededor de las 100 ppm ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en análisis rutinarios, llegando a ser de 10 ppm ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en circunstancias excepcionales.

Por otro lado, un espectro EDS no sólo identifica los elementos a que corresponde cada pico y su concentración en la muestra, sino además el tipo de radiación X emitida en cada caso. Por ejemplo, un pico correspondiente a la energía poseída por los rayos X emitidos por un electrón que salta desde la capa L a la capa K se identifica como el pico o la línea K-alfa (K_{α}). Del mismo modo, el pico correspondiente a la radiación X emitida por un electrón de la capa M que salta hasta la capa K se denomina pico o línea K-beta (K_{β}). La siguiente figura sirve para ilustrar algunas de estas transiciones electrónicas, con sus consiguientes líneas espectrales:

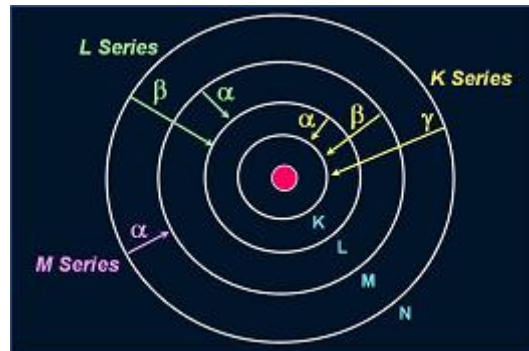


Figura 1.12.: Transiciones electrónicas y líneas espectrales.

Otro tipo de análisis que puede desarrollarse con la EDS es el **análisis de los perfiles de las líneas**. El haz de electrones procedentes del SEM es barrido a lo largo de una línea transversal preseleccionada en la muestra, mientras los rayos X se detectan por las posiciones discretas a lo largo de dicha línea. El análisis del espectro de rayos X en cada posición proporciona una serie de gráficos que representan la concentración elemental relativa para cada elemento frente a la posición a lo largo de la línea.

Finalmente, también es posible obtener mapas elementales. La intensidad de los rayos X característicos se mide en relación con la posición lateral sobre la superficie de la muestra. Por tanto, variaciones en la intensidad de los rayos X indican concentraciones elementales relativas a lo largo de dicha superficie. Los mapas se elaboran utilizando la intensidad de brillo de la imagen como una función directa de la concentración local de el(los) elemento(s) presente(s). La resolución lateral puede alcanzar hasta un máximo de 1 μm (**Figura 1.13**).

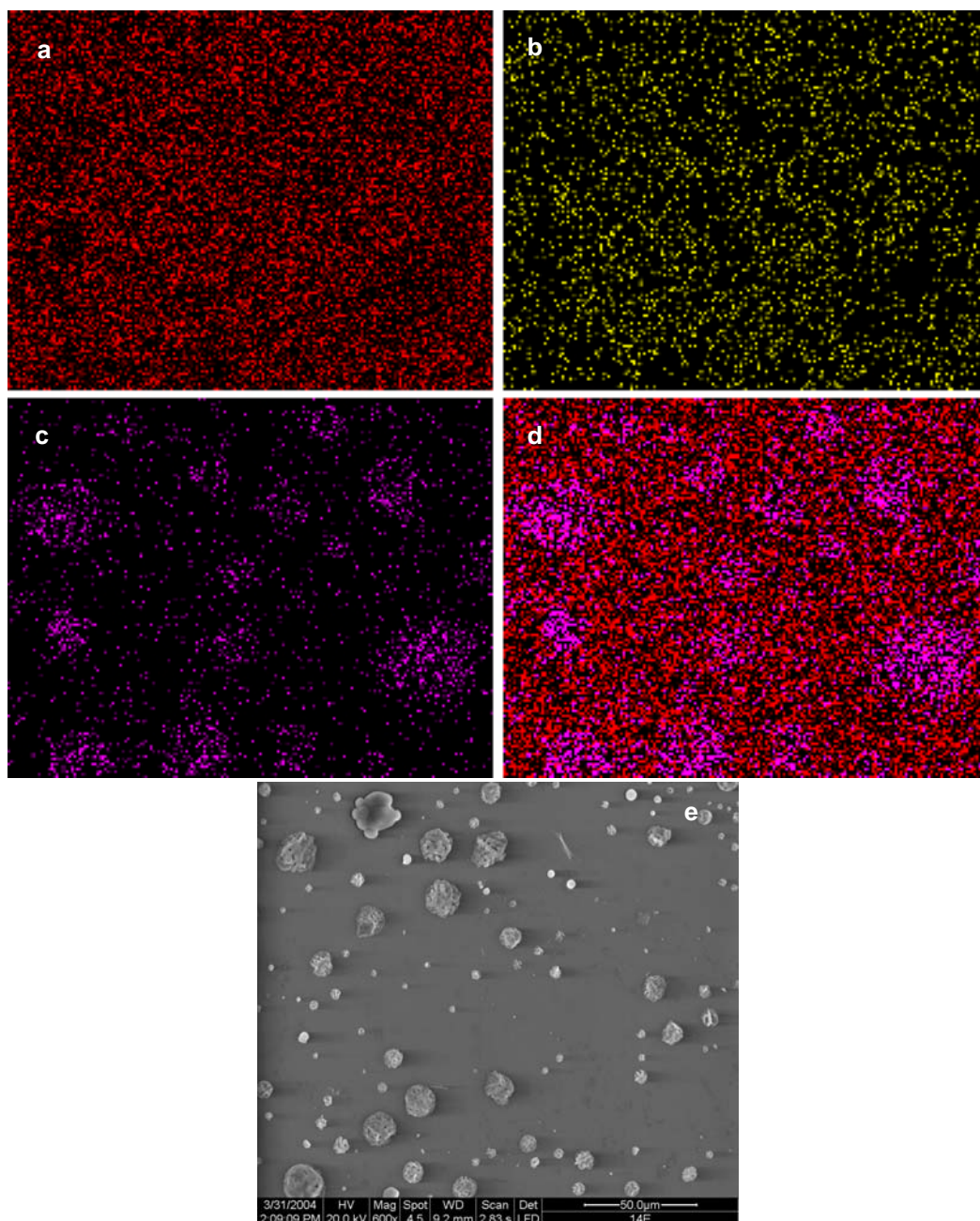


Figura 1.13: Mapas de distribución elemental de para los diferentes elementos que componen el Sonogel-carbono: a) Silicio, b) Oxígeno, c) Cloro, d) mapa de distribución elemental conjunto de los tres elementos anteriores, todos en la misma posición de la muestra; e) micrografía de la muestra.

1.7.3 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

1.7.3.1. Introducción.

Los microscopios con sonda de barrido de proximidad proporcionan imágenes de muy alta resolución de diferentes propiedades de la muestra.

Los microscopios de fuerza atómica son uno de la docena de tipos de microscopios con sonda de barrido de proximidad. Todos esos microscopios trabajan midiendo una propiedad local -tales como altura, absorción, o magnetismo- con una sonda o punta situada muy cerca de la muestra. La pequeña separación existente entre la sonda y la muestra (del orden de la resolución del instrumento) hace posible realizar medidas sobre un área muy pequeña de la muestra. Para adquirir una imagen, el microscopio ejecuta un barrido con la sonda sobre la muestra, examinándola, mientras mide la propiedad local en cuestión. La imagen resultante recuerda una imagen en una pantalla de televisión, que se compone de muchas filas o líneas de información situadas unas sobre otras.

A diferencia de los microscopios tradicionales, los sistemas de sondas de barrido no usan lentes, por lo que es el tamaño de la sonda, en lugar de los efectos de difracción, lo que limita generalmente su resolución.

1.7.3.2. Componentes de un AFM.

La **figura 1.14.** muestra los componentes básicos de un Microscopio de Fuerza Atómica (AFM), que se describen a continuación.

Wafer: el wafer es una diminuta pieza rectangular de nitruro de silicio de no más de un milímetro de ancho por sólo unos pocos milímetros de longitud. Uno de los extremos del wafer sirve de soporte al menos para un cantilever y su punta, los cuales han sido acoplados al mismo usando técnicas similares a las empleadas en

la fabricación de microchips. El otro extremo del wafer se encuentra sujeto por una abrazadera al instrumento de AFM.

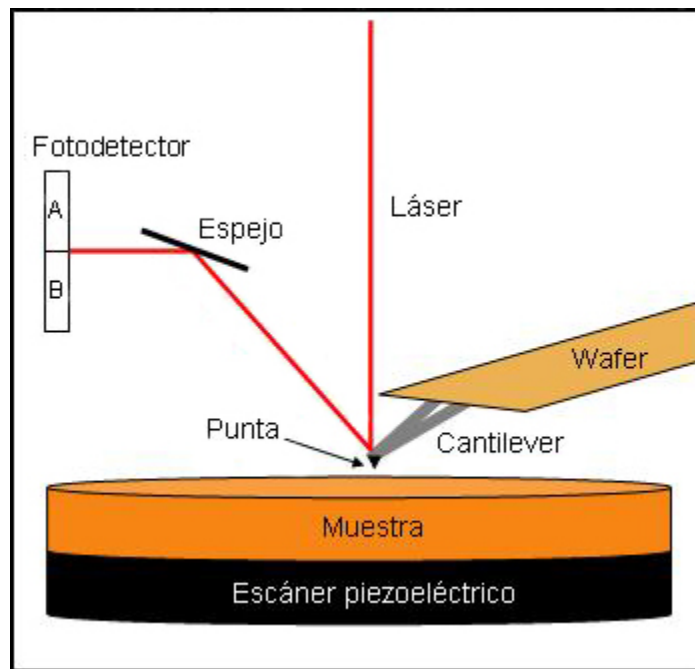


Figura 1.14.: Componentes básicos de un Microscopio de Fuerza Atómico.

Cantilever: el cantilever consiste en una pequeña protuberancia que sobresale de uno de los extremos del wafer, siendo difícilmente visible a simple vista. Esta estructura extremadamente fina suele aparecer en forma de V (como se muestra en el esquema) o como una especie de tablilla rectangular. Al final del cantilever se encuentra la punta que es la zona física que realmente contacta con la superficie de la muestra. El cantilever es algo flexible y reflectante.

Punta: la punta es una protuberancia al final del cantilever. El extremo final de una buena punta no mide más de unas pocas decenas de nanómetros de diámetro. Se desplaza la punta sobre la superficie de la muestra, pasando sobre cualquier variación existente en la misma. Esto provoca que el cantilever sufra

inclinaciones y torsiones.

Escáner Piezoeléctrico (PES): es un dispositivo muy pequeño y el componente más caro del AFM. La muestra se coloca sobre el PES y es barrida por la punta de un cantilever estacionario (hay modelos de AFM donde la muestra es la que se encuentra estacionaria). El PES es capaz de desplazar con gran precisión la muestra a través de un barrido (describiendo un patrón hacia delante y hacia atrás) de tan sólo unos pocos cientos de nanómetros. El PES consiste en tres elementos piezoeléctricos que se expanden y contraen independientemente, dependiendo de la cantidad de voltaje que se aplique a través de los elementos individuales.

Láser: un haz de radiación láser que emana desde un diodo láser incide sobre la superficie superior del cantilever, cerca de la punta. Una vez allí, es reflejado hacia fuera sobre un espejo móvil y, finalmente, es detectado por un fotodiodo. Midiendo la posición del haz de láser sobre el fotodetector se puede determinar la magnitud de la desviación sufrida por el cantilever.

Fotodiodo: el fotodiodo se haya dividido en dos secciones, A y B, por ejemplo. La magnitud de la desviación del cantilever puede cuantificarse determinando la posición del haz de láser reflejado sobre el fotodiodo. Esto se lleva a cabo midiendo la cantidad de luz del haz reflejado que cae sobre la sección A del fotodiodo frente a la cantidad de luz que se refleja sobre la sección B. Algunos AFM poseen también una sección C y D (su correspondiente fotodiodo es un cuadrado que se encuentra dividido en cuatro partes iguales) con el fin de detectar torsiones o retorcimientos sufridos por el cantilever.

1.7.3.3. Funcionamiento del AFM.

El microscopio de fuerza atómica mide la topografía de la muestra con una sonda de fuerza.

El AFM (**Figura 1.15.**) funciona midiendo fuerzas atractivas y repulsivas entre la punta y la muestra [109]. En el modo de “contacto” repulsivo, el instrumento toca suavemente la muestra con la punta situada al final del cantilever. Conforme se ejecuta el barrido, arrastrando la punta sobre la superficie, un detector mide la desviación vertical del cantilever, lo que indica la altura local de la muestra. Así, en el modo de contacto, el AFM mide las fuerzas de repulsión de la esfera dura entre la punta y la muestra.

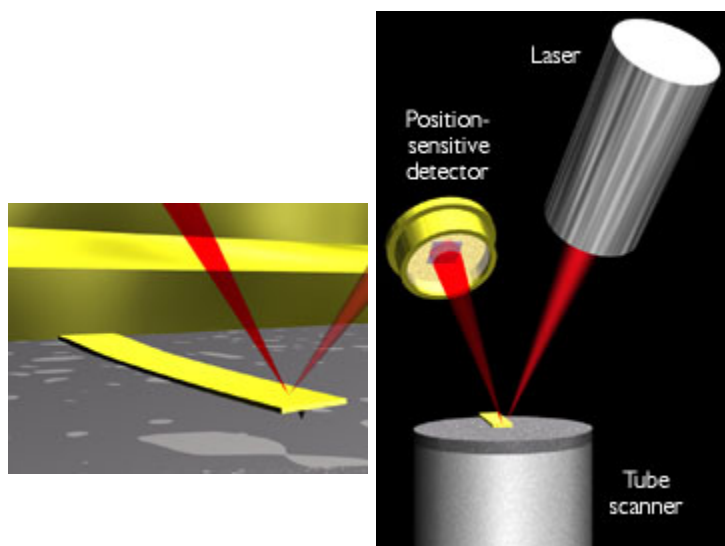


Figura 1.15.: Concepto de AFM y nivelador óptico: (izquierda) un cantilever examinando una superficie; (derecha) el nivelador óptico. Escala del dibujo; el tubo de barrido mide 24 mm de diámetro, mientras el cantilever tiene 100 μm de largo.

En el modo de no contacto, el AFM deduce imágenes topográficas a partir de las fuerzas atractivas; la punta no toca la muestra [110]. Este modo no permite obtener imágenes de muestras sumergidas en agua.

El AFM puede obtener una resolución de 10 pm, y a diferencia de otros microscopios electrónicos, puede obtener imágenes de muestras en aire y sumergidas en líquidos.

El AFM incluye algunos refinamientos que le permiten conseguir escalas de resolución atómicas:

- Métodos de detección sensible,
- Cantilevers flexibles,
- Puntas muy finas,
- Posicionamientos punta-muestra de alta resolución,
- Fuerza de retroalimentación.

A continuación describiremos brevemente cada uno de ellos

Métodos de detección sensible.

La desviación de un haz láser ofrece un método adecuado y sensible para medir la desviación del cantilever.

En general, los AFM pueden medir la desviación vertical del cantilever con una resolución de picómetros (pm). Para conseguir esta mejora los AFM actuales emplean un nivelador óptico, un dispositivo capaz de conseguir una resolución comparable a la de un interferómetro, siendo más barato y sencillo de usar [111,112].

El nivelador óptico (**Figura 1.15**) actúa reflejando un haz del láser fuera del cantilever. La desviación angular del cantilever produce una desviación angular el doble de grande en el haz del láser. El haz de láser reflejado incide en un fotodetector sensible a la posición, consistente en dos fotodiodos uno al lado del otro. La diferencia entre las dos señales de los fotodiodos indica la posición del puntero del láser en el detector y, de este modo, la desviación angular del cantilever.

Debido a que la distancia cantilever-detector es varios miles de veces mayor que la longitud del cantilever, el nivelador óptico magnifica de forma notable los movimientos de la punta. Como este tipo de detección mediante nivelador óptico permite una amplificación del orden de unas 2000 veces, teóricamente se puede obtener un nivel de ruido de 10^{-14} m/Hz^{1/2} [112]. Hasta la fecha para medir la desviación del cantilever, tan solo técnicas de interferometría relativamente complejas y la detección de tunelado (tunneling) han alcanzado dicho valor

Cantilevers flexibles.

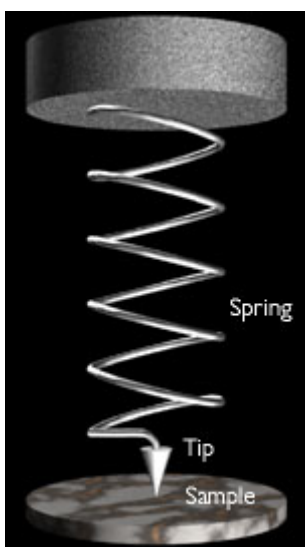


Figura 1.16: Ilustración esquemática del significado de “la constante de elasticidad” aplicada a los cantilevers. Visualizando el cantilever como una espira elástica, su constante k afecta directamente a la fuerza ejercida hacia abajo sobre la muestra.

Los cantilevers de los AFM poseen una gran flexibilidad. Esto permite ejercer una menor fuerza sobre la muestra situada debajo, resultando a su vez en una menor distorsión y daño durante el barrido. Gracias a esto, los cantilevers de los AFM presentan generalmente valores de constantes de elasticidad del orden de 0.1 N/m (**Figura 1.16**) (un resorte es una diez veces más rígido: 1 N/m).

Llevaría bastante tiempo tomar una imagen de una superficie arrastrando un resorte sobre ella (en la configuración de la **Figura 1.16**), puesto que un resorte no puede ofrecer respuestas rápidas conforme se desplaza sobre la muestra. Esto significa que un resorte posee una frecuencia de resonancia baja, mientras que la frecuencia de resonancia del cantilever de un AFM sería mayor.

La ecuación para la frecuencia de resonancia de un resorte viene dada por:

$$\text{frecuencia de resonancia} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\text{constante de elasticidad}}{\text{masa}}}$$

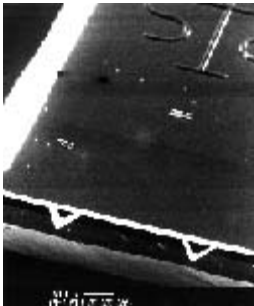


Figura 1.17: Micrografía electrónica de dos cantilevers en forma de V de 100 μm de longitud

Como puede observarse, un cantilever que posea una masa pequeña presentará una constante de elasticidad pequeña y una frecuencia de resonancia elevada. Por esta razón, los cantilevers de AFM tienden a ser bastante pequeños. Desde un punto de vista comercial, los cantilevers se fabrican mediante procedimientos de microlitografía similares a aquellos que se emplean para construir los chips de los ordenadores. Los cantilevers representados en la **Figura 1.17** miden unos 100 μm de longitud y están constituidos por oxinitruro de silicio con un delgado recubrimiento de oro para darle reflectividad.

Puntas muy finas.

Las técnicas de micro-mecanizado permiten obtener de modo económico puntas muy finas.

La mayor parte de los usuarios selecciona los cantilevers de AFM junto con las puntas de entre los diversos proveedores que aparecen en el mercado, quienes manufacturan las puntas empleando una gran variedad de técnicas micro-litográficas.

Una inspección exhaustiva de cualquier punta de AFM revela que éstas se encuentran redondeadas en su extremo final. Es por ello, que los microscopistas de fuerza evalúan generalmente las puntas determinando el “radio final”. En combinación con los efectos de interacción punta-muestra, este radio final limita de un modo genérico la resolución del AFM. Por esta razón, el desarrollo de puntas cada vez más finas es uno de los problemas que más preocupan actualmente.

Los microscopistas de fuerza emplean normalmente uno de los tres tipos de puntas que pasamos a describir a continuación. La “punta normal” (**Figura 1.18a**; [113] consiste en una pirámide de 3 μm de altura, con un radio final de aproximadamente 30 nm. La punta depositada mediante un haz de electrones (EBD) o “superpunta” (**Figura 1.18b**; [114] mejora el radio final mediante un depósito, inducido por un haz de electrones, de un material a base de carbono. El depósito se realiza colocando una punta normal justo en el haz de electrones de un microscopio electrónico de barrido. Es más, si el usuario contamina primero el cantilever con aceite de parafina, se obtendrá la superpunta deteniendo el barrido del haz de electrones justo sobre el ápice de la punta normal (pirámide) durante varios minutos. La superpunta ofrece una relación de aspecto más elevada (es larga y delgada, buena para detectar grietas y fosos en la muestra) y a veces un radio final mejor que las puntas normales. Finalmente, el tercer tipo de puntas es la “ultraniveladora” (ultralever) (**Figura 1.18c**), basada en un proceso de microlitografía mejorado. Las ultraniveladoras ofrecen una relación de aspecto moderadamente elevada y en ocasiones un radio final de aproximadamente 10 nm.

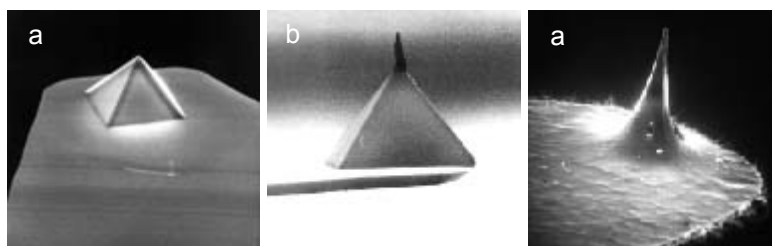


Figura 1.18: Tres tipos comunes de puntas de AFM: a) punta normal (3 μm de altura); b) superpunta; c) ultraniveladora (también 3 μm de altura).

Posicionamiento punta-muestra de alta resolución.

Tubos piezocerámicos posicionan la punta o la muestra con una resolución elevada.

Los materiales cerámicos piezoeléctricos poseen la propiedad de expandirse o contraerse cuando se hayan en presencia de un gradiente de voltaje o, por el contrario, crean un gradiente de voltaje cuando son forzados a expandirse o contraerse [115]. Los materiales piezocerámicos hacen posible crear dispositivos de posicionamiento tridimensionales de resolución arbitrariamente elevada. La mayoría de los microscopios con sonda de barrido emplean piezocerámicos en forma de tubo, puesto que combinan una construcción simple en una única pieza con una gran estabilidad y un intervalo de barrido amplio. Cuatro electrodos cubren la superficie externa del tubo, mientras que un único electrodo cubre la superficie interna. La aplicación de voltaje a uno o más de estos electrodos provoca que el tubo se incline o se estire (expansión-contracción), moviendo la muestra en las tres dimensiones (**Figura 1.19**).

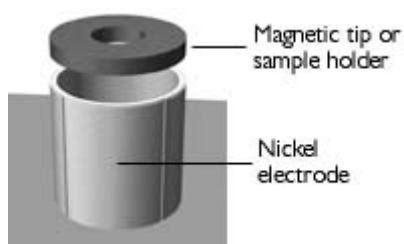


Figura 1.19: Escáner con forma de tubo. Tras la aplicación de un voltaje a uno de los cuatro cuadrantes exteriores, se consigue que dicho cuadrante se expanda y que el escáner se incline hacia el lado opuesto (movimiento XY). El correspondiente voltaje negativo aplicado al cuadrante contrario dobla el intervalo XY, previniendo el movimiento vertical. Si se aplica un voltaje al electrodo interno, el tubo se estira para expandirse o contraerse (movimiento a lo largo del eje Z).

Fuerza de retroalimentación.

Los AFM utilizan retroalimentación para regular la fuerza aplicada sobre la muestra.

La existencia de un circuito de retroalimentación constituye una de las diferencias más sutiles entre los AFM y los instrumentos anteriores a estos, tales como los reproductores grabadores o los perfilómetros. El AFM no sólo determina la fuerza aplicada sobre la muestra, sino que además la regula, permitiendo la adquisición de imágenes a valores de fuerzas muy pequeños.

El circuito de retroalimentación (**Figura 1.20**) consiste en un escáner tubular que controla la altura de toda la muestra; el cantilever y el nivelador óptico, que mide la altura local de la muestra; y un circuito de retroalimentación que intenta mantener constante la desviación del cantilever, ajustando para ello el voltaje aplicado al escáner.

Hay que resaltar lo siguiente: cuanto más rápidamente corrija el circuito de retroalimentación los fallos en las desviaciones del cantilever, más rápidamente se podrán adquirir imágenes. De este modo, un circuito de retroalimentación bien planificado y construido es esencial para la labor desempeñada por el microscopio. Los circuitos de retroalimentación de los AFM tienden a presentar a un ancho de banda de unos 10 kHz, lo que origina tiempos de adquisición de imágenes de alrededor de un minuto.

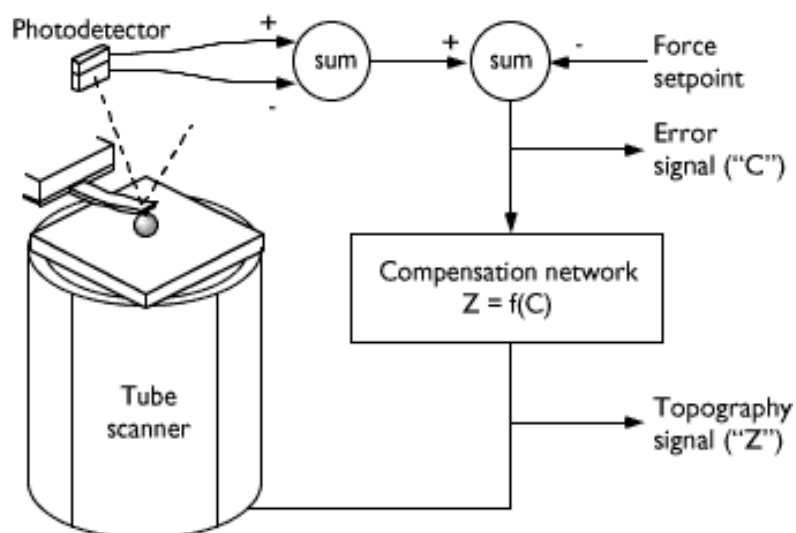


Figura 1.20: Circuito de retroalimentación de un AFM. Una red de compensación (un programa de software) monitoriza la desviación del cantilever y la mantiene constante ajustando la altura de la muestra (o del cantilever).

1.7.3.4. Modos alternativos de obtención de imágenes.

Los AFM poseen dos modos estándar de obtención de imágenes.

Casi todos los AFM pueden realizar topografía simple de la muestra de dos formas: grabando la salida de retroalimentación ("Z") o la desviación del cantilever ("error", ver la **Figura 1.20**). La suma de estas dos señales ofrece siempre la topografía actual, pero si el circuito de retroalimentación está bien ajustado, la señal de error debería ser insignificante. Como se describe a continuación, los AFM pueden poseer modos de obtención de imágenes alternativos, además de estos modos estándar.

El nivelador óptico de los AFM puede medir el grado de fricción entre la punta y la muestra.

Cuando el escáner mueve la muestra perpendicularmente al eje longitudinal del cantilever (**Figura 1.21**), la fricción entre la punta y la muestra provoca una torsión del cantilever. Un fotodetector sensible a la posición en las dos dimensiones puede distinguir el movimiento lateral resultante del haz de láser reflejado a partir de un desplazamiento vertical causado por las variaciones topográficas [116].

De este modo, los AFM pueden medir la fricción punta-muestra al mismo tiempo que se recogen imágenes topográficas de la muestra. Además, de servir como un indicador de las propiedades de la muestra, las medidas de fricción (también llamadas de “fuerza lateral” o “desviación lateral”) proporcionan información valiosa acerca de la interacción punta-muestra.

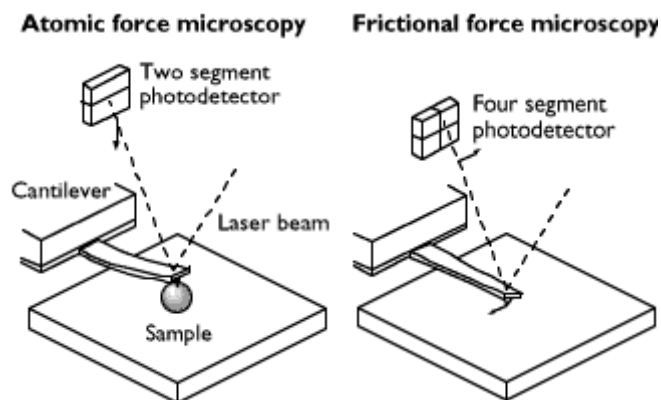


Figura 1.21: Mientras que la toma de imágenes topográfica hace uso de la desviación vertical del cantilever, la toma de imágenes por fricción emplea la desviación lateral o de torsión del mismo.

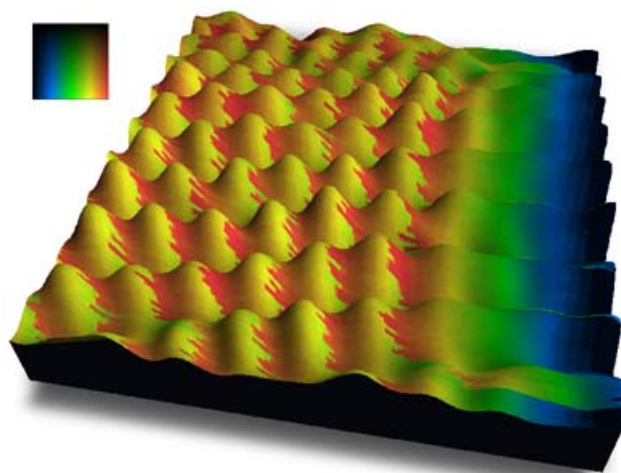


Figura 1.22: imagen topográfica y de fricción simultáneas (2.5 x 2.5 nm) correspondiente a grafito pirolítico altamente orientado (HOPG). Los montículos representan la disposición atómica topográfica, mientras que los colores hacen mención a las fuerzas laterales que actúan sobre la punta. El sentido del barrido fue de derecha a izquierda.

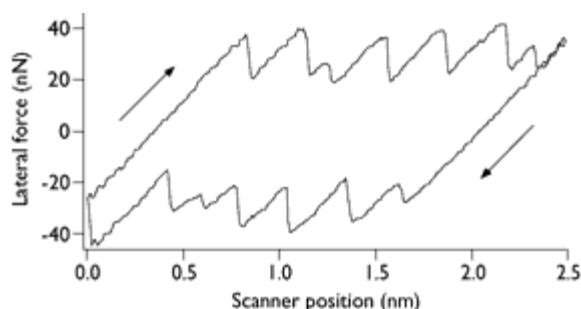


Figura 1.23: Perfil transversal de los datos de fricción de la imagen topográfica de la Figura 1.21, mostrando el comportamiento de choque-deslizamiento.

La **Figura 1.22** muestra una imagen de topografía y de fricción simultáneas de átomos de grafito en la cual la imagen topográfica se ha trazado como una proyección tridimensional coloreada de acuerdo con los datos de fricción obtenidos. Cada montículo representa un átomo de carbono. Conforme la punta se desplaza de izquierda a derecha, ésta se topa con un átomo, deteniéndose brevemente en la base del montículo. El escáner continúa el movimiento y las fuerzas laterales comienzan a aumentar hasta que la punta supera la pendiente del obstáculo que constituye el átomo y se topa con el siguiente. El comportamiento descrito anteriormente de choque con el átomo y deslizarse posteriormente sobre él crea una onda característica con forma de dientes de sierra en la imagen de fricción (**Figura 1.23**).

Los AFM pueden medir la elasticidad de la muestra.

Además, los AFM pueden obtener imágenes relacionadas con la suavidad de la muestra ejerciendo presión con el cantilever sobre la misma en cada punto muestreado durante el barrido. El escáner eleva la muestra o hace descender el cantilever una cierta distancia preseleccionada denominada “amplitud de modulación” (normalmente 1-10 nm). En contrapartida, el cantilever sufre un cierto grado de desviación que depende de la suavidad de la muestra: cuanto más dura sea la muestra, mayor desviación experimentará el cantilever (**Figura 1.24**)

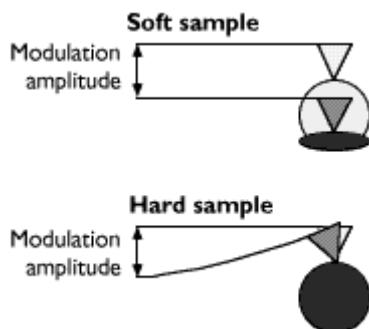


Figura 1.24: Los AFM pueden obtener imágenes de la elasticidad de una muestra presionando la punta sobre ella y determinando la desviación resultante del cantilever.

1.7.4. Difracción de Rayos X.

1.7.4.1. Introducción histórica.

En el año 1895, el físico Wilhelm Conrad Röntgen, profesor de la Universidad de Würzburg, Alemania, hizo un descubrimiento que tuvo gran importancia tanto en el desarrollo subsecuente de la ciencia como en sus aplicaciones prácticas.

Desde mediados del siglo XIX, un buen número de investigadores había trabajado en experimentos con tubos de vidrio al vacío. Entre cada uno de sus

extremos de dicho tubo se sitúa una punta metálica. Si entre las puntas existe un voltaje eléctrico muy alto, entonces se genera una corriente eléctrica que va de una de las puntas a la otra. A esta corriente se la llamó rayos catódicos, debido a que una de las puntas era el cátodo (la terminal negativa) y la otra, el ánodo (la terminal positiva). Años después se descubrió la naturaleza de estos rayos catódicos: resultaron ser partículas eléctricamente cargadas llamadas electrones, que se desprendían del cátodo y llegaban al ánodo.

Trabajando con tubos de rayos catódicos, Röntgen descubrió que del ánodo (la terminal a la que llegan los rayos catódicos) salían emanaciones, a las que denominó rayos X, ya que no conocía su naturaleza. La manera en que los descubrió fue la siguiente: Röntgen cubrió el tubo con un papel negro de manera que no pudiera salir o entrar luz en él. Hizo pasar los rayos catódicos dentro del tubo, con el laboratorio a oscuras, y se dio cuenta de que una placa pintada de platinocianuro de bario que se encontraba, de casualidad, en un banco a un metro de distancia, emitía una luz verdosa. Al principio Röntgen creyó que esta luz se debía a que parte de los rayos catódicos que se estaban produciendo dentro del tubo incidían, de alguna forma, sobre la placa. Sin embargo, al repetir las descargas de rayos catódicos para que no llegasen a la placa, ésta seguía emitiendo luz. Röntgen llegó a la conclusión de que el tubo de rayos catódicos emitía emanaciones que llegaban a la placa y, como consecuencia, se generaba la luz verdosa. Esto no fue todo. También se dio cuenta de que estas emanaciones, los rayos X, salían del ánodo.

En resumen, el proceso que ocurrió en el experimento de Röntgen es el que a continuación describimos: los rayos catódicos van del cátodo al ánodo; al recibir el impacto de estas partículas el ánodo emite rayos X que llegan a la placa de platinocianuro de bario y esta sustancia emite, a su vez, luz verdosa.

Inmediatamente Röntgen empezó a investigar algunas de las características de los rayos X. Encontró, entre otras, las siguientes propiedades:

- 1) Los rayos X son imperceptibles a la vista del hombre.
- 2) Al hacer llegar rayos a una sustancia, resulta que casi todas las sustancias son más o menos transparentes a estos rayos; es decir, los rayos X cruzan la sustancia. En orden de transparencia se tienen, por ejemplo, la madera, el aluminio y el plomo. El plomo figura entre las sustancias menos transparentes a los rayos X.
- 3) Además del platinocianuro de bario, otras sustancias, al quedar expuestas a los rayos X, también emiten radiación luminosa. Como ejemplo de estas sustancias se pueden mencionar algunos compuestos de calcio, vidrio de uranio o cuarzo. Sin embargo, la luz emitida es distinta para compuestos diferentes.
- 4) Las emulsiones fotográficas resultan ser muy sensibles a los rayos X. Una placa fotográfica expuesta a un haz de rayos X se ennegrece.
- 5) Los rayos X se propagan en línea recta.

Otro hecho que descubrió Röntgen fue que siempre que los rayos catódicos incidían sobre un cuerpo sólido, éste emite rayos X. Además, notó que al cambiar el metal del que estaba hecho el ánodo, los rayos X emitidos cambiaban sus características. Así descubrió que cuanto más pesado sea el elemento que desempeña el papel del ánodo, produce rayos X de manera más eficiente. Esto ocurre si, por ejemplo, en lugar de aluminio se pone platino como ánodo.

Dada la propiedad de los rayos X de atravesar sustancias y de ser

absorbidos de maneras distintas por diferentes sustancias, dependiendo de su composición y densidad, fueron inmediatamente aplicados a lo que después se llamó radiografía. Esta es la aplicación más antigua y mejor conocida.

En 1902, H. Haga y C. H. Wind hicieron pasar un haz de rayos X a través de una rendija, tal como se había hecho anteriormente con la luz visible. Lo único que encontraron fue que la imagen formada en la pantalla se hacía un poco ancha. Como pantalla emplearon una placa fotográfica.

Más adelante, el físico alemán Arnold Sommerfeld, que trabajaba en el Instituto de Física Teórica de la Universidad de Munich, hizo ver que, si los rayos X eran ondas, entonces deberían tener una longitud de onda del orden de 10^{-8} cm (0.00000001 cm, es decir, una décima de millonésima de milímetro), o sea del orden de angstrom. Como comparación recordemos que la longitud de onda de la luz visible es del orden de diezmilésimas de milímetro, o sea de varios miles de angstrom.

A pesar de todos estos descubrimientos, no fue hasta 1912, cuando Meter Ewald y Max von Laue llegaron a la conclusión de que los rayos X podían ser útiles para medir distancias atómicas, empleado patrones de difracción. Ewald había supuesto que los átomos en los cristales estaban ordenados como en una red, es decir, de manera regular, si bien no se conocían con precisión estas distancias, si era posible conocer la densidad del cristal, así como la masa de cada átomo. De esta forma se podría estimar que las distancias entre los átomos de un cristal deberían ser del orden de 10^{-8} cm, o sea de varios angstrom. Laue estimó que, si los rayos X tienen longitud de onda del orden de varios angstrom y, si la distancia entre los átomos en un cristal también fuera del orden de varios angstrom, entonces se podría producir un patrón de difracción haciendo pasar los rayos X a través de un cristal, como en una rejilla ya que para que esto ocurriera, entre otras cosas, la

longitud de onda de las ondas tenía que ser del mismo orden de magnitud que la distancia entre las rendijas, es decir, en el caso de un cristal, la distancia entre átomos. Dicho de otra manera, la red cristalina estaría funcionando como una rejilla de difracción para los rayos X de manera análoga a aquella en que una rejilla común funciona para la luz visible.

Para el desarrollo de esta parte de la introducción nos hemos guiado por diversos manuales y tutoriales [118-121]

1.7.4.2. Introducción a la difracción.

¿Que es la difracción? Para entender que es la difracción tendremos que considerar qué sucede cuando una onda interacciona con una partícula aislada. La partícula dispersa el haz incidente uniformemente en todas las direcciones (ver ilustración en **Figura 1.25**).

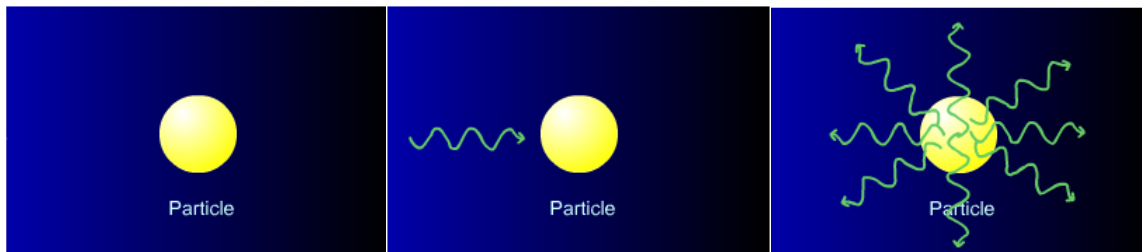


Figura 1.25: Modelo de dispersión de un haz de radiación que incide sobre una partícula aislada

¿Qué sucede si el haz incide sobre un material sólido? Si consideramos un material cristalino, los haces dispersados pueden sumarse en unas pocas direcciones y reforzarse mutuamente para generar los haces difractados. (Figura 1.26).

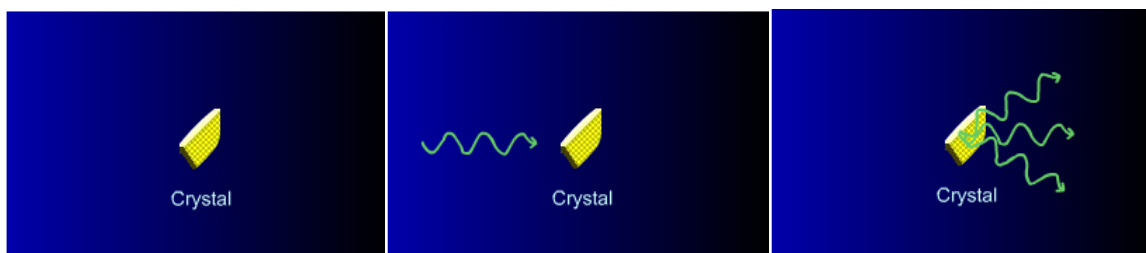


Figura 1.26: Modelo de dispersión de un haz de radiación que incide sobre un sólido cristalino.

Un cristal está constituido por átomos o moléculas, ordenados en un patrón regular en el espacio. Es esta regularidad espacial la responsable de la difracción de los haces. Si el ordenamiento de los átomos fuese al azar, entonces los haces dispersados podrían sumarse, en unos casos, o cancelarse, en otros, de forma aleatoria. De este modo, no se reforzarían mutuamente en cualquier dirección para generar los haces difractados.

¿Por qué se emplea la difracción? Las técnicas de difracción aprovechan la dispersión de la radiación desde un amplio número de posiciones. Nosotros nos concentraremos en la dispersión desde átomos, grupos atómicos y moléculas, comúnmente en cristales.

Existen diversas técnicas de difracción que son empleadas habitualmente, cuyos resultados son patrones de difracción. Ejemplos de estos patrones de haces difractados son los que aparecen recogidos en la siguiente figura (figura 1.27):

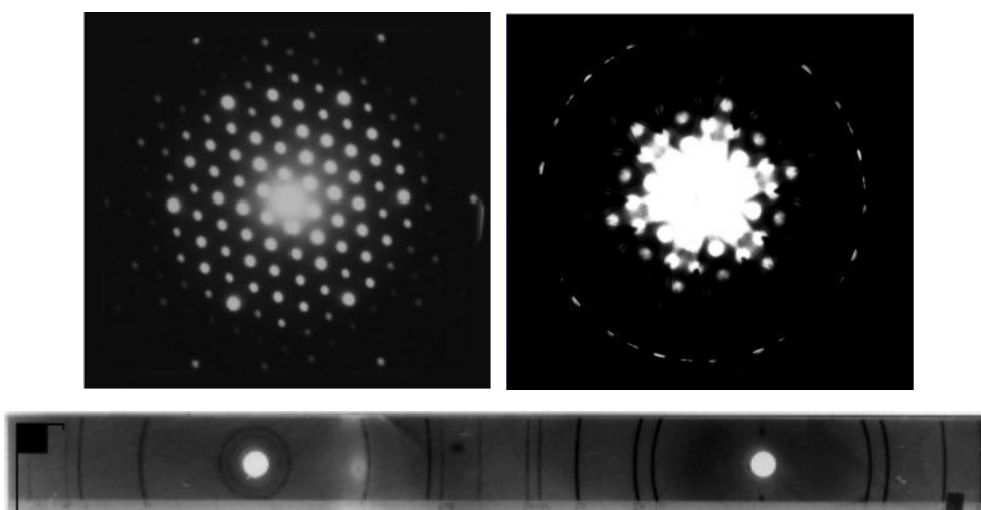


Figura 1.27: Diferentes modelos de patrones de dispersión.

Desde los patrones de difracción podemos:

- Medir los espaciados medios entre capas o filas de átomos.
- Determinar la orientación de un solo cristal o grano.
- Encontrar la estructura cristalina de un material desconocido.
- Medir el tamaño, forma y tensión interior de regiones cristalinas pequeñas.

Las técnicas de difracción se concentran principalmente en sólidos cristalinos, aunque también pueden ser empleadas para estudiar sólidos amorfos, líquidos y gases.

1.7.4.3. Introducción a la difracción de Rayos X.

Cuando un haz de rayos X atraviesa una sustancia, su intensidad disminuye con la distancia recorrida a través de dicha sustancia. La definición matemática para este fenómeno es la que sigue a continuación:

La disminución fraccional en la intensidad, I , de un haz de Rayos X, cuando pasa a través de una sustancia es proporcional a la distancia atravesada por el haz, x :

$$-\frac{dI}{I} = \mu dx$$

donde μ es el coeficiente de absorción lineal. Esta constante depende de las propiedades del material, su densidad, y de la longitud de onda de los rayos X. Integrando esta ecuación queda:

$$I_x = I_0 \exp(-\mu x)$$

donde I_0 es la intensidad del haz incidente e I_x es la intensidad del haz transmitido después de atravesar una distancia x . El coeficiente constante de

absorción lineal es linealmente proporcional a la densidad del material, ρ , y viene normalmente tabulado como el coeficiente de absorción másico (μ/ρ). A partir de esto tenemos que:

$$I_x = I_0 \exp\left(-\rho \frac{\mu}{\rho} x\right)$$

Solo un pequeño rango de rayos X es ampliamente usado para la difracción. Se usan las líneas K_α . Las líneas K_β que están siempre presentes, a una longitud de onda sensiblemente menor, son excluidas empleando una película absorbente.

El espesor de las muestras que podrán usarse en difracción dependerá de la fuente de la radiación. Así, la penetración efectiva de los rayos X determinará el máximo espesor de los especímenes que podrán ser usados para su estudio por difracción de rayos X.

Ley de Bragg

Las partículas esparcen los rayos incidentes en todas las direcciones. En algunas de estas direcciones los haces que se dispersan están en fase y se refuerzan para dar haces difractados, es decir, la interferencia es constructiva. La descripción matemática de la difracción fue descrita por primera vez por Max von Laue en 1912 y sus ecuaciones son todavía útiles. Sin embargo, una manera más simple de describir la geometría (pero no la intensidad) de difracción es usar la ley de Bragg.

Consideremos primero una sola capa de átomos que forman un plano. Los átomos están espaciados regularmente. Imaginemos que un haz de luz coherente (se dice que la radiación es coherente cuando los fotones están en fase) incide sobre los átomos con un ángulo θ_{IN} . Algunos de los rayos interactúan con los

átomos y son dispersados en todas las direcciones. La mayoría de los rayos son transmitidos.

Consideremos las dos ondas dispersadas que aparecen en la **Figura 1.28**, A y B. Ambas están en fase, reforzándose entre ellas para dar un haz difractado, solo cuando viajan la misma distancia, por ejemplo cuando $x=y$. Esto solo ocurre

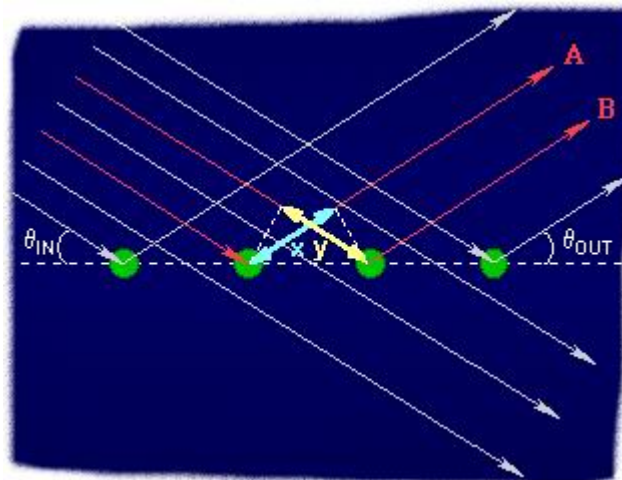


Figura 1.28: Esquema de dispersión y difracción de haces de radiación incidentes.

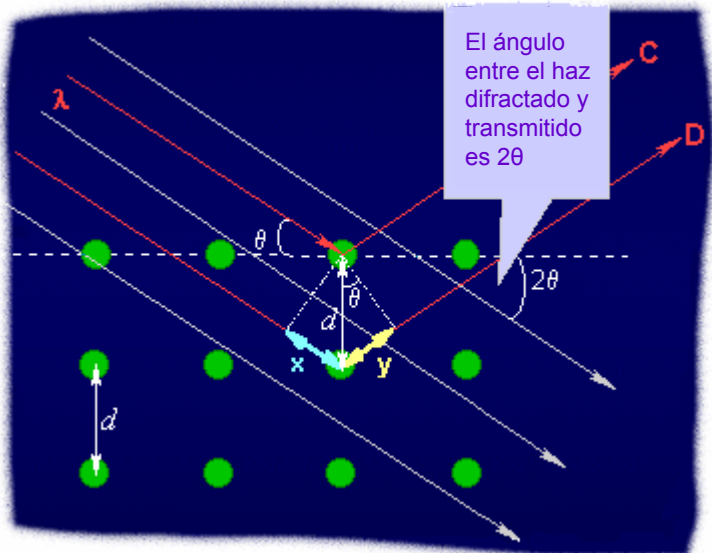
para ondas dispersadas con un ángulo de salida de: $\theta_{OUT}=\theta_{IN}$

Así un haz difractado desde una sola fila de átomos está compuesto por todas las ondas que son dispersadas con un ángulo de salida igual al ángulo de entrada de las ondas incidentes. Esto ocurre cuando las ondas incidentes poseen un determinado valor de longitud de onda.

Consideremos ahora muchas capas de átomos espaciados regularmente, tales como las que podemos encontrar en un material cristalino. Sabemos que un haz difractado desde una única capa de átomos tiene $\theta_{OUT}=\theta_{IN}$. En este caso,

hemos de conocer el valor del espaciado de las capas de átomos que dará lugar a haces difractados en fase.

Consideremos dos ondas C y D (**Figura 1.29**), dispersadas desde partículas en planos adyacentes separados por una distancia d . Solo estarán en fase si la extensión del camino de la onda D sobre la C ($=x+y$) es igual a un número entero de longitudes de onda.



La ecuación para esta diferencia de caminos es la ley de Bragg:

$$x + y = 2d\sin\theta = n\lambda$$

Esta condición que da el aumento de haces difractados depende de la longitud de onda, λ , del espaciado entre planos atómicos, d ; y del ángulo de incidencia del haz, θ . Esta condición se conoce como ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

Para un par particular de valores de d y λ pueden existir varios valores de θ para los cuales se produce la difracción ocurre.

Difracción de Rayos X

La difracción puede ocurrir siempre y cuando se satisfaga la ley de Bragg. Con una radiación monocromática, una posición arbitraria de un cristal aislado en

un haz de rayos no producirá generalmente ningún haz difractado. Habría muy poca información del patrón de difracción de un solo cristal usando radiación monocromática.

Este problema puede resolverse variando continuamente λ o θ dentro de un rango de valores, satisfaciendo la ley de Bragg. Prácticamente esto se consigue:

- Usando un rango de longitudes de onda de rayos X (por ejemplo radiación blanca), o
- Mediante la rotación del cristal o, usando polvo o un espécimen policristalino.

En el método de la rotación del cristal, se monta un único cristal con un eje normal al haz de rayos x monocromático. Se coloca una película cilíndrica alrededor del cristal y comienza a girarse (el cristal) sobre el eje elegido.

Conforme el cristal rota, alguno de los conjuntos de planos del retículo se posicionarán, en algún momento, en el ángulo de Bragg correcto para el haz incidente monocromático, formándose, de este modo, un haz difractado.

Los haces reflejados se localizan en la superficie de conos imaginarios. Cuando la película se extiende en el plano, los puntos de difracción aparecen en líneas horizontales. Este método se utiliza para la determinación de estructuras de cristales desconocidos.

Método de Laue

El método de Laue se usa principalmente para la determinación de la orientación de monocristales grandes. La radiación blanca es reflejada desde, o transmitida a través de, un cristal fijo.

Los haces difractados forman conjuntos de puntos, que aparecen en curvas

sobre la película. El ángulo de Bragg se fija para todos los conjuntos de planos en el cristal. Cada conjunto de planos elige y difracta una longitud de onda particular de la radiación blanca, que satisface la ley de Bragg para los valores de d y θ implicados. Cada curva por lo tanto corresponde a una longitud de onda diferente. Las manchas que quedan en cada una de las curvas son las reflexiones que pertenecen a los planos de una zona. Las reflexiones de Laue se los planos de la misma zona aparecen todas en la superficie de un cono imaginario cuyo eje es el eje de la zona.

Existen dos variantes prácticas del método de Laue, la retroreflexión (back-reflection) y el método de transmisión Laue.

Método de Laue en modo reflexión

En el método de reflexión o *retroreflexión*, la película se sitúa entre la fuente de rayos X y el cristal. Los haces que son difractados en la dirección de retroceso son grabados.

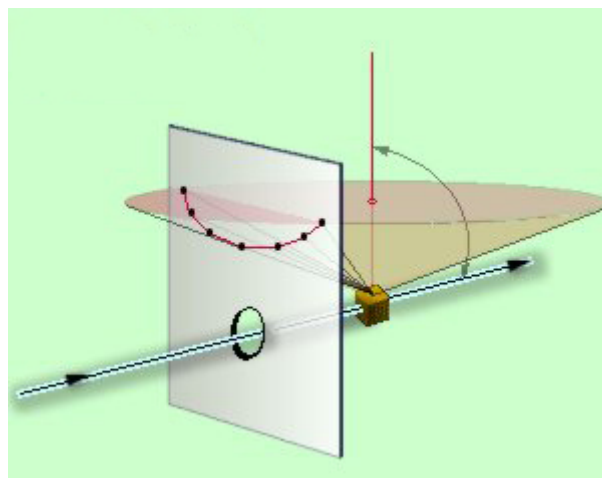


Figura 1.30: Método de retroreflexión de Laue

Un lado del cono de reflexiones de Laue se define por el haz transmitido. La película corta el cono, quedando las manchas de la difracción generalmente en una hipérbola.

Método de Laue en modo transmisión

En el método de transmisión de Laue, la película se sitúa detrás del cristal para registrar los haces que son transmitidos a través del cristal.

Un lado del cono de reflexiones de Laue se define por los haces transmitidos. La película intercepta el cono, con las manchas (puntos) de difracción generalmente formando una elipse.

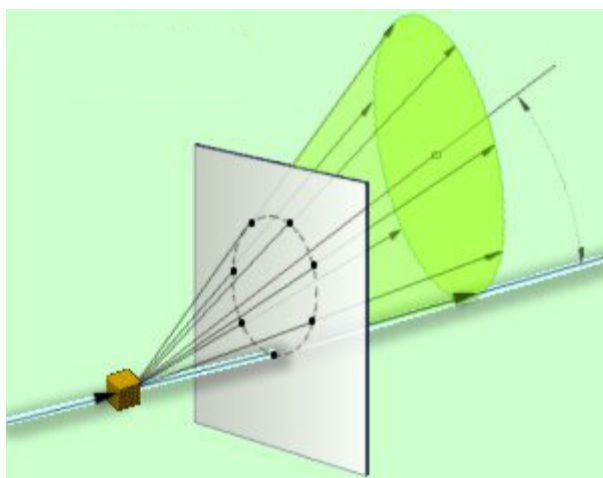


Figura 1.31: Esquema del método de transmisión de Laue.

La orientación del cristal viene determinada por la posición de las manchas (puntos). Cada mancha (punto) puede indexarse, por ejemplo, atribuyéndolo a un plano en particular, usando tablas especiales. La tabla de Greninger se emplea para patrones de *retroreflexión* y la tabla de Leonhardt para patrones de transmisión.

La técnica de Laue puede usarse también para evaluar la perfección de un

crystal a partir del tamaño y forma de las manchas (puntos). Si el cristal ha estado o está inclinado o torcido en algún punto, las manchas estarán torcidas y un poco difuminadas.

Método de polvo

El método de polvo se emplea para determinar los valores de los parámetros de entramados con exactitud. Los parámetros de los entramados son magnitudes de vectores unitarios **a**, **b** y **c** los cuales definen una celda unidad del cristal.

Si un haz monocromático de rayos X es dirigido a un monocristal, entonces sólo resultan uno o dos haces difractados. (ver **Figura 1.32, a**)

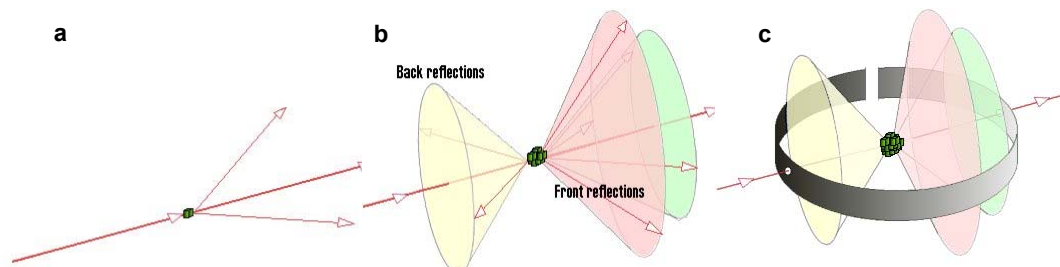


Figura 1.32: Esquema del método de difracción en polvo.

Si la muestra consiste en algunas decenas de monocristales, orientados aleatoriamente cada uno de ellos, los haces difractados serán vistos sobre la superficie de varios conos. Los conos pueden emerger en todas las direcciones, hacia delante y hacia atrás. (ver **Figura 1.32, b**)

Una muestra de algunos cientos de monocristales (por ejemplo una muestra pulverizada) permite observar los haces difractados desde conos continuos. (ver **Figura 1.32, c**)

Para registrar los patrones de difracción que aparecen se usa una película circular. Cada cono intercepta la película dando líneas de difracción. Las líneas se ven como arcos en la película.

Para cada conjunto de planos cristalinos, por casualidad, uno o mas cristales estarán en la orientación adecuada para dar los ángulos de Bragg correctos que satisfagan la ecuación de Bragg. Todos los planos cristalinos son, de esta forma, susceptibles de difracción. Cada línea de difracción está compuesta por un gran número de pequeñas manchas, cada una procedente de un cristal aislado. Cada mancha es tan pequeña como para dar la apariencia de una línea continua. Si el cristal no se ha pulverizado de un modo suficientemente fino, las líneas de difracción aparecerán moteadas.

1.7.5. Espectroscopía Infrarroja.

La espectroscopía infrarroja es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares, aunque también se emplea con fines cuantitativos.

Esta técnica se basa en las distintas absorciones de radiación infrarroja que presentan los distintos grupos funcionales que puede presentar una molécula: con el espectro de infrarrojo se puede saber fácilmente el tipo de compuesto (alcohol, amina, ácido, etc.), y con un análisis detallado de éste y su comparación con otros espectros catalogados, se puede en muchos casos elucidar completamente la estructura de la molécula.

Las técnicas espectroscópicas infrarrojas son conocidas desde mediados del siglo XX, experimentando un gran desarrollo a partir de la Segunda Guerra Mundial.

La bibliografía existente acerca de esta técnica es muy amplia, detallándose en ella todo tipo de aplicaciones para la elucidación estructural de numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos.

En el desarrollo teórico de esta parte de la introducción, nos basaremos en las explicaciones contenidas en diversos libros y tutoriales a nuestra disposición. [122-125]

1.7.5.1. Principios Teóricos.

El término Infrarrojo cubre el rango del espectro electromagnético entre 0.78 y 1000 μm . En el contexto de la espectroscopía infrarroja, la longitud de onda se mide en números de onda, cuya unidad es cm^{-1} .

Numero de onda = $1 / \text{longitud de onda en centímetros}$.

Habitualmente, la región infrarroja se divide en tres secciones: infrarrojo cercano (near-IR), infrarrojo medio (mid-IR) e infrarrojo lejano (far-IR):

Región	Rango de longitudes de onda (μm)	Rango de números de onda (cm^{-1})
Cercano	0.78 - 2.5	12800-4000
Medio	2.5 - 50	4000 - 200
Lejano	50 - 1000	200 - 10

La región del IR más utilizada es la que se encuentra entre 4000-670 cm^{-1} .

Teoría de la absorción infrarroja

La radiación infrarroja, a diferencia de la radiación UV, no es lo suficientemente energética como para inducir transiciones electrónicas. La absorción en el IR se restringe a los compuestos con diferencias de energía pequeñas en los posibles estados vibracional y rotacional.

Para que una molécula absorba radiación IR, las vibraciones o rotaciones dentro de la misma deben causar un cambio neto en su momento dipolar. El campo eléctrico alternante de la radiación (la radiación electromagnética está constituida por un campo eléctrico oscilante y un campo magnético oscilante, perpendiculares entre sí) interactúa con las fluctuaciones en el momento dipolar de la molécula. Si la frecuencia de la radiación es igual a la frecuencia vibracional de la molécula, entonces la radiación será absorbida, causando un cambio en la amplitud de vibración molecular.

Rotaciones Moleculares.

Las transiciones rotacionales son poco usadas por los espectroscopistas. Los niveles rotacionales están cuantizados, y la absorción de IR por los gases produce espectros de líneas. Sin embargo, en líquidos o sólidos, estas líneas se ensanchan en un continuo debido a las colisiones moleculares y otras interacciones.

Vibraciones Moleculares.

Las posiciones de los átomos en las moléculas no están fijadas; se hallan sujetas a un número de vibraciones diferentes. Las vibraciones pueden clasificarse en dos categorías principales: **Stretching** (tensión) y **Bending** (torsión o deformación).

Stretching: Cambios en las distancias interatómicas a lo largo del eje de enlace.

Stretching vibrations

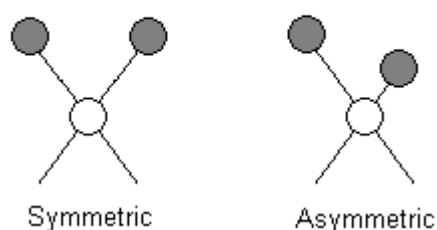


Figura 1.33.: Vibraciones de tensión: Simétrica respecto del eje de enlace y asimétrica respecto del eje de enlace

Bending: Cambios en los ángulos entre dos enlaces. Hay cuatro tipos de torsión o deformación:

En el plano:

- ***Rocking:*** Balanceo.
- ***Scissoring:*** Vibración en tijera.

Fuera del plano:

- ***Wagging:*** Cabeceo.
- ***Twisting:*** Torsión.

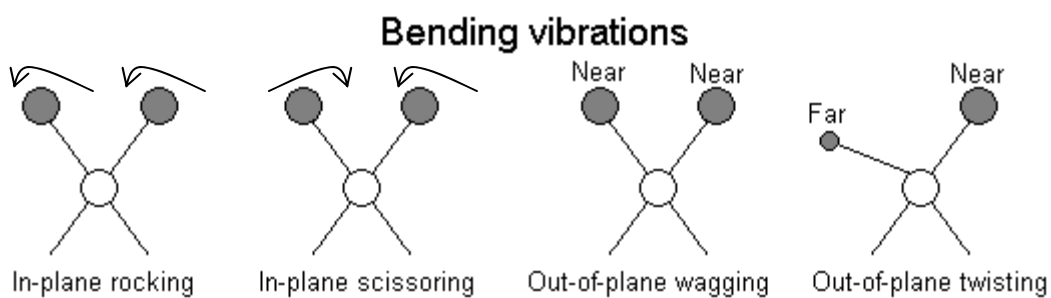


Figura 1.34.: Vibraciones

Acoplamientos vibracionales.

Además de las vibraciones mencionadas arriba, cuando los enlaces que vibran se unen a un único átomo, un átomo central, pueden producirse además interacciones entre vibraciones (*acoplamientos, Coupling*). Los acoplamientos vibracionales se ven influenciados por una serie de factores:

- Se producen acoplamientos fuertes de vibraciones de flexión (stretching) cuando hay un átomo común entre dos enlaces que están vibrando.
- El acoplamiento de vibraciones de torsión ocurre cuando hay un enlace común entre dos grupos que están vibrando.
- Existe un acoplamiento entre una vibración de flexión (stretching) y una de torsión (bending) si el enlace que se ha flexionado o alargado es uno de los lados del ángulo que ha variado por una vibración de torsión (bending).
- El acoplamiento es máximo cuando los grupos acoplados tienen aproximadamente la misma energía.
- No se produce acoplamiento entre los grupos separados por dos o más enlaces.

1.7.5.2. Instrumentación

En este apartado, centraremos nuestra atención en la instrumentación empleada en la espectroscopía que abarca la región media de IR (4000 – 200 cm⁻¹). Es la absorción en esta región la que aporta información estructural sobre un compuesto.

Componentes Instrumentales.

Fuentes. Un sólido inerte se calienta eléctricamente hasta una temperatura en el intervalo de 1500-2000 K. El material calentado emitirá entonces radiación infrarroja. Podemos destacar las siguientes fuentes:

1. *Lámpara de Nernst:* Es un cilindro (1-2 mm de diámetro, aproximadamente 20 mm de longitud) de óxidos de tierras raras. Un alambre de platino está soldado en los extremos, y la corriente pasa a través del cilindro. Esta fuente puede alcanzar temperaturas de 2200 K.
2. *Fuente Global:* es una barra de carburo de silicio (5 mm de diámetro, 50 mm de longitud) que es calentado eléctricamente hasta 1500 K. Es necesaria la refrigeración por agua de los contactos eléctricos para prevenir chispas. La salida espectral es comparable con la de la fuente anterior, excepto a longitudes de onda bajas (menores que 5 μm) donde la salida de la fuente Global se hace mayor.
3. *Fuente de alambre incandescente:* es un rollo herméticamente envuelto por un alambre de nicromo (aleación de níquel y cromo), que se calienta eléctricamente hasta 1100 K. Esta fuente produce una intensidad menor de radiación que los otros dos tipos de fuentes nombrados anteriormente, pero presenta una vida media mayor.

Detectores. Hay tres categorías de detectores:

- Termal.
- Piroeléctrico.
- Fotoconductor.

Detectores Termales o termo-acoplados. Consisten en un par de uniones de diferentes metales; por ejemplo, dos piezas de bismuto unidas en ambos extremos de una pieza de antimonio. La diferencia de potencial (voltaje) entre las uniones cambia según la diferencia de temperatura entre ellas.

Detectores Piroeléctricos. Están hechos de una sola oblea cristalina de un material piroeléctrico, como por ejemplo el sulfato de triglicina (el más corriente es el detector DTGS – Sulfato de triglicina deuterado).

Las propiedades de los materiales piroeléctricos son tales que cuando se aplica un campo eléctrico a través de ellos, se produce una polarización eléctrica (esto ocurre en cualquier material dieléctrico). En un material piroeléctrico, cuando el campo es retirado, la polarización persiste. El grado de polarización depende de la temperatura. De este modo, intercalando el material piroeléctrico entre dos electrodos, se crea un condensador dependiente de la temperatura. El efecto calorífico de la radiación IR incidente causa un cambio en la capacitancia del material. Este tipo de detectores posee un tiempo de respuesta muy rápido y se emplean en la mayoría de los instrumentos de Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier.

Detectores Fotoconductores. Un buen ejemplo lo constituye el detector de telururo de cadmio y mercurio. Estos detectores comprenden una película de material semiconductor depositada en una superficie cristalina, en el interior de un recipiente donde se ha hecho vacío. La absorción de radiación infrarroja promueve los electrones de valencia no conductores hacia estados más altos o conductores. La resistencia eléctrica del semiconductor disminuye. Estos detectores poseen características de respuesta mejores que los detectores piroeléctricos y se emplean en instrumentos de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), particularmente en GC-FT-IR.

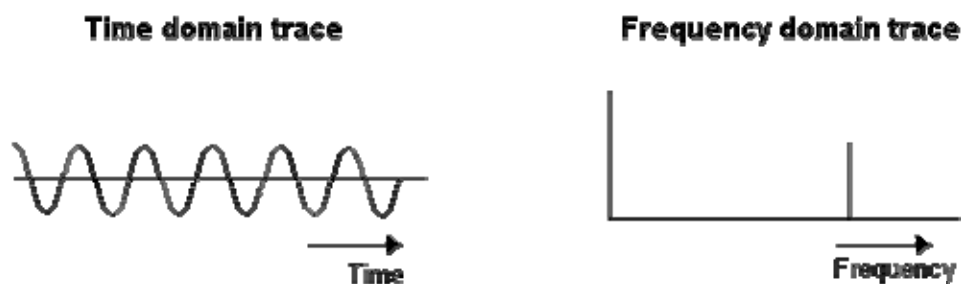
Tipos de Instrumentos

Espectrofotómetros dispersivos de Infrarrojos. Son normalmente instrumentos de registro de doble haz, que utilizan rejillas de difracción para la dispersión de la radiación.

La radiación procedente de la fuente oscila entre la de referencia y la de la muestra. A menudo se emplea un sistema óptico nulo. El detector solo responde si la intensidad de los dos haces es diferente. Si las intensidades son diferentes, se restaura la igualdad mediante un atenuador de la radiación, moviéndose dentro o fuera del haz de referencia. El registrador y el atenuador se encuentran normalmente juntos.

Espectrómetros con transformada de Fourier.

Cualquier onda puede representarse de dos formas diferentes: bien en el dominio de las frecuencias, o bien en dominio del tiempo.



Los instrumentos de IR dispersivos operan en el dominio de las frecuencias. No obstante, se obtienen grandes ventajas cuando se realiza la medida en el dominio del tiempo y, a continuación, se realiza una transformación al dominio de las frecuencias.

Si deseamos registrar una señal en el dominio del tiempo, habría que

permitir la caída de la radiación en el detector y registrar la respuesta frente al tiempo. En la práctica, ningún detector es lo suficientemente rápido (la radiación tiene una frecuencia mayor de 10^{14} Hz). Este problema puede resolverse mediante el uso de una interferencia que module la señal de IR a una frecuencia detectable. El **Interferómetro de Michelson** se usa para producir una nueva señal de mucha menor frecuencia que contiene la misma información que la señal de IR original. La salida del interferómetro es un *interferograma*.

Interferómetro de Michelson

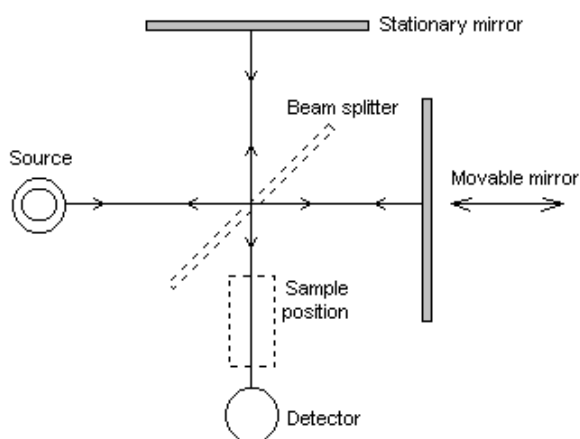


Figura 1.35.: Esquema del Interferómetro de Michelson

La radiación sale de la fuente, pasa a través de una placa semitransparente (KBr o CsI recubierto con germanio), que funciona como separador de haz. Al pasar por la placa el haz de radiación se separa en dos haces. Uno de ellos (la mitad de la radiación inicial) es reflejado en un espejo estacionario y devuelta al separador, viajando de este modo una distancia fija. El otro haz (la otra mitad de la radiación inicial) incide sobre un espejo móvil, cuya distancia al interferómetro puede variarse. Los dos haces reflejados se combinan de nuevo en la placa (splitter) y se produce la interferencia, que será constructiva o destructiva según la posición del espejo

(por ejemplo, para una única longitud de onda, la interferencia será constructiva si la diferencia en el camino recorrido es un múltiplo exacto de la longitud de onda). Si la diferencia en el camino recorrido es la mitad de la longitud de onda entonces la interferencia resultante será destructiva). Si el espejo móvil, se aleja del separador de haces a una velocidad constante, la radiación que llega al detector pasa por una sucesión continua de máximos y mínimos conforme la interferencia alterne entre fases constructivas y destructivas.

Si una radiación de IR monocromática de frecuencia $f(IR)$ entra en el interferómetro, entonces la frecuencia de salida, f_m viene dada por:

$$f_m = \frac{v}{1.5 \times 10^{11}} \times f(IR)$$

donde v es la velocidad de desplazamiento del espejo en $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$.

Debido a que se recogen todas las longitudes de onda emitidas por la fuente, el interferograma resultante es extremadamente complicado.

El espejo móvil debe desplazarse suavemente, minimizando en lo posible el rozamiento; con este fin, se emplea un dispositivo electromagnético. La posición del espejo se mide mediante un láser que apunta a una esquina del mismo. De este modo, se genera un patrón de interferencia de onda sinusoidal simple. Cada pico indica un desplazamiento del espejo equivalente a la mitad de la longitud de onda del láser. La exactitud de este sistema de medida implica que la escala de frecuencias de IR es exacta y precisa.

En los instrumentos de FT-IR, la muestra se coloca entre la salida del interferómetro y el detector. La muestra absorbe la radiación con una longitud de onda particular. Por lo tanto, el interferograma contiene el espectro de la fuente

menos el espectro de la muestra. Es necesario un interferograma de una referencia (celda de muestra y disolvente) para obtener el espectro de la muestra.

Después de que se haya registrado el interferograma, un ordenador realiza una transformada de Fourier rápida (Fast Fourier Transform), cuyo resultado es una señal en el dominio de las frecuencias (por ejemplo, Intensidad vs. Longitud de onda).

Los detectores empleados en los instrumentos FT-IR deberían responder rápidamente, debido a la rapidez en los cambios de intensidad (el espejo móvil se mueve velozmente). Pueden usarse detectores piroeléctricos o detectores de fotones enfriados por nitrógeno líquido. Los detectores termales son demasiado lentos.

Para obtener una buena relación señal ruido, se registran muchos interferogramas y luego se promedian. Esto puede hacerse en menos tiempo del que emplea un espectrómetro dispersivo de IR para obtener un único espectro.

Ventajas del FT-IR sobre el IR dispersivo.

- Resolución de la frecuencia mejorada.
- Reproducibilidad de la frecuencia mejorada (los viejos aparatos de dispersión debían ser recalibrados en cada sesión de uso)
- Alto rendimiento de la energía.
- Mayor rapidez de operación.
- Basado en técnicas computacionales (permitiendo el almacenamiento de los espectros y facilitando el procesado de los mismos).
- Fácilmente adaptable para usos a distancia (como desviar el haz para que atravesase una celda externa y un detector, como en GC-FT-IR).

1.7.6. Técnicas Voltamperométricas.

1.7.6.1. Antecedentes.

Aunque hoy día la voltamperometría constituye una técnica habitual en muchos laboratorios analíticos, su implantación no ha sido sencilla y se ha visto inmersa en varios altibajos debido a las condiciones fundamentalmente técnicas que han rodeado su desarrollo.

Como es bien sabido, la voltamperometría tal y como hoy la conocemos se inició históricamente en la polarografía, técnica electroanalítica descubierta por el químico Jaroslav Heyrovsky en 1920; son varios los textos, artículos y libros clásicos en los cuales puede encontrarse una detallada descripción histórica de sus comienzos, así como de varias de las etapas por las que ha discurrido en el tiempo [126-129].

Cabe mencionar que la importancia del descubrimiento y de su implantación en los laboratorios de análisis le valieron a Heyrovsky el premio Nobel de Química en 1959. Las posteriores fluctuaciones en su utilización han estado marcadas, de una parte, por el desarrollo de la electrónica que permitió la fabricación de una instrumentación más eficaz y, de otra, por la competencia con otras técnicas de aparición más tardía cuya evolución ha sido, no obstante, más rápida y aún hoy día constituyen punto de referencia en ciertos campos del análisis.

Sin embargo, no es posible actualmente abstraerse al empuje de las técnicas voltamperométricas. El número de artículos publicados relacionados con la voltamperometría continúa siendo muy importante comparado con técnicas de gran relevancia, y los campos de investigación abiertos dentro de la voltamperometría auguran la continuidad de estos trabajos.

Desde que, desde el punto de vista instrumental, se solventaron los grandes problemas asociados a la polarografía clásica, con la incorporación del sistema de tres electrodos y control potencioestático, y la aplicación de técnicas más sensibles y selectivas que la corriente continua, los equipos voltamperométricos han experimentado un espectacular desarrollo hasta convertirse en instrumentos dotados de los avances que pueden encontrarse en cualquier otra técnica, como la utilización de ordenadores como medio de control, la automatización de la práctica totalidad del proceso voltamperométrico, desde la purga con nitrógeno hasta el análisis de los resultados, pasando por imposición de potenciales de limpieza o pretratamientos, generación de gota en el caso de electrodos de mercurio, realización de las medidas propiamente dichas y tratamiento y presentación de los resultados. Cualquier equipo actual incorpora un gran número de técnicas voltamperométricas diferentes, un rango de intensidad de trabajo en escala de nano o picoamperios y múltiples posibilidades a la hora de presentar resultados, realizar representaciones gráficas, simulación de señales, tratamiento de datos, etc.

Aunque la sofisticación de los equipos es cada vez mayor, es bien cierto que desde el punto de vista referido estrictamente a las técnicas que pueden aplicarse, el avance ha sido relativamente escaso desde hace varios años. Técnicas de impulso como onda cuadrada o impulso diferencial fueron establecidas en los años 50 y, aunque han sido mejoradas, su fundamento no ha variado. Algo similar puede decirse respecto a la voltamperometría de barrido lineal, voltamperometría cíclica, corriente continua, técnicas aplicadas a sistemas de flujo, etc. La detección amperométrica de impulso, más reciente en el tiempo, no se ha impuesto como técnica alternativa y sólo en campos muy concretos ha conseguido buenos resultados.

Sin embargo, no puede decirse lo mismo de los electrodos de trabajo

empleados en voltamperometría. Desde el originario electrodo de gotas de mercurio de caída libre, este dispositivo ha sufrido una auténtica revolución. Los electrodos actuales de mercurio emplean sistemas efectivos para el control del goteo, tanto en tiempo como en tamaño, y de las gotas colgantes o estacionarias. Pero aparte de la evolución del dispositivo original, la diversificación en electrodos a utilizar ha sido realmente espectacular, y constituye quizá en la actualidad el mayor campo de investigación dentro de la voltamperometría.

En principio, podría decirse que todo material que conduzca la electricidad es susceptible de ser utilizado como electrodo de trabajo. Sin embargo, el material a emplear debe cumplir ciertas condiciones, cuando menos en cuanto a su inercia frente a reactivos químicos y propiedades mecánicas. Por ello, sólo el mercurio por sus especiales características, los metales nobles y el carbono en cualquiera de sus múltiples variedades representan hoy día una alternativa eficaz. Las características y propiedades del mercurio son bien conocidas, y es difícil superar, e incluso igualar, su comportamiento a la hora de estudiar reacciones catódicas. Aunque sus limitaciones en el estudio de sistemas anódicos quedan cubiertas con el empleo de metales nobles, el empleo de carbono presenta varias características ventajosas: por una parte, la posibilidad de ser utilizado tanto en el rango anódico como en el catódico; por otra, las múltiples configuraciones que puede adoptar, desde sistemas rígidos como el carbono vitrificado hasta dispositivos de fabricación propia partiendo de carbono pulverizado de alta pureza; es éste último quizá uno de los campos más abiertos actualmente debido a las múltiples posibilidades de incorporación que permite un sistema de este tipo.

La utilización de carbono pulverizado permite fabricar un material que puede ser empleado como electrodo y que, al ser elaborado según convenga, admite la incorporación de cualquier modificante de interés. Es posible incorporar

adsorbentes que potencien la sensibilidad del electrodo ante sistemas en los que la adsorción juega un papel importante; complejantes para metales; intercambiadores de iones y, por supuesto, enzimas y anticuerpos para la fabricación de bio e inmunosensores. En estos últimos casos, la incorporación se realiza a temperatura ambiente, lo que suele constituir una ventaja adicional del sistema, y la selectividad propia de estos sistemas se incorpora a las características del sistema fabricado. Aunque la sensibilidad de bio e inmunosensores es, en ocasiones, un problema aún por resolver, su selectividad e incluso especificidad ofrecen un campo de enorme interés.

Nuestras investigaciones en los últimos años se han orientado hacia la utilización del grafito pulverizado como material para la fabricación de electrodos, primero como pasta de carbono y posteriormente electrodos sol-gel. La puesta a punto de estos últimos dispositivos ha permitido el desarrollo de un interesante trabajo, que aunque laborioso y lleno de altibajos, nos permite hoy día la exposición de unos resultados realmente satisfactorios y con enormes posibilidades futuras.

1.7.6.2. Fundamentos teóricos.

Durante el desarrollo de la parte experimental de este trabajo, se han utilizado dos técnicas voltamperométricas. Así pues, este apartado se ha incluido con el fin de describir los fundamentos generales de la voltamperometría y las características propias de ambas técnicas empleadas.

La voltamperometría engloba un conjunto de métodos electroanalíticos que fueron desarrollados a partir de la polarografía. En realidad, la voltamperometría supuso la respuesta a los múltiples problemas que planteaba el uso de las técnicas polarográficas en cuanto a sensibilidad y selectividad.

La voltamperometría se aplica en diversos campos, tal como el análisis de

procesos de oxidación y reducción, procesos de adsorción sobre superficies, mecanismos de transferencia de electrones en superficies de electrodos químicamente modificados, etc. [130]

La voltamperometría se basa en aplicar una señal de excitación a un electrodo de trabajo situado en una celda electroquímica que contiene un medio electrolítico. Dicha señal es, sencillamente, un potencial variable y la respuesta del electrodo ante esta excitación es una intensidad de corriente determinada. En función del tipo de señal de excitación, se originan las diferentes técnicas voltamperométricas.

En la actualidad, las técnicas voltamperométricas utilizan un sistema de tres electrodos, que se sumergen en un electrolito soporte situado en la celda electroquímica. Dicho electrolito contendrá la especie que se pretenda analizar y tiene la misión de evitar la migración de ésta debida al campo eléctrico. La principal característica del *electrodo de trabajo* es que su potencial se hace variar con el tiempo, por lo tanto, debe ser fácilmente polarizable. Existe también el *electrodo de referencia*, cuyo potencial es constante durante la medición. Por último, se tiene el *electrodo auxiliar* o *contraelectrodo* (que suele ser de platino), cuya función es conducir la electricidad desde la fuente que la produce hasta el electrodo de trabajo a través de la disolución.

1.7.6.3. Voltamperometría de barrido lineal.

La voltamperometría más sencilla es la de barrido lineal. En ella, se aplica al electrodo de trabajo un potencial que varía linealmente en el tiempo a una velocidad constante. La intensidad de corriente originada por el electrodo de trabajo como respuesta variará con el potencial y, por tanto, con el tiempo. Como resultado, se obtiene una representación gráfica de intensidad de corriente frente a potencial

aplicado, denominada voltamperograma. La voltamperometría de barrido lineal se considera una técnica de electrodo en condiciones estacionarias (no se aplica agitación alguna).

A continuación, se van a considerar las características más relevantes de esta técnica porque servirá de base para explicar los fundamentos de la voltamperometría cíclica y la diferencial de impulsos, principal objetivo de este apartado.

La señal obtenida en un voltamperograma cuando se registra en un medio electrolítico en ausencia de analito consta de dos componentes:

- a) La intensidad de corriente residual, debida a la oxidación o reducción del disolvente, oxígeno disuelto,...
- b) La intensidad de corriente capacitiva (no faradaica) necesaria para cargar al electrodo y hacer que su potencial llegue a un determinado valor (esta componente no es consecuencia, pues, de un intercambio de electrones entre el electrodo y la especie, ya que ésta no existe).

Por lo tanto, cuando se pretende medir la intensidad de corriente de la señal debida a la presencia de una especie en el medio, es necesario considerar que existe esta señal de fondo, cuya intensidad se sumará a la señal del analito pero no corresponde a él. Para eliminarlo, podemos registrar la señal del electrolito de fondo y restarla a la señal obtenida con presencia de analito en el medio, o bien extrapolar la línea base obtenida antes de que comience la corriente faradaica (debida al analito) y medir la intensidad de pico del analito como la diferencia.

Esta técnica posee un límite de detección de hasta $10^{-5}M$, que puede ser mejorado aumentando la velocidad de barrido. Sin embargo, así también se verá

incrementada la intensidad de corriente no faradaica y de forma más rápida que la faradaica; para solucionar este problema, se han utilizados sistemas con dos electrodos de trabajo. Otra opción para disminuir el límite de detección es aplicar una etapa previa de preconcentración electroquímica antes de realizar el barrido lineal en presencia del analito. En realidad, la mejor alternativa es utilizar técnicas de impulso, como la voltamperometría diferencial de impulsos, que se verá más adelante [131].

1.7.6.4. Voltamperometría diferencial de impulsos.

En general, las técnicas voltamperométricas de impulsos fueron ideadas con el propósito de corregir los inconvenientes de la polarografía de corriente continua clásica. La primera en desarrollarse fue la polarografía diferencial de impulsos y,

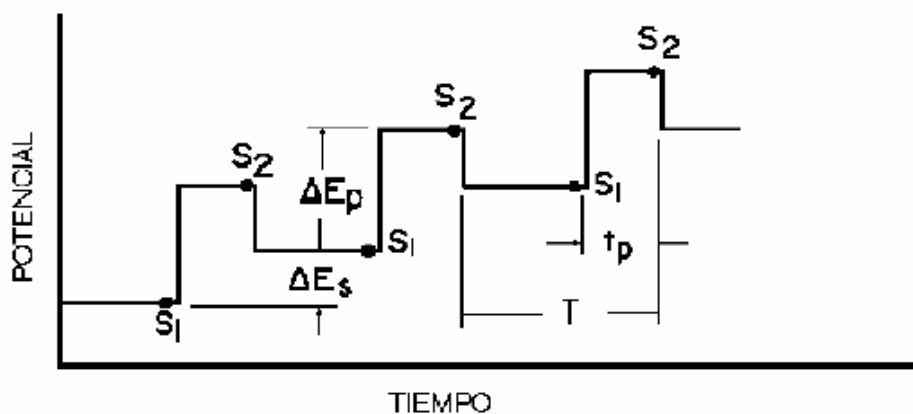


Figura 1.36: Señal de excitación en voltamperometría diferencial de impulsos.

gracias a ella, se vencieron las deficiencias derivadas del uso del electrodo de gotas de mercurio. Así, con dicha técnica sólo se registraban datos de intensidad al final de la vida de la gota y, aplicando impulsos de potencial, se maximizó dicha

intensidad. Igualmente, se logró hacer despreciable la corriente de carga y se restó la mayor parte de la corriente del fondo. Con tales avances, se consiguió disminuir considerablemente el límite de detección y mejorar la presentación de los datos.

Por otro lado, más adelante, se descubrió que tales mejoras no solo eran aplicables al electrodo de gotas de mercurio, sino también a electrodos sólidos y electrodos de película de mercurio, y de esa manera surgió la voltamperometría diferencial de impulsos, cuyas características se describen a continuación.

Para entender bien la descripción, ésta se hará tomando como base la **Figura 1.36**. La técnica consiste en aplicar (superponer) un impulso de potencial constante (ΔE_p) de duración t_p (s) al final de cada escalón de altura ΔE_s y duración T (s) de una escalera de potencial. El hecho de aplicar una escalera de potencial en lugar de una rampa se debe al advenimiento de la aplicación digital a los experimentos electroquímicos, ya que con ello no es posible generar una rampa ideal de potencial y, en consecuencia, se realiza una aproximación a ella generando series de pequeños pasos de potencial. Sin embargo, dicha aproximación tiene la ventaja de aportar mejoras considerables gracias a que este muestreo de intensidad de corriente se realiza al final de cada paso o escalón, cuando ha desaparecido la carga no faradaica (por tanto, solo debería existir corriente faradaica). Se registran los valores de intensidad de corriente en dos puntos: justo antes de aplicar el impulso de potencial (S_1) y justo al final de éste (S_2), como se observa en la figura.

Cuando se persiguen fines analíticos, la amplitud del impulso suele aumentarse hasta 100 mV. Valores mayores de este parámetro proporcionan intensidades de corriente mayores, pero también originan pérdidas de resolución y aumento de la corriente de carga; normalmente, se prefiere aplicar valores de como máximo 100 mV ya que se consigue un buen compromiso entre tales efectos

[131,132].

1.7.6.5. Voltamperometría cíclica.

La voltamperometría cíclica se basa en hacer que el potencial de trabajo oscile entre dos valores fijados, de un mínimo a un máximo en un tiempo determinado, creciendo linealmente, y descendiendo después de nuevo hacia el valor mínimo, en el mismo tiempo. La secuencia mínimo-máximo-mínimo constituye un *ciclo* (**Figura 1.37**).

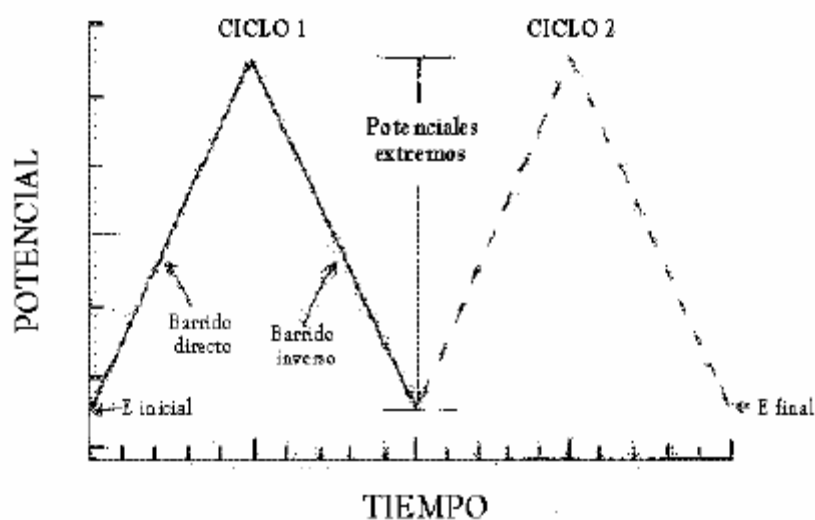


Figura 1.37: Señal típica de excitación potencial-tiempo en voltamperometría cíclica.

La parte del ciclo en la que el potencial va creciendo en sentido positivo se denomina *barrido positivo*; el semiciclo en el cual el potencial va decreciendo se denomina *barrido negativo*.

El perfil de barrido suele definirse en función del par redox de interés en el

experimento. Las medidas de intensidad de corriente se realizan durante todo el ciclo y su representación frente al potencial aplicado da lugar a un gráfico llamado *voltamperograma cíclico* (**Figura 1.38**). Las medidas de intensidad de pico anódico y catódico suelen realizarse extrapolando la línea base de cada semiciclo justo antes de que comience a surgir cada pico, por lo que constituye el principal inconveniente de la voltamperometría cíclica porque no siempre se consiguen valores fiables de intensidad.

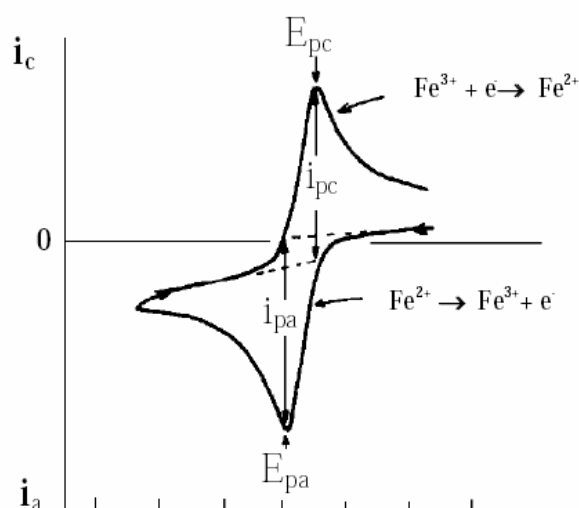


Figura 1.38.: Voltamperograma cíclico de Fe^{2+} en H_2SO_4 1M

Con respecto a las aplicaciones, suele ser la primera técnica que se emplea cuando se pretende realizar un estudio electroquímico. Esto es debido a que se trata, probablemente, de la técnica electroquímica más versátil y efectiva para estudiar mecanismos de sistemas redox. Permite efectuar un barrido de potencial y localizar rápidamente la presencia de algún par redox en el medio electrolítico. Una vez encontrado, podemos caracterizar este par redox mediante los potenciales de pico del voltamperograma y también el análisis de los posibles cambios originados

al variar la velocidad de barrido del potencial. Es, pues, útil a la hora de estudiar sistemas electroquímicos reversibles, es decir, aquellos en los que ambas especies del par redox intercambian electrones con el electrodo rápidamente.

Para evaluar el comportamiento electroquímico de un electrodo en desarrollo, es también frecuente comenzar utilizando la técnica que comentamos porque, mediante ella, es posible conocer el rango de campo de electroactividad que puede abarcar el electrodo y la intensidad de corriente no faradaica o de carga que proporciona en un determinado medio electrolítico (en ausencia de especies). La voltamperometría cíclica es, junto con otras técnicas voltamperométricas, una herramienta importante para realizar, por ejemplo, el estudio de un electrodo químicamente modificado. [133]

1.8. Tioureas en la Química Analítica.

En la última fase del trabajo, se procedió a la modificación de los electrodos Sonogel-Carbono con Tioureas. Las tioureas han sido empleadas en nuestro grupo de investigación con anterioridad, para la fabricación de sensores amperométricos basados en electrodos de pasta de carbono, con muy buenos resultados, dando lugar a una tesis doctoral [134] y a varios trabajos publicados en revistas internacionales con alto índice de impacto [135-138].

Este éxito, nos llevo a intentar la inclusión de las tioureas en electrodos Sonogel-Carbono, como modificantes minoritarios, siempre por debajo del 25 % en peso de grafito. La finalidad de este tipo de sensores es, al igual que en los trabajos desarrollados anteriormente con pasta de carbono, la determinación de metales pesados en medios acuosos, como pueden ser el cadmio y el mercurio. En nuestro caso nos centraremos en la determinación de Cd(II).

La bibliografía acerca de las tioureas y sus derivados es muy amplia. Comercialmente, las tioureas han sido empleadas en ramas tan diversas como la fotografía, la agricultura y la medicina, así como en las industrias del plástico y de textiles.

La tiourea y sus derivados han jugado un importante papel en el desarrollo de la química de coordinación de los metales de transición. Particularmente en el caso de los metales del grupo del platino, las tioureas se han empleado en la hidrometalurgia de estos metales y en su separación selectiva [139,140], así como en el enriquecimiento de trazas y en la separación cromatográfica de los mismos [141].

En la literatura se describe también la síntesis y caracterización de un gran número de resinas complejantes, basadas en tioureas, para la separación y la recuperación de mercurio en soluciones acuosas. Así, Muhammed [142-144] ha empleado con éxito resinas basadas en nonil y dodeciltioureas para la extracción selectiva de oro, plata y mercurio.

También se conocen numerosos métodos [145-147] basados en tioureas para la separación extractiva de mercurio, cadmio y zinc, ya que estos metales suelen coexistir en varias matrices y constituyen interferencias entre sí. Se informan, además, estudios sobre la utilización de butilderivados de la benzoiltiourea para la extracción de plata [148].

En la última década, se ha prestado una gran atención al desarrollo de sensores ópticos para iones de metales pesados. Con este fin, se han inmovilizado ligandos fluorescentes en membranas de intercambio iónico y otras fases estacionarias [149,150]. Se informan varios ligandos fluorescentes derivados de la tiourea [151-153]. Uno de los más interesantes lo constituye la 1-dansil-3-etiltiourea

(figura 1.39).

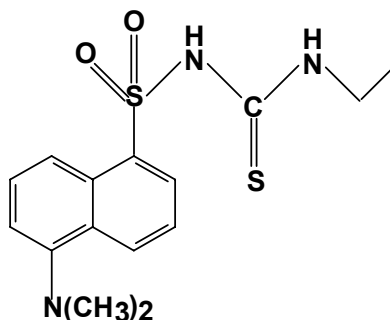


Figura 1.39. Estructura de la 1-dansil-3-etiltiourea.

Schuster [154] estudió la formación de quelatos fluorescentes entre este ligando y un gran número de metales pesados (Hg(II), Cr(III), Pb(II), As(III), Se(IV), Te(IV), Cu(II), Cd(II), Ni(II), Co(II) y Zn(II)), así como la influencia del pH sobre la luminiscencia de estos compuestos.

El empleo de derivados de tiourea (1-furoiltioureas) como ionóforos en el desarrollo de electrodos selectivos de iones de metales pesados se informó por primera vez en el ya inexistente grupo de “Sensores y Reconocimiento Molecular”, del Instituto de Materiales y Reactivos, de la Universidad de La Habana [155-160]. Se logró obtener un ISE para Pb(II) con muy buena sensibilidad y con interferencias apreciables sólo para Hg(II) y Cu(II). Además, con una sensibilidad comparable a la de los ionóforos comerciales y un tiempo de vida de hasta seis meses.

Las tioureas, al contener un átomo de azufre dador en su estructura, coordinan preferentemente con los metales de transición y los metales pesados. En dependencia de los grupos presentes, las tioureas tendrán diferente comportamiento ante la formación de complejos con los iones de estos metales, debido a la variación de los efectos estéricos y electrónicos en el entorno del grupo

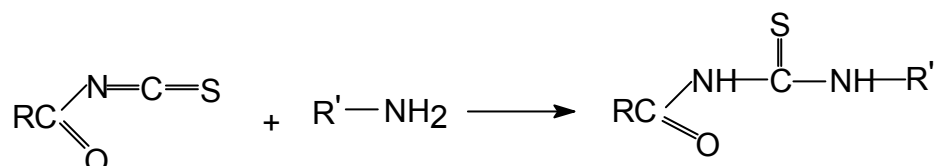
tiocarbonilo. Las tioureas presentan la ventaja de ser compuestos de fácil obtención y de gran estabilidad química.

Los prometedores resultados obtenidos con este tipo de sensor potenciométrico fueron los antecedentes que nos hicieron pensar en la posibilidad de ampliar el uso de las 1-furoiltioureas como complejantes incorporados en electrodos de pasta de carbono y Sonogel-Carbono, aprovechando la experiencia que posee en este campo el grupo de "Instrumentación y Ciencias Ambientales" del departamento de Química Analítica de la Universidad de Cádiz [161-166, 17-19].

El análisis de metales mediante la incorporación de complejantes constituye aún un campo de grandes posibilidades de estudio. El empleo de derivados de tiourea para estos fines es escaso. Lubert describe el estudio de la preconcentración y el comportamiento electroquímico de los iones Ag(I) sobre CPE modificado con N-benzoil-N',N'-di-i-butiltiourea, así como las reacciones de electrodo para el Pd(II) en CPE carbono modificado con derivados de N-benzoiltiourea en disoluciones de cloruro [167,168]. También se han llevado a cabo estudios del efecto de la tiourea en la electroreducción de iones In(III) en ácido perclórico [169].

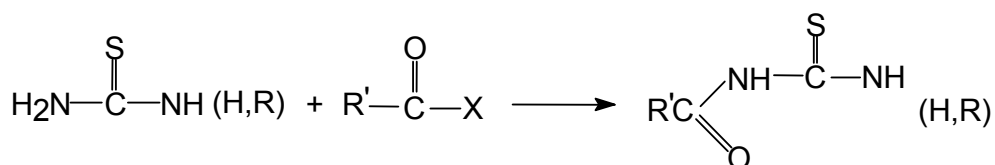
1.8.1. Principales métodos de síntesis de aciltioureas.

El método de síntesis más común para la obtención de aciltioureas consiste en la reacción de acilisotiocianatos con aminas [170-173]. La reacción es bastante sencilla, y las aminas pueden ser primarias o secundarias, con radicales alifáticos, aromáticos, alicíclicos o heterocíclicos. Esta reacción se favorece con el uso de disolventes polares y con el aumento de la nucleofilidad de la amina, y en general, los acilisotiocianatos son más reactivos que sus análogos alquil y arilisotiocianatos.



En la literatura se ha descrito la síntesis de 1-benzoil y 1-furoil-3-feniltioureas, sustituidas tanto en el anillo furánico como en el bencénico [174].

Además del método descrito anteriormente, las aciltioureas pueden obtenerse por acilación de la tiourea [172,173]. Los agentes acilantes más utilizados son los haluros de ácido, los ésteres, los ácidos orgánicos y los anhídridos.



Por esta vía se han sintetizado aciltioureas derivadas de ácidos alifáticos hasta de once átomos de carbono [175].

1.8.2. Electrodo de Sonogel-Carbono modificado para determinación de Cd(II).

El cadmio es uno de los metales pesados más tóxicos y de primer interés medioambiental y de salud. Esto se evidencia en su incorporación dentro de las prioridades iniciales de la lista roja del Reino Unido y de otras similares de “metales prioritarios” que se han establecido de acuerdo al peligro potencial para la salud humana [176,177]. El máximo consumo diario de cadmio tolerable establecido por la FAO (*Food and Agriculture Organization*) a partir de todas las superficies (alimentos, agua, aire) es de 1.0-1.2 µg por kilogramo de masa corporal [178]. Por

tanto, es esencial el desarrollo de métodos analíticos simples, rápidos y con suficiente sensibilidad para la determinación precisa en tiempo real de cadmio a niveles de trazas.

En la bibliografía encontramos diferentes métodos de determinación, en un número relativamente pequeño de ellos, se recoge el uso de sensores amperométricos de pasta de carbono para la determinación de Cd(II), pero con resultados limitados en cuanto a sensibilidad, reproducibilidad, tiempos de análisis y simplicidad en la preparación de los electrodos. Los electrodos que aparecen recogidos son electrodos de pasta de carbono modificados con resina de intercambio iónico (Dowex 50W-X8) [179], resina quelatante Amberlite IRC 718 [180], zeolita [181], tributil fosfato [182], ácido N-p-clorofenil-cinamohidroxámico [183], diacetildioxima [184], sílicas porosas [185,186] y bismuto [187]. Solo hemos encontrado un artículo referido al uso de sol-gel en la determinación voltamperométrica de Cd(II). [188]



Capítulo II: Materiales y Métodos

2. Materiales y Métodos.

2.1. Materiales

Materiales.

Los materiales empleados en la fase experimental de este trabajo son los siguientes:

- Para realizar las medidas voltamperométricas, se utilizaron celdas de 25 ml.
- Se emplearon pipetas automáticas graduables BIOHIT (10-100 μ l, 20-200 μ l y 200-1000 μ l) para realizar las adiciones de disoluciones en la celda de medida; para tomar las cantidades necesarias de precursores en la fabricación de los sonosoles; preparar las disoluciones reguladoras, etc.
- Durante el trabajo experimental, se hizo uso de material de vidrio diverso: pipetas graduadas, vasos de precipitado, matraces aforados de distintos volúmenes, tubos de ensayo, etc.
- Para fabricar los electrodos con soporte de vidrio, se utilizaron capilares comerciales de dimensiones: 1.15 mm de diámetro interno, 1.55 mm de diámetro externo y 70 mm de longitud.
- Para establecer el contacto eléctrico entre los electrodos y el módulo de medida, se emplearon hilos de cobre de diámetro 0.5 mm.
- En la etapa de pulido de los electrodos, se utilizó lija (*Waterproof Silicon Carbide Paper*) de grano fino P#1200 de Struers.

Reactivos empleados.

Especie	Pureza	Casa Comercial
Metiltrimetoxisilano	p.s.	MERCK
Acido clorhídrico 35%- ISO	p.a.	MERCK
Grafito ¹	Grado espectroscópico	GMBH
Grafito ² 200 MESH	99,9999%	ALFA-AESAR
Grafito ³ APS 2-15Micron	99,9995%	ALFA-AESAR
Etanol absoluto	p.a.	MERCK
Cloruro de potasio 3M	----	METROHM
Ácido bórico	p.a.	MERCK
Ácido ortofosfórico	p.a.	MERCK
Ácido acético glacial	p.a.	MERCK
Hidróxido de sodio	p.a.	MERCK
Polietilenglicol (PEG)	p.s.	SIGMA
C18	-----	3M
2,4-dimetilfenol	p.a.	Riedel
4-cloro-3-metilfenol	p.a.	MERCK

- El nitrógeno utilizado para obtener atmósferas inertes y desairear las disoluciones en la celda de medida se obtuvo desde el servicio centralizado de gases y era del tipo N-55.

Preparación de las disoluciones.

Pasamos a describir los procedimientos de preparación de las disoluciones empleadas durante el desarrollo experimental de este trabajo de investigación.

- Disolución de HCl.

Para la elaboración de los diferentes *sonosoles* sintetizados preparamos una disolución de HCl de concentración 0.2 M. Para preparar 50 mL, se toman 0.883 ml de HCl 35% y se enrasan hasta dicho volumen en un matraz aforado.

- Disolución de especies orgánicas.

En el caso de las especies orgánicas utilizadas como analitos en las medidas realizadas, se prepararon disoluciones madres de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en etanol absoluto (volúmenes de 25 mL), de las cuales se realizaron las adiciones correspondientes en función de la concentración deseada en la celda electroquímica.

- Reguladora Britton-Robinson.

Para la preparación de un litro, se llevaron a un matraz aforado de dicho volumen: 2.3 mL de ácido acético glacial, 2.7 mL de ácido ortofosfórico y 2.47 g de ácido bórico, enrasando con agua destilada. Para modificar el pH, se añadió hidróxido sódico.

- Disolución de polietilenglicol.

Para la elaboración de los sonosoles modificados con polietilenglicol, se preparó una disolución de este compuesto, diluyendo 2 gr. en 5 mL de agua destilada.

Aparatos.

En la realización del trabajo experimental se emplearon los siguientes aparatos:

- La síntesis de los sonosoles se llevó a cabo mediante insonación con un generador de ultrasonidos de alta potencia, Sonicator 3000 de MISONIX, que proporciona una potencia máxima de salida de 600 W, y con un emisor piezoelectrico PZT cuyas vibraciones son amplificadas por una sonda transductora de titanio de 13 mm de diámetro.
- La microscopía de barrido se realizó con un Microscopio Electrónico de Barrido, QUANTA 200, de la casa FEI, dotado de un Sistema de Microanalizador EDAX, conectados ambos a ordenadores personales.
- La difracción de rayos X fue llevada a cabo con un Difractómetro de Polvo modelo PHILIPS. Potencia: 3 Kw. Goniometro PHILIPS PW 1820 con cámara de alta temperatura AP HTK-10.
- El análisis mediante Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) se realizó en un espectroscopio NICOLET 20SXB, conectado a un ordenador personal, con software OMNIC v 1.1. Las pastillas fueron preparadas mezclando las muestras con KBr. Las medidas se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

- Los estudios topológicos se llevaron a cabo usando un microscopio de fuerza atómica (AFM) Veeco Nanoscope IIIa, en modo “tapping”, (literalmente, el cantilever da pequeños golpes sobre la superficie del material). Los cantilevers usados son de silicio dopado con fósforo (n), con constante de salto (k) en el rango 20-80 N·m⁻¹. Se calibró el microscopio a través de imágenes de enrejados de calibración suministrados por el fabricante. Las imágenes obtenidas con AFM fueron examinadas mediante artefactos matemáticos, y la reproducibilidad fue testada por el método habitual, esto es, cambiando el cantilever del AFM o bien moviendo durante el experimento la muestra en los ejes x ó y, o mediante la variación del ángulo y la frecuencia del barrido.
- Los estudios de microscopía electrónica de transmisión (TEM) se realizaron empleando un microscopio de la marca JEOL, JEOL JEM 2011, microscopio electrónico de transmisión de 200 KV, con cañón de electrones termiónico (LaB₆), portamuestras de cambio rápido y portamuestras de doble inclinación frío.
- Las medidas voltamperométricas se efectuaron en un equipo potencióstato/galvanostato Autolab[®] PGSTAT20 de Ecochemie conectado a un ordenador personal y a un módulo Stand VA 663 de Metrohm. Este módulo dispone de una plataforma de teflón con tres orificios en los que se insertan el electrodo de trabajo, el electrodo de referencia (Ag /AgCl) y el electrodo auxiliar (varilla de platino). El equipo controla la operación llevada a cabo en el módulo mediante el programa GPES versión 4.9 (*General Purpose Electrochemical System*). Este programa realiza entre otras funciones, la generación de las señales, la adquisición de datos y el tratamiento y almacenamiento de éstos.

- Las medidas de pH fueron realizadas en un pH-metro digital MicropH 2002 de Crison con sensor de temperatura incorporado.
- La agitación de las disoluciones se llevó a cabo con un agitador magnético Agimatic-E de Selecta.
- Las diversas sustancias utilizadas se pesaron en una balanza analítica modelo AE420 Mettler de dos campos (40 gr., detección hasta 0.01 mg y 200 gr., detección hasta 0.1 mg).
- Se empleó en ocasiones, un baño de ultrasonidos Selecta.

2.2. Métodos.

Procedimiento de fabricación del Sonogel.

Para sintetizar los sonosoles, se adicionan en un pesafiltros de vidrio los siguientes precursores: 0.1 mL de la disolución de HCl y 0.5 mL de metiltrimetoxisilano (MTMOS), pudiendo observarse claramente la separación de fases existente. A continuación se coloca el recipiente bajo la sonda del transductor de manera que la punta de ésta queda levemente introducida en la mezcla y se lleva a cabo la insonación durante un tiempo de cinco segundos. Como consecuencia, se obtiene una única fase homogénea que constituye el sol (desencadenamiento de la hidrólisis). Se añade, entonces, la cantidad de grafito necesaria según el tipo de grafito que vamos a emplear, y se homogeneiza el conjunto con la ayuda de una espátula.

Partiendo de este procedimiento general, a lo largo del desarrollo del estudio, permanecerán generalmente constantes las cantidades de MTMOS y de HCl, así como el tiempo de insonación. Tenemos tres tipos diferentes de grafito, que se han enumerado en el apartado anterior de reactivos. Debido a las diferencias existentes entre ellos, nos hemos visto obligados a variar la cantidad de grafito a añadir para obtener una mezcla homogénea y lo suficientemente consistente como para llevar a cabo la etapa de relleno de los capilares. Estas cantidades oscilan desde 1 gramo en el caso del grafito¹ de la tabla, SPEKTRALKOHLE-PULVER, SGL CARBON WERK-RINGSBORFF, RINGSBORFF-WERKE GMBH; 0.5 gramos en el caso del grafito² de la tabla GRAPHITE POWDER, NATURAL, HIGH PURITY, -200 MESH, 99,9999% (METAL BASIS) y 0.25, 0.30 y 0.35 gramos del grafito³ de la tabla GRAPHITE POWDER, NATURAL, MICROCRYSTAL GRADE, APS 2-15 MICRON, 99,9995% (METAL BASIS). Otros parámetros físicos tales como la temperatura de gelificación y la dosis de energía ultrasonora administrada se mantendrán constantes. En nuestro caso, se administró una dosis por unidad de volumen de $0.083 \text{ kJ}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Con respecto al llenado de los capilares, realizar esta operación de forma reproducible y correcta, es decir, evitando que queden huecos, es relativamente complicado, teniendo en cuenta la elevada viscosidad del sonosol y el reducido diámetro externo del capilar. El llenado se lleva a cabo mediante la inserción del capilar dentro del seno del sonosol contenido en el pesafiltros. Sin embargo, la primera vez que se introduce el capilar, puede salir vacío, con lo que sería necesario repetir la operación varias veces (las mínimas posibles) hasta conseguir la cantidad deseada.

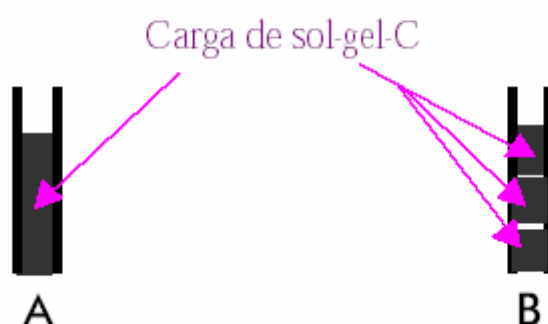


Figura 2.1: Representación esquemática de dos capilares de vidrio rellenos por cargas con la mezcla sonosol-carbono de forma: A) adecuada y B) inadecuada.

Este hecho implica la posibilidad de que queden separaciones entre las distintas cargas del sonosol dentro del capilar, lo cual debe ser evitado, obviamente (**Figura 2.1**). Se ha observado que es muy efectivo rotar el capilar en ambos sentidos con respecto a su eje vertical, al mismo tiempo que se realiza la inserción en el sonosol; de esta forma, la operación se simplifica considerablemente [4].

Con parte del sonosol preparado, se llenan pequeños recipientes cilíndricos de plástico de aproximadamente 12 mm de diámetro y 1.5 mm de altura, compactando bien la mezcla con ayuda de una espátula. Esta operación resulta bastante más sencilla que el relleno de capilares, gracias a las dimensiones y configuración física del molde. Mantenemos el recipiente a temperatura ambiente y en la atmósfera del laboratorio durante la etapa de estructuración y secado del sonosol.

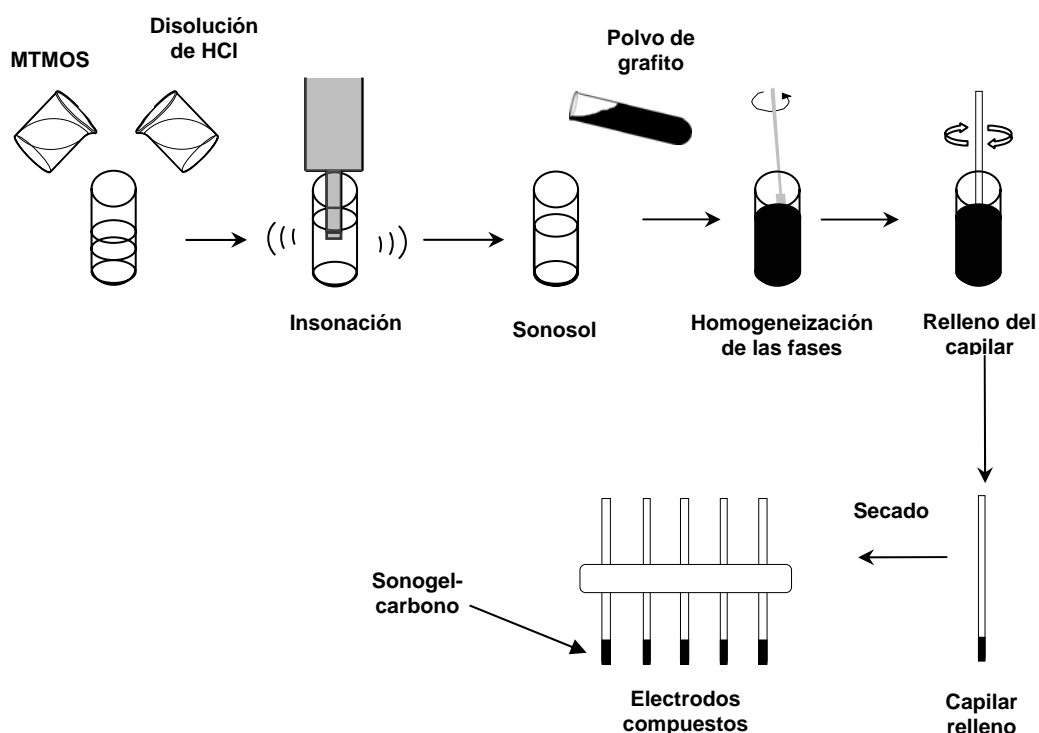


Figura 2.2: Esquema de las etapas de preparación de los electrodos compuestos.

Una vez que hemos rellenado los capilares, procedemos a realizar la compactación del relleno, para lo cual empleamos un hilo de cobre con el que ejercemos presión sobre el relleno, ayudándonos de un vidrio de reloj, donde apoyamos el capilar, para evitar que el sonosol salga del capilar. Una vez compactados, retiramos el vidrio de reloj y, con la ayuda del mismo hilo de cobre, continuamos presionando, para que una pequeña cantidad del sonosol quede fuera del capilar, lo cual facilitará su posterior lijado y pulido. Después, los colocamos en una rejilla de corcho, con agujeros de un diámetro parecido al de los capilares para evitar la caída de estos. Los dejamos secar en esta posición durante un período que oscila entre las 24 y las 48 horas.

En los momentos previos a la medida, se elimina el material que sobresale del capilar. Para ello empleamos una lija de grano fino P#1200, frotando, a continuación, la superficie resultante con un papel satinado colocado sobre una superficie lisa. De esta manera conseguimos una superficie pulida (aspecto brillante y liso).

Este sería el procedimiento general de fabricación, en el que nos basamos para la fabricación de electrodos compuestos modificados. En el presente estudio se han empleado dos modificantes diferentes:

1. Polietilenglicol: el procedimiento de síntesis del sonosol es el mismo, utilizando el mismo volumen y las mismas concentraciones de reactivos. La única diferencia está en la adición de 25 μL de una disolución PEG:H₂O (5:2 en masa) al sonosol.
2. C18: El procedimiento de síntesis es exactamente igual, salvo que en este caso el modificante no se adiciona en forma de disolución, sino que se mezcla con el grafito que adicionamos al sonosol de forma que tengamos un 10% en peso de modificante.
3. Tioureas. Estos modificantes se describen a continuación en un epígrafe aparte.

En este trabajo también se han llevado a cabo pruebas sobre el gel resultante de la estructuración del sonosol original, es decir, sin la adición de grafito. Con el fin de visualizar mejor la acción del polietilenglicol sobre el sonogel, se sintetizó el material modificado con PEG sin grafito, añadiendo las mismas proporciones citadas anteriormente.

2.3. Electroodos Sonogel-Carbono - 1-furoiltioureas-3-monosustituidas.

Proceso de síntesis y determinación [134]

Las tioureas empleadas en el desarrollo de la parte experimental, fueron sintetizadas en los laboratorios del Instituto de Materiales y Reactivos (IMRE) de la Universidad de La Habana, en el desarrollo de una Tesis Doctoral [134] previa de nuestro grupo. A continuación se exponen los métodos de síntesis y los reactivos empleados en la obtención de las tioureas, que aparecen en la citada tesis doctoral así como en los trabajos publicados a raíz de la misma.

Originalmente se sintetizaron 19 tioureas diferentes, que se dividieron en dos series: 1-furoiltioureas-3-monosustituidas (Serie 1) y 3,3-disustituidas (Serie 2). Dentro de estas series tenemos tioureas con sustituyentes aromáticos y tioureas con sustituyentes alifáticos.

En esta tesis doctoral solo se han empleado tres de estas tioureas: 1-furoil-3-feniltiourea, 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea y 1-furoil-3-benciltiourea; todas pertenecientes a la Serie 1, es decir todas monosustituidas: las dos primeras tienen un sustituyente aromático mientras la tercera tiene un sustituyente alifático. Estas tioureas fueron las que mejor comportamiento electroquímico habían mostrado en los trabajos desarrollados con anterioridad.

A continuación se detalla el proceso de obtención de las tioureas de ambas series, ya que es prácticamente el mismo, variando solamente el tipo de sustituyentes, y que aparecen recogidos de esta forma en la bibliografía [134-138], así como los materiales y reactivos empleados en el proceso de fabricación,

Materiales y Métodos

únicamente y exclusivamente de las tioureas que se han utilizado en el proceso experimental de esta tesis.

Disolventes y desecantes

Compuesto	Pureza	Casa comercial
Acetona	Clase A de producción cubana. Destilada en columna de fraccionamiento y secada con sulfato de sodio.	-
Etanol	Clase A de producción cubana, destilado en columna de fraccionamiento.	-
Etanol absoluto	p.a.	MERCK
Éter etílico	p.a.	MERCK
Cloroformo	p.a.	FLUKA
Benceno	p.a.	FLUKA
Dimetilformamida	p.a.	BDH
Cloroformo deuterado	Grado espectroscópico	MERCK
Dimetilsulfóxido deuterado	Grado espectroscópico	MERCK
Sulfato de sodio	p.s.	BDH
Cloruro de calcio	p.s.	BDH

Especies orgánicas

Compuesto	Pureza	Casa comercial
Ácido furoico	p.s.	MERCK
Cloruro de tionilo	p.s.	FLUKA
Tiocianato de amonio (recristalizado de acetona y secado en desecadora)	p.s.	MONTERREY
Anilina	p.s.	BDH
<i>p</i> -tetradecilamina	p.s.	ALDRICH
Bencilamina	p.s.	MERCK

Especies inorgánicas

Ion	Sal del ion	Pureza	Casa comercial
Cd(II)	CdCl ₂ ·2H ₂ O	p.a.	BDH
Pb(II)	Pb(NO ₃) ₂	p.a.	MERCK
Hg(II)	Hg(NO ₃) ₂ y HgCl ₂	p.a.	MERCK
Cu(II)	Cu(NO ₃) ₂	p.a.	MERCK
Zn(II)	Zn(Ac) ₂	p.a.	MERCK

Procedimientos de síntesis de los compuestos

Síntesis del cloruro de furoilo [189]

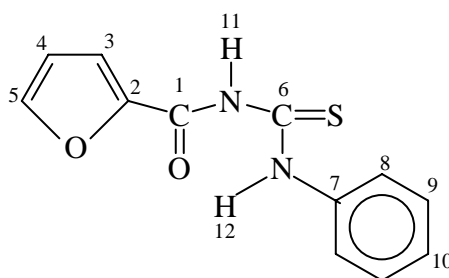
En un matraz redondo equipado con condensador de reflujo y tubo de cloruro de calcio se colocan 0.05 mol (5.6 g) de ácido furoico y se añaden 0.11 mol (13.1 g, 8.0 mL) de cloruro de tionilo. La mezcla se calienta a ebullición en baño de agua durante cinco horas con agitación ocasional. Terminada la reacción se elimina

el exceso de cloruro de tionilo y se purifica el cloruro de furoilo por destilación a presión atmosférica.

Síntesis de 1-furoiltiureas 3-monosustituidas (Serie 1) y 3,3-disustituidas (Serie 2) a partir de aminas aromáticas [190]

En un matraz redondo se colocan 0.03 mol (3.8 g, 2.9 mL) del cloruro de furoilo recién destilado disuelto en 15 mL de acetona seca y se le adiciona una disolución de 0.03 mol (2.28 g) de tiocianato de amonio seco en 25 mL de acetona. La mezcla de reacción se agita manualmente durante unos minutos, observándose la aparición de un precipitado de cloruro de amonio que indica la formación del acilisotiocianato. A continuación se añade lentamente con agitación una disolución de 0.03 mol de la amina en una cantidad mínima de acetona (10-15 mL) y se mantiene a reflujo durante 15 minutos con agitación. Terminada la reacción, la mezcla se vierte sobre 600 mL de agua helada. La tiourea que precipita se filtra, se lava con agua varias veces, se seca al aire y se coloca en una desecadora con sulfato de sodio anhidro durante 4 días; rendimiento crudo: 50-90 %.

➤ **1-furoil-3-feniltiourea (1)**



F. Global: C₁₂H₁₀O₂N₂S

% Rendimiento: 59; Lit.: 62 [190]

Punto de Fusión (°C): 114-115; Lit.: 114 [190]; 116 [191]

Rf (cloroformo saturado en agua): 0.62; **Rf (acetona (10): metanol (1)):** 0.49

FTIR (KBR) cm^{-1} : ν_{NH} (libre): 3355 (d), 3293 (d); ν_{NH} (asoc.): 3142 (d-m), 3122(d); ν_{CH} (arom.): 3054 (d); $\nu_{\text{C=O}}$: 1669 (m-f), $\nu_{\text{C=C}}$ (arom.): 1615 (f), 1577 (f); **Bandas Tioureido:** I: 1525 (f), II: 1354 (f), III: 1166 (f), IV: 741 (m); ν_{benceno} (respiración del anillo): 1015 (m); ω_{CH} , δ_{CH} (aromáticos): 767 (m), 684 (m-f) [137].

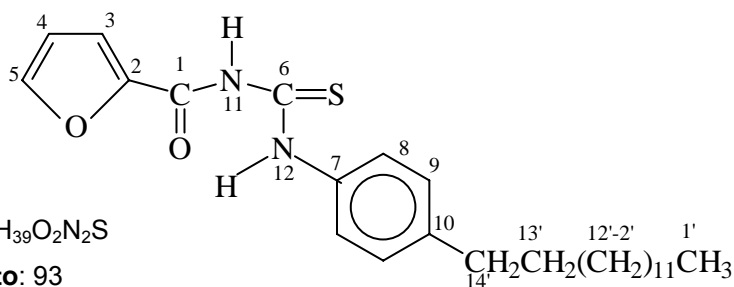
Raman (cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}}$: 1675 (d-m); $\nu_{\text{C=C}}$ (arom.): 1600 (f), 1565 (m-f); **Bandas Tioureido:** I: 1533 (f), II: 1356 (f), III: 1166 (f), IV: 743 (m); $\nu_{\text{C=C}}$ (2-furoioi): 1470 (f); ν_{furano} (respiración del anillo): 1135 (m); ν_{benceno} (respiración del anillo) 999 (m); $\pi_{\text{C=S}}$: 535 (d); $\delta_{\text{C=S}}$: 378 (d); δ_{NCN} : 340 (d) [137].

RMN- ^{13}C (DMSO- d_6) δ (ppm): 112.3 (C4), 118.4 (C3), 124.0, 126.0, 128.3 (C8, C9, C10), 137.6 (C7), 144.4 (C2), 148.1 (C5), 157.3 C=O(1), 178.4 C=S(6) [192].

RMN- ^1H (DMSO- d_6) δ (ppm): 6.74 dd (1H^+) (4); 7.25 m (1H^+) (10); 7.41 dd (2H^+) (9); 7.66 d (2H^+) (8); 7.85 dd (1H^+) (3); 8.05 dd (1H^+) (5); 11.25 s NH-1(11); 12.37 s NH-3(12) [192].

RMN- ^{13}C (sólido) δ (ppm): 157.0 C=O(1); 175.7 C=S(6) [136].

➤ **1-furoil-3-(*p*-tetradecilfenil)-tiourea (8)**



F. Global: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$

% Rendimiento: 93

Punto de Fusión ($^{\circ}\text{C}$): 88-89

Rf (cloroformo saturado en agua): 0.82; **Rf (acetona (10): metanol (1)):** 0.64

Análisis Elemental (%): N: 6.61 (Teór.: 6.32); C: 70.81 (Teór.: 70.43); H: 8.52 (Teór.: 8.80); S: 7.03 (Teór.: 7.22).

FTIR (KBr) cm^{-1} : ν_{NH} (libre): 3292 (d); ν_{NH} (asoc.): 3125(d); ν_{CH} (arom.): 3054 (d); $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$: 2957 (d-m); $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$: 2918 (f); $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$: 2848 (f); $\nu_{\text{C=O}}$: 1665 (m-f), $\nu_{\text{C=C}}$ (arom.): 1600 (f), 1583 (f); **Bandas Tioureido:** I: 1523 (f), II: 1347 (f), III: 1179 (f), IV: 720 (m); ν_{furano} (respiración del anillo): 1011 (m); ω_{CH} , δ_{CH} (aromáticos): 759 (f), 687 (m) [137].

Raman (cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}}$: 1669 (d-m); $\nu_{\text{C=C}}$ (arom.): 1611 (f), 1581 (m-f), **Bandas Tioureido: I:** 1513 (f), **II:** 1315 (f), **III:** 1182 (f), **IV:** 743 (m); $\nu_{\text{C=C}}$ (2-furoilo): 1476 (f); ν_{benceno} (respiración del anillo): 1137 (m); $\pi_{\text{C=S}}$: 562 (d); $\delta_{\text{C=S}}$: 385 (d); δ_{NCN} : 303 (d) [137].

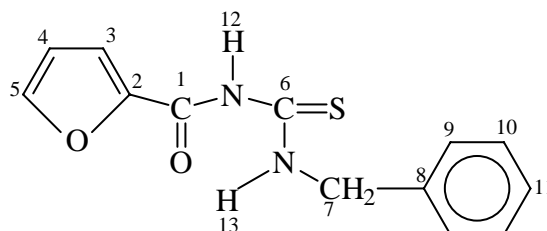
RMN- ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm): 14.1 (**C1'**); 22.7 (**C2'**); 29.7 (**C3'-C11'**); 31.3 (**C12'**); 31.9 (**C13'**); 35.5 (**C14'**); 113.4 (**C4**); 118.8 (**C3**); 123.9 (**C8**); 128.8 (**C9**); 135.2 (**C7**); 141.9 (**C10**); 145.0 (**C2**); 146.4 (**C5**); 156.7 **C=O(1)**; 177.8 **C=S(6)** [192].

RMN- ^1H (CDCl_3) δ (ppm): 0.83 m (3H^+) (**1'**); 1.26 m (22H^+) (**2'-12'**); 1.63 m (2H^+) (**13'**); 2.61 m (2H^+) (**14'**); 6.63 dd (1H^+) (**4**); 7.21 d (2H^+) (**9**); 7.38 d (1H^+) (**3**); 7.58 d (2H^+) (**8**); 7.62 dd (1H^+) (**5**); 9.20 s **NH-1(11)**; 12.23 s **NH-3(12)** [192].

Síntesis de 1-furoiltiureas 3-monosustituidas (Serie 1) y 3,3-disustituidas (Serie 2) a partir de aminas alifáticas [193]

En un matraz redondo de dos bocas, de 100 mL, equipado con embudo gotero y condensador con tubo de cloruro de calcio, se colocan 0.03 mol (3.8 g, 2.9 mL) de cloruro de furoilo disueltos en 15 mL de acetona y se adiciona una disolución de 0.03 mol (2.28 g) de tiocianato de amonio seco en 25 mL de acetona. Aparece un abundante precipitado blanco de cloruro de amonio que indica la formación de isotiocianato de furoilo. El matraz se enfría a -10°C y se añade lentamente y agitando, una disolución fría de 0.04 mol de la amina en 15 mL de acetona. Terminada la adición de la amina, la mezcla de reacción se deja reposar durante unos minutos en agua fría, a 10°C aproximadamente, y se mantiene a reflujo de 2 a 3 minutos con posterioridad. El contenido del matraz se enfría y se vierte sobre 600 mL de agua helada, lentamente y agitando. Frecuentemente se forman aceites de difícil cristalización. En estos casos, la adición de la mezcla de reacción al agua debe ser mucho más lenta. Los cristales que precipitan se filtran, se lavan con agua varias veces, se secan al aire y se colocan en una desecadora con sulfato de sodio anhidro durante 4 días; rendimiento crudo: 20-70 %.

➤ **1-furoil-3-benciltiourea (13)**



F. Global: C₁₃H₁₂O₂N₂S

% Rendimiento: 70

Punto de Fusión (°C): 129-130; Lit.: 122 [191]

Rf (cloroformo saturado en agua): 0.71; **Rf (acetona (10): metanol (1)):** 0.52

Análisis Elemental (%): **N:** 8.23 (Teór.: 8.33); **C:** 67.73 (Teór.: 67.86); **H:** 4.75 (Teór.: 4.46); **S:** 9.34 (Teór.: 9.52).

FTIR (KBr) cm⁻¹: ν_{NH} (libre): 3354(d); ν_{NH} (asoc.): 3129 (d-m), 3115(d); ν_{CH} (arom.): 3036 (d); ν_{as} (CH₂): 2922 (d); ν_{C=O}: 1667 (m-f), ν_{C=C} (arom.): 1580 (f); δ_{CH₂, CH₃}: 1467 (f); **Bandas Tioureido:** I: 1504 (f), II: 1329 (f), III: 1178 (f), IV: 746 (m); ν_{benceno} (respiración del anillo): 1013 (m); ω_{CH}, δ_{CH} (aromáticos): 752 (m), 696 (m-f) [137].

Raman (cm⁻¹): ν_{C=O}: 1665 (d-m); ν_{C=C} (arom.): 1584 (m-f), **Bandas Tioureido:** I: 1516 (f), II: 1331 (f), III: 1182 (f), IV: 750 (m); ν_{C=C} (2-furoilo): 1474 (f); ν_{furano} (respiración del anillo): 1155 (m); ν_{benceno} (respiración del anillo): 1002 (m); π_{C=S}: 596 (d); δ_{C=S}: 356 (d); δ_{NCN}: 310 (d) [137].

RMN-¹³C (DMSO-d₆) δ (ppm): 47.9 (C7); 112.3 (C4); 118.0 (C3), 126.9, 127.2, 128.2 (C9, C10, C11); 137.0 (C8); 144.4 (C2); 147.8 (C5); 157.2 C=O(1); 179.9 C=S(6) [192].

RMN-¹H (DMSO-d₆) δ(ppm): 4.88 d (2H⁺) (7); 6.71 dd (1H⁺) (4); 7.27-7.37 m (5H⁺) (9, 10, 11); 7.82 d (1H⁺) (3); 8.01 d (1H⁺) (5); 11.04 t NH-3(13); 11.13 s NH-1(12) [192].

Purificación

La purificación de las tioureas se llevó a cabo mediante recristalización en etanol y se utilizó carbón activado. En las tioureas más insolubles, se adiciona un 20 % en volumen de dimetilformamida. Las tioureas precipitan en forma de agujas o escamas, ya sea por enfriamiento o evaporación lenta. El precipitado se filtra a vacío y se lava con etanol frío y éter etílico.

Criterio de pureza

La pureza de las tioureas fue verificada mediante la determinación del punto de fusión después de dos recristalizaciones sucesivas. Y también por cromatografía de placa fina.

Las tioureas se añaden a nuestro Sonogel-Carbono en la fase sonosol, mezclado con el polvo de grafito, y como modificante sólido minoritario. Se probaron diferentes porcentajes de modificación que oscilan entre un 10 y un 20%

Aparatos

En la realización del trabajo experimental de este apartado de la tesis doctoral se utilizaron los siguientes aparatos:

- Los puntos de fusión se determinaron con un reóstato Reichert-Jung acoplado a unos binoculares Reichert-Thermovar y un termómetro digital RS-3.722.
- Los análisis elementales fueron realizados con un analizador automático Leco, modelo CHNS 932.

- Los espectros infrarrojos se registraron en un espectrómetro FT-IR de Atti Mattson, Genesis Series, en el rango espectral de 4000-400 cm^{-1} a temperatura ambiente, utilizando Nujol para evitar reacciones mecano-químicas con el KBr [194]. Los espectros IR registrados en pastillas de KBr y los de los compuestos dispersos en ventanas de KBr eran diferentes.
- Los espectros Raman se registraron en un espectrómetro NIR-FT-Raman Perkin Elmer y un láser iónico de criptón ($\lambda=647.1$ nm) modelo Lexel 98. Las muestras se colectaron en un capilar para sólidos de simple paso. La potencia del láser empleado en la muestra fue de 40 mW. El paso de la banda espectral fue de 4 cm^{-1} y se utilizó una configuración de 90°.
- Los espectros de RMN- ^{13}C y ^1H en disolución se registraron en un equipo espectrómetro de pulsos y transformada de Fourier Bruker AC-250F equipado con una computadora ASPECT 3000 (frecuencias de operación: 250 MHz (^1H) y 62.89 MHz (^{13}C), a 25 °C). El disolvente utilizado en el registro de los espectros fue DMSO- d_6 , excepto para la tiourea número **8** que se usó CDCl_3 . Técnica de edición espectral DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer): se utilizó el pulso protónico a $\theta= 135^\circ$. Algunas asignaciones se complementaron con experimentos HETCOR ^{13}C - ^1H (Heteronuclear Correlation).
- Los espectros de RMN de ^{13}C de sólidos fueron registrados en un espectrómetro marca Bruker modelo ASX300 de 89 mm wide bore, utilizando una sonda de CP-MAS (Cross Polarization and Magic Angle Spinning) de 4 mm.

- Los espectros de energía dispersiva de rayos X (EDS) se colectaron en un microanalizador EDAX acoplado a un microscopio electrónico de barrido Quanta 200 de Fey, 20 KeV, donde se realizó la microscopía de superficie.
- Las intensidades integrales de los monocristales se colectaron en un difractómetro Nonius de cuatro círculos. Las estructuras de los compuestos analizados se resolvieron por métodos directos y con la ayuda de técnicas de Fourier. Los átomos de hidrógeno metílicos se constriñeron a una geometría ideal [C-H= 0.98 Å y $U_{\text{iso}}(\text{H})=1.5U_{\text{eq}}(\text{C})$], pero con rotación permitida alrededor de los enlaces C-C. El resto de los átomos de hidrógeno se ubicaron en posiciones ideales (C-H= 0.95 ± 1.00 Å) y anclados a sus átomos de carbono [$U_{\text{iso}}(\text{H})=1.2U_{\text{eq}}(\text{C})$], con parámetros de desplazamiento isotrópico constreñidos ($U: 0.05$ Å²). Las coordinaciones de los átomos de hidrógeno unidos a átomos de nitrógeno se refinaron isotrópicamente en cada uno de los compuestos estudiados.
- Para el refinamiento de la estructura cristalina y el procesamiento gráfico se utilizaron los programas SHELXL-97 [195] y OrtepIII [196] respectivamente. Los factores de dispersión se tomaron de las tablas para cristalografía de rayos X [197]. Todos los cálculos se realizaron con el paquete de programas WINGX PC [198].
- Los monocristales que se estudiaron se obtuvieron de etanol mediante evaporación lenta del disolvente.
- Las curvas termogravimétricas se registraron a temperatura ambiente con flujo de nitrógeno (830 mL/min) en una analizador

termogravimétrico modelo TG-2950, operado con alta resolución. Para el manejo del equipo se utilizó el programa Thermal Advantage (versión 1.1A). La termobalanza se utilizó en el modo dinámico de velocidad, y el rango de velocidades utilizado fue de 5-20 °C/min con un valor de resolución instrumental igual a 5.



Resultados y Discusión



**Capitulo III: Caracterización Electroquímica de
materiales Sonogel-Carbono.**

3. Caracterización Electroquímica de materiales Sonogel-Carbono.

3.1. Electroodos Sonogel con base en carbono APS.

3.1.1. Proceso de fabricación.

El tipo de grafito que empleamos en la fabricación de estos electrodos es un grafito comercial de la casa Alfa Aesar: GRAPHITE POWDER, NATURAL, MICROCRYSTAL GRADE, APS 2-15 MICRON, 99,9995% (METAL BASIS). A partir de ahora para facilitar la descripción nos referiremos a él como grafito o carbono APS.

Este grafito presenta un tamaño de partícula menor que el grafito que se ha venido empleando hasta el momento en nuestro grupo para la fabricación de electrodos Sonogel-Carbono (SPEKTRALKOHLE-PULVER, SGL CARBON WERK-RINGSBORFF, RINGSBORFF-WERKE GMBH; desde este momento lo denominaremos grafito RWG o grafito original). Este hecho hace que la formulación general que hemos descrito en el apartado anterior tenga que verse ligeramente modificada, ya que un menor tamaño de partícula implica un aumento en el volumen que ocupa el mismo peso de grafito.

Se investigaron tres cantidades diferentes del grafito, basándonos principalmente en el volumen que ocupaba 1 g del grafito original. De este modo, se fabricaron electrodos con la misma cantidad de precursores descrita en el apartado anterior, pero con una menor cantidad de carbono APS.

1. En una primera formulación añadimos 0,25 g de grafito APS. El resultado después de realizar la sonocatálisis y homogeneizar no fue el esperado en cuanto a la textura y solidez de la masa obtenida. Existían dificultades a la hora de rellenar los capilares de vidrio, ya que aunque el sonogel aún permanecía

húmedo, gelificaba de forma rápida y desordenada, imposibilitando la subida por capilaridad, y por tanto el relleno para obtener los electrodos.

Otra característica observada durante la etapa de homogeneización es que el volumen de sol formado es bastante menor al que generalmente se obtiene para ese volumen de grafito, lo que nos llevó a pensar que sería conveniente ampliar la cantidad de grafito poco a poco hasta lograr un sol adecuado para el relleno de los capilares.

Para facilitar la observación de los posibles cambios que pudieran producirse en el sonogel durante la etapa de secado, se relleno un portamuestras cilíndrico con parte del sol. Se observó una gran disminución del volumen del mismo apenas transcurridos 10 minutos desde su colocación en el portamuestras, que se produjo también en los electrodos, aunque de forma menos acusada.

2. En una segunda prueba se adicionó una cantidad mayor, 0,35 g, con las mismas cantidades de precursores que en el caso anterior. La masa obtenida después del proceso de homogeneización era, en este caso, algo mas seca que la que se obtenía habitualmente con el grafito original. La gelificación comenzó más rapidamente que en el caso anterior, lo que también provocó dificultades en el proceso de relleno de los capilares. También en esta ocasión se introdujo en un portamuestras parte del sol antes de que se produjera la gelificación total de la pasta.

Transcurridas 3 horas, no se observó una contracción grande en el volumen del sonogel del portamuestras.

3. A la vista de los resultados obtenidos, se decidió fabricar de nuevo el sonogel, pero añadiendo esta vez una cantidad intermedia de grafito APS, 0,30 g de grafito. Seguía obteniéndose una pasta difícil de manejar, pero que tenía una mejor compactación. Se relleno un portamuestras con parte del sol. La

contracción de volumen fue similar a la que se había producido en la formulación descrita en el punto 2.

Una característica común en los tres tipos de sonogel que acabamos de describir es su fragilidad, ya que se fracturaban fácilmente durante la etapa de pulido de los electrodos fabricado con ellos.

3.1.2. Comportamiento electroquímico.

Para comenzar la caracterización de los electrodos que fabricamos con el grafito APS, se llevaron a cabo estudios con las técnicas de voltamperometría diferencial de impulsos (DPV) y voltamperometría cíclica (CV).

Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV).

Como ya se ha resaltado en la introducción de este trabajo de investigación, esta técnica posee una sensibilidad elevada y adecuada para estudiar tanto sistemas electroquímicos reversibles como sistemas irreversibles.

Las medidas se realizaron en reguladora universal Britton-Robinson de pH 4, ya que es el medio electrolítico que se viene empleando para el estudio de este tipo de electrodos compuestos en nuestro grupo.

1. Se comenzó el estudio electroquímico con el primero de los tres tipos de electrodo fabricados con el grafito APS, los que contenían 0,25 g de grafito

Para estudiar la estabilidad del electrodo se llevaron a cabo medidas tanto en oxidación como en reducción. Los parámetros relativos a la técnica voltamperométrica se fijaron en los siguientes valores: 100 mV de amplitud de

impulso, 5 mV de paso de potencial velocidad de barrido $25,5 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, tiempo de repetición del impulso 0,2 s y duración del impulso 0,06 s.

Comenzaremos por las medidas realizadas en oxidación. El rango de potenciales abarcado va desde 0,3 V hasta 1,25 V. Al ser el primer barrido que se hacía con este electrodo, se realizó un barrido en oxidación en ausencia de analito en el medio electrolítico, después de una etapa de preconcentración a 0 V durante 600 s, con el fin de ver la respuesta que se obtenía.

En la **Figura 3.1** aparece la señal obtenida para este primer barrido en azul. En ella vemos un pequeño hombro entre 0,7 y 0,8 V, además de una inclinación algo pronunciada en la caída del fondo. Realizamos un segundo barrido en las mismas condiciones para ver como evolucionaba la respuesta del electrodo, que comparado con el anterior, aparece a valores de intensidad superiores, como puede verse en la figura anterior. Hay que decir que este comportamiento no es el habitual en este tipo de electrodos, sino que la tendencia general es estabilizarse y obtener barridos próximos entre sí, pero siendo el segundo más bajo en intensidad que el primero.

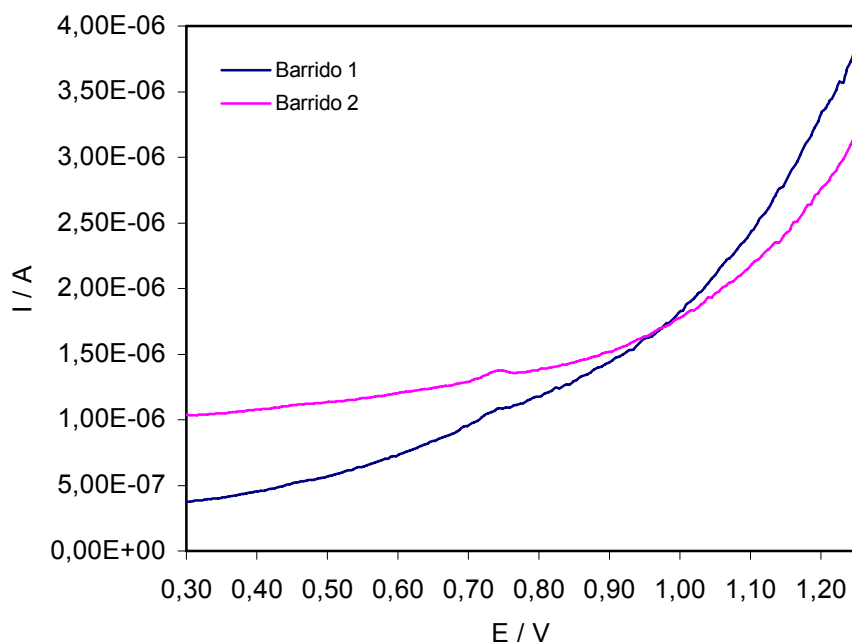


Figura 3.1: Primer y segundo barridos en oxidación par el electrodo fabricado con 0,25 g de grafito APS.

Posteriormente probamos el procedimiento de limpieza habitual en ausencia de analito en la celda de medida. En este caso el barrido también se realiza en el sentido de la oxidación, en el mismo rango de potenciales que en el caso anterior, pero cambiamos el potencial (-0,5 V) y el tiempo de duración de la etapa de preconcentración (120 s).

El resultado que obtuvimos fue que las señales eran más irregulares y subían en intensidad a medida que se hacían barridos consecutivos. De nuevo el electrodo presentaba un comportamiento irregular en comparación con los estudios realizados con anterioridad, que hacían pensar en graves problemas para aplicaciones analíticas.

Los resultados obtenidos, por tanto, para la oxidación no eran demasiado buenos. Pasamos a estudiar la reducción; para ello se cambió el rango de potenciales imponiendo como potencial inicial 1,25V y como potencial final -1V.

En la **Figura 3.2**, vemos la subida de la intensidad del fondo que se produce en el segundo barrido con respecto al primero. Pese a todo, los registros presentaban mejores características que los obtenidos en oxidación, con una línea base horizontal antes de iniciar la subida del fondo, que se produce a un potencial algo temprano.

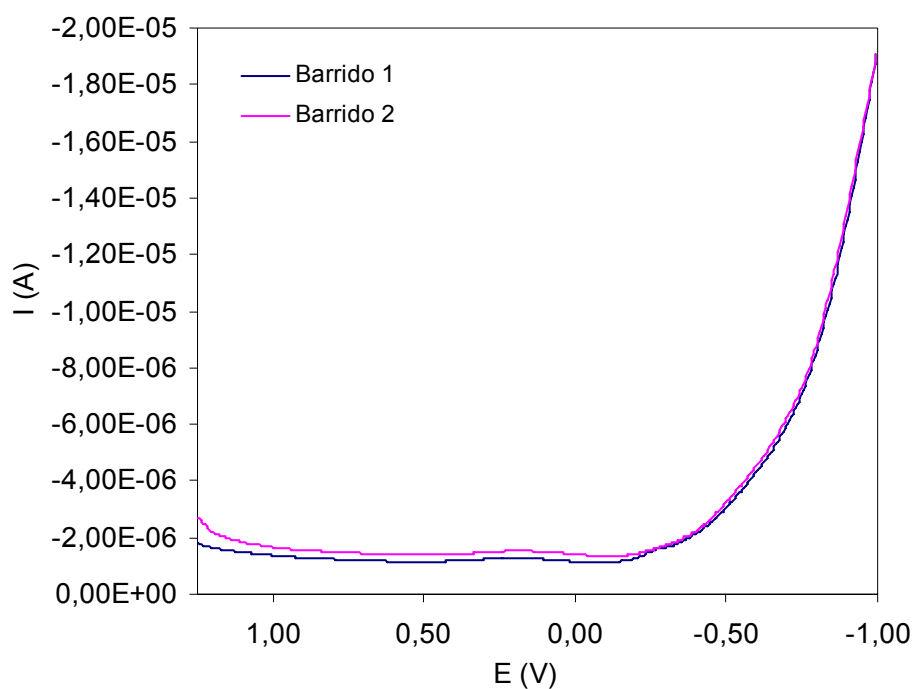


Figura 3.2: Barridos consecutivos en reducción para el electrodo fabricado con 0,25 g de grafito APS

2. Pasamos ahora a describir los resultados obtenidos para el segundo de los tipos de electrodos fabricados con 0,35 g de grafito APS.

Para este electrodo se realizaron las mismas medidas que para el anterior, a fin de poder comparar su comportamiento en el mismo medio electrolítico y bajo las mismas condiciones.

El primer barrido se llevó a cabo en oxidación, en el rango de potenciales que va desde 0,3 V hasta 1,25 V, con un procedimiento de acumulación de 0V durante 600s. La señal obtenida en este caso (ver **Figura 3.3**) es bastante buena, y comparada con la que se obtenía para el electrodo anterior (ver **Figura 3.1**), con una cantidad de grafito menor, aparece a una intensidad de fondo menor.

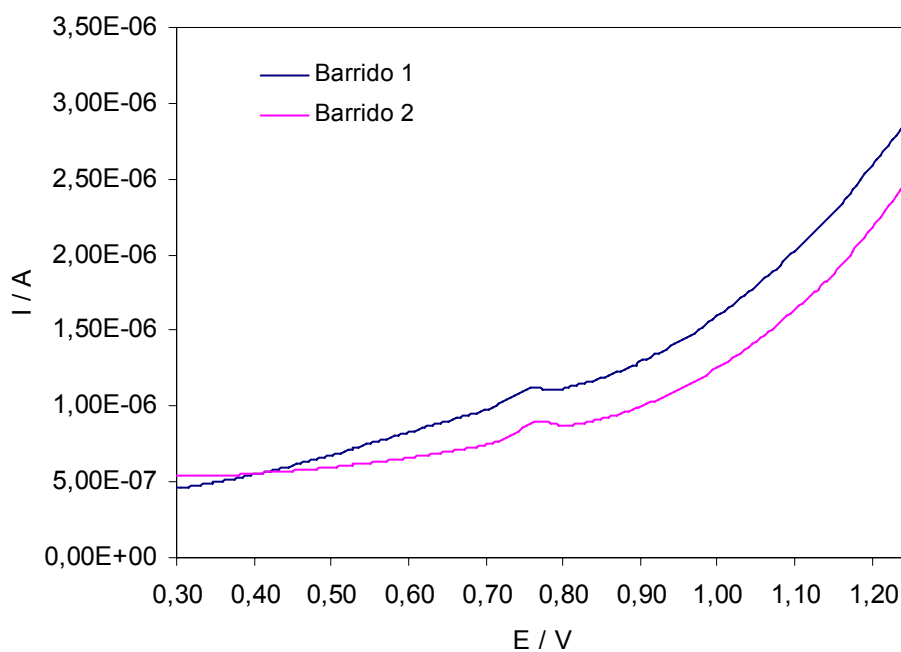


Figura 3.3: Primer y segundo barrido en oxidación para el electrodo fabricado con 0,35 g de grafito APS

Hicimos un segundo barrido bajo las mismas condiciones, con el fin de comprobar la evolución de las señales. En este caso el comportamiento es el esperado, disminuyendo la intensidad de fondo del barrido. Sin embargo, aunque el comportamiento del electrodo en oxidación parecía haber mejorado, seguía apareciendo un pequeño hombro en el mismo punto, así como problemas en la horizontalidad de la línea base.

Con respecto a los barridos realizados después de llevar a cabo una limpieza a potencial negativo, cabe destacar su reproducibilidad, ya que los tres barridos que se realizaron eran prácticamente iguales, tal y como se muestra en la **Figura 3.4**, apareciendo más bajos en intensidad que los barridos del electrodo anterior, bajo las mismas condiciones.

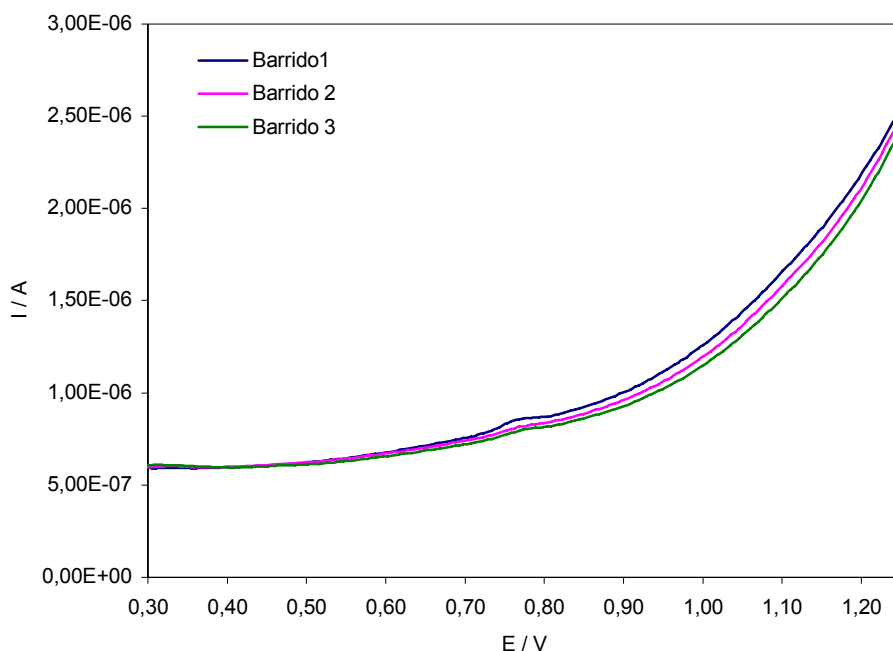


Figura 3.4: Barridos consecutivos del electrodo fabricado con 0,35 g de grafito APS, realizados con un potencial de acumulación negativo

Las medidas en reducción fueron similares, aunque con una menor intensidad de fondo que las obtenidas para el electrodo anterior.

Las pruebas con analito para este electrodo se describen en un apartado posterior.

3. Finalmente describimos los resultados obtenidos para el tercer tipo de electrodos, fabricados con 0,30 g de grafito APS.

Repetimos el esquema de trabajo empezando por los barridos en oxidación. El primer barrido se realizó en el rango de potenciales que va desde 0,3 V hasta 1,25 V, con una etapa de preconcentración a un potencial de acumulación de 0 V durante 600 s.

El resultado del primer barrido fue bastante bueno (ver **Figura 3.5**), mejorando a los obtenidos en los dos casos anteriores, pero al repetir la medida de manera consecutiva vimos como empeoraba bastante, tanto en lo referente a la intensidad de fondo, como a la aparición del hombro que ya habíamos venido observando en los casos anteriores.

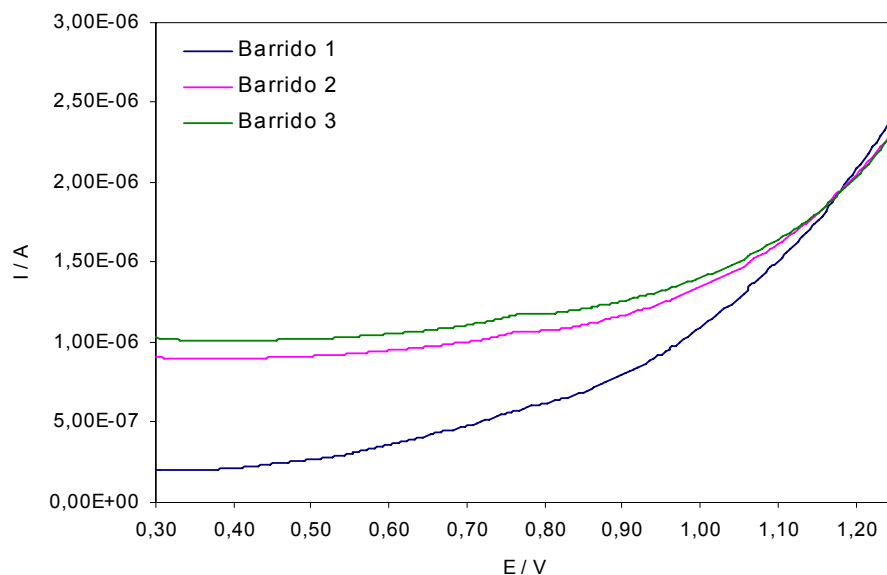


Figura 3.5: Primer, segundo y tercer barrido en oxidación para el electrodo fabricado con 0,30 g de grafito APS

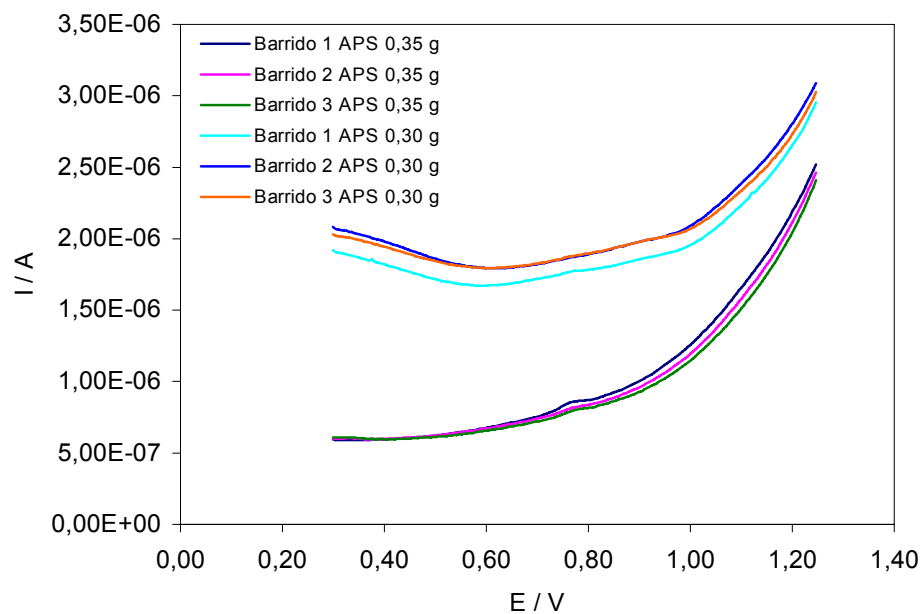


Figura 3.6: Barridos consecutivos de oxidación, con potencial de acumulación negativo para los electrodos fabricados con 0,30 y 0,35 g de grafito APS

Si observamos los resultados obtenidos (ver **Figura 3.6**), cuando la acumulación se hace a un potencial negativo vemos que empeoran, si los comparamos con los obtenidos para el primero de los tipos de electrodos fabricados con el grafito APS.

Por último hicimos un barrido en reducción, con un resultado similar a los dos casos anteriores.

Por tanto, los resultados parecen indicar que el electrodo preparado con la mayor cantidad de grafito (0.35 g) es aquel que proporciona señales con menor corriente residual, y en principio más adecuadas para aplicaciones analíticas; este electrodo fue investigado con un analito orgánico de la familia de los clorofenoles, 4-cloro-3-metilfenol. La no utilización de cantidades mayores de grafito viene determinada por las pruebas de preparación de los electrodos con distintas cantidades de grafito, que arrojaron como resultado para 0.35 g un sol de endurecimiento excesivamente rápido y grandes dificultades de relleno, que serían insalvables para mayores cantidades de grafito.

3.2. Electrodo Sonogel con base en carbono Ultra F Purity.

3.2.1. Proceso de fabricación.

El grafito que empleamos en la preparación de estos electrodos es comercial, perteneciente a la casa Ultra Carbon bajo el nombre de Ultra F Purity, distribuido por la casa Alfa Aesar como GRAPHITE POWDER, NATURAL, HIGH PURITY, -200 MESH, 99,9999% (METAL BASIS). De aquí en adelante lo denominaremos grafito UF para facilitar la descripción.

El diámetro de las partículas de este grafito viene expresado en MESH. Para compararlo con otros grafitos transformamos los MESH a micrómetros, que es

como vienen expresados los diámetros de partículas en el resto de grafitos comerciales de que disponíamos. De esta manera, siguiendo la tabla de conversiones encontramos que el diámetro de las partículas era aproximadamente 74 μm , bastante mayor que en el grafito APS (2-15 μm).

Para comenzar con la fabricación, sabiendo que en este caso el tamaño de partícula era mayor, decidimos probar el procedimiento general de fabricación, es decir, 1g de grafito y las cantidades descritas de los precursores para dicho procedimiento. El volumen que ocupaba 1 g del grafito UF era aproximadamente el doble del que ocupaba el grafito original, aunque era bastante menor que el volumen que ocupaba el grafito APS.

El resultado que se obtuvo de esta primera prueba no fue muy bueno, puesto que la masa resultante no era compacta, sino que su textura era parecida a la de la tierra mojada. Con esta pasta fue imposible rellenar los electrodos.

A la vista de estos resultados, decidimos probar con la mitad del peso, es decir, pesamos 0,5 g. Esta cantidad de grafito UF ocupaba aproximadamente el mismo volumen que un gramo del grafito original, por lo que decidimos mantener las cantidades de precursores igual que en el procedimiento general de fabricación.

El sol que obtuvimos fue algo más líquido de lo normal, pero no tanto como en el caso del grafito anterior. El relleno de los capilares resultó relativamente sencillo, aunque la gelificación comienza un poco antes que en el caso del grafito original. Parte del sol fue colocado en un portamuestras, como ya se ha venido haciendo con anterioridad. Después de 24 horas el Sonogel estaba completamente estructurado. La contracción de volumen experimentada fue mínima y comparable a la producida en el grafito original.

3.2.2. Comportamiento electroquímico.

Para evaluar el comportamiento electroquímico, vamos a emplear las mismas técnicas voltamperométricas que en caso del grafito anterior. Todas las medidas se realizaron en reguladora universal Britton-Robinson de pH 4.

Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV)

El primer barrido se realizó en el sentido de la oxidación, en el rango de potenciales entre 0,3 V y 1,25 V, haciendo una etapa previa de preconcentración a 0V durante 600 s, pero en ausencia de analito. Aunque el primer barrido que se realizó no era todo lo bueno que cabía esperar, ya que aparecía un pequeño hombro en la zona de potenciales que va desde 0,7 V hasta 0,8 V, la señal mejoró bastante en el segundo barrido, como puede observarse en la **Figura 3.7**.

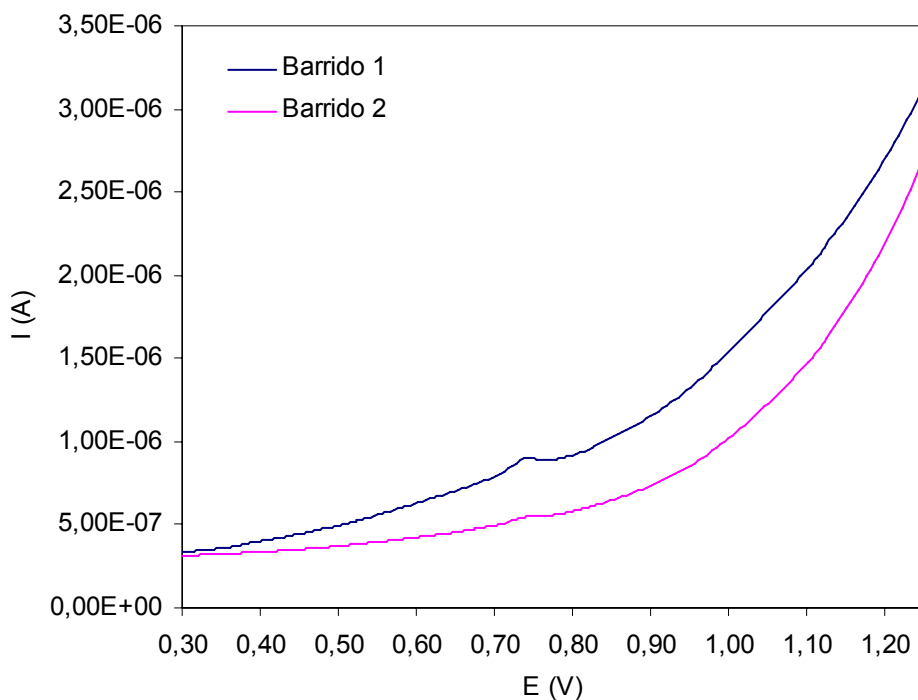


Figura 3.7: Primer y segundo barrido en oxidación para el electrodo fabricado con 0,5 g de Grafito UF

Después de varios barridos consecutivos con un comportamiento estable, decidimos probar con un analito, para ello elegimos el 2,4-dimetilfenol, que ya había sido objeto de estudio en nuestro grupo [1], y del que ya teníamos información acerca de su comportamiento electroquímico en las condiciones de medida establecidas. El barrido se hizo en el sentido de la oxidación, bajo las mismas condiciones descritas. La cantidad de analito en la celda de medida fue $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La señal que se obtuvo (**Figura 3.8**) era bastante buena, el pico estaba bien definido, y presentaba un valor de intensidad bastante bueno: $0,506 \text{ V} - 0,902 \mu\text{A}$.

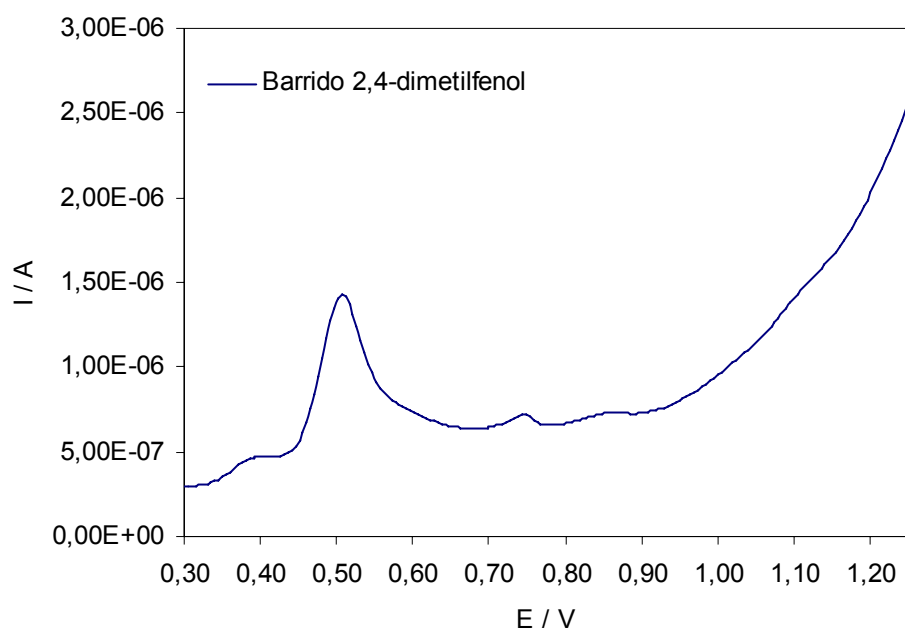


Figura 3.8: Señal obtenida para $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2,4-dimetilfenol para un electrodo fabricado con 0,5 g de grafito UF.

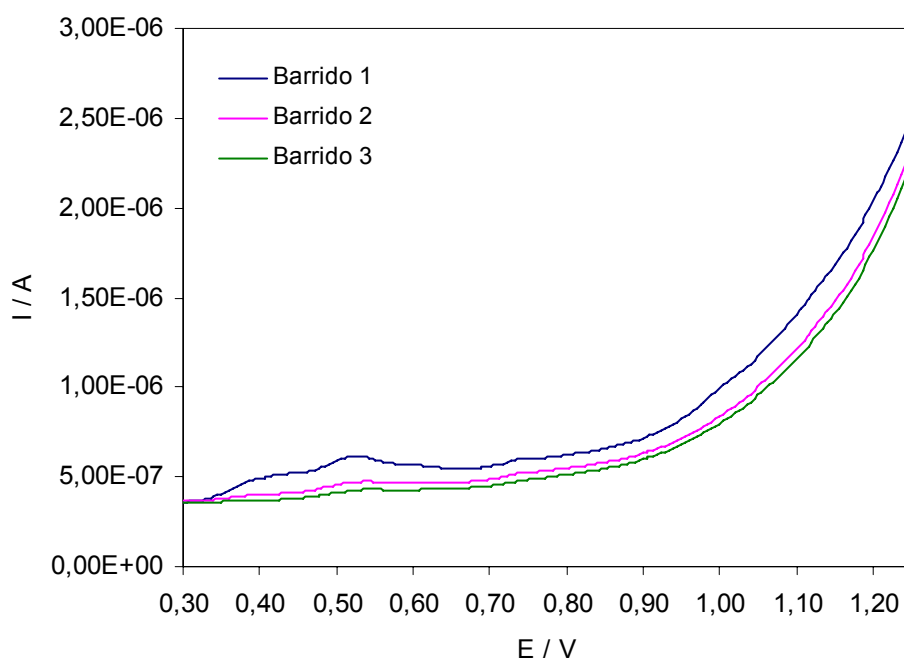


Figura 3.9: Señales obtenidas en barridos consecutivos con potencial de acumulación negativo para un electrodo fabricado con 0,5 g de grafito UF

Posteriormente se llevaron acabo barridos de limpieza, para eliminar el analito de la superficie del electrodo (**Figura 3.9**). Estos barridos son en el sentido de la oxidación, en el mismo rango de potenciales que la medida con el analito, pero en este caso la etapa de preconcentración se hizo a potencial negativo, -0,5 V durante 120 s.

En lo que respecta a los barridos en reducción, estos se realizaron en un rango de potenciales que abarcaba desde 1.25 V hasta -1 V. En todos los experimentos realizados, se obtuvieron buenos resultados, lo que confirma el buen comportamiento de este grafito.

3.3. Electroodos Sonogel con base en carbono RW-B.

3.3.1. Proceso de fabricación.

Este tipo de grafito es el que hemos denominado en los apartados anteriores como grafito original y es también comercial: SPEKTRALKOHLE-PULVER, SGL CARBON WERK-RINGSBORFF, RINGSBORFF-WERKE GMBH (RW-B). Es el que se ha empleado en el desarrollo de la formulación original de estos electrodos, por lo que no vamos a volver a describir su fabricación, que se encuentra recogida en el apartado de Materiales y Métodos de este trabajo y en las referencias bibliográficas [1-5].

3.3.2. Comportamiento electroquímico.

Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV)

En lo referente a las pruebas electroquímicas realizadas con este electrodo, ya teníamos una gran experiencia en voltamperometría diferencial de impulsos [1,2,4,9,10], por lo que pasamos directamente a probar la estabilidad del electrodo en barridos de oxidación en presencia de analito, obteniendo buenos resultados de intensidad para el 4-cloro-3-metilfenol, que fue el analito escogido. Se obtuvo una señal sin interferencias, en la que solo aparece un pico, el correspondiente al analito, cuyos valores eran 0,718 V – 0,250 μ A para el primero de los barridos realizados y 0,718 V – 0,244 μ A para el segundo.

Los barridos de oxidación realizados con un potencial de acumulación negativo fueron totalmente reproducibles, como se muestra en la **Figura 3.10**

En los barridos realizados en reducción, observamos un comportamiento parecido al obtenido para los otros electrodos, tanto para un potencial de acumulación negativo como positivo, con buena reproducibilidad y repetibilidad en las medidas.

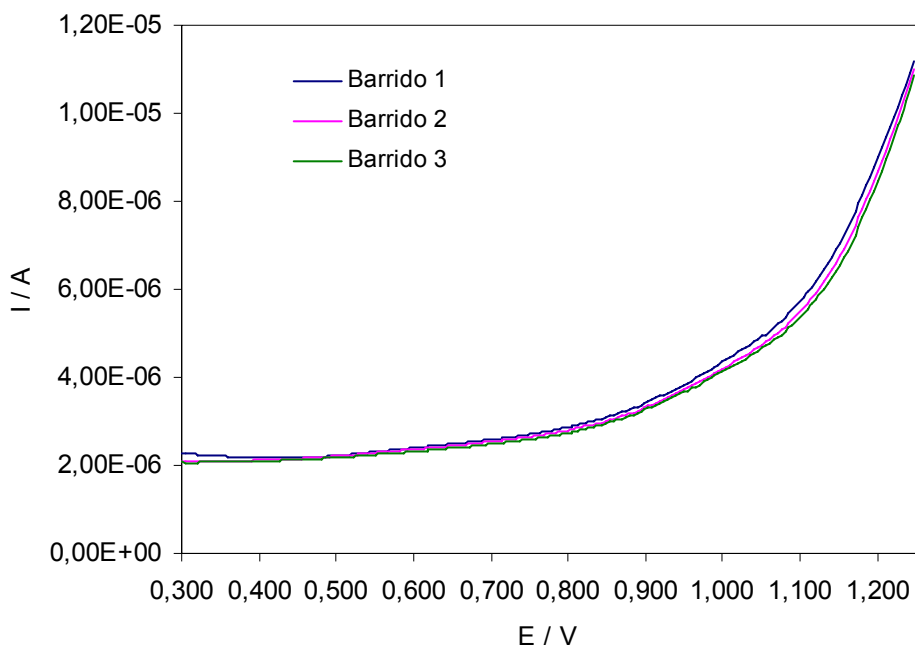


Figura 3.10: Barridos de oxidación consecutivos con potencial de acumulación negativo, para electrodos fabricados con grafito RW-B

3.4. Electrodo Sonogel con base en carbono APS frente a carbono UF.

En esta comparación, y a la vista de los resultados que habíamos obtenido para las distintas formulaciones del grafito APS, seleccionamos para la comparación la formulación que contenía 0,35 g de grafito, que era la que mejores resultados había ofrecido en el medio electrolítico soporte.

Se trató pues de discernir cual de los dos grafitos que estábamos probando arrojaba mejores resultados y presentaba un comportamiento más parecido al del grafito original. Con este fin, comparamos los diferentes barridos que hemos visto anteriormente por separado, para cada uno de ellos. Así, en la primera figura comparamos los primeros barridos en oxidación para cada uno de los dos tipos de

electrodos con un potencial de acumulación de 0 V y una duración de la etapa de preconcentración de 600 s.

Como puede observarse en la **Figura 3.11**, las señales obtenidas para el grafito UF se encontraban por debajo en intensidad que las del grafito APS; además, la evolución de las señales es mejor en el caso del grafito UF, ya que disminuye la intensidad de fondo de la primera a la segunda, mientras que con el grafito APS ocurre al contrario.

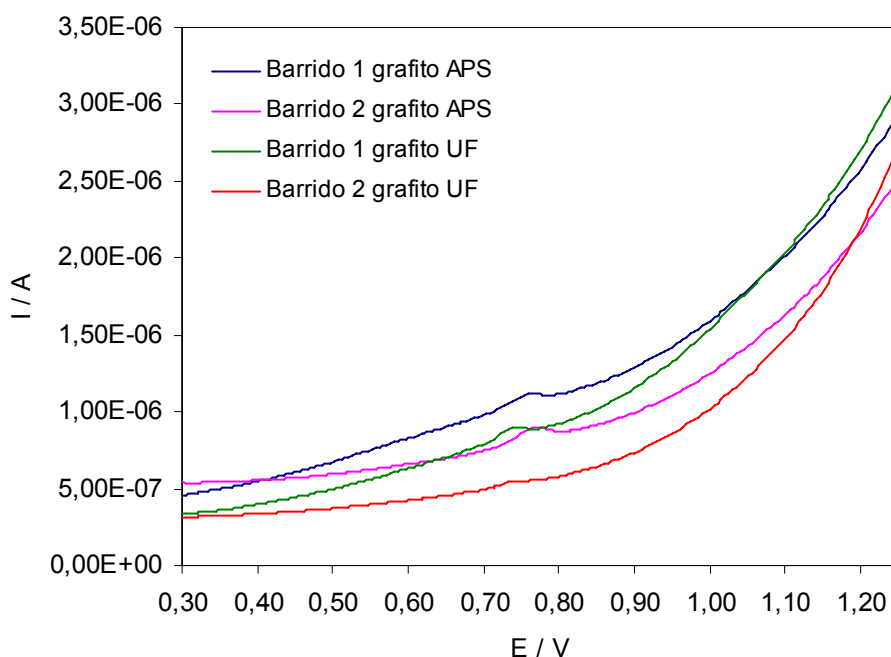


Figura 3.11: Representación conjunta de los primeros barridos en oxidación para los dos tipos de electrodos

En el caso de los barridos efectuados a un potencial de acumulación de $-0,5$ V, el comportamiento de ambos electrodos es muy parecido, ambos presentaban señales bastante buenas, con la única diferencia de la intensidad de fondo (**Figura 3.12**).

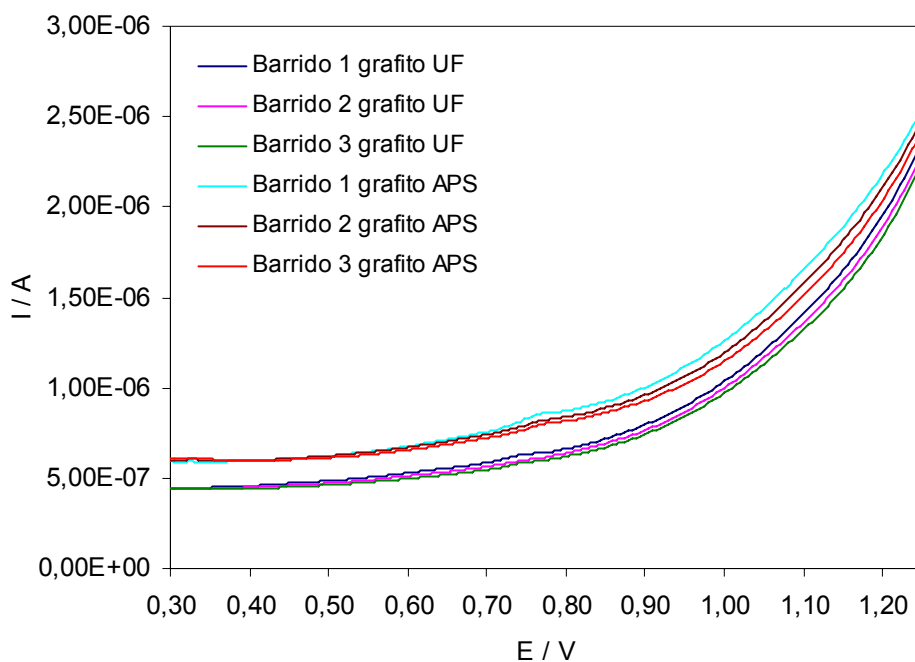


Figura 3.12: Barridos consecutivos en oxidación con potencial de acumulación negativo, para los dos tipos de electrodos

3.4.1. Pruebas con 4-cloro-3-metilfenol como analito.

Para ver la respuesta frente a un analito, tomamos un analito que ha sido ampliamente estudiado en el grupo de investigación y que ha dado lugar a una publicación [10]. Dicho analito es el 4-cloro-3-metilfenol, contaminante orgánico que aparece recogido en la lista de contaminantes prioritarios de la U.S. Environmental Protection Agency (EPA).

Las condiciones de medida son las mismas que hemos descrito anteriormente: barrido en oxidación en el rango de potenciales que abarca desde 0,3 V hasta 1,25 V, con una etapa previa de preconcentración a 0 V durante 600 s. Se realizaron dos barridos en oxidación, en presencia del analito en la celda de medida, con una etapa de limpieza entre ambos.

Para los tres tipos de electrodos se obtuvo como respuesta un único pico, que aparecía en la zona próxima a 0,7 V. Para el grafito UF el pico era bastante simétrico, mientras que para el grafito APS no lo era tanto. Los valores de intensidad de pico para cada una de las medidas realizadas, además de los datos obtenidos para el grafito original, que ya se han expuesto en el apartado anterior, aparecen en la siguiente tabla.

	Grafito UF		Grafito APS		Grafito RW-B	
	Potencial (V)	Intensidad (μ A)	Potencial (V)	Intensidad (μ A)	Potencial (V)	Intensidad (μ A)
Barrido 1	0,708	0,269	0,738	0,177	0,718	0,250
Barrido 2	0,708	0,286	0,738	0,198	0,718	0,244

Como queda patente, la intensidad de pico de las señales obtenidas con el grafito UF es mejor que las que se obtenían con el grafito APS, y son más parecidas a las obtenidas con el grafito RW-B (original); los potenciales de pico son menores para los grafitos RW-B y UF, lo que es beneficioso por indicar un mayor alejamiento de la subida del fondo. Esto, junto con las razones esgrimidas durante la etapa de fabricación y las primeras pruebas electroquímicas, nos llevaron a elegir al grafito UF como posible sustituto del grafito RW-B (original).

3.5. Voltamperometría Cíclica.

Los estudios realizados mediante voltamperometría cíclica permite evaluar aspectos de comportamiento electroquímico de los electrodos fabricados con distintos grafitos, tanto en lo que se refiere a la señal base (electrolito soporte) como en presencia de analitos. Se llevaron a cabo experimentos con siete velocidades de barrido (5, 10, 15, 20, 30, 50 y 100 mV/s) entre -0.3 y 1.5 V para cada uno de los tres grafitos investigados, tanto en ausencia como en presencia de analito. Como analito se empleó 4-cloro-3-metilfenol a una concentración de 15

$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; cabe mencionar que la voltamperometría cíclica es una técnica poco sensible, por lo que es necesario utilizar concentraciones altas de analito para asegurar su respuesta sean cuales sean las condiciones experimentales.

Una vez obtenidos los registros del electrolito soporte (Britton-Robinson, pH 4) se procedió al cálculo de la capacidad experimental, o capacidad observada, mediante la expresión $C_{\text{obs}}=i/v$, donde i es la densidad de corriente anódica y catódica media (en valor absoluto) y v es la velocidad de barrido [199]. A la hora de aplicar la expresión anterior, no se emplearon todos los puntos intensidad/potencial del voltamperograma cíclico, sino que se eliminaron las zonas del registro en las que las intensidades faradaicas debidas a las descargas del fondo tenían un peso mucho mayor que las intensidades capacitivas de la doble capa.

Los valores de la C_{obs} para los tres grafitos y todas las velocidades de barrido se muestran en la tabla siguiente.

v ($\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$)	C_{obs} ($\text{mF}\cdot\text{cm}^{-2}$)		
	Grafito RW-B	Grafito UF	Grafito APS
5	1,5	0,9	2,2
10	1,8	0,8	3,3
15	1,6	0,8	2,8
20	1,5	0,9	2,8
30	1,3	1,0	3,0
50	1,4	1,3	4,5
100	1,3	1,3	8,4

Se observa que los valores de C_{obs} son claramente mejores para los grafitos RW-B y UF, alcanzando valores mucho más altos para el grafito APS. Estos valores de capacidad dan idea de la carga en la doble capa, y gráficamente pueden relacionarse con la separación entre los dos barridos (anódico y catódico) del voltamperograma cíclico.

En la **Figura 3.13** se muestran los voltamperogramas cíclicos para los tres grafitos a una velocidad de barrido de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Es de destacar el que la separación entre los ciclos anódico y catódico es mayor para el APS, tal y como refleja su valor de C_{obs} ; por otra parte, los otros dos grafitos muestran un comportamiento similar, aunque el grafito UF presenta una línea base más constante, de forma que el efecto del fondo sobre la intensidad se produce a valores más altos de potenciales, con lo que el rango electroactivo útil del electrodo es más amplio que para cualquiera de los otros dos grafitos. Por lo que respecta a la influencia de la velocidad de barrido, no se observa una secuencia clara, aunque de forma global la tendencia es a un aumento de la capacidad al aumentar la velocidad de barrido.

Parece que el menor tamaño de partícula puede representar un factor importante a la hora de considerar las diferencias en los resultados obtenidos con los tres grafitos. El menor diámetro del grafito APS conduce a una estructura con menor proporción de grafito, y en la que la oclusión de esas partículas es más rígida, con lo que el papel conductor del grafito sufre graves dificultades, y el comportamiento electroquímico así se resiente. De hecho, los estudios con voltamperometría diferencial de impulsos muestran conclusiones similares a las obtenidas con voltamperometría cíclica. Los otros dos grafitos, aún presentando distinto tamaño de partícula y distinta proporción de grafito muestran un mejor

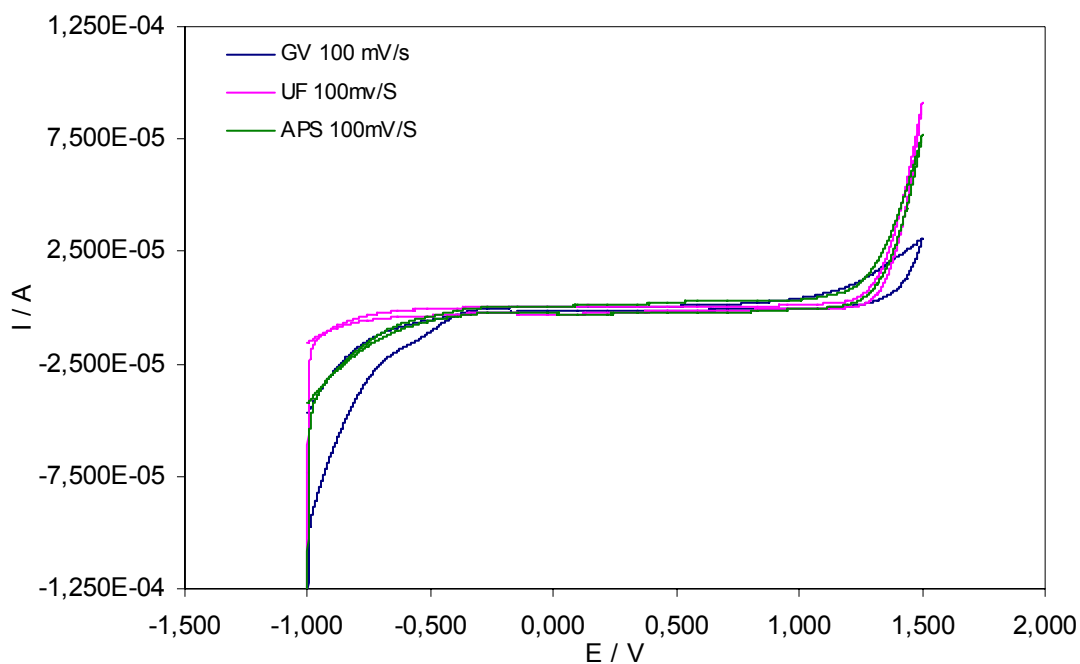


Figura 3.13: Voltamperogramas cíclicos para los tres grafitos a $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

comportamiento, y además comparable para ambos, lo que coincide con los resultados de otras experiencias. Parece que ambos parámetros, tamaño de partícula y proporción de grafito, disponen de un rango dentro del cual las diferencias de comportamiento son mínimas, y sólo para valores muy diferentes de estos parámetros el comportamiento comienza a verse deteriorado.

La Tabla muestra los datos obtenidos a través de la representación gráfica realizada para el cálculo de la capacidad de la doble capa de los tres grafitos. Este parámetro se calcula llevando a cabo experiencias en voltamperometría cíclica a distintas velocidades de barrido, y representando los valores medios (absolutos) de las densidades de corriente anódica y catódica a cada velocidad de barrido frente a dichas velocidades. El resultado debe ser una recta cuya pendiente daría el valor de la capacidad de la doble capa [200]. Como puede verse a través de los datos de la representación, el ajuste de los puntos a una recta es adecuado en todos los

casos. Las capacidades obtenidas para los grafitos UF y RW-B son nuevamente muy similares y menores a las del grafito APS, lo que corrobora las consideraciones anteriores.

	Grafito RW-B	Grafito UF	Grafito APS
Ecuación de la recta			
y=Pend.($\mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$)$\cdot v$ ($\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$)	y = 1066,8x +	y = 1006,2x -	y = 3140,4x -
+Ord.Origen ($\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$)	7,5561	1,4922	3,0594
Coefficiente de correlación (R^2)	0,99	0,99	0,99
Capacidad de la doble capa ($\text{mF}\cdot\text{cm}^{-2}$)	1,1	1,0	3,1

Los estudios de voltamperometría cíclica llevados a cabo con analito tienen como finalidad la obtención de información acerca de la naturaleza del proceso electroquímico que ocurre en la superficie del electrodo en presencia, en este caso, de 4-cloro-3-metilfenol; dado que este compuesto sufre reacciones de oxidación, el voltamperograma debe reflejar la existencia de una señal anódica. Así se comprueba en los registros realizados, aunque, a pesar de la concentración utilizada, la altura de las señales es pequeña.

Para los tres grafitos los voltamperogramas cíclicos muestran la existencia de un pico a potenciales alrededor de 0,7 V. No se observa señal catódica, lo cual indica el carácter no reversible del proceso.

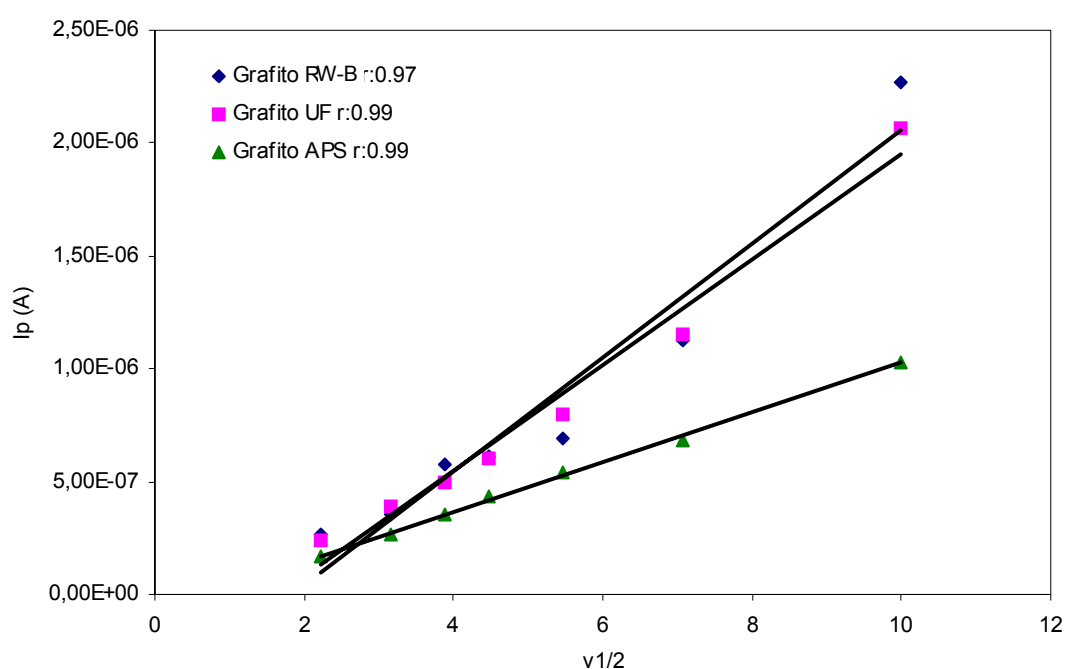


Figura 3.14: Influencia de la velocidad de barrido sobre la intensidad de pico

El estudio de la influencia de la velocidad de barrido sobre la intensidad de pico da como resultado que para las señales anódicas para los tres grafitos las relaciones $I_p/v^{1/2}$ son bastantes próximas a la linealidad (Figura 3.14). Este resultado es compatible con un proceso no reversible [201]. La intensidad de pico aumenta al aumentar la velocidad de barrido, aunque el cociente $I_p/v^{1/2}$ disminuye al aumentar la velocidad de barrido, lo que indica una estabilización de los valores de intensidad de pico, que no es total dado que sería necesario aumentar en muy alta proporción la velocidad de barrido para alcanzar valores constantes de la intensidad de pico. Los compuestos fenólicos muestran una gran tendencia a sufrir procesos

de adsorción sobre la superficie del electrodo, como lo demuestra el hecho de utilizar etapas previas de acumulación en técnicas voltamperométricas de análisis; el aumento de la intensidad de pico con la velocidad de barrido es indicativo de un proceso de adsorción débil del reactivo [129].

Los potenciales de pico a los que aparecen las señales anódicas para los grafitos RW-B y UF son muy similares, y muy similar es también el desplazamiento hacia valores más positivos al aumentar la velocidad de barrido (de 0,69 a 0,74 V, aproximadamente, al pasar de 5 a 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$). Este aumento se observa también para el grafito APS, aunque en este caso los potenciales son siempre más positivos (de 0,72 a 0,76 V, aproximadamente, al pasar de 5 a 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$). La aparición del pico a un potencial mayor implica una mayor cercanía a la descarga del fondo, lo cual es un efecto no deseable en determinaciones electroquímicas. Este mismo comportamiento se observa en voltamperometría diferencial de impulsos. El aumento de los potenciales de pico, aunque continuo, presenta una clara tendencia hacia un valor estable.

Aunque como hemos comentado la voltamperometría cíclica no puede considerarse una técnica cuantitativa, los valores de las intensidades de pico muestran una secuencia comparable con la obtenida en voltamperometría diferencial de impulsos. Así, los valores obtenidos para los grafitos RW-B y UF son muy similares, abarcando valores de $2,4\cdot 10^{-7}$ a $2,2\cdot 10^{-6}$ A, al pasar de 5 a 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Los valores que se obtienen para el grafito APS son siempre inferiores para cualquier valor de velocidad de barrido, con valores de $1,7\cdot 10^{-7}$ a $1,0\cdot 10^{-6}$ A, al pasar de 5 a 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.



**Capítulo IV: Caracterización Estructural de materiales
Sonogel-Carbono**

4. Caracterización Estructural de materiales Sonogel-Carbono.

4.1. Caracterización Estructural de Electroodos Sonogel Carbono: Microscopía electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS).

En este apartado, abarcaremos una primera caracterización estructural de los electrodos Sonogel-carbono que hemos sintetizado en el grupo de investigación. Para ello, nos basaremos en la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), ayudándonos de la Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS) como técnica complementaria, como primera técnica del estudio estructural en este apartado de la presente memoria.

Además de los electrodos fabricados con los diferentes grafitos, también estudiamos electrodos Sonogel-Carbono modificados con polietilenglicol (PEG) y Octadecil C18.

Antes de continuar, explicaremos brevemente la finalidad de los dos modificantes elegidos:

El polietilenglicol ha sido descrito por Z. Ji y A. R. Guadalupe [73], como capaz de controlar la reducción de la red de sílice, mejorar la estabilidad operacional del sensor y controlar su porosidad. Posteriormente fue descrito por Sonawane et al. [74], dando especial relevancia al efecto del PEG sobre el tamaño y el número de poros que presenta el material. En nuestro grupo de investigación, el PEG como modificante ha resultado bastante útil a la hora de estabilizar los electrodos, además de conseguir una buena reproducibilidad y repetibilidad de las señales obtenidas [1,2,10].

El C18 es una red de sílice modificada con cadenas de 18 átomos de carbono en su superficie. Generalmente, se emplea como relleno en columnas cromatográficas y en cartuchos de extracción en fase sólida para la detección de pesticidas. En el grupo ha sido empleado como modificante específico (añadido en fase sólida junto con el grafito) para la determinación indirecta de pesticidas organoclorados, como el endosulfán. Los resultados electroquímicos obtenidos se describen en un artículo ya publicado [16].

En cuanto a los estudios de microscopía, todas las muestras que contenían grafito eran conductoras y al utilizar bajo vacío no fue necesario recubrirlas para someterlas al haz de electrones. Con las muestras que no contenían grafito, tampoco fue necesario el uso del recubrimiento, ya que seguíamos en bajo vacío y también eran conductoras de electrones, aunque menos que las anteriores. Trabajamos en todos los casos a 20 kV.

Las muestras que se investigaron fueron:

Muestra 1: Grafito RW-B, formulación original.

Muestra 2: Grafito UF, formulación original, 0,5 g de grafito.

Muestra 3: Grafito APS, formulación original, 0,25 g de grafito.

Muestra 4: Grafito APS, formulación original, 0,30 g de grafito.

Muestra 5: Grafito APS, formulación original, 0,35 g de grafito.

Muestra 1: La dividimos a su vez en varias muestras.

Las primeras imágenes corresponden al Sonogel que tenemos en los portamuestras, descritos en el apartado de fabricación de los diferentes sonogeles. Diferenciamos una cara externa, que es la que ha estado en contacto con el ambiente del laboratorio durante la gelificación y el secado, y una cara interna, que es la que ha gelificado en contacto con el plástico del portamuestras.

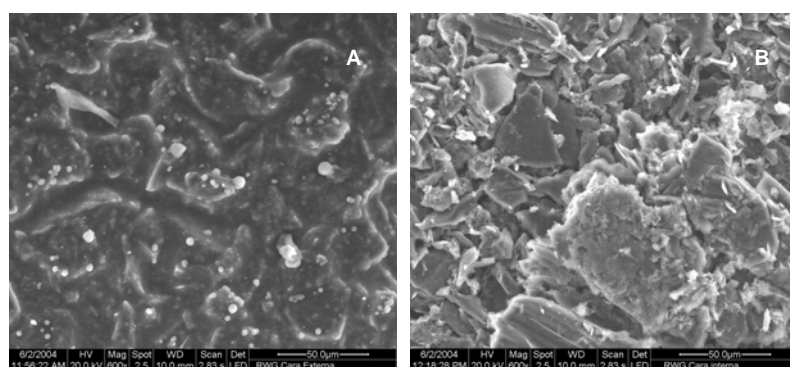


Figura 4.1: Imágenes del SEM para Sonogel fabricado con grafito RW-B, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna

Vemos diferencias claras en la textura de ambas caras, ya que mientras en la cara interna se diferencian claramente pequeñas partículas que suponemos son de grafito, en la cara externa tenemos una masa homogénea. En el caso de la cara externa aparecen pequeñas partículas esféricas, depositadas sobre la superficie, que no se ven en la interna. Nos ayudamos de la técnica de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS), para hacer un microanálisis sobre la superficie de la muestra. Este nos desveló que, mientras que en la cara interna solo existía silicio, carbono y oxígeno (elementos que componen los precursores del Sonogel), en la cara externa aparecía cloro, que es un componente del catalizador de la reacción, además de los

elementos que acabamos de mencionar. Esta presencia de cloro era mucho mayor en las pequeñas partículas esféricas.

Al hacer un microanálisis sobre la cara interna, en la que vemos pequeñas partículas brillantes, no aparece cloro. El microanálisis realizado sobre una de esas partículas no daba diferencias en la composición con el resto de la superficie, por lo que podemos pensar que estas partículas son porciones de Sonogel que no se han homogeneizado con el grafito.

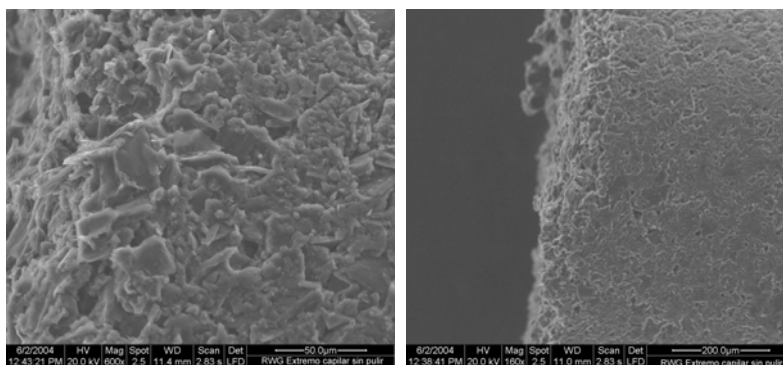


Figura 4.2: Imágenes de SEM para el extremo del capilar sin pulir

Se realizaron micrografías a un capilar antes de la etapa de pulido. Las imágenes obtenidas son similares a las de la cara interna que acabamos de ver. El micro-análisis tampoco detecta la presencia de cloro en esta muestra. El cloro presente en el catalizador sólo aparece en los portamuestras, debido a su mayor superficie; en los capilares, el proceso de gelificación y la pequeña superficie impiden el movimiento de este elemento.

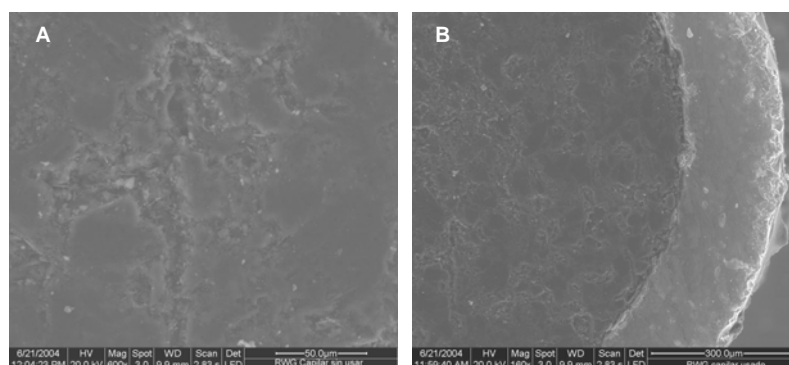


Figura 4.3: A) detalle de grieta en el electrodo pulido sin usar, B) Vista del electrodo pulido y usado

Por último introdujimos en el microscopio un electrodo pulido sin usar y uno pulido y usado. Las imágenes obtenidas (**Figura 4.3**) eran muy similares entre sí. Se observaba una superficie lisa, en la que aparecían pequeñas grietas en ambos casos, que eran más numerosas en el caso del electrodo usado. En el caso del electrodo pulido sin usar, dichas grietas pueden deberse a la presencia de burbujas de aire atrapadas en el Sonogel introducido en el capilar. En el caso del electrodo usado, a lo expuesto anteriormente, hay que añadir la erosión que puede producirse en la superficie del capilar por su uso continuado.

Al hacer el microanálisis tampoco hay presencia de cloro. La única diferencia entre ambos capilares, en lo referente al microanálisis, es la presencia de iones calcio y magnesio en el capilar usado.

- **Muestra 2:** Grafito UF, formulación original, 0,5 g de grafito.

Al igual que en el caso anterior, las primeras imágenes (**Figura 4.4**) corresponden al Sonogel del portamuestras. También se hicieron micrográficas a las

dos caras del Sonogel para ver las diferencias entre ambas y poderlas comparar con la muestra anterior.

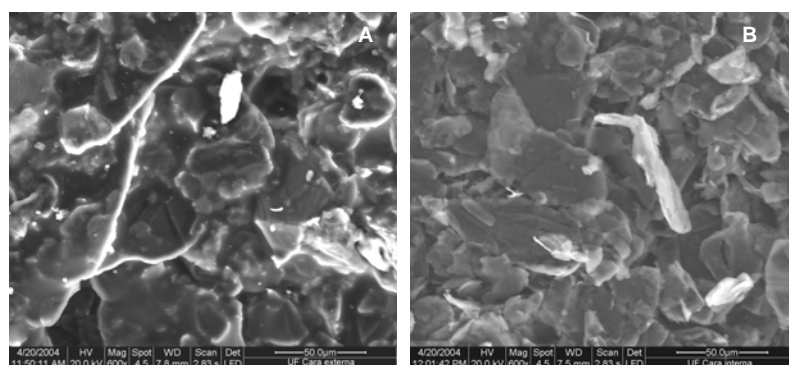


Figura 4.4: Imágenes del SEM para el Sonogel fabricado con grafito UF. A) Cara externa, B) Cara interna

En este caso las dos caras del portamuestras son muy similares. Se observan partículas brillantes mezcladas con partículas más oscuras. La composición que nos da el microanálisis es silicio, oxígeno y carbono, por lo que podemos suponer de nuevo que esas partículas más brillantes corresponden a Sonogel sin homogeneizar con el grafito. El brillo está justificado por la menor conductividad de este material, frente al que sí se ha homogeneizado con el grafito.

También se han tomado micrografías de los electrodos sin pulir, pulido sin usar y pulido y usado. En la **figura 4.5 A)** vemos como el electrodo sin pulir presenta prácticamente el mismo aspecto que la cara interna del Sonogel del portamuestras. También vemos una partícula brillante sobre la superficie, que no presenta diferencias de composición del resto de la muestra, según los datos obtenidos por EDS.

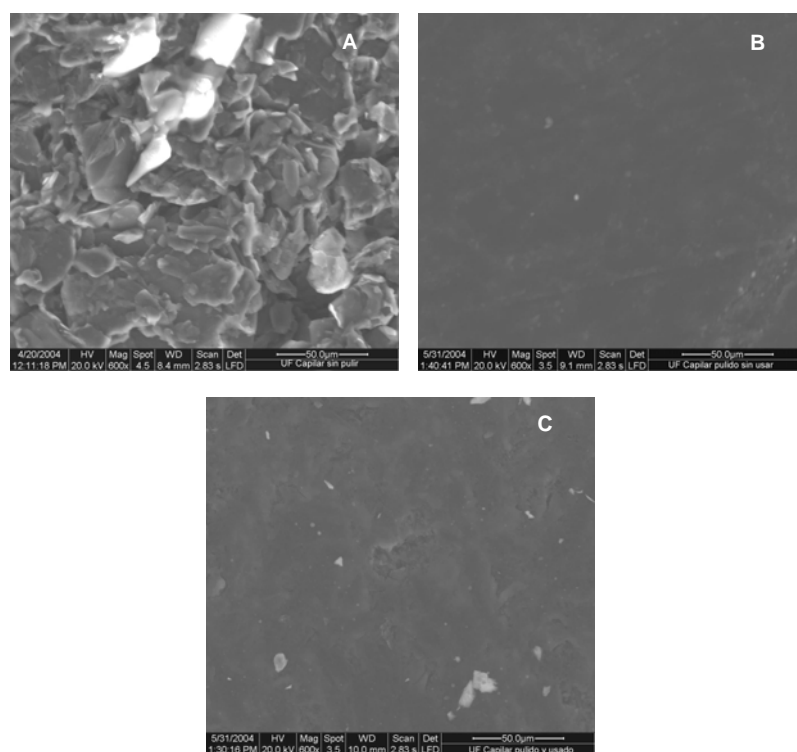


Figura 4.5: Imágenes de SEM de: A) capilar sin pulir, B) capilar pulido sin usar y C) capilar pulido y usado, fabricados con grafito UF

Para los electrodos pulidos, vemos que no aparecen grietas, como en el caso anterior. Vemos una superficie lisa y homogénea. En el caso B), no se observan partículas en la superficie y el EDS arroja valores similares a los obtenidos anteriormente. No se detecta presencia de cloro en esta muestra. En el caso C), el capilar ha sido usado, y en su superficie se observan pequeños huecos que podemos achacar a la erosión provocada por el uso.

En este caso, se ven partículas brillantes depositadas, pero el microanálisis no encuentra diferencias de composición en relación con el resto de la superficie.

- **Muestra 3:** Grafito APS, formulación original, 0,25 g de grafito.

Recordemos que para el grafito APS teníamos tres muestras, porque contenían cantidades diferentes de grafito. La muestra 3 es la que menor cantidad de grafito presentaba.

Recordemos también que el comportamiento electroquímico de las tres muestras difería bastante, por lo que cabría pensar que la estructura del material y la superficie del electrodo también podrían ser diferentes.

Comenzamos por el Sonogel de los portamuestras. Hemos tomado imágenes de las dos caras de la muestra, la interna y la externa (igual que en las muestras 1 y 2), encontrándonos en este caso con dos superficies totalmente distintas. Como puede verse en la **Figura 4.6**, la cara externa, A), presenta irregularidades, además de un gran número de partículas brillantes, en las que el EDS identifica, al mismo tiempo que los elementos propios del Sonogel, la presencia de cloro. En este caso, tenemos una mayor acumulación de partículas que en la muestra 1, donde también aparecían en la cara externa.

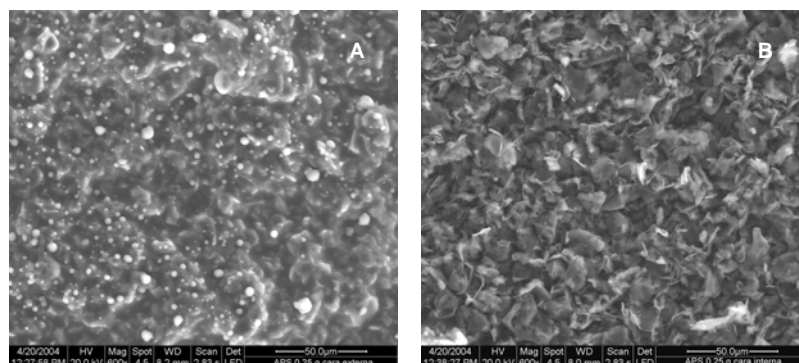


Figura 4.6: Imágenes de SEM para Sonogel fabricado con 0,25 g de grafito APS gelificado en el portamuestras, A) cara externa, B) cara interna.

El hecho de que el tamaño de partícula de este grafito sea el menor de todos los utilizados en este trabajo, junto con la pequeña cantidad adicionada al Sonosol, puede facilitar la difusión del cloro, que sale de la estructura hacia la superficie, de ahí la mayor acumulación de cloro en la misma.

La cara interna, B), presenta también una superficie diferente a las que hemos visto hasta ahora. El tamaño de las partículas que se ven en la imagen es mucho menor al de las partículas que veíamos en la **Figura 4.1 B)**. Podríamos pensar que sucede lo mismo pero, al ser el tamaño de partícula de grafito mucho menor, en este caso, el conglomerado de partículas con el Sonogel muestra una textura más homogénea, aunque con poca consistencia, proporcionando un aspecto pulverulento.

En el espectro de EDS realizado sobre esta cara interna, no aparece cloro, lo que reforzaría la conclusión a la que hemos llegado antes. Las partículas que aparecen en un tono más brillante tienen la misma composición que el resto de la superficie: se corresponden con fragmentos de Sonogel.

Continuando con el mismo esquema que hemos seguido en las dos muestras anteriores, vemos ahora las imágenes de SEM obtenidas para los electrodos:

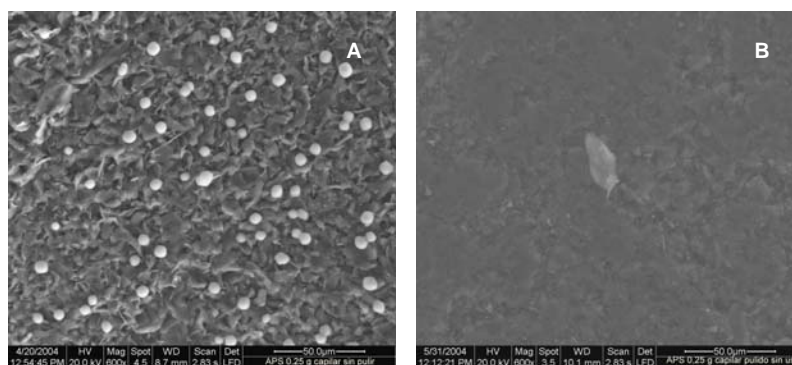


Figura 4.7: Imágenes SEM para Sonogel fabricado con 0,25 g de grafito APS. A) capilar sin pulir, B) capilar pulido

Como puede observarse, vuelven a aparecer las partículas de cloro, corroborado por el espectro de EDS, en la superficie del Sonogel. Hasta ahora solo habían aparecido en la cara externa de los portamuestras, pero aquí aparecen ya en los electrodos. En la **Figura 4.7 B)**, vemos cómo las acumulaciones de cloro desaparecen con el pulido, aunque en la imagen puede verse una partícula que sí ha permanecido después del mismo y que, a la vista de los datos obtenidos con el EDS, contiene cloro; mientras, en el resto de la superficie no aparece. Este es otro motivo por el que desechar esta formulación para esta cantidad de grafito APS.

Las imágenes de la **Figura 4.8** pertenecen al electrodo pulido y usado. En ellas vemos el efecto que ha tenido el medio electrolítico sobre el Sonogel. Puede observarse la separación que aparece entre el material y el capilar de vidrio en la imagen **B**. En la imagen **A**, vemos cómo el efecto no es homogéneo en toda la superficie, produciéndose una erosión irregular.

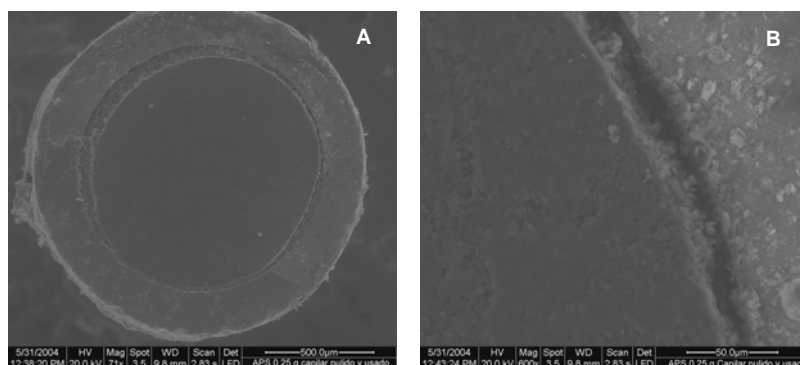


Figura 4.8: Imágenes SEM para el electrodo pulido y usado, fabricado con 0,25 g de grafito APS.

En los electrodos anteriores se había observado una separación entre el Sonogel y el capilar de vidrio, pero no tan marcada.

El espectro de EDS solo muestra señales de silicio, oxígeno y carbono. En este caso no hay presencia de cloro, que sí aparecía en el electrodo sin pulir y en el electrodo pulido sin usar. Esto es razonable, puesto que el electrodo ha permanecido sumergido en el medio electrolítico, que es el que ha erosionado la superficie y, por tanto, también habría arrastrado las partículas que contenían cloro.

Las complicaciones encontradas durante la etapa de fabricación, unidas al mal funcionamiento electroquímico y a los problemas que ha presentado en la superficie este tipo de electrodos, hace que lo desechemos como posible sustituyente de la formulación con grafito RWG.

- **Muestra 4:** Grafito APS, formulación original, 0,30 g de grafito.

Seguimos con el mismo esquema que hemos empleado en las muestras anteriores.

Las primeras imágenes que vamos a ver son las que corresponden al Sonogel del portamuestras.

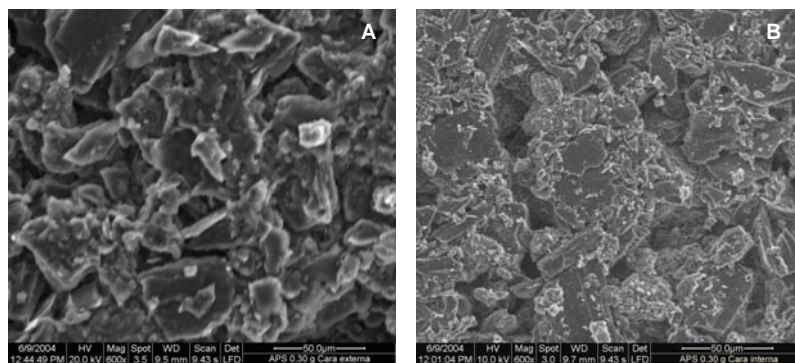


Figura 4.9: Imágenes de SEM para Sonogel fabricado con 0,30 g de grafito APS, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

Las imágenes de la **Figura 4.9** muestran texturas similares en ambas caras del portamuestras. Vemos que son totalmente diferentes a las obtenidas para 0,25 g del mismo grafito, por lo que se corroboran las observaciones que habíamos hecho en la etapa de fabricación del material, donde teníamos soles con texturas muy diferentes. El tamaño de las partículas que se diferencian en las imágenes, es bastante mayor que el tamaño que presentaban las partículas en la muestra anterior (**Figura 4.6**), perteneciendo ambas al mismo grafito.

En este caso, al realizar el espectro de EDS no aparece ninguna señal correspondiente al cloro. Como tenemos mayor cantidad de grafito que en la

muestra anterior, podríamos afirmar que la cantidad de grafito adicionado parece ser uno de los principales responsables de la acumulación de partículas con cloro en la superficie del material, ya que el tamaño de partícula, en este caso, permanece invariable.

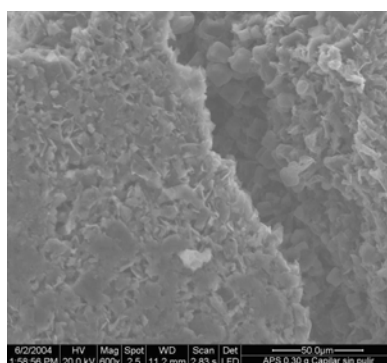


Figura 4.10: SEM del electrodo sin pulir.

En la imagen de la **Figura 4.10**, vemos que hay una grieta en el material, que deja ver cómo está estructurado en su interior. Este trozo de Sonogel, como en las muestras anteriores, ha pasado por el capilar de vidrio, por este motivo presenta forma cilíndrica. La textura del material es parecida a la que se observa en la figura anterior de la cara interna del portamuestras. El microanálisis y el espectro de EDS no dan señales de la presencia de cloro en esta muestra.

El electrodo pulido sin usar, para esta formulación del Sonogel fabricado con grafito APS, muestra una separación del capilar bastante importante (**Figura 4.11**). Esto nos indica que la contracción de volumen durante las etapas de gelificación y secado es mayor que en los casos anteriores.

Caracterización Estructural de materiales Sonogel-Carbono

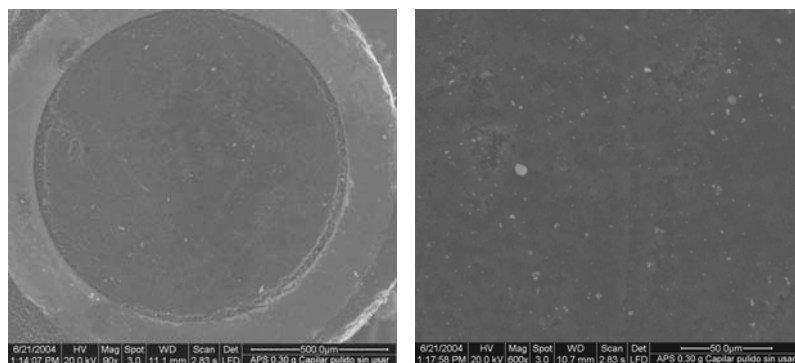


Figura 4.11: Imágenes de SEM del capilar pulido sin usar fabricado con 0,30 g de grafito APS.

Esta contracción podría ser una de las razones del mal comportamiento electroquímico de este electrodo. Además, hay huecos en la superficie pulida antes de ser sumergida en el electrolito soporte, con lo que vamos a tener una superficie irregular y mayor de la que pensamos en el electrodo. Ni el microanálisis ni el espectro de EDS muestran presencia de cloro. Las partículas que aparecen son transferencia del vidrio durante la etapa de pulido. El que aún continúen ahí se debe a que no ha sido lavado después del pulido.

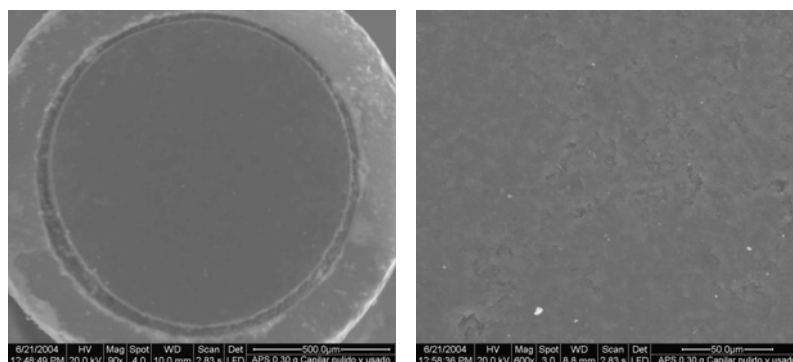


Figura 4.12: Imágenes de SEM del capilar pulido y usado fabricado con 0,30 g de grafito APS.

Si nos fijamos ahora en el capilar usado, **Figura 4.12**, vemos que la separación entre el capilar y el Sonogel se ha hecho solo un poco mayor, aunque

de forma irregular. Puede apreciarse una mayor separación por la zona inferior de la imagen.

Los huecos, presentes ya en el electrodo sin usar, aumentan en número, aunque no parece que lo hagan en tamaño. Tampoco se detecta cloro en el microanálisis ni en el espectro de EDS.

Podemos desechar, por tanto, esta formulación de Sonogel con 0,30 g de grafito APS, ya que además de los problemas de fabricación y electroquímicos, vemos que la superficie de los electrodos obtenidos no es la más adecuada para sustituir a la formulación con grafito RW-B.

- **Muestra 5:** Grafito APS, formulación original, 0,35 g de grafito.

Las primeras imágenes que vamos a ver para esta muestra son, como hasta ahora, las correspondientes al Sonogel del portamuestras (**Figura 4.13**).

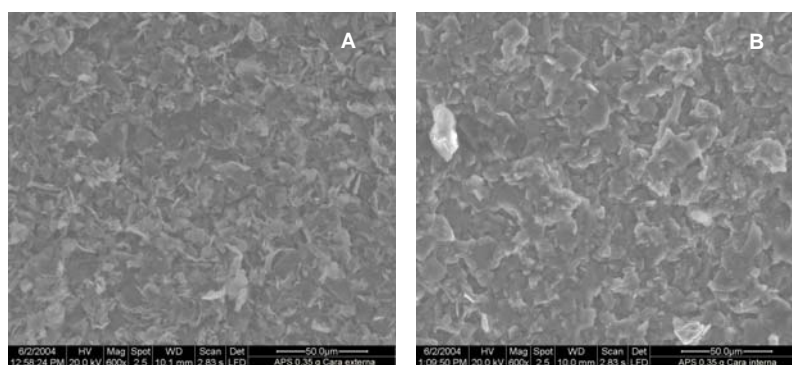
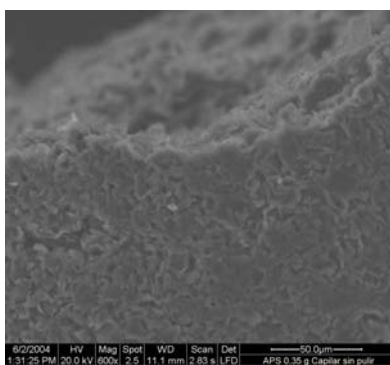


Figura 4.13: Imágenes de SEM para Sonogel fabricado con 0,35 g de grafito APS, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

En este caso, las dos imágenes son muy parecidas. Hay que recordar que esta es la tercera de las formulaciones probadas con el grafito APS y la que contiene mayor cantidad de grafito. La textura no parece demasiado compacta, ofreciendo un aspecto pulverulento en la superficie de ambas caras de la muestra. Estas micrografías nos recuerdan la obtenida para la Muestra 3, con una cantidad menor de este mismo grafito.

Vemos que no se aprecian partículas con cloro depositadas sobre la superficie de ninguna de las dos caras, hecho que confirman el espectro de EDS y el microanálisis, que solo detectan silicio, oxígeno y carbono. Podemos seguir pensando que la hipótesis formulada en la muestra anterior, acerca de que la cantidad de grafito es uno de los principales responsables de la aparición en la superficie de partículas con cloro, es cierta.

Pasamos a las imágenes obtenidas para los capilares de esta formulación.



En esta imagen (**Figura 4.14**) se observa mejor la forma cilíndrica de la que hemos hablado en la muestra anterior. La textura que presenta es parecida a la que veíamos en la **Figura 4.13** para la cara interna del portamuestras. El microanálisis y el espectro de EDS no muestran presencia de cloro en la composición.

Figura 4.14: SEM del electrodo sin pulir.

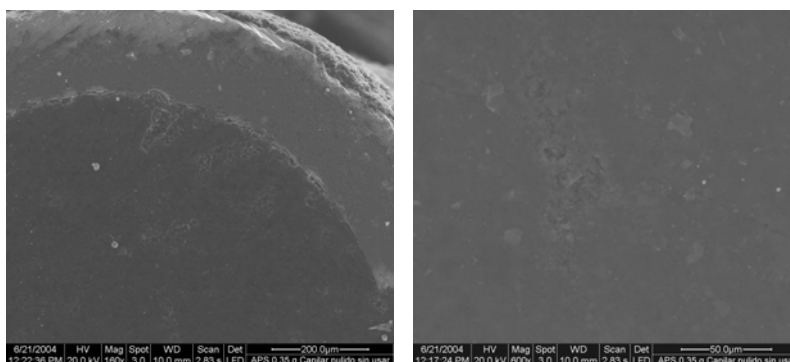


Figura 4.15: Imágenes de SEM del capilar pulido sin usar fabricado con 0,35 g de grafito APS.

Las imágenes que vemos en la **Figura 4.15** corresponden a un capilar pulido sin usar. A diferencia de lo que ocurría con la muestra anterior, aquí no hay separación visible entre el Sonogel y el capilar. Sí pueden apreciarse pequeños huecos en la superficie del electrodo, que pueden ser debidos a la presencia de burbujas de aire encapsuladas. El microanálisis y el espectro de EDS solo muestran señales para carbono, oxígeno y silicio; no hay cloro en la muestra.

Las imágenes de la **Figura 4.16**, que han sido tomadas después del uso del capilar, muestran una separación entre el Sonogel y el capilar que no aparecía antes de su uso. En las micrografías también se aprecia la presencia de pequeños huecos en la superficie.

La partícula brillante que se observa en la micrografía corresponde, según el EDS y el microanálisis, a iones calcio y magnesio, que pueden proceder del agua del medio electrolítico en el que ha estado sumergido. No hay presencia de cloro.

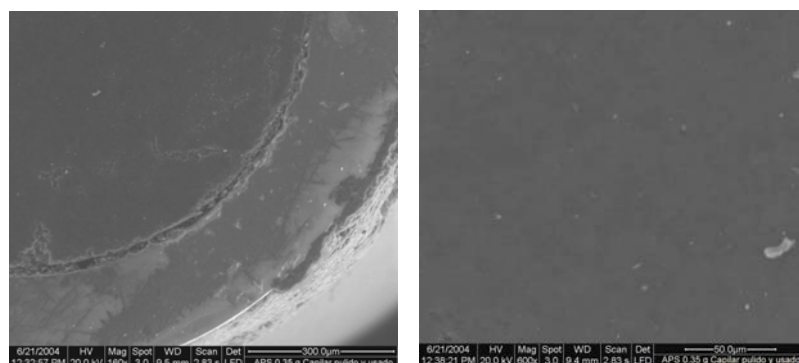


Figura 4.16: Imágenes de SEM del capilar pulido y usado fabricado con 0,30 g de grafito APS.

Al inicio de este apartado, se comento la inclusión de dos modificantes en la matriz de Sonogel: C18 y PEG (polietilenglicol).

- **Muestra 6:** Grafito RW-B, formulación original, modificado con 5% de C18.

Comenzaremos por la muestra que contenía 5% de **C18** en peso, siguiendo el mismo esquema de las muestras anteriores. (**Figura 4.17**)

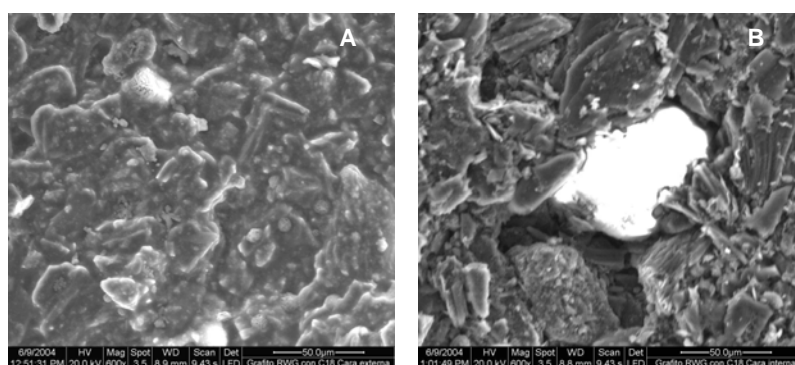


Figura 4.17: Imágenes de SEM para Sonogel fabricado con grafito RW-B modificado con C18, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

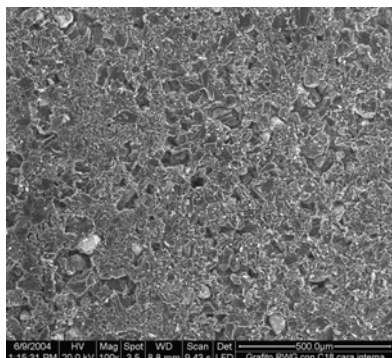


Figura 4.18: Cara interna con menor magnificación.

Vemos que la superficie de la cara externa es parecida a la que ya habíamos visto en la muestra 1, que pertenecía al Sonogel fabricado con el mismo grafito. La superficie de la cara interna presenta partículas brillantes incrustadas, de un tamaño comparable al de las partículas de grafito, como se ve en la imagen **B**. En una imagen con menor magnificación (**Figura 4.18**) podemos observar la presencia de estas partículas (en blanco) repartidas por toda la superficie del material.

El espectro de EDS muestra señales para el cloro en la cara externa del material, que confirma el microanálisis; esta señal se hace más intensa al centrar el haz sobre una de las zonas brillantes que se ve en la superficie. El EDS no muestra sin embargo cloro en la cara interna, donde vemos esas partículas brillantes de gran tamaño. Al centrarnos sobre una de ellas el resultado del microanálisis arrojaba que la composición era carbono, oxígeno y silicio. Podemos pensar que esas partículas son de C18, que hemos añadido en estado sólido.

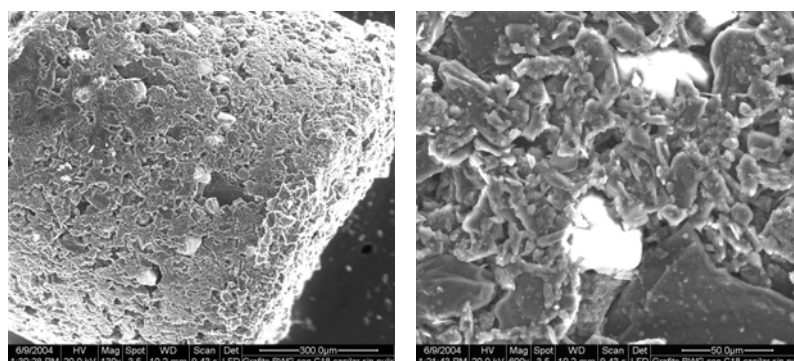


Figura 4.19: Imágenes SEM para electrodo sin pulir fabricado con grafito RW-B modificado con C18.

En la **Figura 4.19** vemos un capilar sin pulir, donde podemos observar el mismo tipo de partículas que en la **Figura 4.17 B**.

Están distribuidas por todo el material. Presentan brillo, lo que nos indica que no son partículas conductoras de los electrones. El EDS y el microanálisis no muestran presencia de cloro en el capilar sin pulir, por lo que podemos concluir que son partículas de C18.

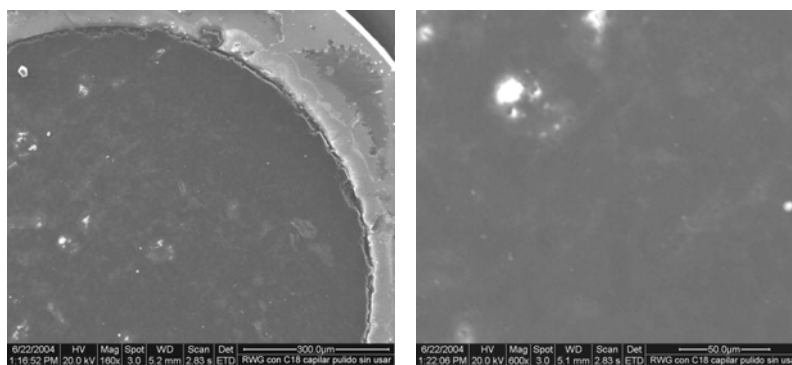


Figura 4.20: Imágenes de SEM del capilar pulido sin usar fabricado con grafito RW-B modificado con C18.

En la **Figura 4.20** se muestra un capilar pulido sin usar. En la superficie no se distinguen ahora las partículas que veíamos en la figura anterior, aunque si se ven zonas más brillantes dentro del material. La separación entre el capilar y el Sonogel es mínima, y la superficie es totalmente lisa. El espectro de EDS y el microanálisis no dan señales de cloro.

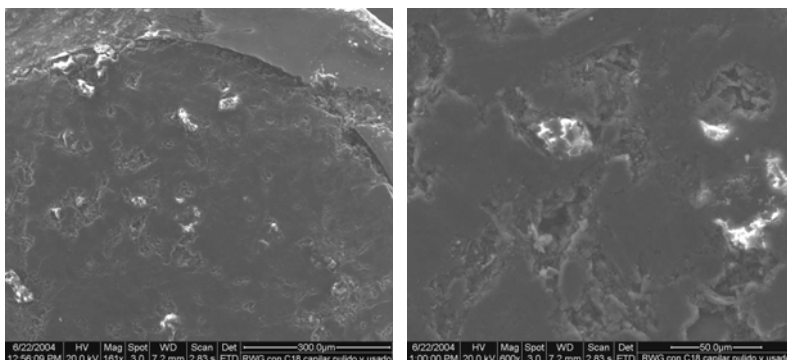


Figura 4.21: Imágenes de SEM del capilar pulido y usado fabricado con grafito RW-B modificado con C18.

Si nos fijamos ahora en la **Figura 4.21**, en la que tenemos las imágenes del SEM para un capilar usado, vemos como la superficie varía significativamente y después del uso.

Aunque la separación entre el Sonogel y el capilar no parece haber aumentado, vemos como la superficie presenta una erosión significativa, apareciendo multitud de huecos en ella. Siguen viéndose partículas más brillantes incrustadas en la superficie. Tampoco en este caso el EDS mostraba la presencia de cloro.

- **Muestras con PEG.**

En el caso de la modificación con PEG, el esquema que hasta ahora hemos seguido va a variar.

El estudio estructural de los electrodos Sonogel-carbono modificados con PEG ya ha sido objeto de una tesis doctoral [1] en nuestro grupo, además de por varios autores de prestigio reconocido en la materia [73, 74], por lo que no lo vamos a ver en profundidad, pero lo que no se ha estudiado hasta ahora, y que se aborda en este trabajo es ver cual es el efecto que produce el PEG sobre la matriz de silano, que es la base del Sonogel.

El efecto que tiene la presencia del PEG en el electrodo se describe en [1], pero para hacerlo más gráfico podemos ver alguna imagen del electrodo modificado con PEG después de su uso en repetidas ocasiones (**Figura 4.22**).

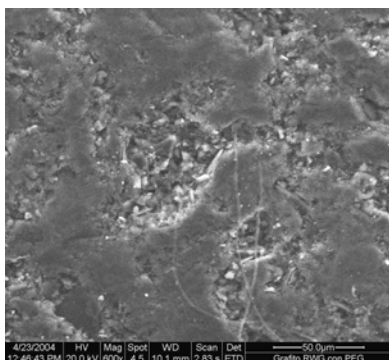


Figura 4.22: Imagen de SEM para un electrodo usado fabricado con grafito RW-B modificado con 5% PEG

Se observa como en la superficie aparecen numerosos huecos, donde se supone debería haber una superficie totalmente lisa. El PEG parece haber dejado esos huecos después de haberlo sumergido en agua.

El polietilenglicol (PEG) se adiciona al sonosol en fase líquida y no homogeneizado con el grafito como otros modificantes (ej. C18), por lo que si queremos estudiar su efecto sobre el Sonogel habrá que hacerlo en ausencia de grafito. Para ello sintetizamos una serie de muestras:

- **Muestra 7:** Formulación original, sin grafito.
- **Muestra 8:** Formulación original, sumergida en agua 30 días, sin grafito.
- **Muestra 9:** Formulación original modificada con PEG, sin grafito.
- **Muestra 10:** Formulación original modificada con PEG, sumergida en agua 30 días, sin grafito.

Al no añadir grafito a la formulación, no podemos rellenar capilares con este sonosol, puesto que no es compacto. Los depositamos sobre el mismo tipo de portamuestras que venimos empleando en todas las muestras anteriores. Dos de las muestras se sumergieron en agua durante 30 días una vez que estaban totalmente gelificadas y secas.

Antes de bajar las muestras al microscopio electrónico, pudimos hacer una serie de observaciones en las muestras preparadas.

Las muestras a las que no le habíamos añadido PEG, presentaban una contracción de volumen acusada, además de numerosas grietas y fracturas. Tenían

una coloración blanquecina translúcida. Por el contrario, las muestras con PEG presentan una contracción de volumen mucho menor y no presentaban ninguna grieta visible. Tenían una coloración blanca opaca.

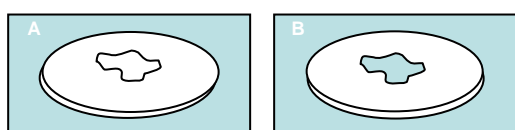


Figura 4.23: Sonogel con PEG antes, A, y después, B, de permanecer sumergido en agua durante 30 días

Las muestras también variaban según hubieran estado o no sumergidas en agua. El cambio era mucho más visible en las muestras con PEG, gracias a la opacidad de las mismas. Estas

presentaban una pequeña aureola en el centro, como se muestra en la **Figura 4.23**, que perdía color, es decir se hacía translúcida al sumergirla en el agua. Esto se debe a la salida del PEG del material. El polietilenglicol es soluble en agua, por lo que después de introducirlo en ella puede disolverse y pasar a disolución.

- **Muestra 7:** Formulación original, sin grafito.

La **Figura 4.24** muestra las imágenes de SEM obtenidas para esta muestra.

La imagen **A**, muestra la cara externa del Sonogel, en ella podemos ver una gran cantidad de pequeñas partículas, con aspecto de cristales. Tanto el microanálisis como el espectro de EDS señalan la presencia de cloro en la superficie, haciéndose mucho mayor cuando enfocamos el haz sobre una de las partículas.

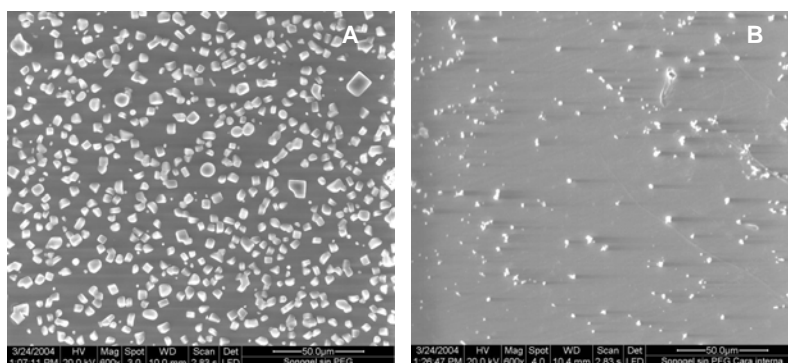


Figura 4.24: Micrografías del Sonogel sin grafito, A) cara externa, B) cara interna.

En el caso del Sonogel con grafito ya habíamos apreciado la aparición de partículas con cloro en la superficie, y habíamos llegado a la conclusión de que la existencia de un modificante de la estructura, como puede ser el grafito, era determinante en su aparición. En esta muestra no tenemos ningún modificante, por lo que parece lógico que haya una mayor concentración de cloro en la superficie, puesto que no debe haber encontrado ningún impedimento para salir.

La cara interna, **B**, aunque muestra pequeños puntos brillantes, no tiene cristales como la externa. No se detectó presencia de cloro en esta cara.

- **Muestra 8:** Formulación original, sumergida en agua 30 días, sin grafito.

En las micrografías (**Figura 4.25**) vemos que las superficies en este caso son totalmente diferentes a las de la muestra anterior.

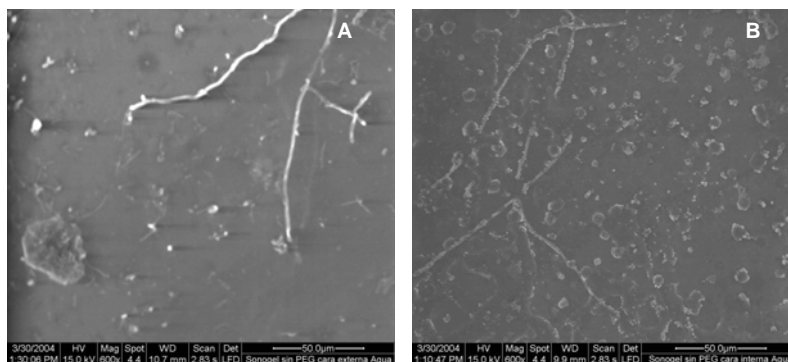


Figura 4.25: Micrografías del Sonogel sin grafito sumergido en agua durante 30 días, A) cara externa, B) cara interna.

La cara externa de la muestra, **A**, presenta suciedad, que puede deberse a la deposición de partículas de polvo del ambiente, mientras aún estaba húmeda, después de haberlas sacado del agua.

La cara interna, **B**, presenta marcas de pequeñas gotas de agua que se han secado dejando marcas en la superficie. Aunque esta cara no es la que ha estado directamente expuesta al agua, sí ha estado en contacto con ella, ya que la contracción de volumen del Sonogel ha permitido que el agua penetre por los bordes del portamuestras hasta esta cara.

No se detecta la presencia de cloro en ninguna de las dos caras de la muestra, lo que nos indica que el hecho de estar sumergido en agua elimina esta sustancia de la superficie del material, tal y como sucede con los capilares usados.

- **Muestra 9:** Formulación original modificada con PEG, sin grafito.

En la imagen **A** de la **Figura 4.26**, volvemos a ver pequeñas partículas sobre la superficie. El microanálisis y el EDS muestran, para estas partículas un alto contenido en cloro. En este caso, y comparándola con la **Figura 4.24 A**, puede verse que dichas partículas están presentes en un número menor. La diferencia entre las dos muestras es que en esta última hay un modificante en la estructura. Podemos pensar que sucede lo mismo que cuando tenemos grafito en el Sonogel, es decir, la presencia de un modificante en la estructura del Sonogel impide en cierto modo la salida del cloro hacia la superficie del material. La cara interna del material es lisa y no presenta cloro en su composición.

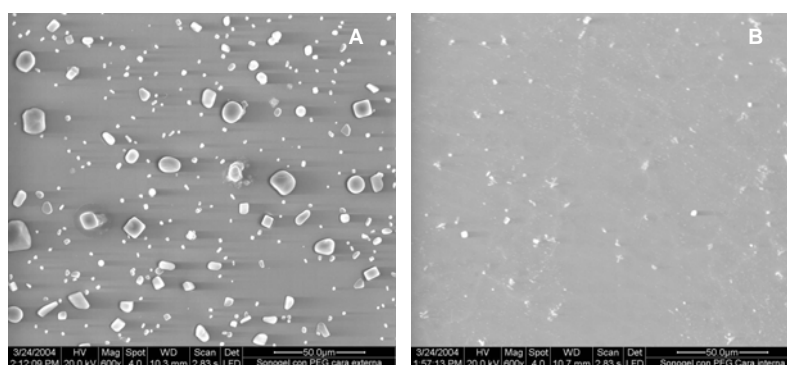


Figura 4.26: Micrografías del Sonogel modificado con PEG sin grafito, A) cara externa, B) cara interna.

- **Muestra 10:** Formulación original modificada con PEG, sumergida en agua 30 días, sin grafito.

La **Figura 4.27** presenta de nuevo dos superficies totalmente diferentes. Puede verse que mientras la cara externa, **A**, es lisa, la cara interna, **B**, es rugosa y presenta pequeños huecos. Pueden ser debidos a la disolución del PEG

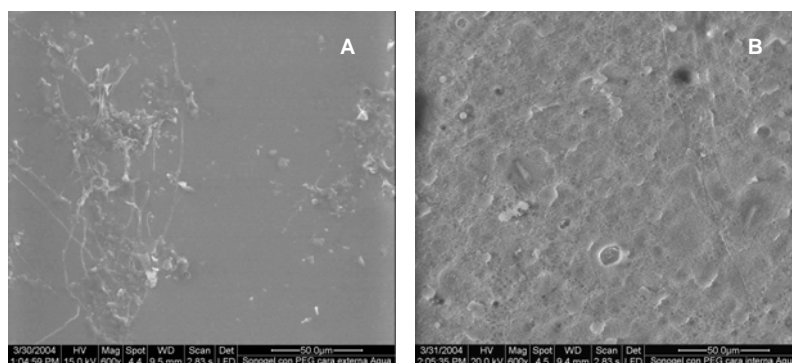


Figura 4.27: Micrografías del Sonogel modificado con PEG sin grafito sumergido en agua durante 30 días, A) cara externa, B) cara interna.

Esta muestra es igual a la anterior, con la diferencia de haber permanecido sumergida en agua durante 30 días. El agua elimina de la superficie el cloro que permanecía depositado, ya que ni el microanálisis ni el espectro de EDS muestran presencia de cloro en ninguna de las dos caras de la muestra.

Al igual que en la muestra 8, la cara que ha estado directamente expuesta al agua ha sido la externa, pero la interna también ha estado en contacto con ella gracias a la contracción de volumen del material, que permite el paso del agua hasta esta cara.

4.2. Caracterización Estructural de Electroodos Sonogel Carbono: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR).

En este apartado se abordan los resultados obtenidos mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), para cinco de las muestras estudiadas mediante microscopía electrónica de barrido. Dichas muestras son:

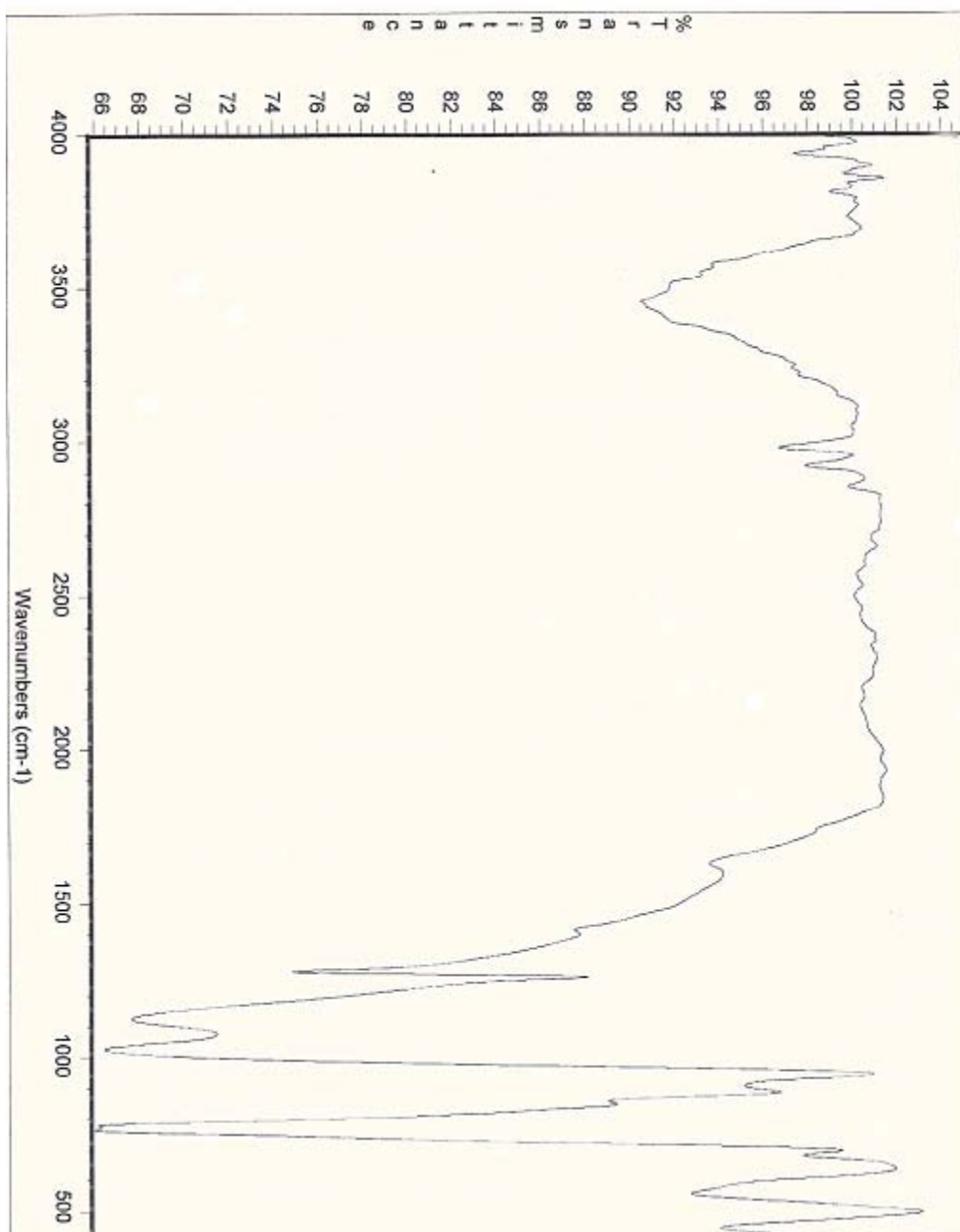
- **Muestra 1:** Grafito RW-B, formulación original.
- **Muestra 2:** Grafito UF, formulación original, 0,5 g de grafito.
- **Muestra 5:** Grafito APS, formulación original, 0,35 g de grafito.
- **Muestra 7:** Formulación original, sin grafito.
- **Muestra 9:** Formulación original modificada con PEG, sin grafito.

Se eligieron estas muestras porque son representativas de cada uno de los tipos de Sonogel y Sonogel-carbono estudiados en esta tesis (a excepción de los modificados con tiourea, que se estudian en el siguiente apartado). La muestra de grafito APS fue elegida, de entre las tres muestras disponibles, por ofrecer mejores resultados en los estudios llevados a cabo tanto con voltamperometría como con microscopía.

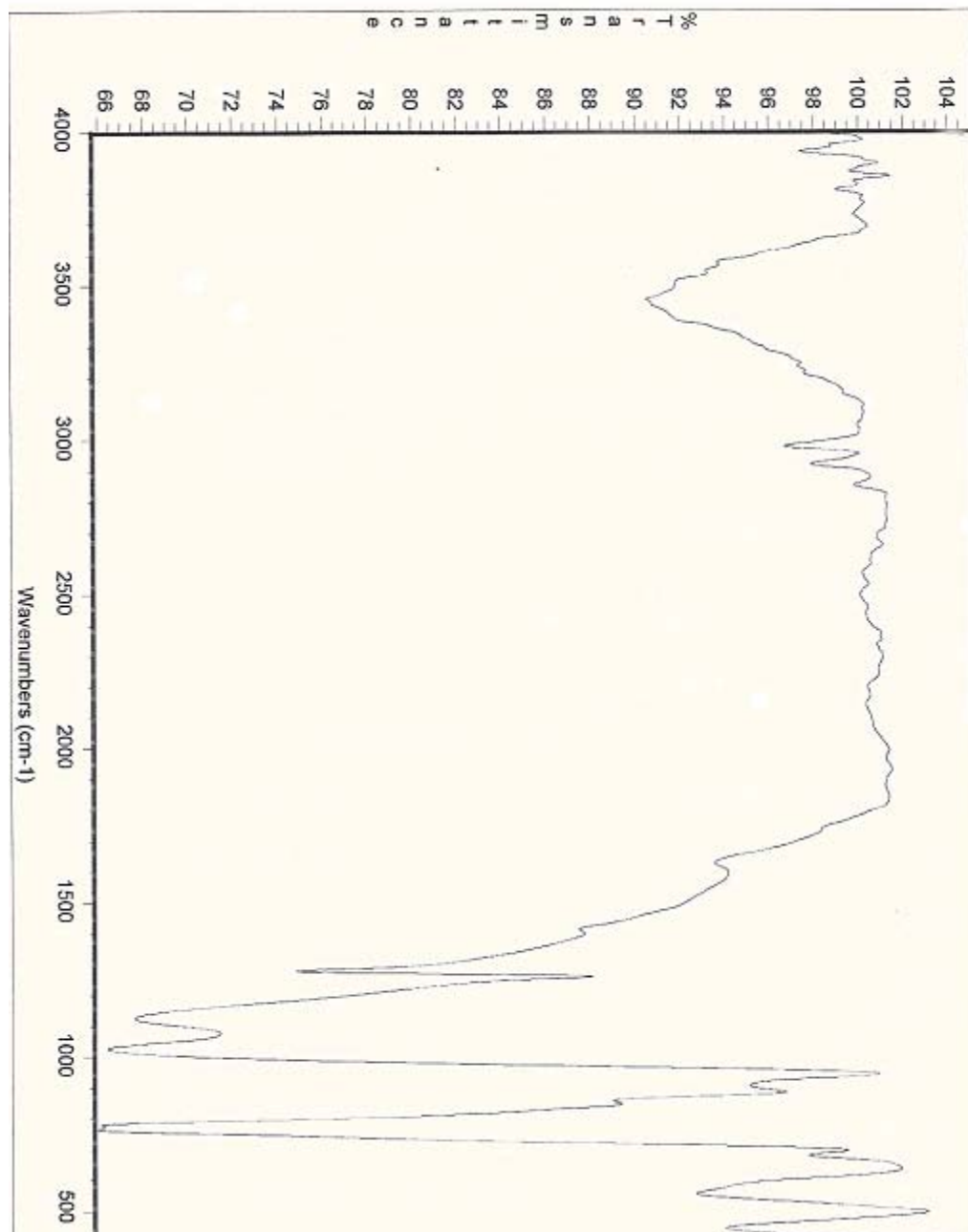
Los espectros FTIR han sido realizados en la Universidad de Granada, por la imposibilidad física de hacerlos en la Universidad de Cádiz, debido a una avería de los equipos disponibles de espectroscopía FTIR.

A continuación se muestran los diferentes espectros de infrarrojos para cada una de las cinco muestras:

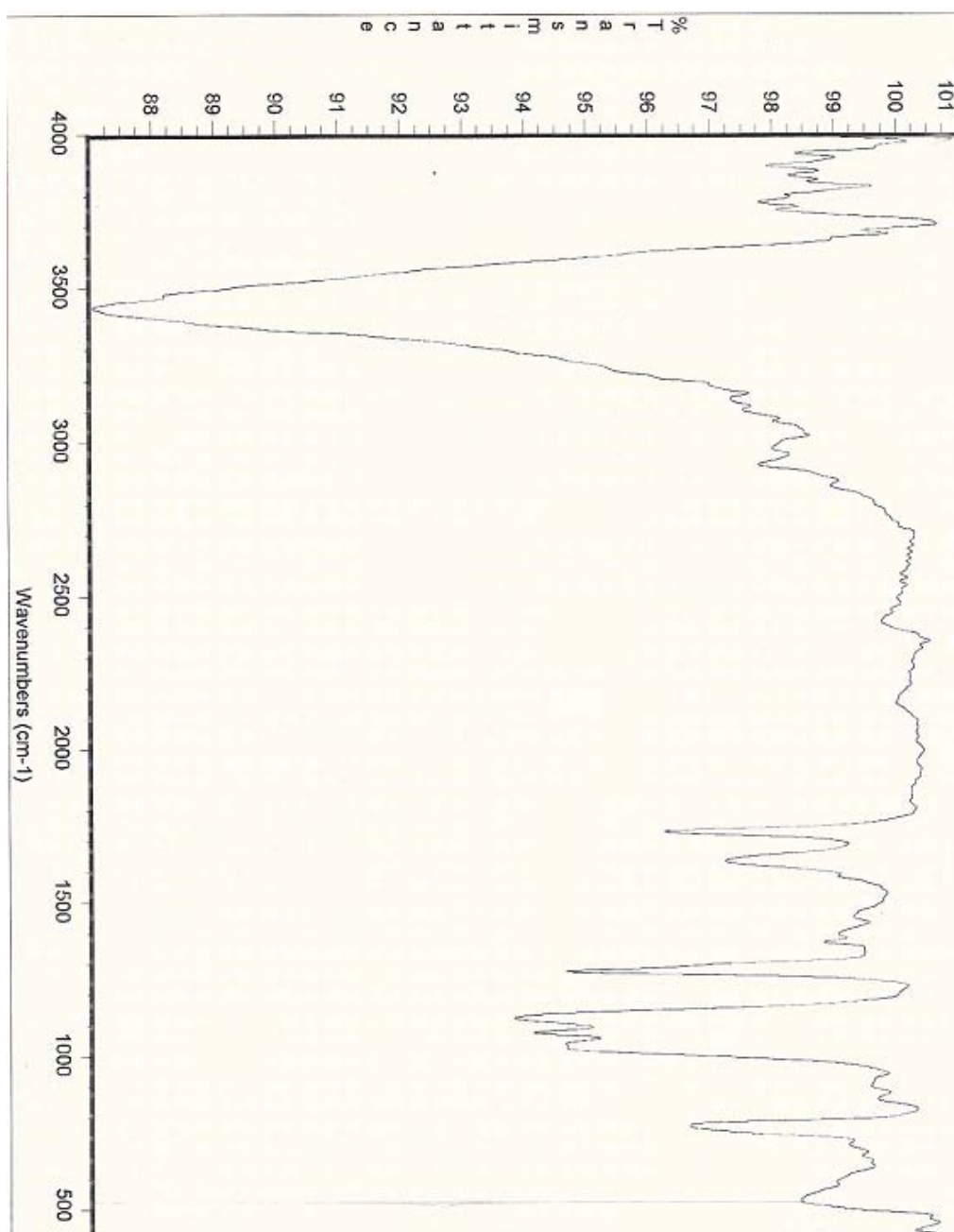
- **Muestra 1:** Grafito RW-B, formulación original, **Figura 4.28.**



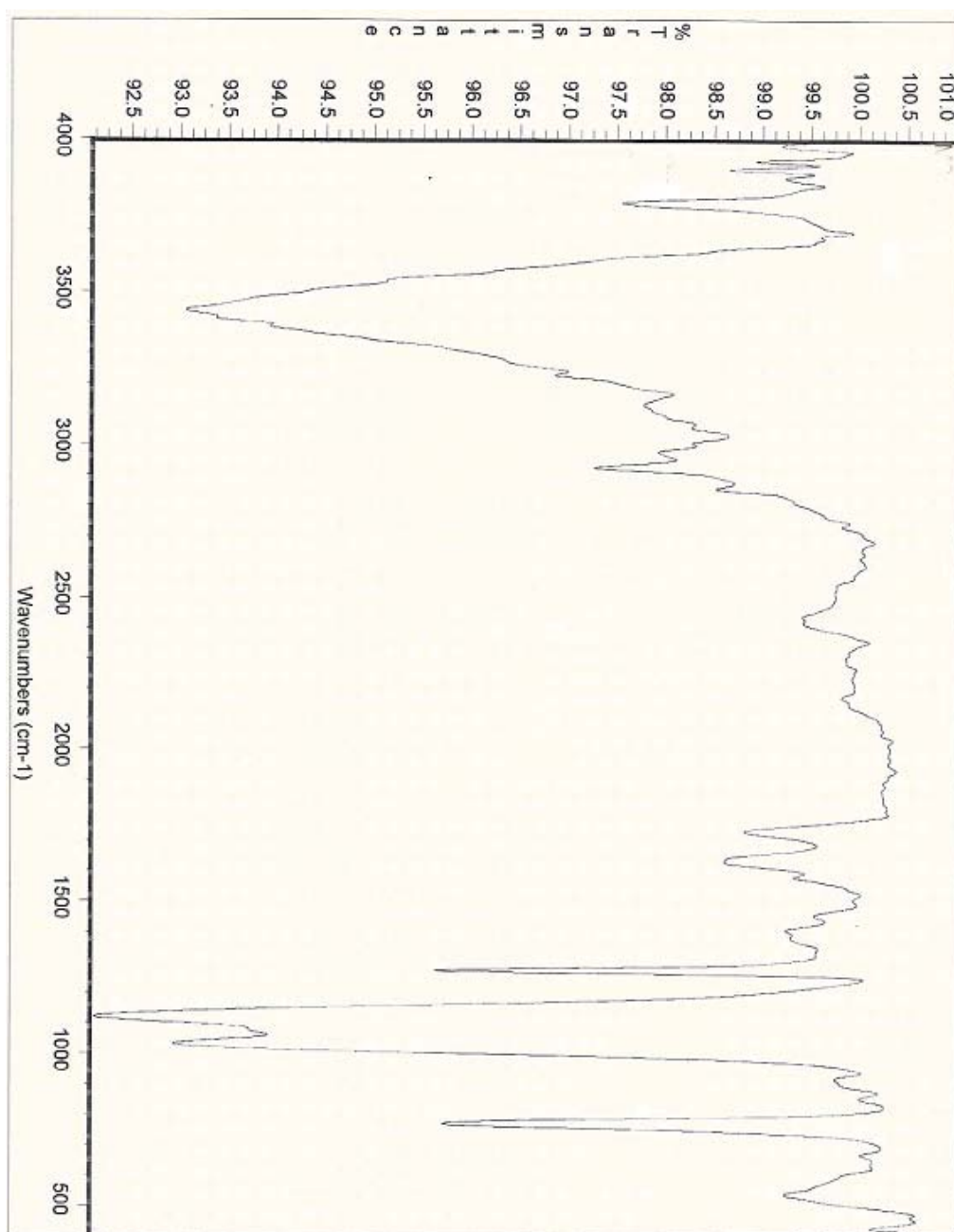
- **Muestra 2:** Grafito UF, formulación original, 0,5 g de grafito, **Figura 4.29.**



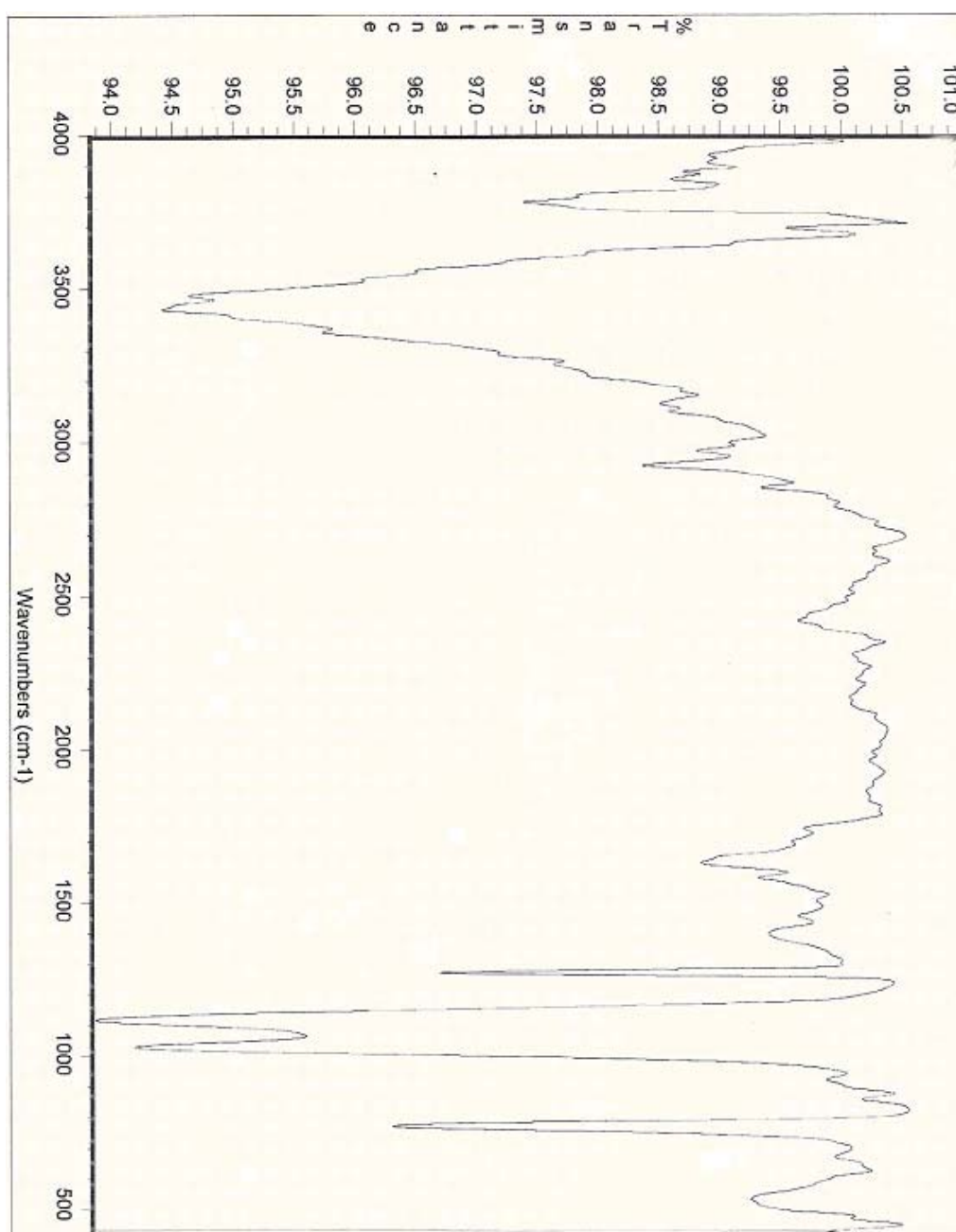
- **Muestra 5:** Grafito APS, formulación original, 0,35 g de grafito, **Figura 4.30.**



- **Muestra 7:** Formulación original, sin grafito, **Figura 4.31.**



- **Muestra 9:** Formulación original modificada con PEG, sin grafito, **Figura 4.32.**



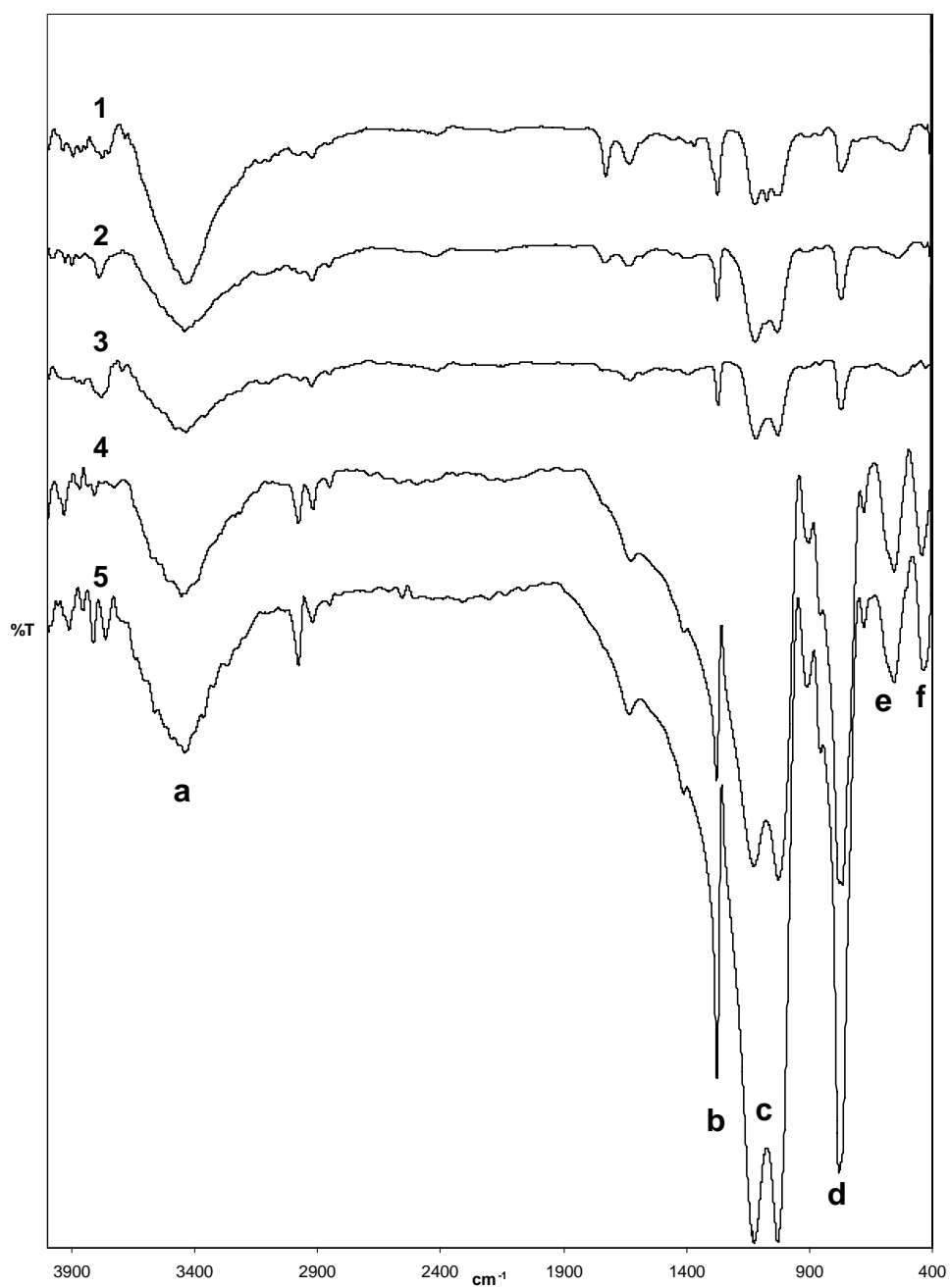


Figura 4.33: Espectros FTIR para las muestras 1) muestra 1; 2) muestra 2; 3) muestra 5; 4) muestra 7 y 5) muestra 9.

La **figura 4.33** muestra los espectros de FTIR obtenidos para todas las muestras. Como puede observarse existe una gran similitud entre los espectros de las muestras que contienen grafito (1-3), y los espectros de las muestras sin grafito (4 y 5).

La **tabla 4.1**, muestra las asignaciones de las bandas de los espectros FTIR tomando como referencia las bandas asignadas en la literatura [202,203]. El desplazamiento observado en alguna de las bandas puede atribuirse a pequeñas impurezas en las muestras, aunque las desviaciones son mínimas en todos los casos.

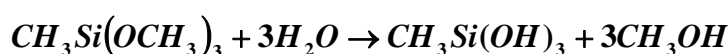
Número de onda (cm ⁻¹)	Referencia número de onda (cm ⁻¹) [202]	Asignaciones
a ≈3450	3450-3300	Agua
b 1273	1273	Si-CH ₃ , vibración de deformación CH ₃ simétrica
c 1125 - 1026,	1094 - 1029	Si-O-Si, tensión Si-O
d 771,	771	Si-CH ₃ , tensión Si-C
e ≈530	522	Si-O-Si, tensión Si-O-Si simétrica
f ≈450	465, 464	-Si-OCH ₃ , vibración de deformación Si-O-C asimétrica

Tabla 4.1: Asignación de las bandas de los espectros FTIR.

La principal diferencia que puede observarse entre los cinco espectros es la mayor intensidad de las bandas para las muestras que no contienen grafito (espectros 4 y 5). Esto podría explicarse por el papel que juega el grafito como modificante masivo en la estructura del material: las muestras basadas en grafito contienen porcentajes de silano más bajos que las muestras sin grafito. Por esta razón las bandas correspondientes a las vibraciones y tensiones que implican al silicio muestran porcentajes más altos de transmitancia en las muestras 4 y 5.

Los grupos metoxi del monómero de MTMOS experimentan reacciones de hidrólisis y condensación, como se muestran a continuación:

Hidrólisis:



Condensación del Agua:



Condensación del Alcohol:



Partiendo de las reacciones que acabamos de ver, otra conclusión que podemos extraer a partir de los espectros anteriores es que la reacción de hidrólisis del silano es prácticamente completa, puesto que las bandas de los grupos funcionales Si-OH no aparecen. Sin embargo las bandas del grupo Si-OCH₃, correspondientes a la vibración de deformación Si-O-C asimétrica presentan un bajo porcentaje de transmitancia [203]. Con respecto a las bandas de tensión Si-O-Si, Si-O, estas constituyen un grupo de bandas, apareciendo las más frecuentes a 1094, 1091, 1084, 1069, 1037 y 1029 cm⁻¹, de acuerdo con la bibliografía.

Por otro lado, en los espectros de las muestras hay varias bandas que pueden ser asignadas en intervalos similares, pero con pequeñas desviaciones dependiendo del tipo de muestra: para la muestra 1, las bandas situadas en 1121, 1073 y 1037 cm⁻¹; para la muestra 2, las bandas a 1120 y 1130 cm⁻¹; para la muestra 5, las bandas a 1117 y 1029 cm⁻¹, para la muestra 7, las bandas a 1125 y 1026 cm⁻¹; y finalmente, para la muestra 9 las bandas a 1125 y 1029 cm⁻¹.

4.3. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel Carbono: Microscopía Electrónica de Fuerza Atómica (AFM).

Se analizaron mediante Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) una relación de muestras representativas de los materiales, al igual que se hizo con los demás métodos de caracterización empleados en esta memoria.

El AFM es un aparato bastante delicado, que requiere una preparación de la muestra en la que hay que pulir las superficies para que las irregularidades de la misma no sean demasiado grandes, ya que esto puede dañar el cantilever y la punta, llegando a romperlas y hacer imposible que veamos la muestra a través de esta técnica.

Las medidas en el modo “tapping” del AFM fueron realizadas en diferentes regiones de todas las muestras, con la finalidad de comprobar la homogeneidad de la superficie de la muestra. Todas las imágenes de AFM seleccionadas que se muestran aquí, son representativas de la topología de la superficie de las muestras. Por comparación, el área barrida es siempre $500 \times 500 \text{ nm}^2$.

Morfologías obtenidas:

Como se muestra en la **Figura 4.34**, el modo tapping del AFM fue usado para evaluar la estructura de Sonogel basado en silicio, electrodos compuestos Sonogel-Carbono. La tabla de la **figura 4.34** muestra los valores de rugosidad para cada una de las imágenes. Este parámetro se calcula mediante el software de análisis del AFM, como la media aritmética de los valores absolutos de la desviación de la altitud de la superficie desde el plano indicado en el área barrida:

$$R_a = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n |z_j|$$

Adicionalmente, la tabla muestra los porcentajes de las diferencias de área superficial (S.A.D.) entre el área tridimensional de la imagen y su proyección en un área bidimensional, expresado como:

$$S.A.D. = \left[\frac{\sum (\text{área superficial})_i}{\sum (\text{área proyectada})_i} - 1 \right] \times 100$$

Como puede verse en la **figura 4.34**, las películas del Sonogel de silicio eran densas, con tamaños de poro que rondan los 10 nm.

Debido a que los tamaños de poro eran más pequeños que el tamaño de partícula del grafito, estos resultados implican que durante la formación de los materiales compuestos Sonogel-carbono, las partículas de grafito no entren dentro de los poros de la red de silicio, sino que el gel se forma alrededor de las partículas de grafito, y la conductividad del compuesto que finalmente se forma está promovido por un mecanismo de propagación entre esas partículas. Cuando se deposita una película de cualquier modificante, depositado en forma líquida, sobre la superficie de los electrodos compuestos de Sonogel-Carbono, se observa una ligera disminución de la rugosidad en la superficie del área diferenciada del material, conservando la misma estructura de poros y generando un nuevo aspecto granular del material.

Caracterización Estructural de materiales Sonogel-Carbono

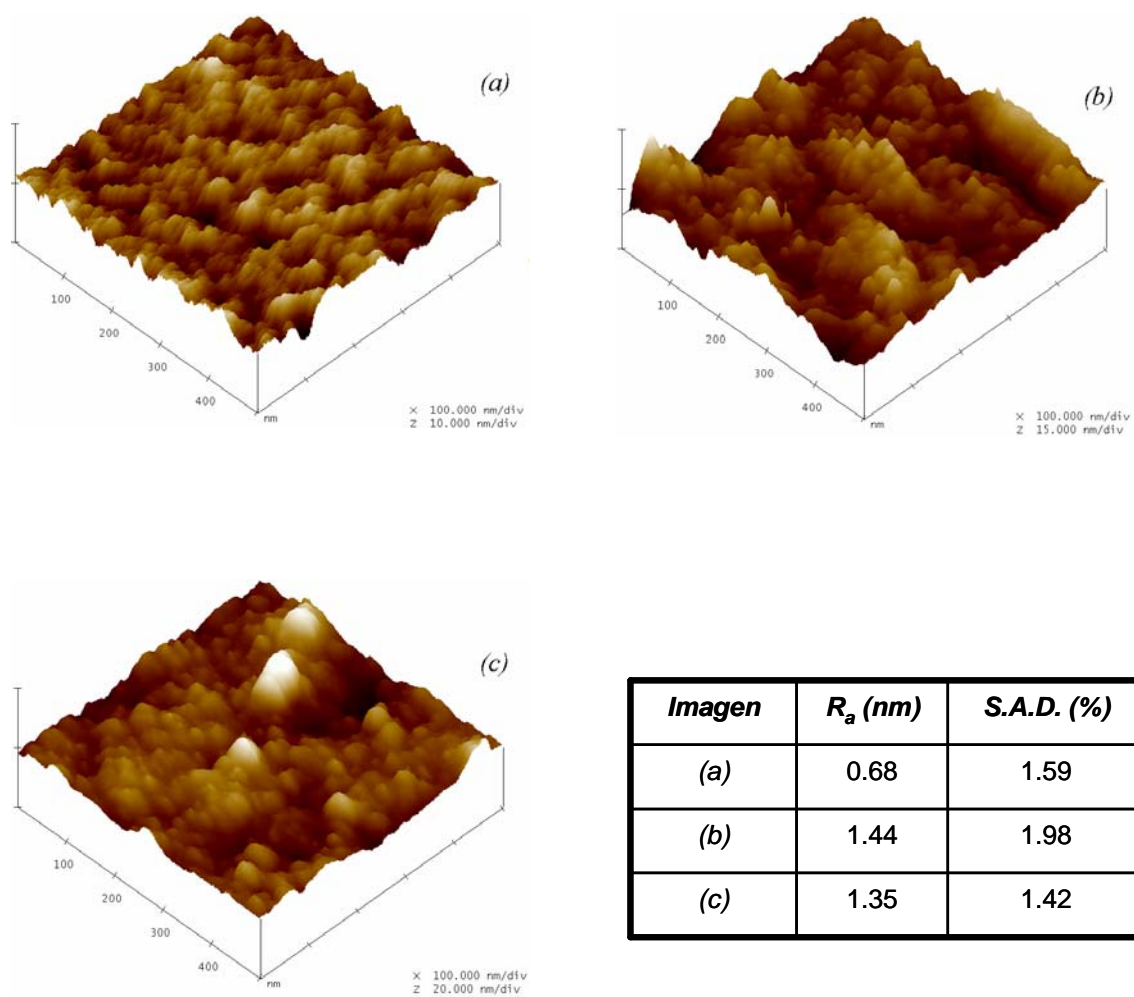


Figura 4.34.: Imágenes de AFM de (a) Sonogel, (b) Sonogel-Carbono, (c) Sonogel-Carbono recubierto de PEG

4.4. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel Carbono: Difracción de Rayos X (XDR).

Se llevaron a cabo experiencias en difracción de rayos X para las muestras que anteriormente habían sido sometidas a la microscopía electrónica de barrido, con el fin de determinar si eran cristalinas. Para ello se llevaron al difractómetro de rayos X las mismas muestras que se habían analizado por espectroscopía infrarroja (FTIR), y que, como ya se ha dicho en los apartados anteriores, son las muestras representativas de cada uno de los tipos de material.

Además de estas muestras, se introdujeron en el difractómetro muestras de los tres tipos de grafito que se habían empleado en el proceso de fabricación del Sonogel-Carbono, con el fin de identificar los patrones de difracción de los mismos y ver si existían grandes diferencias entre estos y los patrones resultantes de las muestras de nuestro material, ya que, al ser el grafito un modificador masivo, el difractograma del Sonogel-Carbono podía verse muy influenciado por la presencia de grafito (que es cristalino y daría un patrón de difracción propio).

Las figuras siguientes muestran los difractogramas obtenidos para cada una de las cinco muestras de material Sonogel y Sonogel-Carbono.

Caracterización Estructural de materiales Sonogel-Carbono

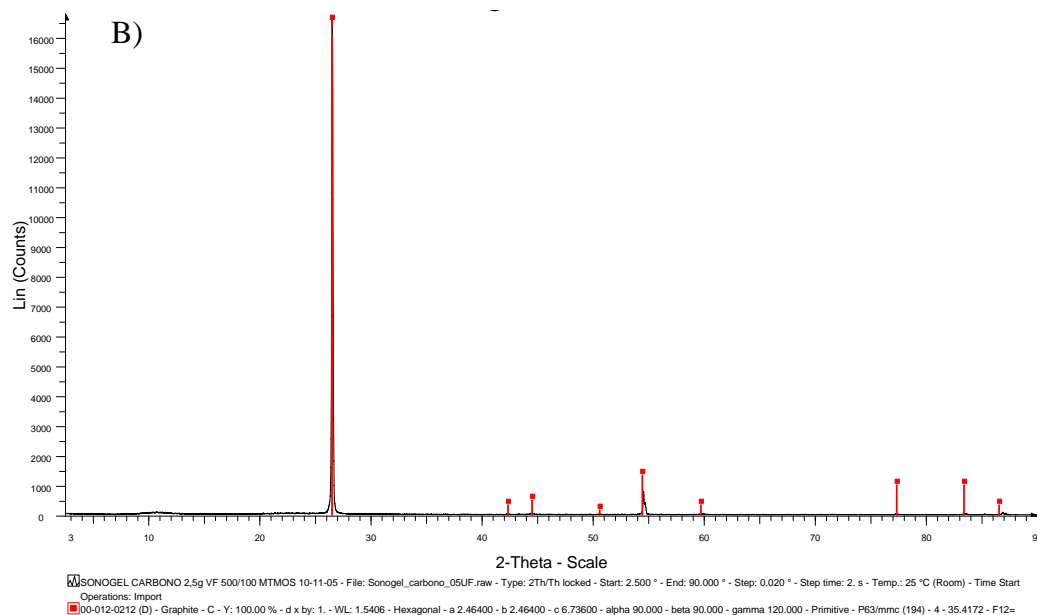
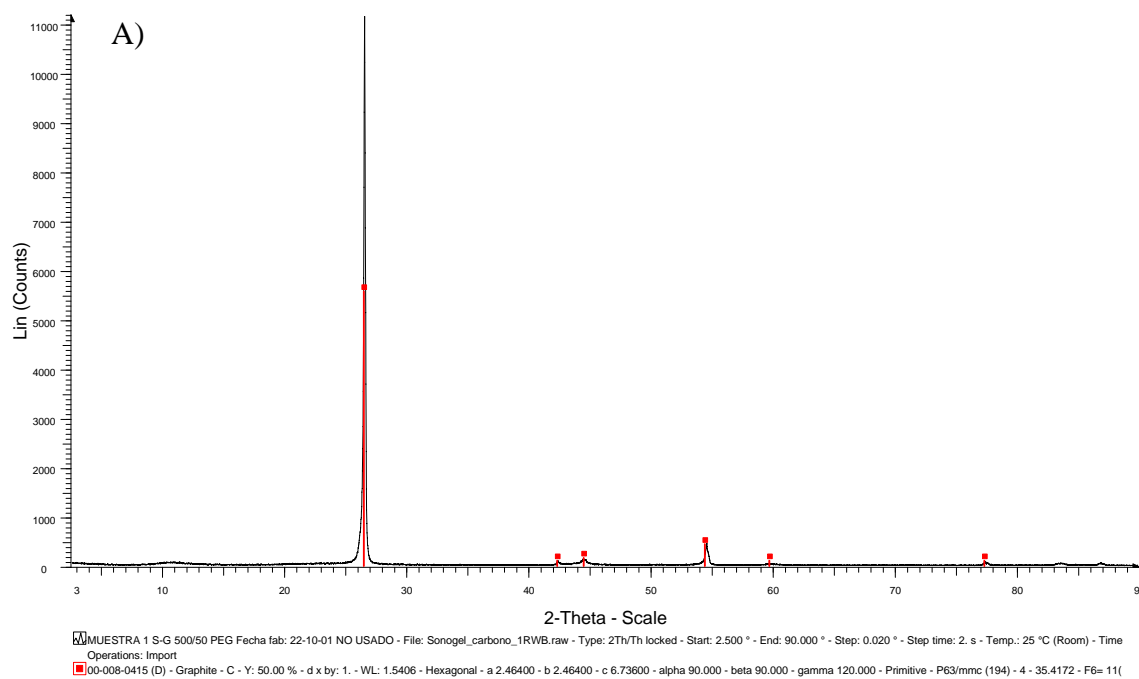


Figura 4.35: Difractograma de A) muestra de Sonogel-Carbono (RW-B);B) muestra Sonogel-Carbono (UF)

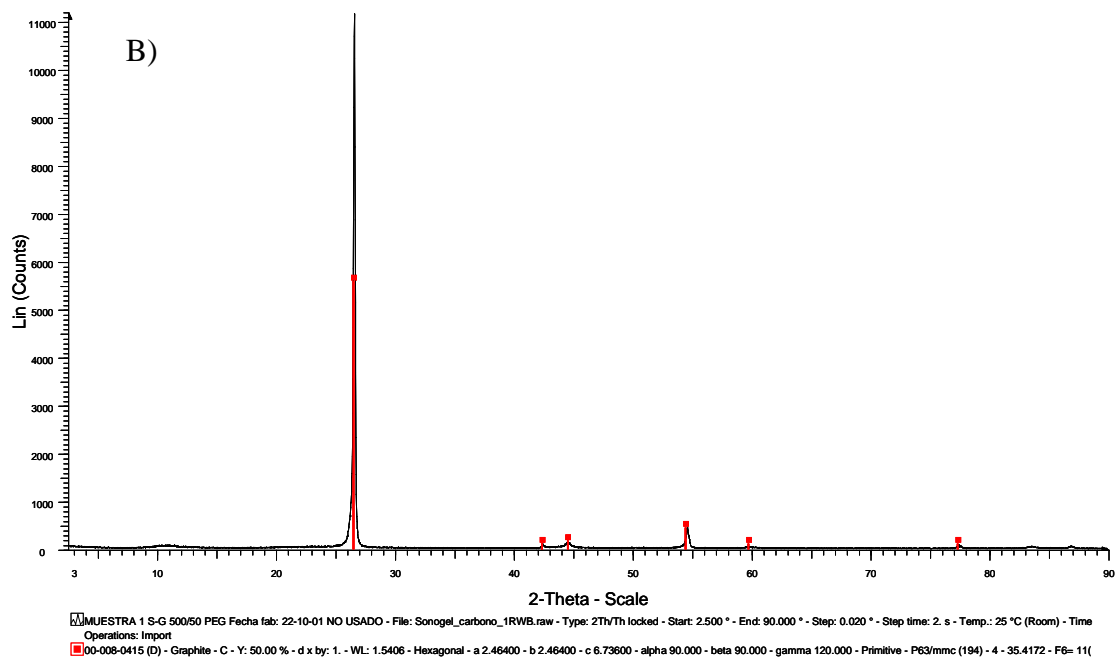
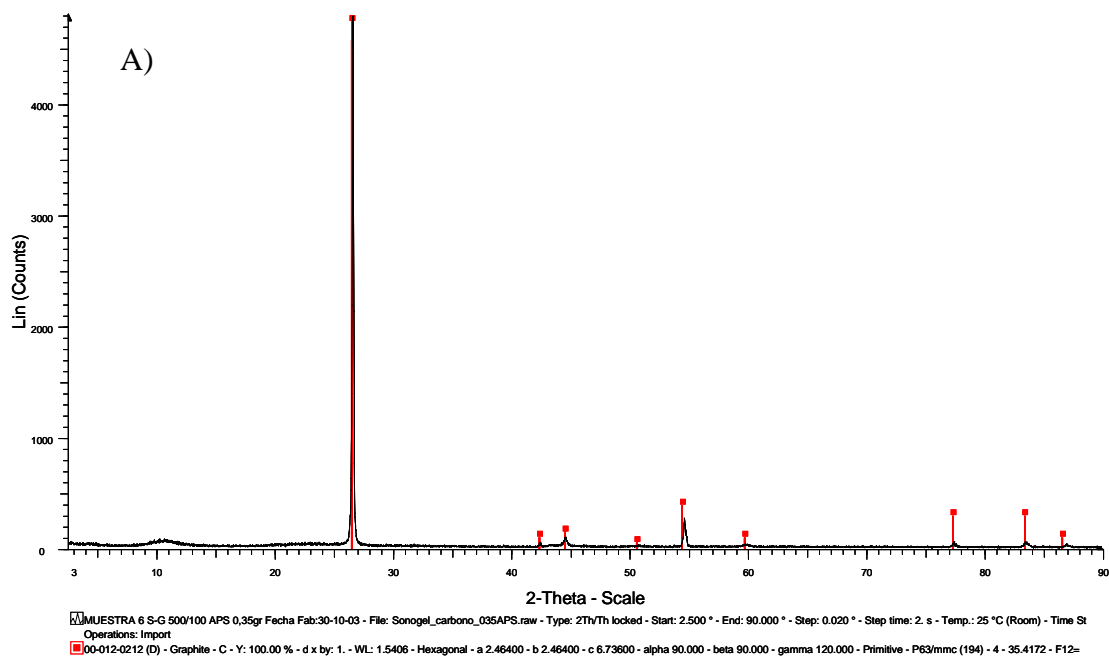


Figura 4.36: Difractograma de A) muestra de Sonogel-Carbono (APS 0.35g); B) muestra Sonogel-Carbono (RW-B) + 10% C18.

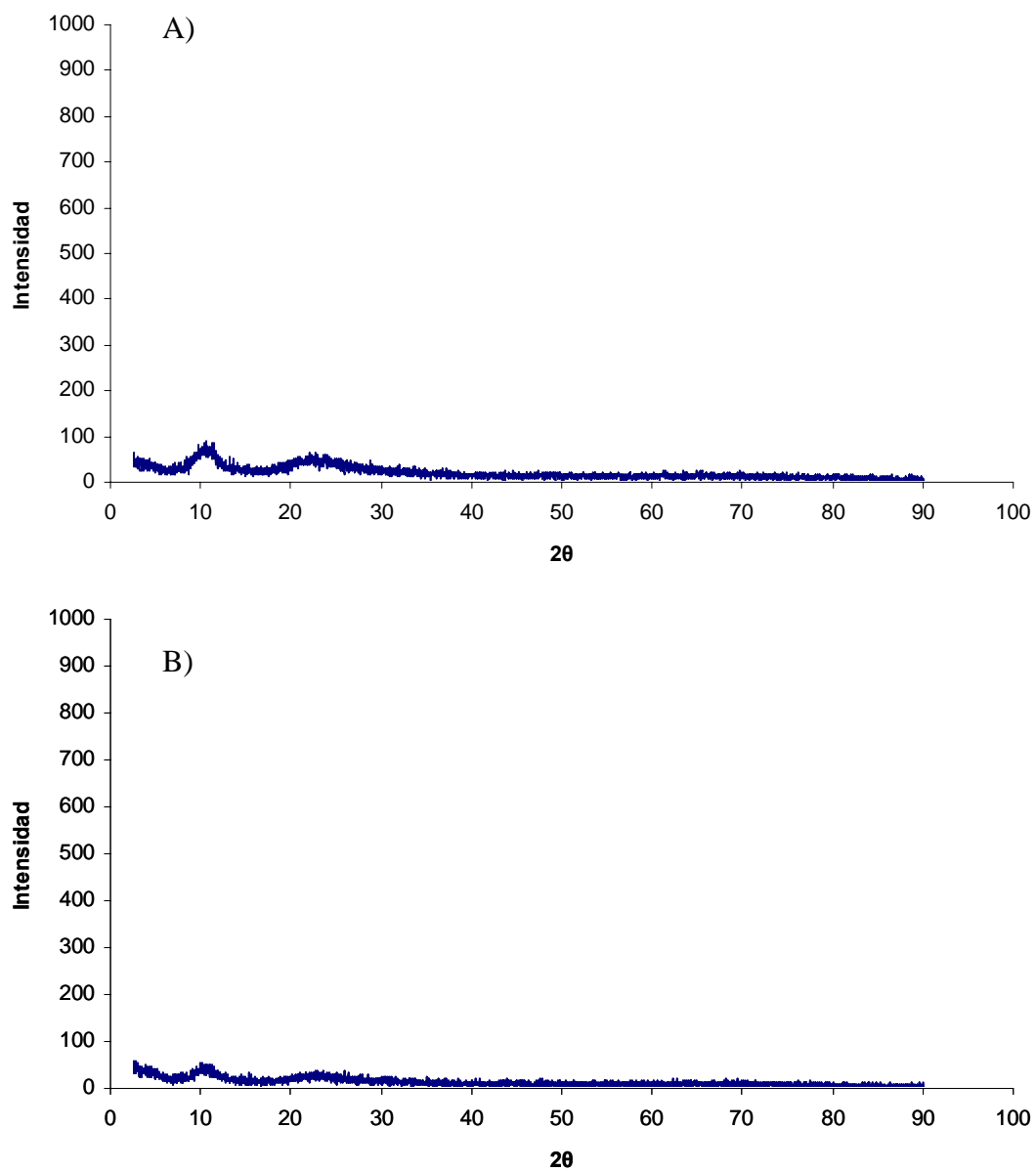


Figura 4.37: Difractograma de A) muestra de Sonogel; B) muestra Sonogel+PEG.

Una vez obtenidos los difractogramas de las muestras, pudo apreciarse que las muestras que no contenían grafito, es decir las formadas por el Sonogel (sin modificar) y la muestra de Sonogel modificada con PEG, no eran cristalinas (**figura 4.37.**), mientras que las muestras que si contenían grafito parecían ser perfectamente cristalinas, ya que encajaban perfectamente en patrones de difracción de materiales cristalinos, como puede verse en las **figuras 4.35 y 4.36**, concretamente en patrones de difracción de grafito cristalino.

En principio, no hemos encontrado referencias bibliográficas que describan materiales sol-gel que sean cristalinos, lo que nos hizo pensar en la posibilidad de que el proceso de fabricación, en ausencia de disolventes, hiciera posible la fabricación de un sol-gel que si fuera cristalino. Para resolver las dudas se introdujeron en el difractómetro de polvo muestras de los tres tipos de grafito empleados en esta tesis, obteniendo resultados que eran perfectamente superponibles a los obtenidos para las muestras de Sonogel con grafito. Ver **figura 4.38, figura 4.39 y figura 4.40**

Podemos llegar a la conclusión que la estructura cristalina que se observa en los tres difractogramas realizados a los tres tipos de materiales Sonogel-Carbono, es debida a la presencia de grafito, que, como ya hemos comentado, posee una estructura cristalina, que conserva después de ser incluido en el Sonogel.

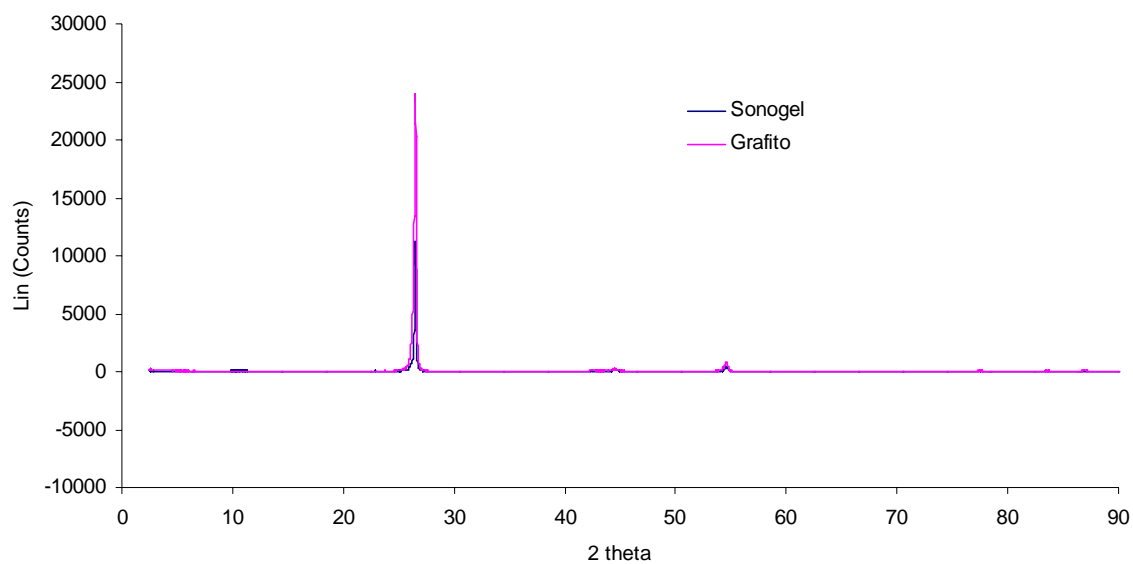


Figura 4.38: Difractogramas del grafito RW-B y Sonogel-Carbono (RW-B) superpuestos.

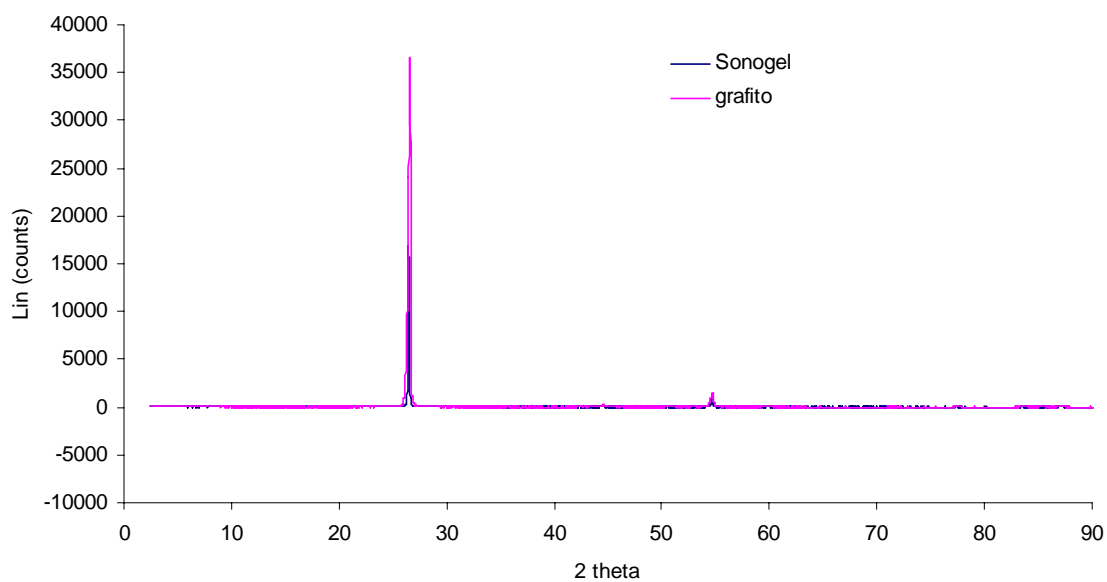


Figura 4.39: Difractogramas del grafito UF y Sonogel-Carbono (UF) superpuestos.

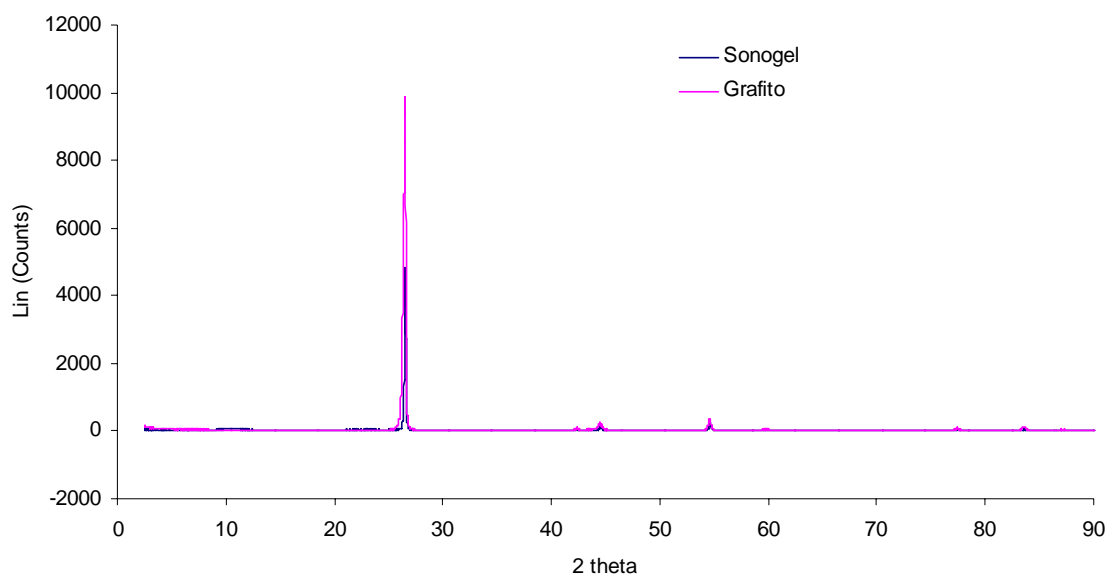


Figura 4.40: Difractogramas del grafito APS y Sonogel-Carbono (APS 0.35g) superpuestos.

A la vista de estos resultados decidimos ampliar las técnicas de caracterización, introduciendo alguna de nuestras muestras en un microscopio electrónico de transmisión, para comprobar que grado de cristalinidad poseían nuestros materiales.

4.5. Caracterización Estructural de Electroodos Sonogel Carbono: Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).

A la hora de abarcar el estudio de microscopía electrónica de transmisión, nos basamos en los resultados obtenidos en difracción. Las muestras de Sonogel sin grafito habían resultado ser amorfas, con lo que los resultados que podríamos obtener en TEM serían prácticamente los mismos. Decidimos introducir una muestra de Sonogel-Carbono fabricado con grafito UF, que era el que había dado difractogramas con mayores intensidades y que además es el Sonogel-Carbono

que se emplea finalmente en la fabricación de electrodos para su uso en electroanálisis.

El portamuestras empleado era un portamuestras de entrada lateral de baja radiación o analítico. Este tipo de portamuestras tiene en su parte inferior una pequeña lámina de berilio. La ventaja de este tipo de portamuestras es que, cuando el haz de rayos X pasa por el portamuestras, el berilio, aunque da señales, éstas están en una posición muy baja del espectro, de manera que no van a afectar a la radiación emitida por la muestra.

Para introducir la muestra en el microscopio fue necesaria una etapa previa de preparación de la muestra. En primer lugar se pulveriza la muestra con ayuda de un mortero de ágata. A continuación, en un vaso de precipitados, que contiene n-hexano (en nuestro caso se empleó este disolvente, pero puede emplearse cualquier otro disolvente inerte), se pone en suspensión la muestra con ayuda de un baño de ultrasonidos. Se introduce en él la rejilla que sirve de soporte a la muestra. Por lo general, se trata de una rejilla de glassy-carbon, de aproximadamente 3 mm de diámetro, a la que se adhieren las partículas que están en suspensión en el líquido.

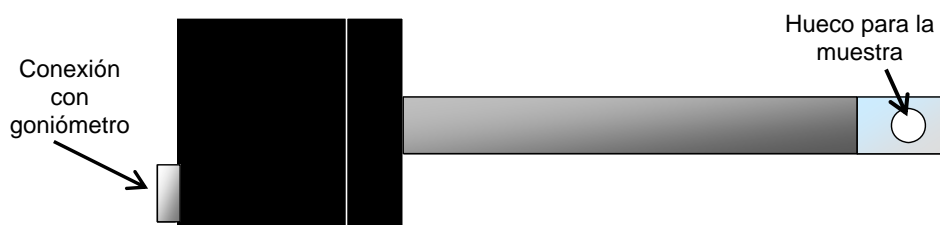


Figura 4.41: Portamuestras de baja radiación o analítico de entrada lateral, empleado en microscopía electrónica de transmisión

Se deposita esta rejilla en el portamuestras, en el hueco que queda en la punta del mismo, (ver **figura 4.41.**), con ayuda de unas pinzas, y se sujeta al portamuestras con un pequeño tornillo que tiene forma de arandela, de modo que no se mueva la muestra y el tornillo quede a ras con la superficie que lo rodea. De esta manera no habrá problemas ni con la muestra ni con el haz de radiación que la atraviesa.

Colocamos el portamuestras en la abertura de la columna del microscopio una vez que este está preparado, es decir cuando ya haya subido la tensión. Antes de colocar el portamuestras en la posición definitiva en la que mediremos, se hace un previo, que sirve para acondicionar la muestra, y que dura aproximadamente 15 minutos.

Después de este último paso se introduce la muestra en la posición definitiva en la que será atravesada por el haz, para ello se gira el portamuestras y se termina de introducir en la columna. Si es necesario, se acopla la conexión con el goniómetro, en el caso en que sea necesario estudiar la muestra con diferentes grados de inclinación. En nuestro caso esto no es necesario, ya que se controla la inclinación de manera manual.

Los resultados obtenidos para las diferentes muestras se exponen a continuación. (**Figura 4.42.**, **Figura 4.43.** y **Figura 4.44.**)

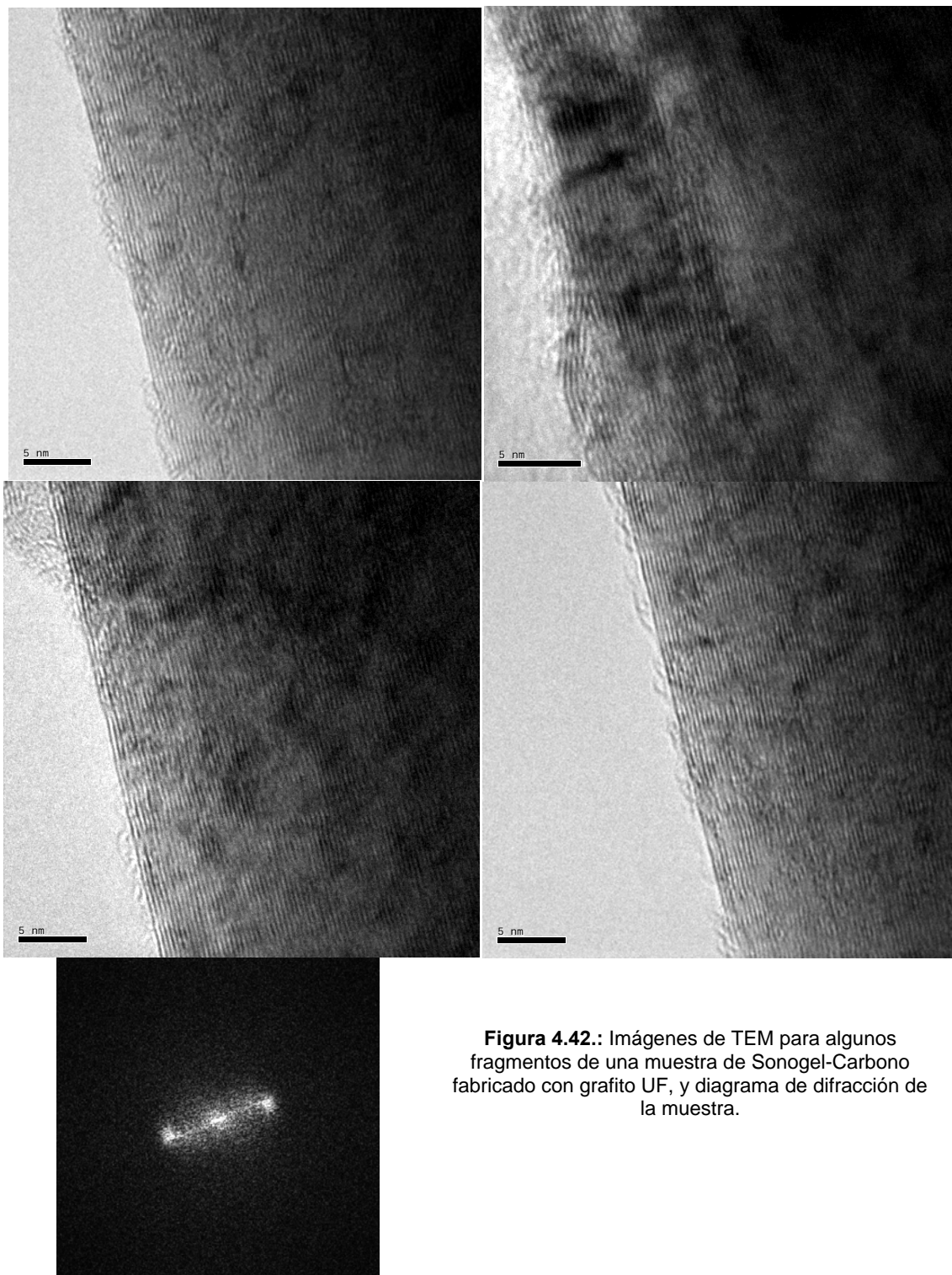


Figura 4.42.: Imágenes de TEM para algunos fragmentos de una muestra de Sonogel-Carbono fabricado con grafito UF, y diagrama de difracción de la muestra.

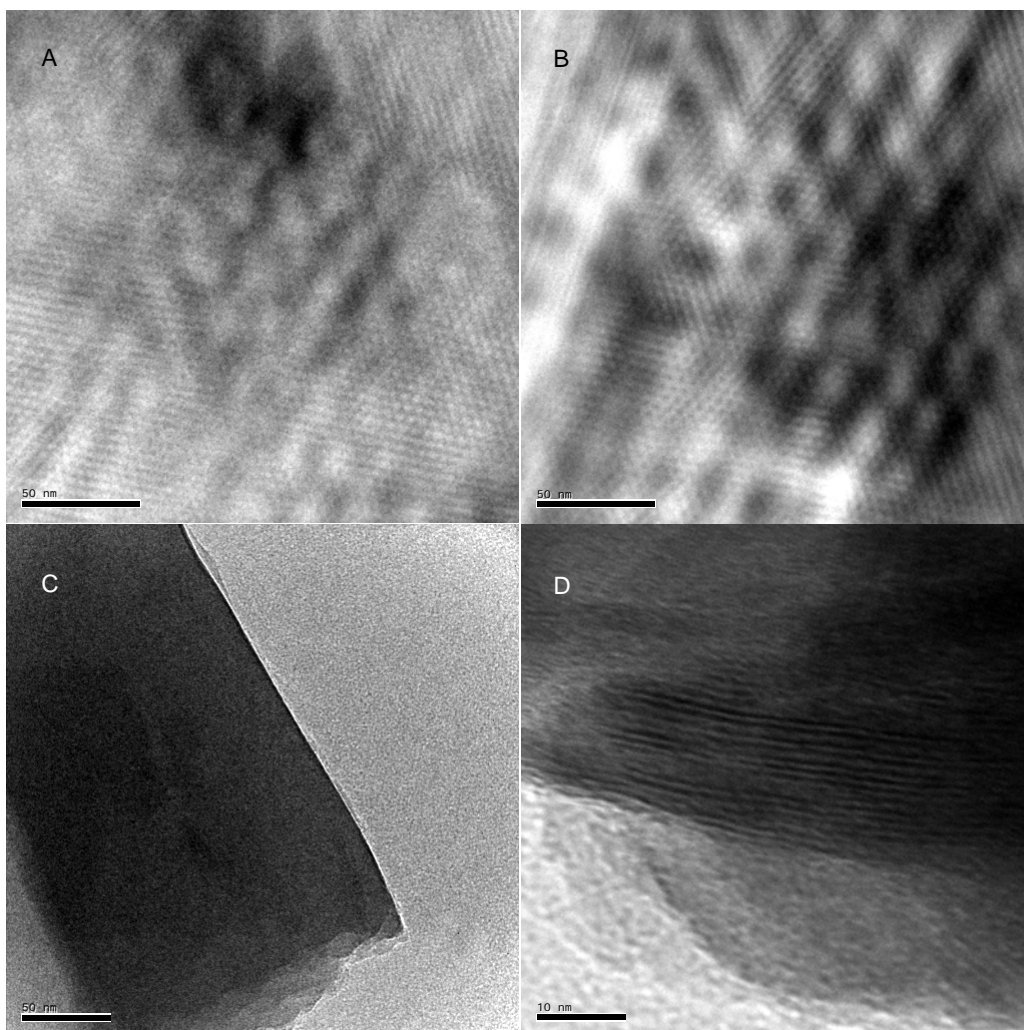


Figura 4.43.: Imágenes de TEM para algunos fragmentos de una muestra de Sonogel-Carbono fabricado con grafito UF.

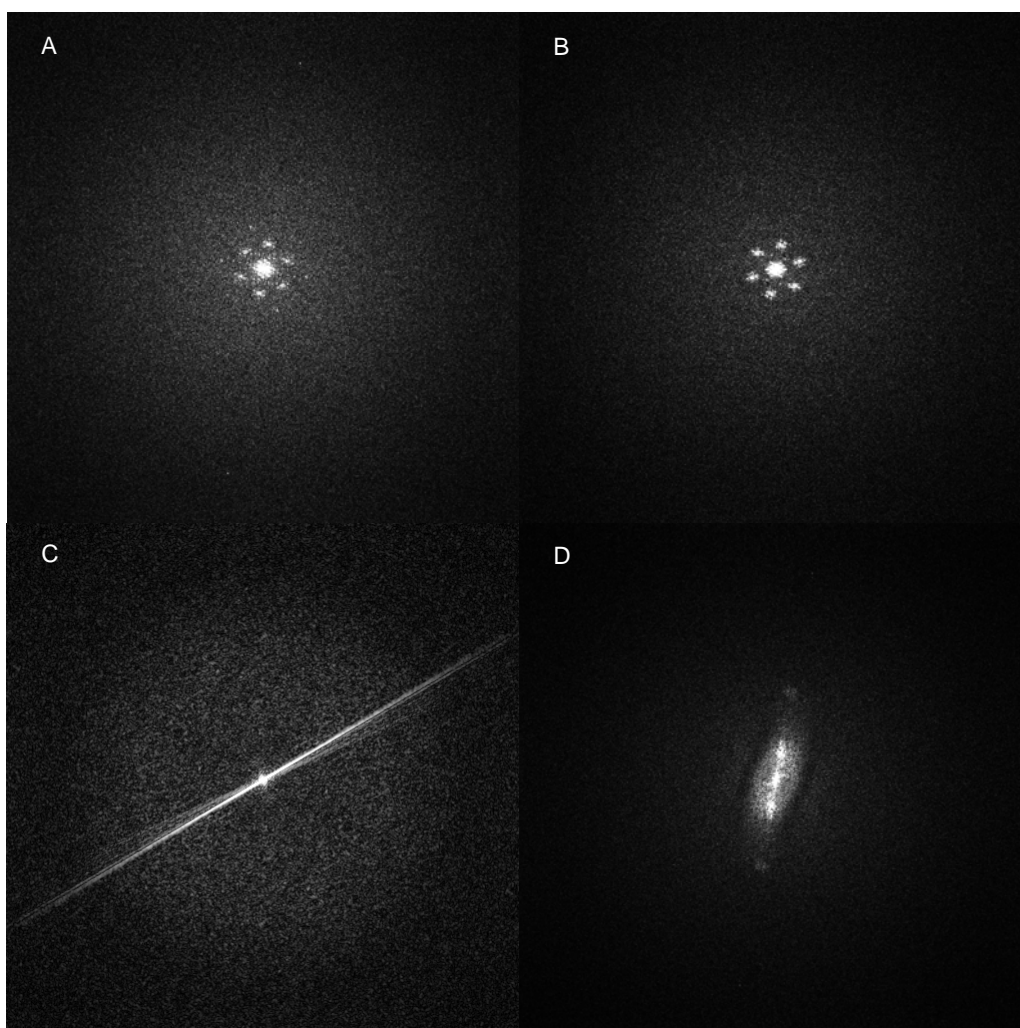


Figura 4.44.: Diagramas de difracción de diferentes puntos de la muestra de Sonogel-Carbono fabricado con grafito UF, correspondientes a las imágenes de la figura anterior.

En la **Figura 4.42.**, pueden verse las imágenes obtenidas para una zona de la muestra que se bajó al microscopio. En ellas puede observarse una estructura laminar de la muestra, típica de grafito. Además los espaciados, aproximadamente 3 Anstrongs, son similares a los obtenidos en difracción de rayos X (ver **Figura**

4.35.) Esto era de esperar, puesto que nuestro material posee un alto porcentaje de grafito. A la vez que se tomaban imágenes se realizaron espectros de EDS, llevando a cabo un microanálisis de la muestra. En todos los casos, el microanálisis reveló la presencia de carbono, silicio y oxígeno. El silicio y el oxígeno forman parte de la red de silano, que es la que forma el Sonogel, y el carbono es el modificante masivo de la misma.

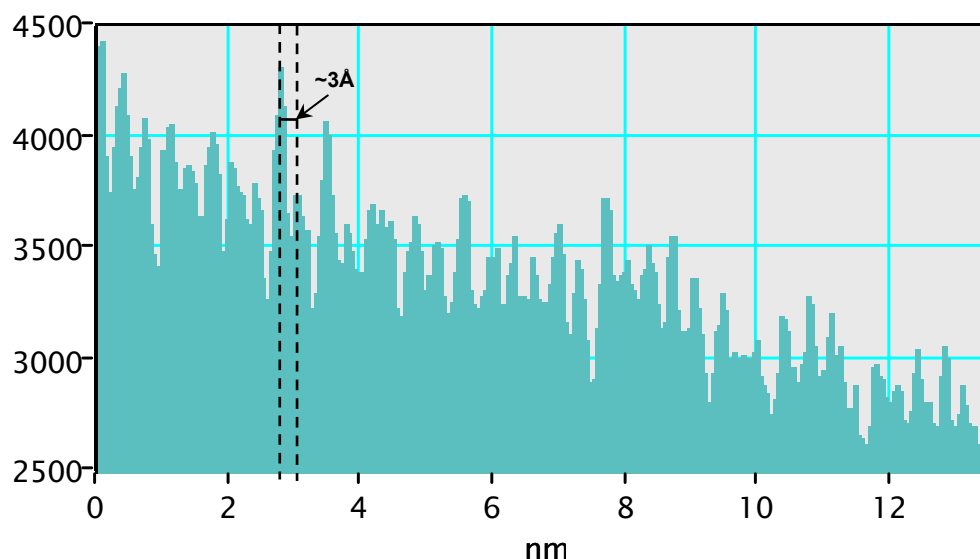


Figura 4.45.: Espaciados entre capas de la muestra de Sonogel-Carbono fabricada con grafito UF.

En la **Figura 4.43.**, se presentan imágenes de TEM, obtenidas de otros fragmentos de la misma muestra. Como se observa a simple vista, la estructura es significativamente diferente. En dicha figura, puede observarse una estructura que podría corresponder a un sólido mesoporoso. Vemos como ya no se ven con total claridad las cadenas atómicas que si podían ser observadas en las imágenes de la figura anterior. Ya no tenemos únicamente la disposición laminar característica del grafito.

Vemos además como los diagramas de difracción correspondientes a las imágenes también han cambiado, pasando de patrones de difracción típicos de estructuras laminares, a presentar un patrón de estructura hexagonal, en las imágenes A) y B) de la **Figura 4.43**. En el caso de la imagen **Figura 4.43. C)**, la partícula recogida en la imagen, presenta un patrón de difracción que podría corresponder a un sólido amorfo, mientras que la **Figura 4.43. D)** presenta un patrón de difracción similar al de las imágenes de la **Figura 4.42**.

Hay que señalar también que en las imágenes B) y C) de la **Figura 4.43.**, el microanálisis reveló un alto contenido en silicio, principal componente de la red de silano que forma el Sonogel, superando, ampliamente, los porcentajes obtenidos, para dicho elemento, en los microanálisis del resto de partículas de la muestra analizados.

Estos resultados, junto con los obtenidos en Difracción de Rayos X nos hacen pensar en la posibilidad de que el material Sonogel-Carbono sea cristalino, frente al Sonogel y Sonogel-PEG que son amorfos.

No se han bajado muestras de Sonogel al TEM ya que en difracción no se aprecia cristalinidad y los resultados que obtendríamos en TEM no aportarían información nueva al respecto.



**Capítulo V: Materiales Sonogel-Carbono-1-furoil-
tiourea Modificados**

5. Electroodos Sonogel-Carbono-1-furoiltiureas.

5.1. Electroodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea.

5.1.1. Proceso de fabricación de los electrodos.

En este capítulo, vamos a introducir, como modificante de nuestros materiales Sonogel-Carbono, tioureas, más concretamente 1-furoiltiureas. Su utilidad en la química analítica ha sido ya reseñada en la introducción de esta memoria, y han sido descritas en la bibliografía como modificantes para el análisis y determinación selectiva de metales como Cd(II), Pb(II), Hg(II), Cu(II) y Zn(II).

El estudio que aquí se describe es una primera aproximación al empleo de 1-furoiltiureas en electrodos Sonogel-Carbono, dado los buenos resultados que se habían obtenido con el empleo de estos compuestos como modificantes de pasta de carbono. Por ello se realizó este estudio con una de las tioureas, la **1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea**, ya que esta tiourea fue la que mejores resultados ofreció en los electrodos de pasta de carbono [134]; por la misma experiencia previa se escogió Cd(II) como analito, y se partieron de las variables optimizadas en pasta de carbono, realizando pequeñas modificaciones para comprobar su idoneidad.

Se fabricaron por tanto materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea empleando la misma secuencia descrita el Capítulo II de la presente memoria. Se introdujeron diferentes cantidades de la tioureas, y para la fabricación de los materiales, y consecuentemente de los electrodos, se utilizó el grafito UF, ya que es el que mejor comportamiento electroquímico y mecánico había presentado en los estudios anteriores. (GRAPHITE POWDER, NATURAL, HIGH PURITY, -200 MESH, 99,9999% (METAL BASIS)).

Las cantidades de tiourea, en porcentaje en peso respecto al total (grafito+tiourea) que se probaron fueron, inicialmente, las siguientes: 15%, 20% y

25%. Las cantidades adicionadas por tanto fueron 75 mg, 100 mg y 125 mg de tiourea y 425 mg, 400 mg y 375 mg de grafito, respectivamente.

Las cantidades de tiourea añadidas no modificaban de manera sustancial la cantidad de modificante masivo, añadido sobre la fase sonosol de nuestros materiales. El aspecto obtenido después de la homogeneización del modificante (grafito + tiourea), era adecuado, similar a los obtenidos para materiales fabricados anteriormente con el mismo tipo de grafito. La gelificación se produjo de manera gradual, permitiendo el relleno de los electrodos y su compactación, no mostrando problemas para subir por los capilares, ni para quedar adherido a los mismos. En los tres casos, la etapa de secado se produjo sin problemas, dando lugar a tres materiales Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, que presentaban propiedades mecánicas similares a los materiales Sonogel-Carbono.

5.1.2. Voltamperometría diferencial de impulsos (DPV)

Se hicieron pruebas con voltamperometría diferencial de impulsos (DPV) con estos tres tipos de electrodos, realizando las medidas en reguladora universal Britton-Robinson de pH 4. Como analito se empleó Cd(II).

En la fase inicial de nuestro estudio electroquímico, y para las medidas con voltamperometría diferencial de impulsos, se fijó un potencial de acumulación de -1.2 V. El tiempo de acumulación elegido fue 300 segundos. Estos parámetros se habían fijado con anterioridad para electrodos de pasta de carbono modificada con la misma familia de tioureas. [134]. Otros parámetros electroquímicos fijados fueron la amplitud del impulso y la velocidad de barrido que se fijaron en 100 mV y 60 mV·s⁻¹ respectivamente.

- **Electrodos Sonoqel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea 15%**

Comenzamos el estudio con los electrodos que contenían un 15% en masa de tiourea. El primer barrido se realizó en el sentido de oxidación, en el rango de potenciales entre -1.2 V y 0.8 V, haciendo una etapa previa de preconcentración de 300 segundos a -1.2 V, en ausencia de analito para registrar un fondo.

En la **Figura 5.1** se muestran tres barridos consecutivos realizados en ausencia de analito con este tipo de electrodos. Se observa un incremento de la intensidad del fondo desde el primer barrido hasta el tercero. También vemos como en el primer barrido aparece un pequeño pico a 0 V que tiende a desaparecer en los barridos posteriores.

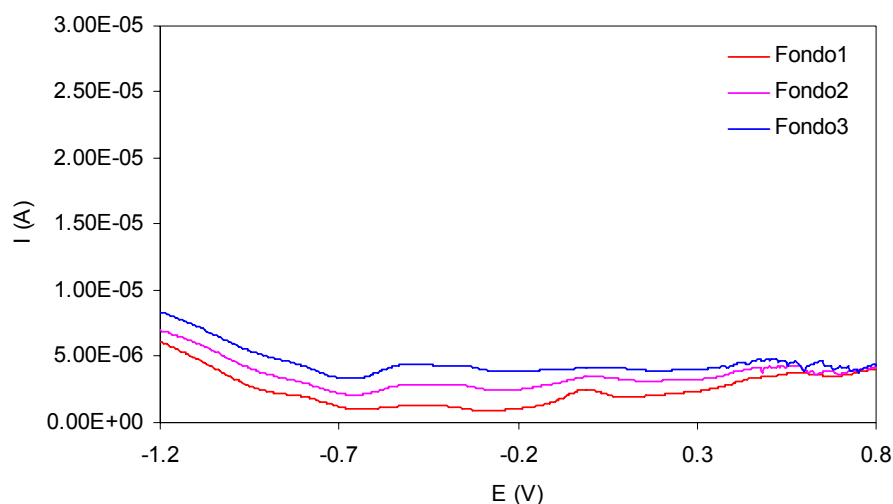


Figura 5.1: Primeros barridos en oxidación para el electrodo modificado 15% de tiourea.

Se realizaron después pruebas con el analito, Cd(II), añadiendo $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a la disolución reguladora en la celda de medida. Como puede apreciarse en la **Figura 5.2**, aparece un pico bien definido y aislado, en 0.76 V, que corresponde a

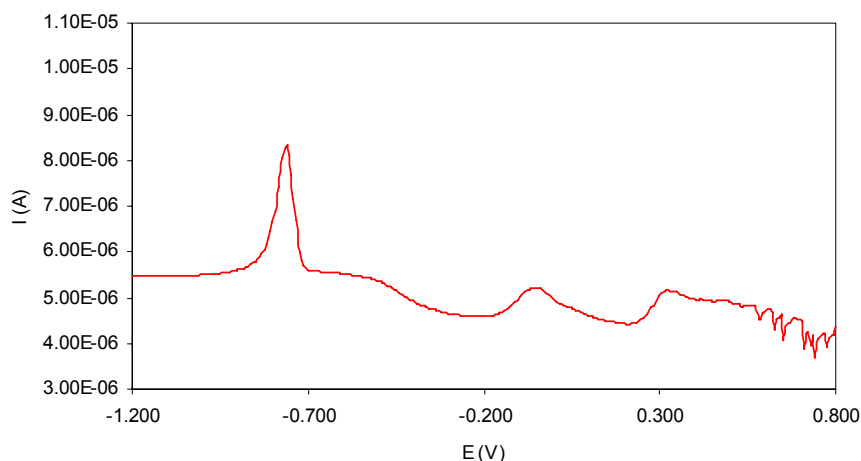


Figura 5.2: Señal obtenida para $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) con el electrodo modificado con 15% de tiourea.

Cd(II).

Se hicieron numerosos barridos con este electrodo, obteniendo una recta de calibrado para Cd(II), que se muestra más adelante, junto con las rectas obtenidas para los otros dos tipos de electrodos.

Se observó que, al hacer barridos en días consecutivos, la intensidad de los picos obtenidos disminuía para las mismas concentraciones. Esto nos llevó a pensar en posibles problemas físicos en la superficie del electrodo, tales como erosión o fracturas; sin embargo, las superficies no mostraban una variación tan importante como para que esto sucediera. El hecho de que las 1-furoiltioureas se hubieran empleado para la fabricación de electrodos selectivos nos hizo pensar en la posibilidad que se hiciera necesaria una etapa de activación del electrodo para su correcto funcionamiento. Así, empleando una alta concentración de analito en el medio, en el primer barrido de la jornada, las medidas que se realizaban posteriormente, con concentraciones más bajas, presentaba una intensidad similar a la presentada el primer día de uso del electrodo.

De esta forma se consiguió estabilizar los registros, y el material presentó un comportamiento estable y reproducible a lo largo de las medidas, evitando los problemas surgidos.

- **Electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea 20%**

El primer barrido, al igual que en el caso anterior, se realizó en el sentido de oxidación, en el rango de potenciales entre -1.2 V y 0.8 V, haciendo una etapa previa de preconcentración de 300 segundos a -1.2 V, en ausencia de analito para registrar un fondo.

En la **Figura 5.3** se muestran tres barridos consecutivos realizados en ausencia de analito con este tipo de electrodos. Se observa un cambio en la forma y en la intensidad del fondo entre el primer barrido y el segundo y tercer barrido. Puede observarse también como en el primer barrido aparece un pico a 0.3V que puede deberse a la tiourea. En este caso, al aumentar el porcentaje de modificación en el material, es posible que este pico sea más visible.

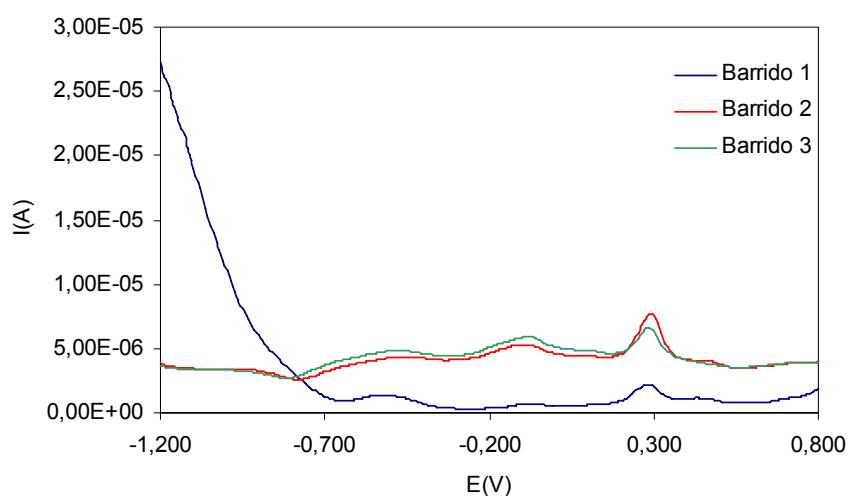


Figura 5.3: Primeros barridos en oxidación para el electrodo modificado con 20% de tiourea.

A continuación se realizaron medidas en presencia de analito, $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II). En la **Figura 5.4** vemos como el pico obtenido está también bien definido y aparece sobre 0.75V . No se produce interferencia con el pico observado en el fondo, ya que además de que aparecía a potenciales más positivos, este pico no aparece en presencia del analito. En esta ocasión vemos también que el pico obtenido es de mayor intensidad que el obtenido para el electrodo modificado al 15%.

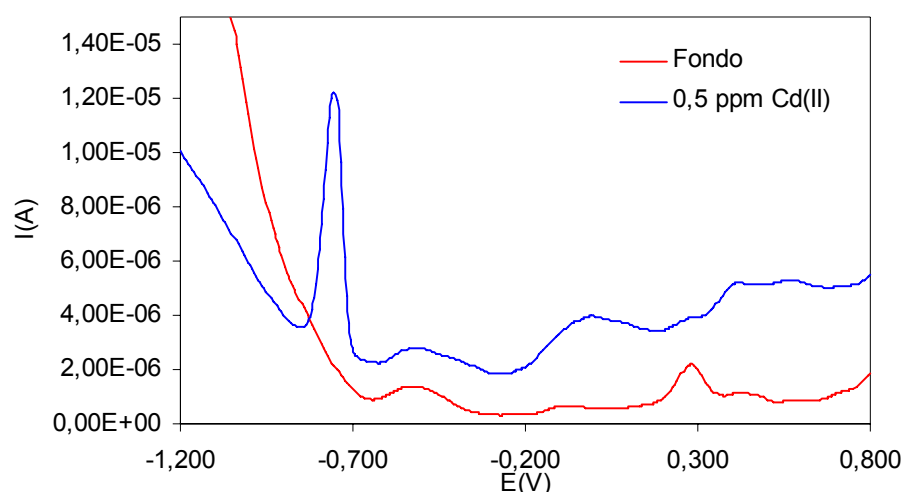


Figura 5.4: Barrido en oxidación en presencia de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y fondo.

En este tipo de electrodos se observó el mismo comportamiento que en el caso anterior. Pero aquí además se observaba una mayor fragilidad de los electrodos. Esto podía deberse al mayor porcentaje de modificación. Aunque presentaba mejores resultados, en cuanto a intensidades de pico, también presentaba una vida activa menor, siendo necesaria la sustitución de los electrodos por otros nuevos, después de dos o tres jornadas de trabajo. A pesar de esto, la reproducibilidad era bastante buena, llegando a obtener resultados muy similares

con diferentes electrodos de este tipo. También en este caso era necesario hacer un “dopado” o “activación”, como el que se ha descrito para el anterior.

- **Electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea 25%**

Se realizaron de nuevo barridos consecutivos en oxidación, en el rango de potenciales entre -1.2 V y 0.8 V, haciendo una etapa previa de preconcentración de 300 segundos a -1.2 V, en ausencia de analito para registrar un fondo.

En la **Figura 5.5** se muestran tres barridos consecutivos realizados en ausencia de analito con este tipo de electrodos. Vuelve a observarse un cambio en la forma y en la intensidad del fondo entre el primer barrido y el segundo y tercer barrido. También se observa un pico a 0.3V que, como se ha comentado en el caso anterior, puede deberse a la tiourea. En este caso, el porcentaje de modificación es el mayor de los tres, lo que explicaría la posible presencia de un pico correspondiente al modificante en el material.

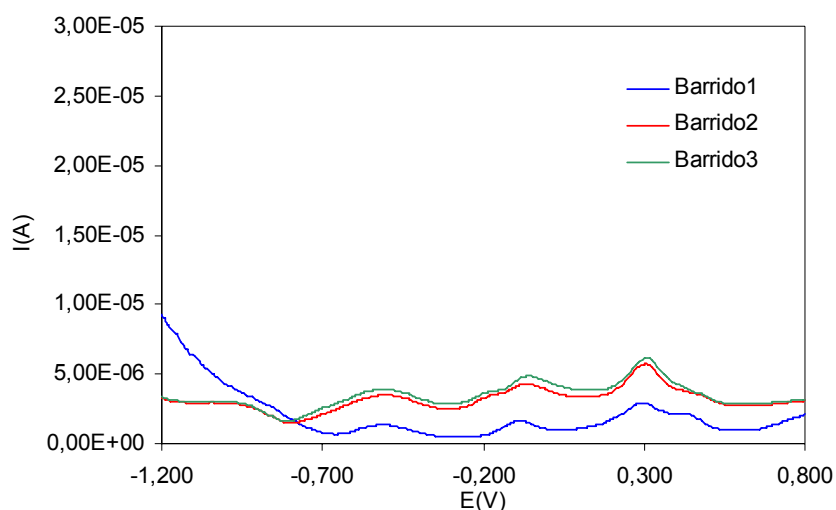


Figura 5.5: Primeros barridos en oxidación para el electrodo modificado con 25% de tiourea.

A continuación se realizaron medidas en presencia de analito, $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II). En la **Figura 5.6** vemos como el pico obtenido está también bien definido y aparece sobre 0.75V . El pico obtenido presenta una intensidad bastante menor respecto al anterior y está peor definido.

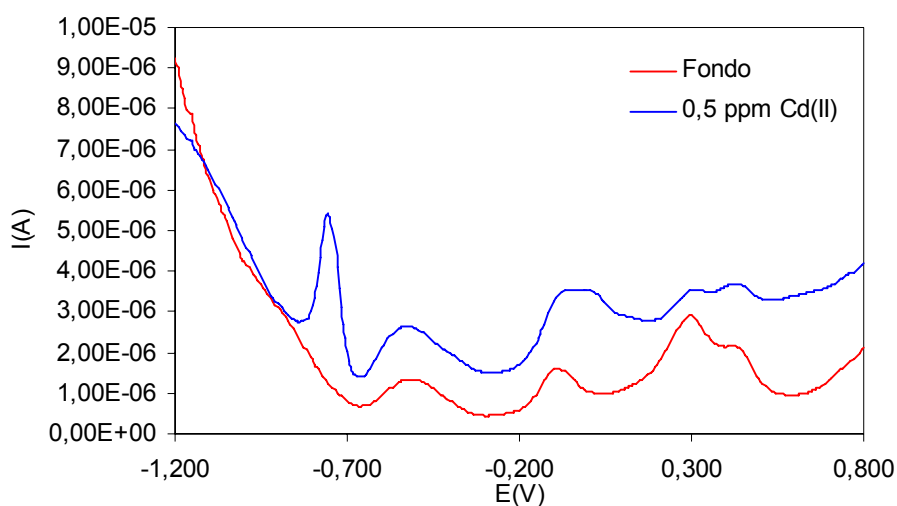


Figura 5.6: Barrido en oxidación en presencia de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y fondo.

Estos electrodos presentaban una problemática mayor en cuanto a la estabilidad de las medidas. Al igual que los anteriores, se hacía necesario un “dopado” o “activación” del electrodo al comienzo de cada jornada.

5.1.2.1. Rectas de Calibrado

Una vez que obtuvimos señales reproducibles para los tres tipos de electrodos, procedimos a realizar una curva de calibrado para Cd(II).

Comenzamos con el electrodo fabricado con 15% de tiourea.

Recta de Calibrado del Cd(II) con el electrodo modificado al 15% con 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea

Concentración en celda de la especie (mg·L ⁻¹)	I _p (μA)
0.5	2.640
0.25	1.344
0.1	0.436
0.05	0.275
0.01	0.042

Resultados de ajuste de la recta I= a+b·C

- Ecuación de la recta (I=a+b·X)

$$I(\mu A) = -0.0245 (\mu A) + 5.3401 (\mu A \cdot l \cdot mg^{-1}) \cdot C (mg \cdot l^{-1})$$

- Coeficiente de correlación, r 0.9983

Límite de detección (n=5)

- Función $S_{y=x} = S_{blanco}$ 0.081
- Ordenada en el origen, I_{blanco} -0.0245
- Pendiente, b 5.3401
- $I_{LD} = I_{blanco} + 3 \cdot S_{blanco}$ 0.26814
- $LD = (I_{LD} - I_{blanco}) / b$ 0.046 mg·L⁻¹

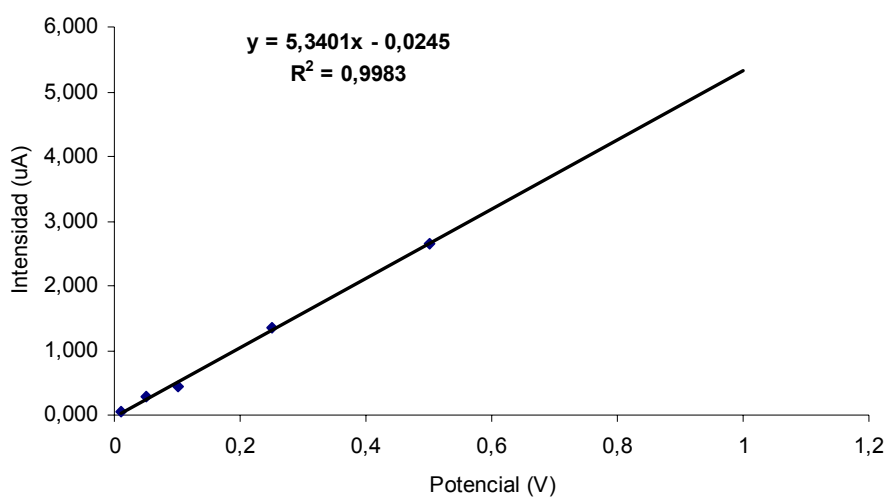


Figura 5.7: Recta de calibrado del Cd(II) para el rango de concentraciones 0.5-0.01 mg·L⁻¹, realizada con electrodo modificado al 15% con tiourea.

Recta de Calibrado del Cd(II) con el electrodo modificado al 20% con 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea

Concentración en celda de la especie (mg·L ⁻¹)	I _p (µA)
0.5	9.654
0.25	3.695
0.1	0.998
0.05	0.274
0.01	0.134

Resultados de ajuste de la recta I= a+b·C

- Ecuación de la recta (I=a+b·X)

$$I(\mu A) = -0.6782 (\mu A) + 19.941 (\mu A \cdot l \cdot mg^{-1}) \cdot C (mg \cdot L^{-1})$$

Recta de Calibrado del Cd(II) con el electrodo modificado al 25% con 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea

Concentración en celda de la especie ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	I_p (μA)
0.5	4.316
0.25	1.377
0.1	0.483
0.05	0.254
0.01	0.046

Resultados de ajuste de la recta $I = a + b \cdot C$

- Ecuación de la recta ($I = a + b \cdot X$)

$$I(\mu\text{A}) = -0.2855 (\mu\text{A}) + 8.6851 (\mu\text{A}\cdot\text{l}\cdot\text{mg}^{-1})\cdot C (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$$

- Coeficiente de correlación, r 0.9673

Límite de detección (n=5)

- Función $s_{y=x} = s_{\text{blanco}}$ 0.368
- Ordenada en el origen, I_{blanco} -0.2855
- Pendiente, b 8,6851
- $I_{\text{LD}} = I_{\text{blanco}} + 3 \cdot s_{\text{blanco}}$ 0.8193
- $\text{LD} = (I_{\text{LD}} - I_{\text{blanco}}) / b$ 0.127 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

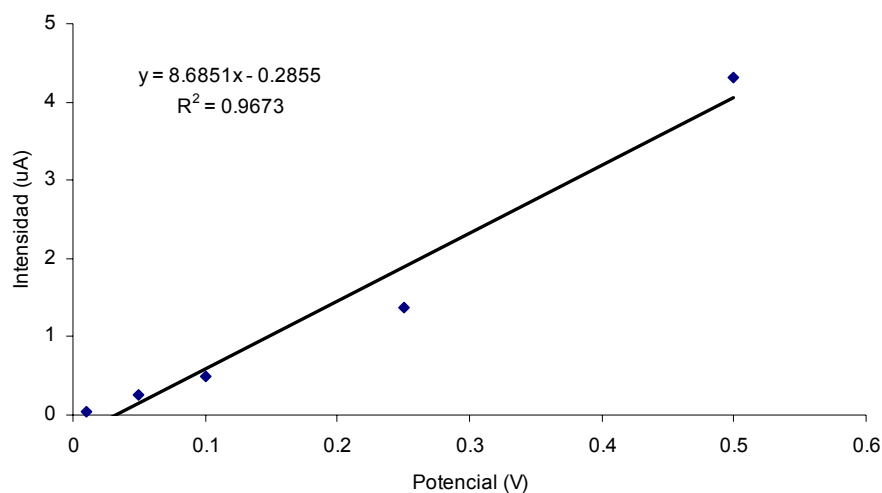


Figura 5.9: Recta de calibrado del Cd(II) para el rango de concentraciones 0.5-0.01 mg·L⁻¹, realizada con electrodo modificado al 25% con tiourea.

De los resultados obtenidos en las rectas de calibrado podemos sacar varias conclusiones: la primera, que el electrodo que mejores resultados ofrece, en cuanto a intensidad se refiere, es el electrodo Sonogel-Carbono modificado con el 20% de tiourea; la segunda, es necesario mejorar los límites de detección de los electrodos, puesto que en ninguno de los tres casos se han podido medir concentraciones por debajo de 0.01 mg·L⁻¹; la tercera, y quizá la más importante, es necesario mejorar la vida media de los electrodos, ya que ha resultado difícil obtener buenos resultados a lo largo de las jornadas de trabajo, puesto que los electrodos dejaban de funcionar bien a los pocos días, dando problemas en los fondos y en las medidas.

Para mejorar todas estas cosas, se optó por modificar la forma de fabricar los materiales que sirven de base a los electrodos. Tomamos como punto de partida la modificación al 20%, que era, de las tres, la que mejores intensidades de pico mostraba, y por lo tanto la mejor candidata para obtener señales a concentraciones menores de las ya probadas.

Con el fin de economizar reactivos, y visto que era posible que tuviéramos que fabricación de un número considerable de materiales Sonogel-Carbono modificados, hasta encontrar uno que funcionase bien, se optó por reducir a la mitad la cantidad de reactivos del proceso y modificar la energía suministrada por la sonda de ultrasonidos, para que el proceso catalítico se llevara a cabo en las mismas condiciones. Esto ya había sido probado con anterioridad en nuestro grupo, obteniendo óptimos resultados, idénticos a los casos donde se usaban las cantidades totales de reactivos.

La modificación introducida en el proceso de fabricación fue mantener constante la cantidad de grafito, en 250 mg, añadiendo 50 mg de la tiourea, que serían los correspondientes al 20% de modificación en peso de grafito.

El sonosol obtenido, después de la homogeneización con el grafito y la tiourea, presentaba un aspecto similar a los obtenidos con anterioridad y la gelificación se produjo de manera adecuada, no mostrando grandes problemas a la hora de rellenar los capilares para obtener los electrodos.

Las propiedades mecánicas mostradas por este material eran bastante buenas, mejores que las obtenidas para los materiales anteriores modificados con tioureas.

Se procedió, una vez transcurrida la etapa de secado de los electrodos a su pulido y preparación para las medidas. Se realizaron barridos en oxidación en el rango de potenciales $-1.2V - 0.8V$, en reguladora Britton-Robinson $pH = 4$.

Se procedió posteriormente a realizar una recta de calibrado, en las mismas condiciones en las que se habían realizado las anteriores, obteniendo los siguientes resultados:

Recta de Calibrado del Cd(II) con el electrodo modificado al 20% con tiourea (250 mg de grafito + 50 mg de 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea)

Concentración en celda de la especie (mg·L ⁻¹)	I _p (μA)
0.5	4.605
0.25	2.311
0.1	0.797
0.05	0.281
0.01	0.132
0.005	0.123
0.001	0.105

Resultados de ajuste de la recta I= a+b·C

- Ecuación de la recta (I=a+b·X)

$$I(\mu\text{A}) = -0.0069 (\mu\text{A}) + 9.1730 (\mu\text{A}\cdot\text{l}\cdot\text{mg}^{-1})\cdot C (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$$

- Coeficiente de correlación, r 0.9964

Límite de detección (n=7)

- Función $S_{y=x}=S_{\text{blanco}}$ 0.103
- Ordenada en el origen, I_{blanco} -0.0069
- Pendiente, b 9.1730
- $I_{LD}= I_{\text{blanco}} + 3\cdot S_{\text{blanco}}$ 0.3007

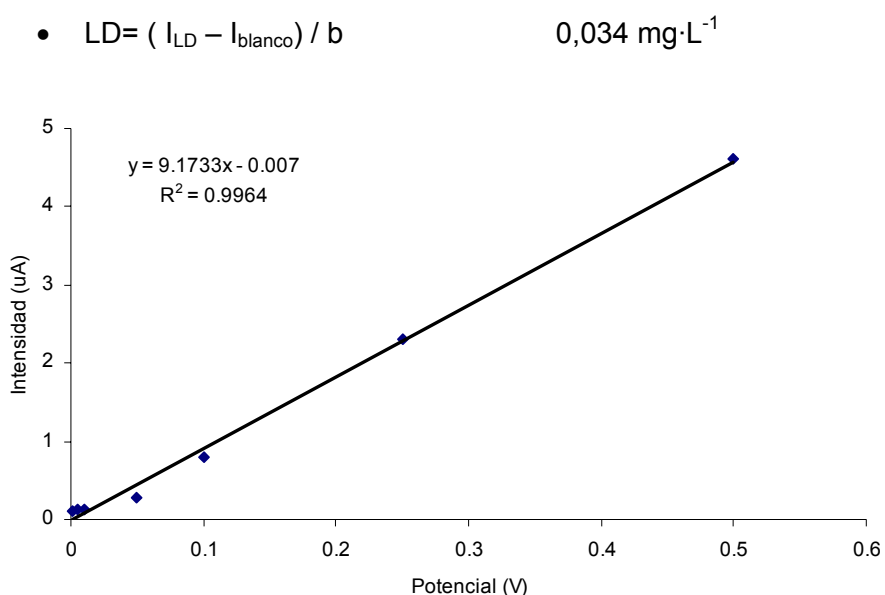


Figura 5.10.: Recta de calibrado del Cd(II) para el rango de concentraciones 0.5-0.001 mg·L⁻¹, realizada con electrodo modificado al 20% con tiourea.

En este caso pudimos bajar la concentración hasta 0.001 mg·L⁻¹, obteniendo medidas reproducibles y con picos pequeños, pero definidos. Podemos observar que las intensidades obtenidas para las concentraciones más altas son menores que las que obteníamos en el caso anterior, con el material con el 20% de modificación, pero por el contrario mejoran otros aspectos, como la vida media de los electrodos y los límites de detección.

Decidimos probar otras proporciones de modificante, cercanas al 20%, con el fin de afinar un poco más. Seguimos añadiendo una cantidad fija de grafito, puesto que parece que mejoraba sustancialmente las características y cualidades de nuestros electrodos. Así se probaron un 18% y un 22%, que se traducen en 45 mg y 55 mg de tiourea respectivamente, frente 250 mg de grafito.

La fase sonosol que se obtuvo para ambos casos presentaba una apariencia similar a la modificación del 20%, bastante compacta y no presentando problemas en la fase de relleno de los capilares para la fabricación de los electrodos. La fase de secado se produjo de forma adecuada, obteniendo materiales con las propiedades mecánicas adecuadas. Para probar los electrodos, seguimos el mismo procedimiento que hemos seguido para las modificaciones anteriores, es decir, realizar una recta de calibrado con Cd(II) como analito, en las mismas condiciones descritas anteriormente.

Recta de Calibrado del Cd(II) con el electrodo modificado al 18% con tiourea (250 mg de grafito + 45 mg de 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea)

Concentración en celda de la especie (mg·L ⁻¹)	I _p (μA)
0.5	7.405
0.25	3.985
0.1	1.159
0.05	0.623
0.01	0.142
0.005	0.067
0.001	0.039

Resultados de ajuste de la recta I= a+b·C

- Ecuación de la recta (I=a+b·X)

$$I(\mu\text{A}) = 0.0259 (\mu\text{A}) + 11.4477 (\mu\text{A}\cdot\text{l}\cdot\text{mg}^{-1})\cdot\text{C} (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$$

- Coeficiente de correlación, r 0.9989

Límite de detección (n=5)

- Función $s_{y=x}=s_{\text{blanco}}$ 0.018
- Ordenada en el origen, I_{blanco} 0.0259
- Pendiente, b 11.4477
- $I_{LD}= I_{\text{blanco}} + 3 \cdot s_{\text{blanco}}$ 0.08095
- $LD= (I_{LD} - I_{\text{blanco}}) / b$ 0.005 mg·L⁻¹

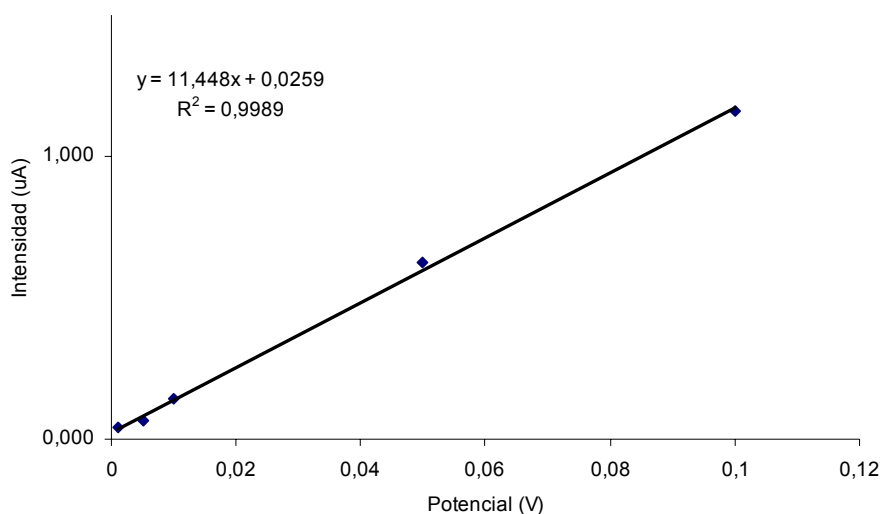


Figura 5.11.: Recta de calibrado del Cd(II) para el rango de concentraciones 0.1-0.001 mg·L⁻¹, realizada con electrodo modificado al 18% con tiourea.

Como puede apreciarse, los resultados obtenidos con este tipo de electrodos han mejorado sustancialmente, rebajando el límite de detección a una décima parte que los obtenidos con los electrodos anteriores.

Al hacer la recta de calibrado para este electrodo se obtienen un tramo lineal, que corresponde a los valores de concentración más bajos, curvándose a medida que aumentamos la concentración de Cd(II) en la celda de medida, como puede verse en la **Figura 5.12**. A la hora de determinar el límite de detección se ha empleado solo el tramo correspondiente a los valores más bajos de concentración, es decir el tramo lineal, que era el más adecuado para dicho cálculo.

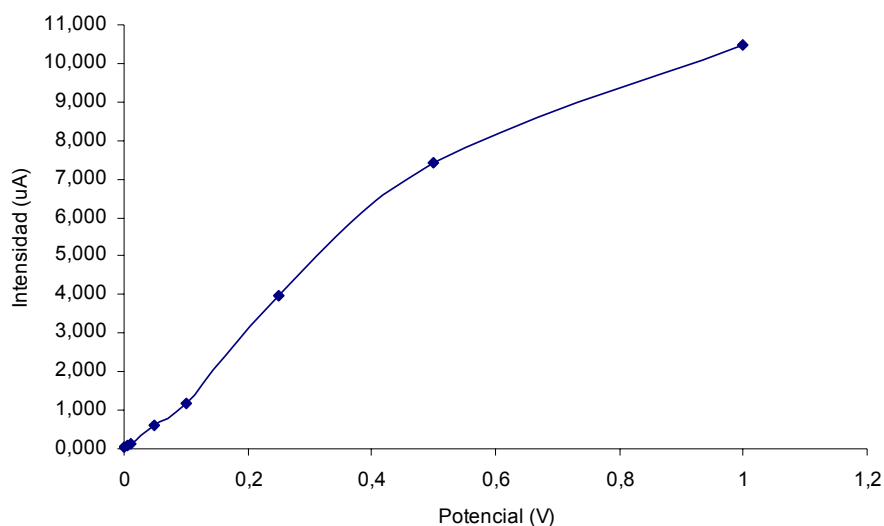


Figura 5.12.: Recta de calibrado del Cd(II) para el rango de concentraciones $1 - 0.001 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, realizada con electrodo modificado al 18% con tiourea.

Con respecto a los electrodos modificados con el 22%, no pudimos obtener datos estables para las medidas de Cd(II), perdiendo la señal al disminuir la concentración. Los datos obtenidos, a concentraciones altas, eran muy similares a los obtenidos con los electrodos modificados al 18%.

A la vista de los resultados obtenidos para cada una de las modificaciones estudiadas, se decidió elegir la modificación al 18% de 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, para proseguir con los estudios electroquímicos.

5.1.2.2. Estudio de la influencia del pH.

El primer parámetro electroquímico que se evaluó fue la influencia del pH de la disolución reguladora.

En la elaboración de las rectas de calibrado, se empleó una reguladora Britton-Robinson de pH 4. Esta reguladora es la que se ha empleado en el grupo desde el comienzo del trabajo con electrodos Sonogel-Carbono, dando siempre muy buenos resultados a pH 4.

El estudio se llevó a cabo con un electrodo Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, al 18%, añadiendo, en la celda de medida, $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II). Se varió el pH de la disolución reguladora sin variar la concentración de la misma, con ayuda de hidróxido sódico, sólido. Los valores de pH estudiados fueron: 3, 3.5, 4, 4.5 y 5.

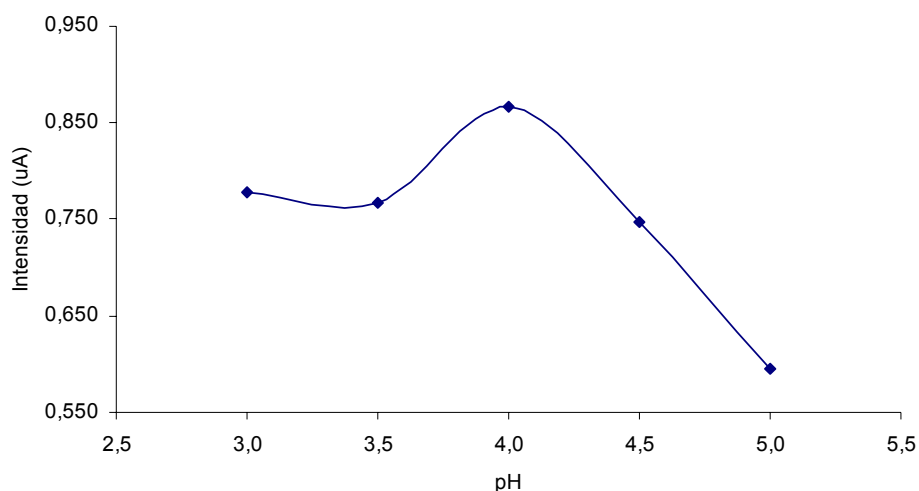


Figura 5.13.: Estudio de la influencia del pH de la disolución reguladora en las medidas con electrodo modificado al 18% con tiourea.

En la **Figura 5.13.** puede verse la tendencia de las intensidades de pico obtenidas para cada uno de los pH probados. Se observa como, a pH 3 y pH 3.5 no hay prácticamente variación, produciéndose un notable aumento de la intensidad de pico a pH 4. A partir de este punto, al aumentar el pH se produce un descenso acusado de la intensidad de la señal de Cd(II).

A la vista de la figura, podemos concluir que el pH óptimo para las medidas con este tipo de electrodos es pH 4.

5.1.2.3. Estudio de la influencia del potencial de acumulación.

Una vez que hemos fijado el pH de la disolución reguladora que sirve de medio de medida, pasamos al estudio del potencial de acumulación.

Como ya se ha referido en apartados anteriores, el potencial de acumulación al que se han realizado las rectas de calibrado era el fijado para electrodos de pasta de carbono modificados con la 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, que se encuentra recogido en la bibliografía [134] y que era -1.2 V.

Conociendo el potencial de la reducción de Cd(II) y el valor óptimo de acumulación para pasta de carbono, se procedió a modificar los potenciales de acumulación fijando valores de -1.0 V, -1.2 V y -1.3 V, con adición de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) en la celda de medida.

En la **Figura 5.14.** se recogen los resultados obtenidos, y puede observarse como aparece un máximo de intensidad cuando el potencial de acumulación empleado es -1.2 V.

Podemos concluir que el potencial de acumulación óptimo para las medidas de Cd(II) con el electrodo Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, es -1.2 V

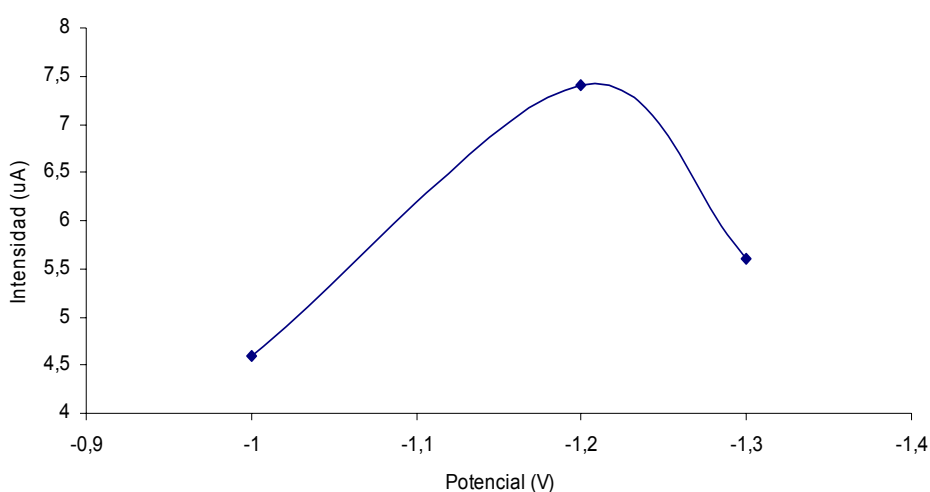


Figura 5.14.: Estudio de la influencia del potencial de acumulación en las medidas con electrodo modificado al 18% con tiourea.

5.1.2.4. Estudio de la influencia del tiempo de acumulación.

Fijadas las variables anteriores, se procedió a continuación a llevar a cabo el estudio del tiempo de acumulación. En los estudios anteriores hemos empleado 300 s como tiempo de acumulación. En trabajos previos en nuestro grupo de investigación, en los que se trabajaba con electrodos de pasta de carbono modificados con la misma tiourea, se obtuvo un ligero aumento de la intensidad de los picos al aumentar el tiempo de acumulación de los electrodos, hasta 600 segundos.

Para realizar el estudio se varió el tiempo de acumulación entre 300 y 700 segundos, tomando los valores 300 s, 450 s, 600 s y 700 s. En la **Figura 5.15** se recogen los datos obtenidos para $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II).

De la figura se desprende que hay una ligera mejoría de la intensidad de pico cuando se incrementa el tiempo de acumulación hasta 600 segundos.

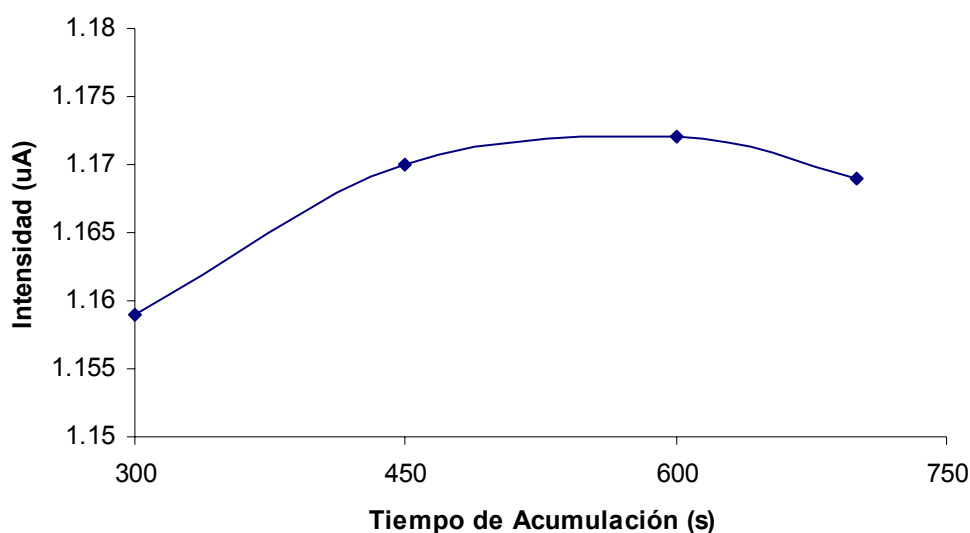


Figura 5.15.: Estudio de la influencia del tiempo de acumulación en las medidas del electrodo modificado al 18% con tiourea.

5.1.2.5. Estudio de la amplitud del impulso.

Una vez fijados los parámetros: potencial de acumulación, tiempo de acumulación y fijado el pH de la disolución, pasamos al estudio del efecto de la amplitud del impulso.

Variamos los valores entre 75 mV y 150 mV. Los valores elegidos fueron 75, 100, 125 y 150 mV. En la **Figura 5.16.** se recogen los resultados obtenidos.

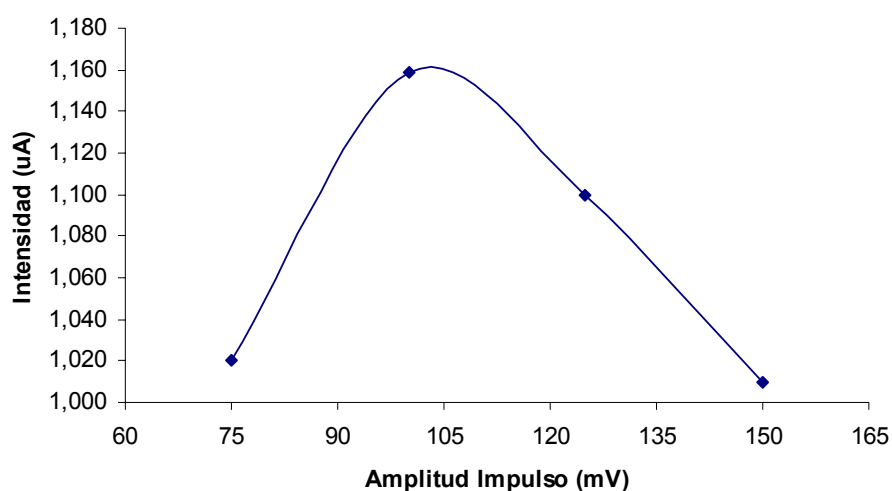


Figura 5.16.: Estudio de la influencia de la amplitud del impulso en las medidas del electrodo modificado al 18% con tiourea.

Vemos como el valor de amplitud que ofrece mejor respuesta en intensidad de pico es 100 mV, que es el que se ha venido utilizando en el estudio previo.

5.1.2.6. Interferencias.

En el estudio de interferencias, se realizaron mezclas de Cd(II) con cantidades 10 veces superiores de los siguientes iones: Pb(II), Cu (II), Zn (II) y Hg(II). Los resultados obtenidos fueron los siguientes.

En primer lugar se realizó la mezcla de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) con $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Pb(II). En la **Figura 5.17.** se muestran los voltamperogramas obtenidos, tanto para la mezcla de Cd(II) y Pb(II), como para Pb(II) solo. Se realizó este último debido a

que no se había estudiado la respuesta del electrodo Sonogel-Carbono frente al plomo como analito.

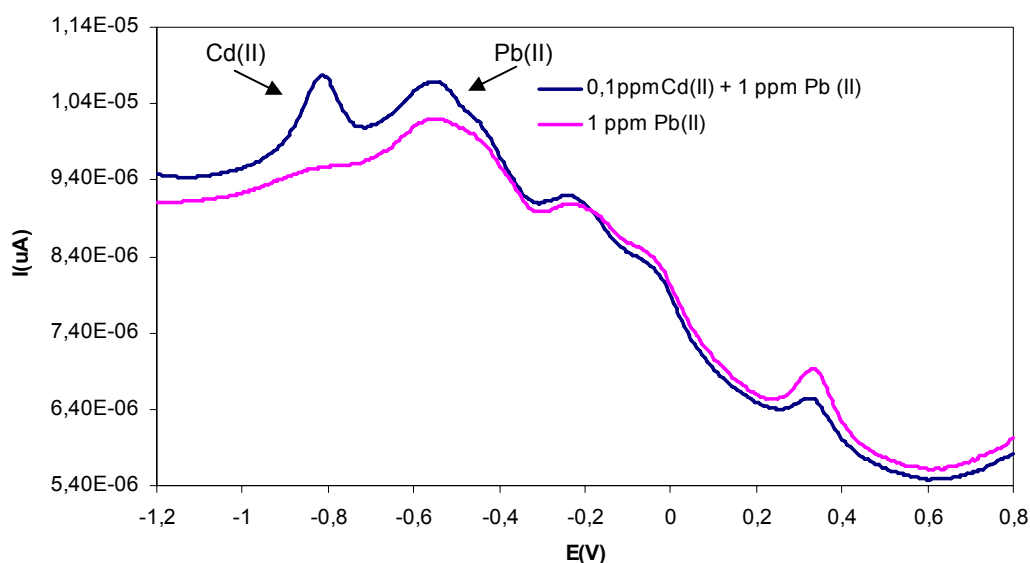


Figura 5.17.: Voltamperogramas obtenidos en el estudio de interferencias entre $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb(II) (azul) y $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Pb(II) (rosa).

La intensidad del pico de Cd(II) disminuye, pasando de $1,159 \mu\text{A}$ a $0,8733 \mu\text{A}$, en presencia de Pb(II), aunque sigue siendo visible. A la vista de los resultados obtenidos, podemos concluir que el Pb(II) va a interferir en el estudio de Cd(II) con el electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea.

Pasamos, a continuación, al estudio de una mezcla de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) con $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cu(II). En este caso, ya se habían realizado, con anterioridad en nuestro grupo de investigación, estudios de la respuesta de nuestros electrodos Sonogel-Carbono frente a cobre como analito, por lo que ya sabíamos que el electrodo daba respuesta frente a dicho ion. En la **Figura 5.18.** se muestran los resultados obtenidos. Como ocurría en el caso del Pb(II), la presencia de Cu(II) en el medio también hace disminuir la intensidad de la respuesta del ion Cd(II),

pasando de 1,159 μA a 0,734 μA . Además en este caso, el potencial al que aparece el pico se ve desplazado hacia potenciales menos negativos, pasando de -0,760V a -0.545V. Podemos concluir que el Cu(II) interfiere en el proceso de detección de Cd(II) con un electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea. Esto es debido a que estos iones metálicos, Pb(II) y Cu(II), compiten con el Cd(II) en la formación de complejos con las 1-furoiltiureas, dificultando la acumulación del Cd(II) y la formación de su complejo en la superficie del electrodo; así mismo hay que tener en cuenta el efecto de la formación de compuestos intermetálicos con el cobre [138].

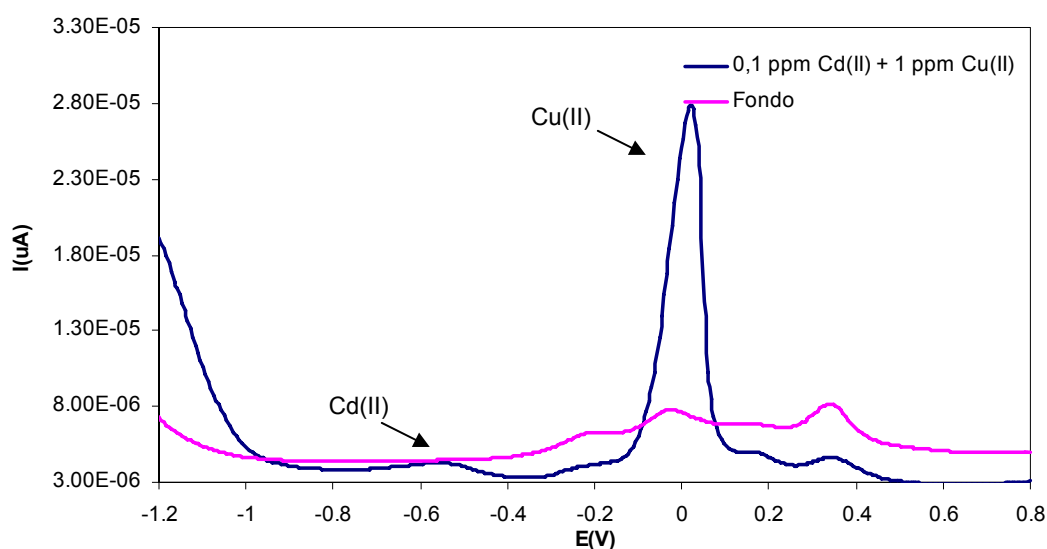


Figura 5.18.: Voltamperogramas de la mezcla de 0,1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cu(II) (azul) y fondo (rosa).

El siguiente ion estudiado fue el Hg(II). Se mezclaron 0,1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) con 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg(II). En la **Figura 5.19.** se muestran los voltamperogramas obtenidos tanto para la mezcla de ambos iones como para 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg(II), ya que al igual que en el caso del plomo, no se había probado con anterioridad la respuesta de los electrodos Sonogel-Carbono frente a este elemento.

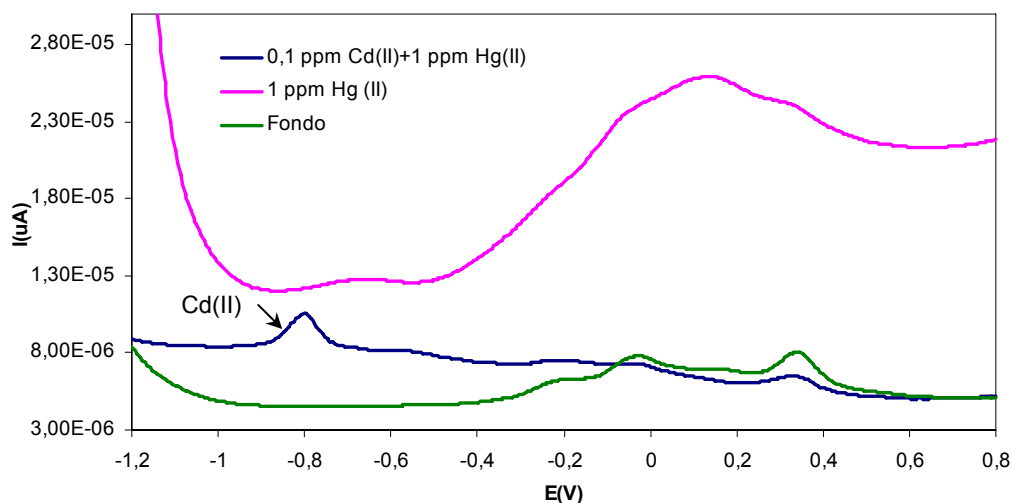


Figura 5.19.: Voltamperogramas de la mezcla de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg(II) (azul), voltamperograma para $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Hg (rosa) y fondo (verde).

En el caso del Hg(II), no presenta interferencias cuando medimos cadmio, ya que no afecta ni a la intensidad de pico, ni a su simetría y tampoco a la posición a la que aparece el mismo, pero si presenta un problema de contaminación del electrodo. Como es natural, todo el estudio se llevó a cabo con un mismo electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea, haciéndose notable el problema de contaminación del electrodo por mercurio cuando pasamos al siguiente ion en el estudio de interferencias, el Zn(II). (**Figura 5.20.**)

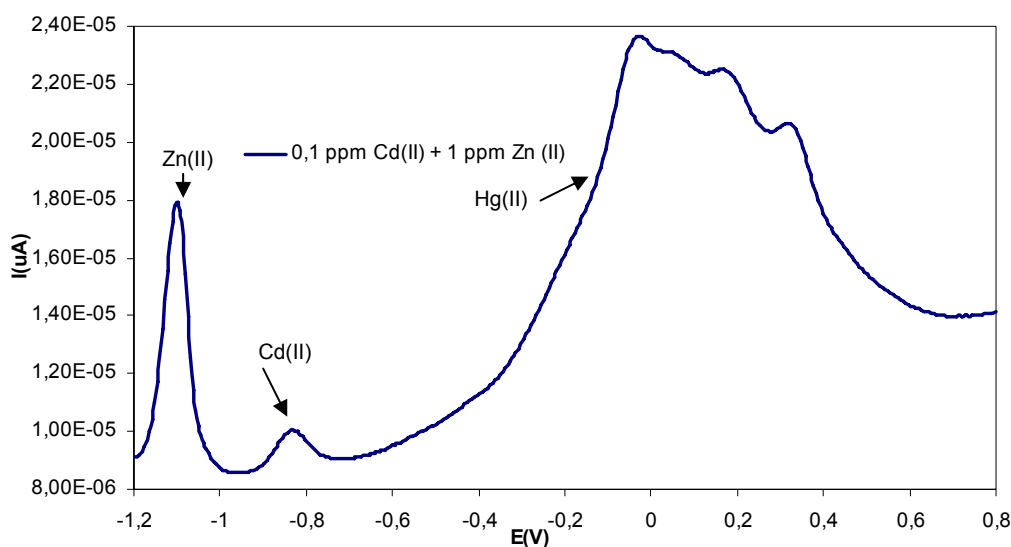


Figura 5.20.: Voltamperograma de la mezcla de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cd(II) y $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Zn(II).

Vemos que en este caso la contaminación con mercurio no afecta de manera importante la determinación de la mezcla, puesto que ambos iones dan respuesta a potenciales más negativos, pero si podría afectar a cualquier otra determinación, que quisiéramos llevar a cabo, de iones que diesen respuesta dentro del rango de potenciales incluidos entre -0,5 y 0,5 V.

La presencia de Zn(II) en el medio tampoco va a interferir en el estudio de Cd(II); no afecta ni en la intensidad, ni en la forma, ni en la posición del pico de Cd(II).

En principio los iones que interfieren en la señal del Cd(II) son los que cabría esperar, en base a las características de las señales electroquímicas del Pb(II) y del Cu(II). El primero de ellos presenta un potencial del pico muy próximo al del Cd(II), de forma que es difícil obtener dos señales independientes. En cuanto al cobre, como ya se ha comentado anteriormente, da lugar a la formación de compuestos intermetálicos con varios metales, entre ellos el Cd(II); la formación de estas especies suele dar lugar a una disminución de la señal de Cd(II), e incluso a su distorsión. Es llamativo que este hecho no se produzca en presencia del ion Hg(II), que forma complejos más estables con los derivados de la 1-furoiltiurea que los de Cd(II), en correspondencia con su mayor carácter de metal blando. [134]

5.2. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea: Microscopía electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS).

En este apartado abarcamos la caracterización estructural de los electrodos Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea. Nos basaremos para ello, en la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), ayudándonos de la Espectroscopía de

Energía Dispersiva de Rayos X (EDS) como técnica complementaria, como primera técnica del estudio estructural en este apartado de la presente memoria.

Se prepararon muestras con las tres 1-furoiltiureas que se han empleado en los estudios recogidos en la presente memoria: 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, 1-furoil-3-benciltiourea, 1-furoil-3-feniltiourea.

Muestra 1: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea,

Muestra 2: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea,

Muestra 3: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea.

Muestra 1: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea.

Las primeras imágenes corresponden al Sonogel que tenemos en los portamuestras, descritos en el apartado de fabricación de los diferentes sonogeles. Diferenciamos una cara externa, que, al igual que en las muestras recogidas en el capítulo IV, es la que ha estado en contacto con el ambiente del laboratorio durante la gelificación y el secado, y una cara interna, que es la que ha gelificado en contacto con el plástico del portamuestras.

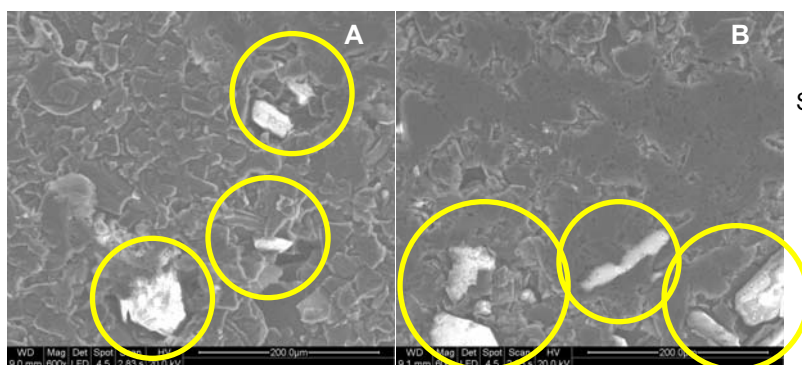


Figura 5.21.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, con grafito UF, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

En la **Figura 5.21.** se observan las micrografías obtenidas a 600 aumentos para las dos caras del portamuestras. No se observan grandes diferencias entre

ambas, aunque si puede verse el efecto, que sobre la superficie interna, ha causado el contenedor donde se ha producido la gelificación, ya que la superficie aparece prácticamente lisa, mientras que la cara externa (**Figura 5.21. A**) aparece rugosa.

En ambos casos aparecen partículas de la tiourea en la superficie, marcadas en la **Figura 5.21.** por los círculos amarillos. Se comprobó mediante microanálisis con EDS, **Figura 5.22.**, que efectivamente se trataba de partículas de tiourea, ya que en el mismo aparece azufre como componente, que es uno de los átomos que forma la molécula de tiourea, y nuestro material sin modificar no contiene átomos de dicho elemento.

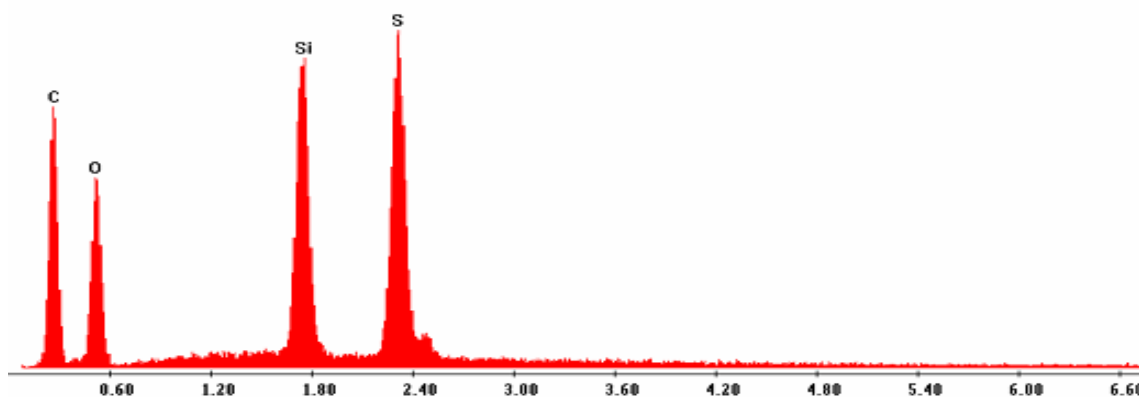


Figura 5.22.: Microanálisis de la partícula en la cara interna de la muestra de Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea.

Si observamos las mismas muestras, pero a una magnificación menor (**Figura 5.23.**) vemos como la distribución de las partículas de tiourea en la superficie de nuestra muestra es aleatoria, pero nos encontramos con una gran

cantidad de las mismas. Esto nos garantiza que, de algún modo, en la superficie de nuestros electrodos fabricados con el Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, vamos a encontrar partículas, que van a facilitar su buen funcionamiento como sensores electroquímicos selectivos.

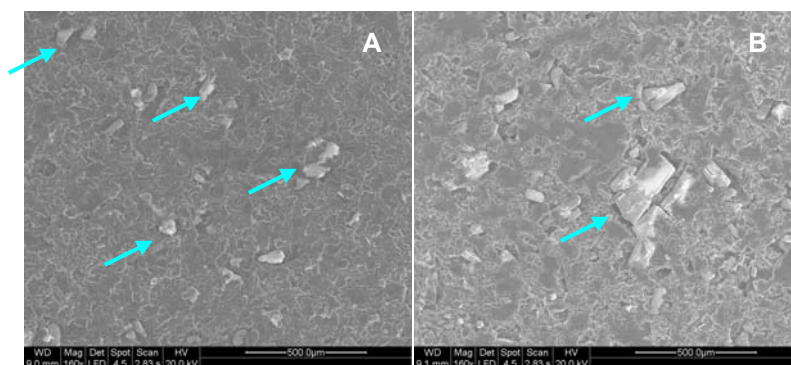


Figura 5.23.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, con grafito UF, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

Se realizaron micrografías a un capilar antes de la etapa de pulido, siguiendo el mismo orden que en el Capítulo IV. Las micrografías obtenidas se muestran en la **Figura 5.24.**

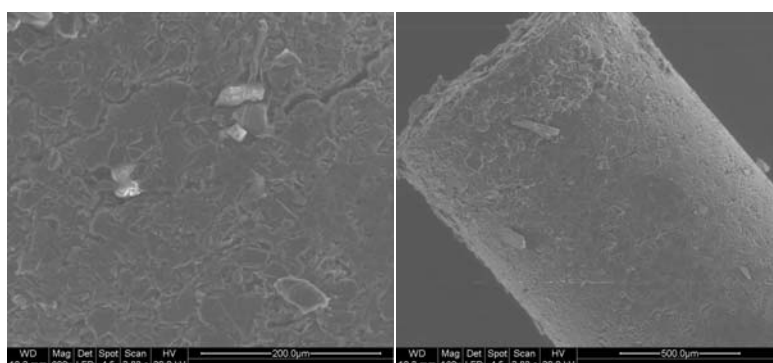


Figura 5.24.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, con grafito UF, electrodo antes de la etapa de pulido.

Al igual que en todas las muestras del Capítulo IV, las imágenes obtenidas para los capilares sin pulir, **Figura 5.24.**, son muy similares a las obtenidas para la cara interna del botón de material del portamuestras (**Figura 5.23. B**). Ello, como ya hemos mencionado anteriormente, es debido al paso del material por el capilar de vidrio durante el comienzo de la etapa de gelificación del material.

Por último introdujimos en el microscopio un electrodo pulido sin usar y uno pulido y usado. En las imágenes obtenidas (**Figura 5.25.**) se muestra una gran diferencia entre ambos electrodos. En la **Figura 5.25. A**) vemos un gran surco que atraviesa el electrodo de un lado a otro. Este surco puede ser debido a la etapa de pulido, que puede haber erosionado la superficie del material, con cualquier partícula presente en la pulidora. Esto nos da una idea de lo frágil que es este tipo de materiales frente a determinados agentes abrasivos.

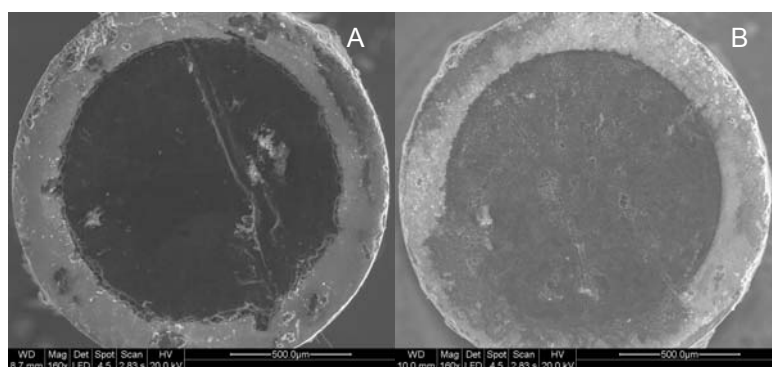


Figura 5.25.: Imágenes del SEM de electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiurea, con grafito UF, A) electrodo pulido sin usar, B) electrodo pulido y usado.

Se observa la aparición de numerosas grietas y huecos después del uso del electrodo, que pueden ser debidas a la erosión por parte del medio empleado en las medidas electroquímicas. Estos huecos y grietas pueden ser los culpables de la inestabilidad de los electrodos cuando tienen un uso continuado durante varias

jornadas de trabajo. En la **Figura 5.26.** vemos detalles ampliados de los mismos electrodos.

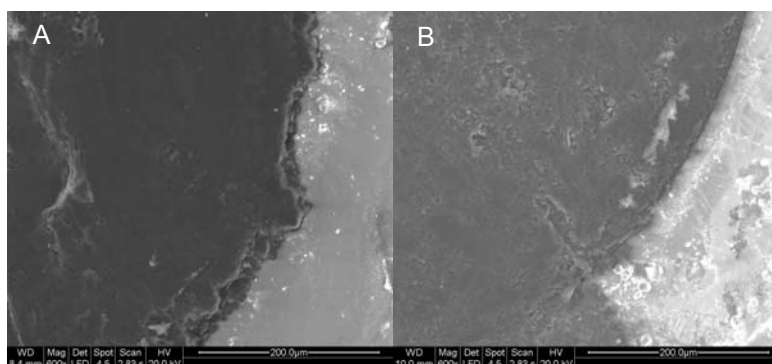
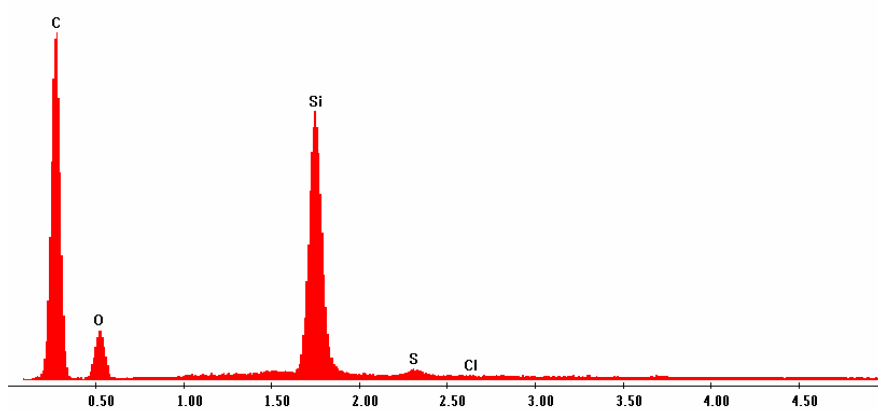


Figura 5.26.: Imágenes del SEM de electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, con grafito UF, A) electrodo pulido sin usar, B) electrodo pulido y usado.

En este tipo de electrodos, a diferencia de lo que se observaba en el capítulo IV de la presente memoria, no se ve una gran separación entre el material y el capilar que sirve de soporte. La contracción experimentada los materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltioureas es menor que la experimentada por los materiales Sonogel-Carbono.

Se hizo un microanálisis de la superficie de los electrodos, así como de las superficies de las muestras de la cara externa e interna y del material sin pulir, con ayuda de la técnica de Energía Dispersiva de Rayos X (EDS). Los resultados obtenidos en el microanálisis eran los esperados, aparecen los elementos propios del material Sonogel-Carbono, es decir silicio, oxígeno y carbono. En este caso no

A)



B)

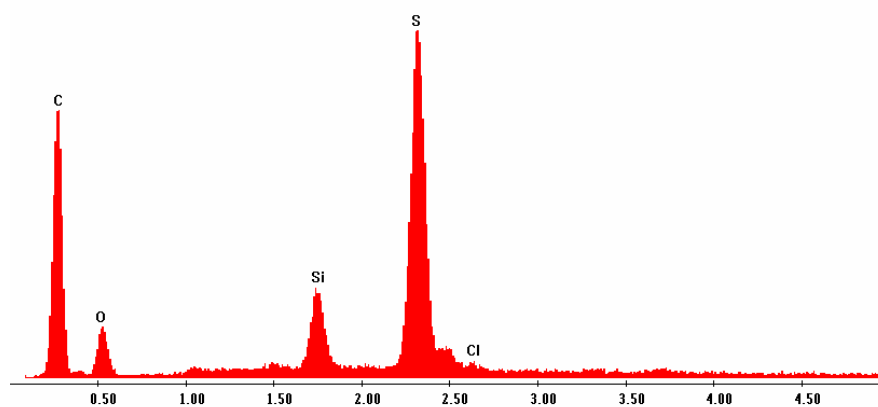


Figura 5.27.: Microanálisis de A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea (fondo), B) Partícula en la superficie de Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea.

aparece cloro en la superficie, cosa que no sucedía tampoco en los materiales Sonogel-Carbono fabricados con el mismo tipo de grafito (UF). Lo que puede observarse es la presencia de azufre, aunque este se encuentra en muy pequeña proporción en la superficie del material.

Cuando enfocamos el microanálisis sobre una zona concreta de la superficie, en la que se observa una diferencia de coloración con el resto del material (**Figura 5.28.**), vemos a través del espectro de EDS, como aumenta considerablemente la presencia de azufre, que es debida, como ya se ha reseñado anteriormente, a la existencia de partículas de tiourea en la superficie del material (**Figura 5.27.**)

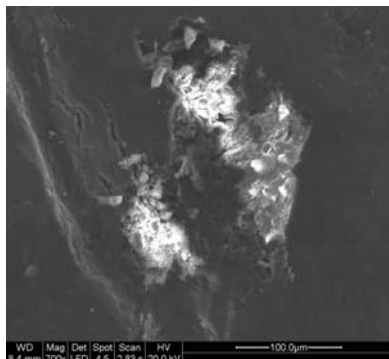


Figura 5.28.: Detalle de partícula de tiourea sobre la superficie del material.

Muestra 2: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea

Como en el caso anterior, las primeras imágenes (**Figura 5.29.**) corresponden al Sonogel-Carbono que ha gelificado en el portamuestras. También se hicieron micrografías a las dos caras del Sonogel para ver las diferencias entre ambas y poderlas comparar con la muestra anterior.

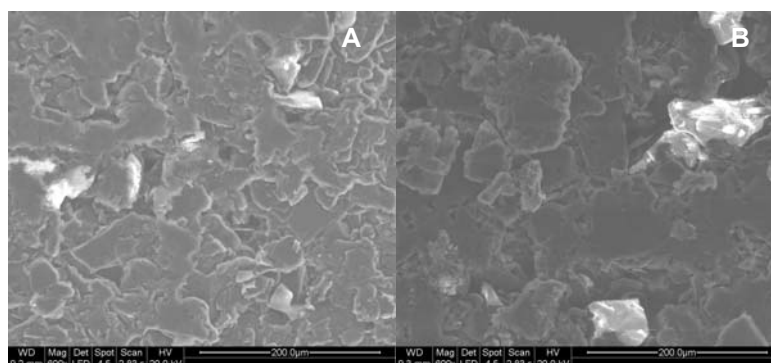


Figura 5.29.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea, con grafito UF, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

Como cabía esperar, las diferencias entre estas dos micrografías y las dos correspondientes a la muestra anterior son mínimas. Esto es lógico, puesto que las muestras son prácticamente iguales, variando solamente la naturaleza del sustituyente en el modificante minoritario, es decir, el sustituyente de la tiourea.

Por lo demás, también se observan partículas de tiourea en la superficie, tanto en la cara interna, como en la externa de la muestra, corroborado por el microanálisis.

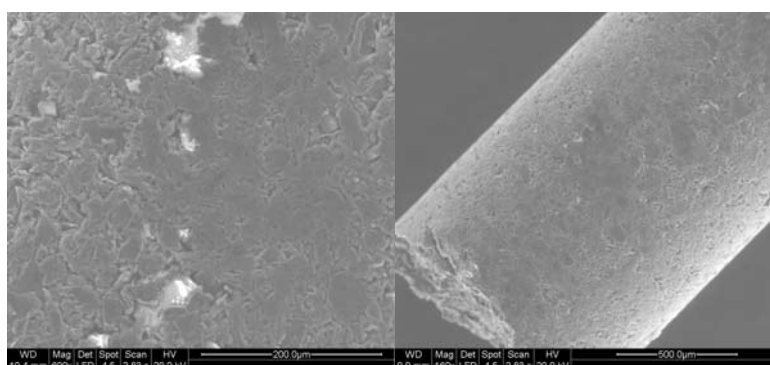


Figura 5.30.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea, con grafito UF, electrodo antes de la etapa de pulido.

En la **Figura 5.30.**, se muestran las micrografías para las muestras de los capilares sin pulir. Como ya se ha comentado en otras muestras anteriores correspondientes también a electrodos introducidos en el microscopio antes de la etapa de pulido, se observa una gran compactación de la superficie, mostrando paredes lisas, aunque con pequeños huecos, debidos principalmente a la existencia de burbujas de aire entre el capilar que sirve de soporte para los electrodos y el mismo material Sonogel-Carbono. También pueden verse partículas de tiourea en la superficie de la muestra.

Tomamos micrografías de los electrodos fabricados con este material, pulido y no usado y pulido y usado. En la **Figura 5.31.** podemos ver que en este caso no hay tanta diferencia entre ambos electrodos, aunque si se observa un pequeño incremento de huecos y grietas debidos a la erosión provocada por el uso continuado del electrodo.

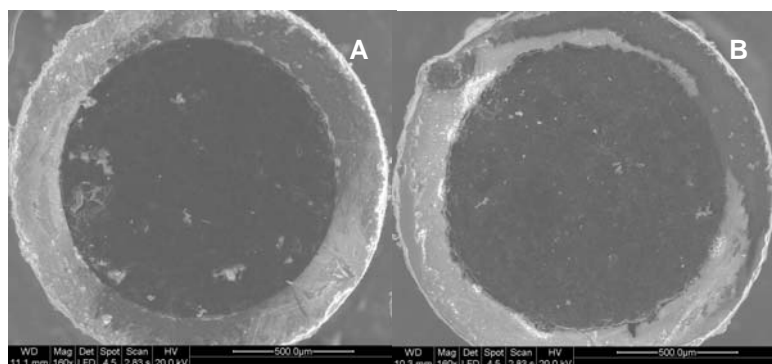


Figura 5.31.: Imágenes del SEM de electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea, con grafito UF, A) electrodo pulido sin usar, B) electrodo pulido y usado.

Al ampliar la magnificación de las micrografías se observa un poco mejor este fenómeno, aunque lo que mas llama la atención en este caso es la presencia de cristales de la tiourea, visibles en la superficie del electrodo.(**Figura 5.32.**)

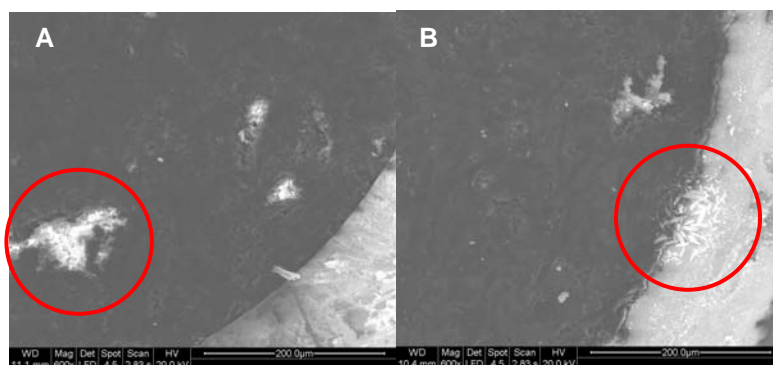


Figura 5.32.: Imágenes del SEM de electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea, con grafito UF, A) electrodo pulido sin usar, B) electrodo pulido y usado. Los círculos marcan las partículas de tiourea.

Al igual que en el caso anterior, el microanálisis reflejó la presencia de azufre en la superficie del material, que viene corroborado en este caso por las imágenes obtenidas. En la **Figura 5.33.** se recogen los espectros de EDS para el material Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea, en un punto cualquiera de la superficie, A), y centrado en una partícula de la que pueden observarse en la imagen, B). Podemos ver, como era de esperar, que si bien en la figura A), el azufre aparece en pequeña proporción, en la figura B), dicha proporción aumenta de forma considerable. Recordemos que el material Sonogel-Carbono no contiene átomos de azufre, mientras que la tiourea si.

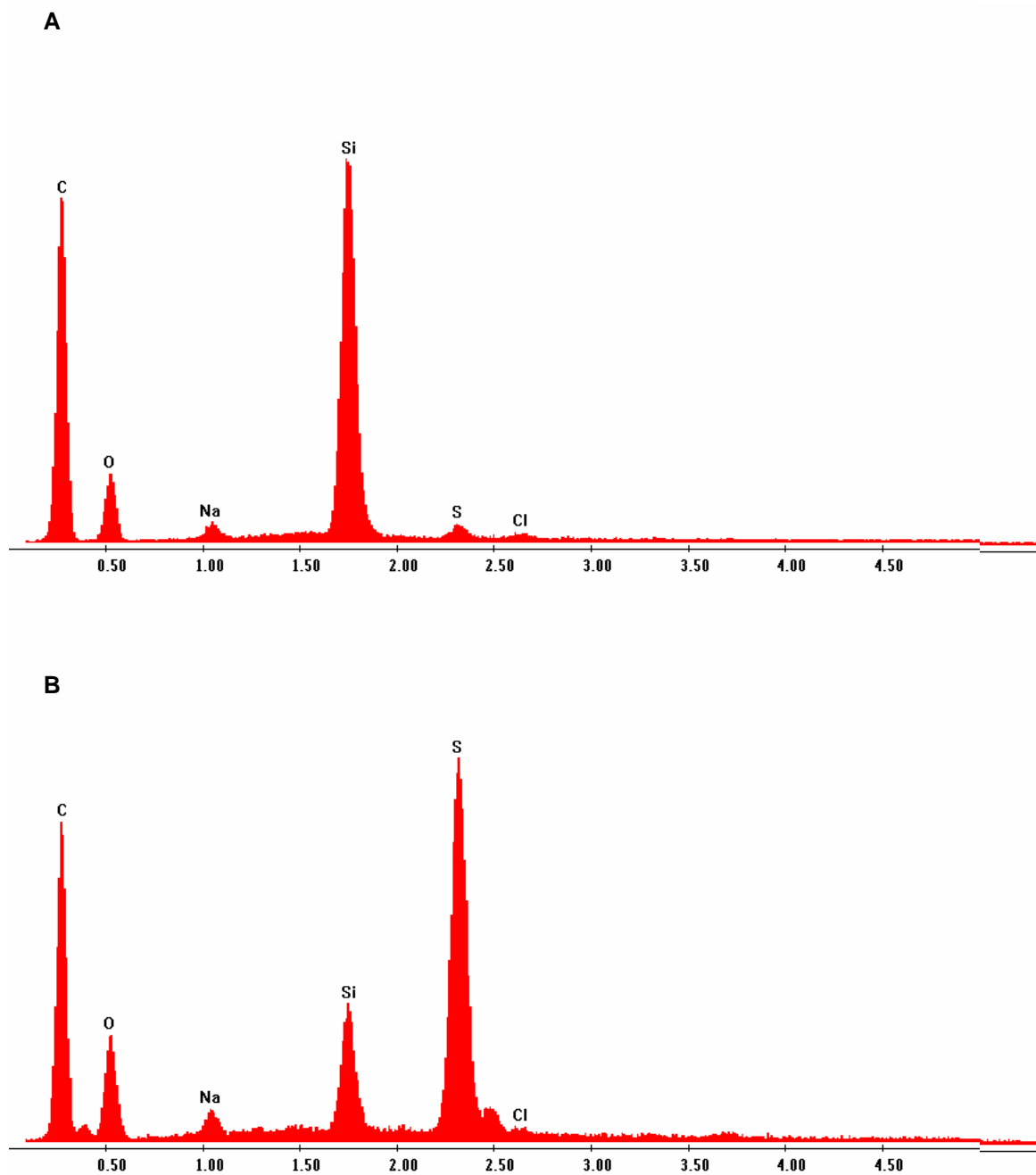


Figura 5.33.: Microanálisis de A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea (fondo), B) Partícula en la superficie de Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea.

Muestra 3: Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea.

Como en los casos anteriores, las muestras que se introdujeron en el microscopio para su análisis fueron, en primer lugar las correspondientes a las gelificadas en los portamuestras, tanto la cara externa, como la interna. Como puede verse en la **Figura 5.34.**

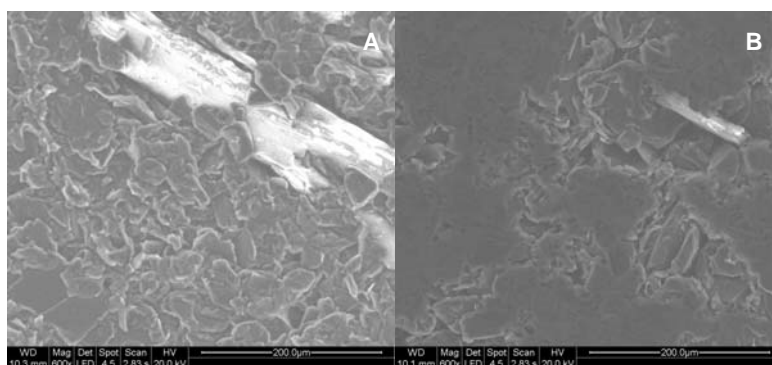


Figura 5.34.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea, con grafito UF, y gelificado en el portamuestras A) cara externa, B) cara interna.

En la **Figura 5.34.** puede apreciarse la presencia de partículas de tiourea en las superficies, tanto en la externa, A), como en la interna, B), corroborado por el microanálisis con EDS (**Figura 5.35.**). En el microanálisis también se observa una ligera estratificación en la estructura, presentando mayor cantidad de grafito en la cara interna de la muestra. Este fenómeno ha sido también descrito para las muestras anteriores.

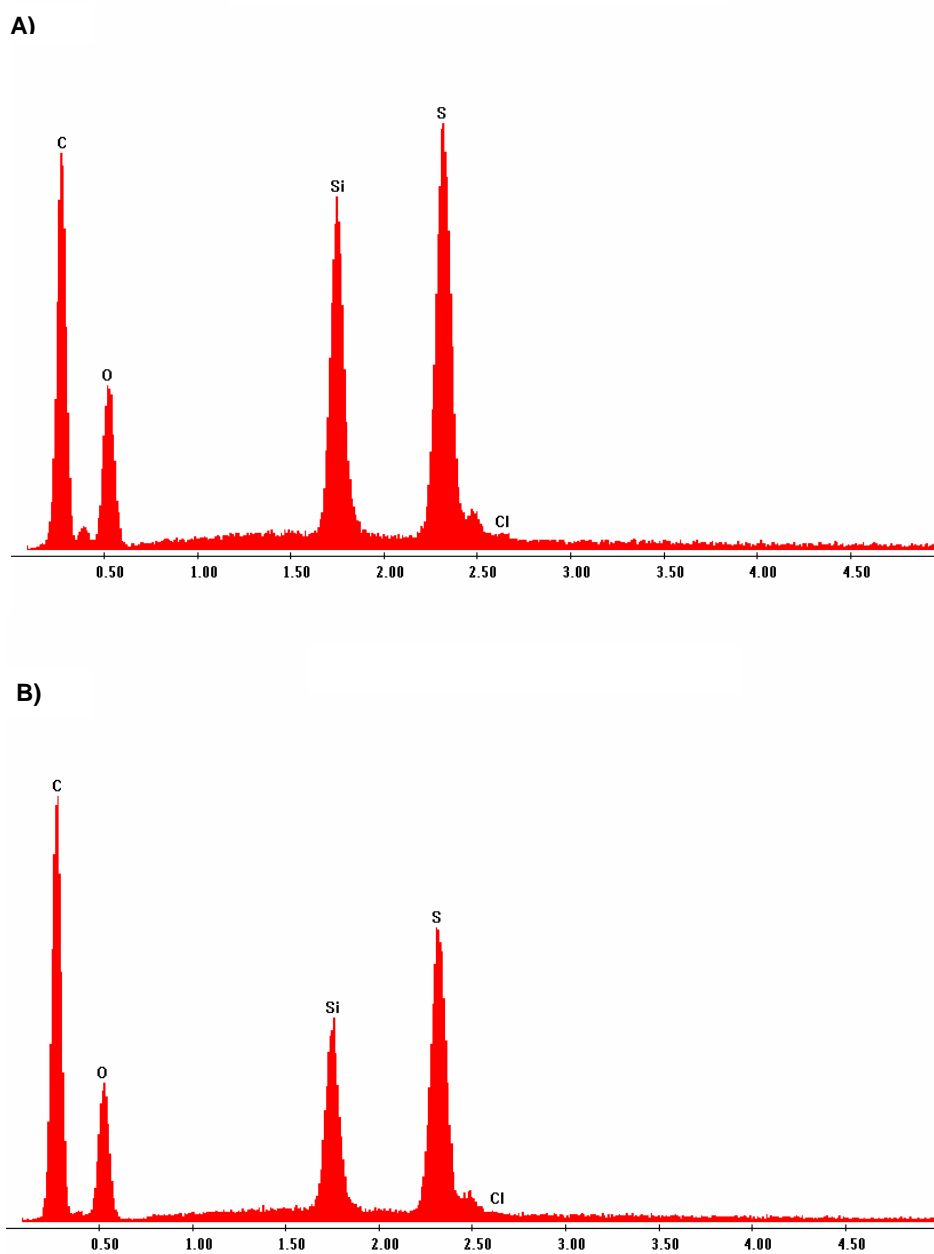


Figura 5.35.: Microanálisis de A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea (cara externa), B) Partícula en la superficie de Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea (cara interna).

Siguiendo el mismo orden que con los tipos anteriores de materiales Sonogel-Carbono, también se introdujo una muestra del electrodo sin pulir. (**Figura 5.36.**).

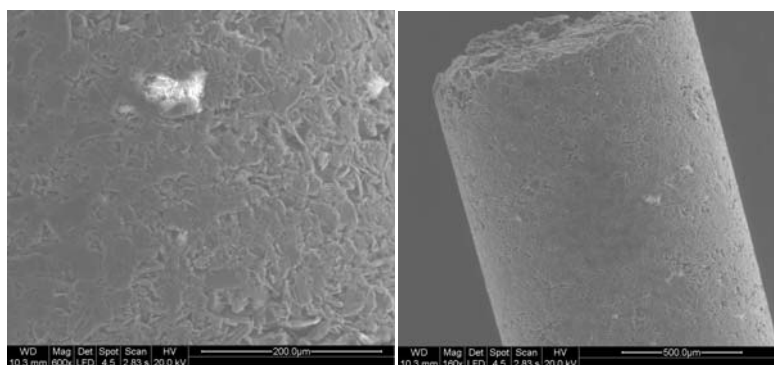


Figura 5.36.: Imágenes del SEM para Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiurea, con grafito UF, electrodo antes de la etapa de pulido.

Por último se introdujeron muestras de electrodos pulidos y no usados y electrodos pulidos y usados. (**Figura 5.37.**). Al igual que en el caso de la muestra 2, tampoco se observa una aparición exagerada de huecos ni grietas, aunque si que observa cierta erosión de la superficie de los electrodos después del uso.

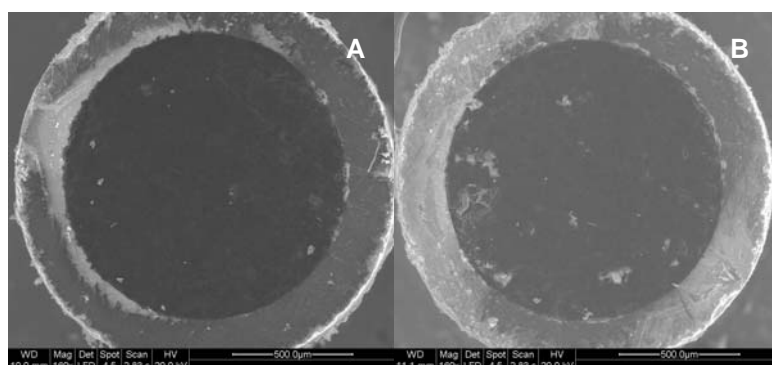


Figura 5.37.: Imágenes del SEM de electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiurea, con grafito UF, A) electrodo pulido sin usar, B) electrodo pulido y usado.

5.3. Caracterización Estructural de Electroodos Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea: Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR).

Como en el Capítulo IV de la presente memoria, en el estudio de los materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea se empleó también la técnica de espectroscopía de Infrarrojos con Transformada de Fourier, con la finalidad de poder comparar el posible efecto que pudiera ejercer el modificante en la estructura del Sonogel-Carbono. En el Capítulo IV, en la tabla 4.1., se identificaron las bandas correspondientes al material sin grafito, y al material con grafito, por lo que podemos usar la tabla, donde se recogen las posiciones de dichas bandas, para nuestro estudio comparativo. En el Capítulo II, en el apartado 2.3., se recoge la asignación de bandas, en el espectro FTIR, de las 1-furoiltioureas empleadas como modificantes.

Se realizaron espectros FTIR para cada uno de los tres tipos de materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea fabricados, además también se realizaron espectros FTIR para cada una de las tres 1-furoiltioureas. Los datos de los espectros obtenidos de las tres tioureas han sido recogidos en el Capítulo II de la presente memoria. Los espectros obtenidos para los materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea se recogen a continuación, en las **Figuras 5.38.** y **5.39.**

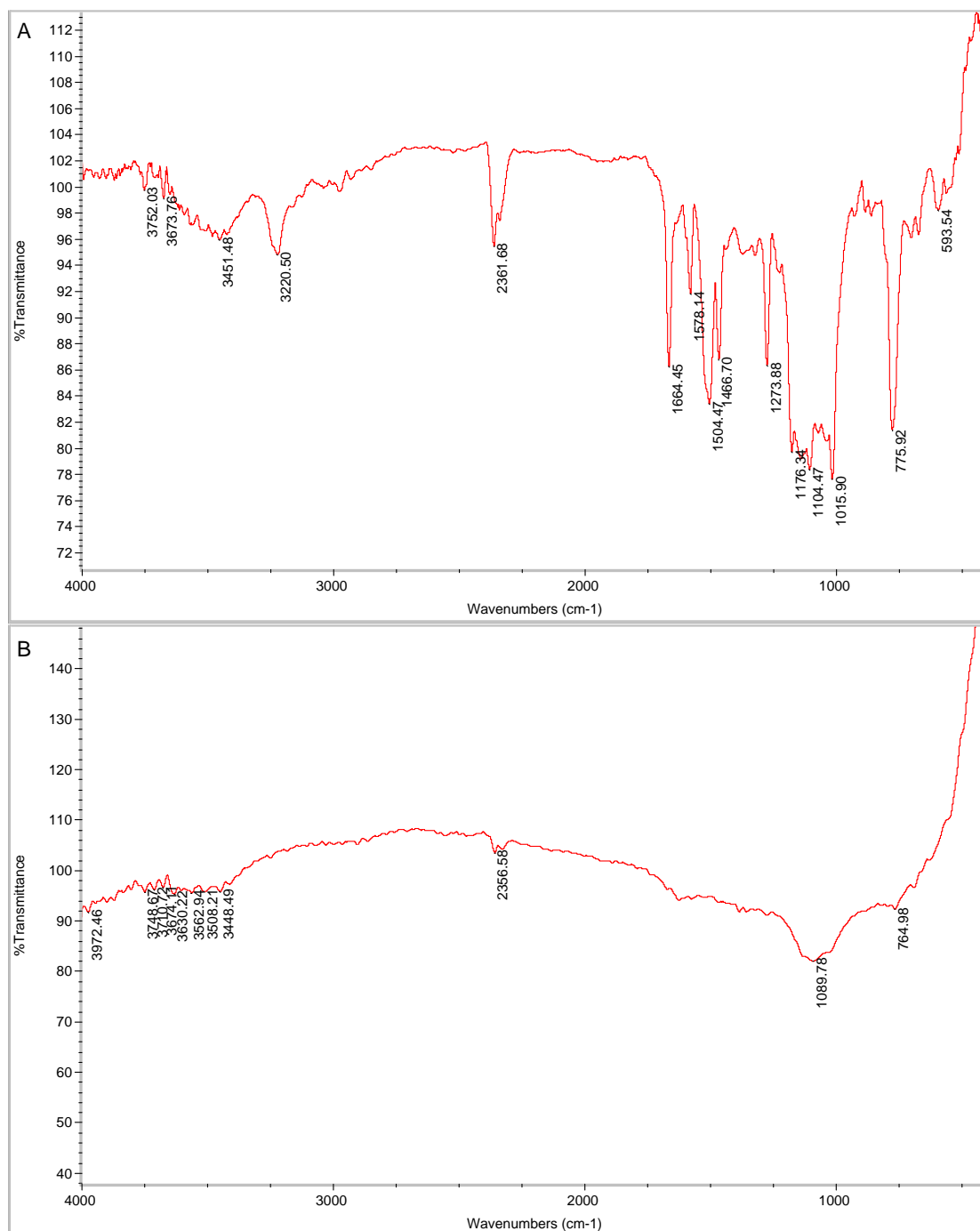


Figura 5.38.: Espectros FTIR para: A) Material Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)tiurea; B) Material Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiurea.

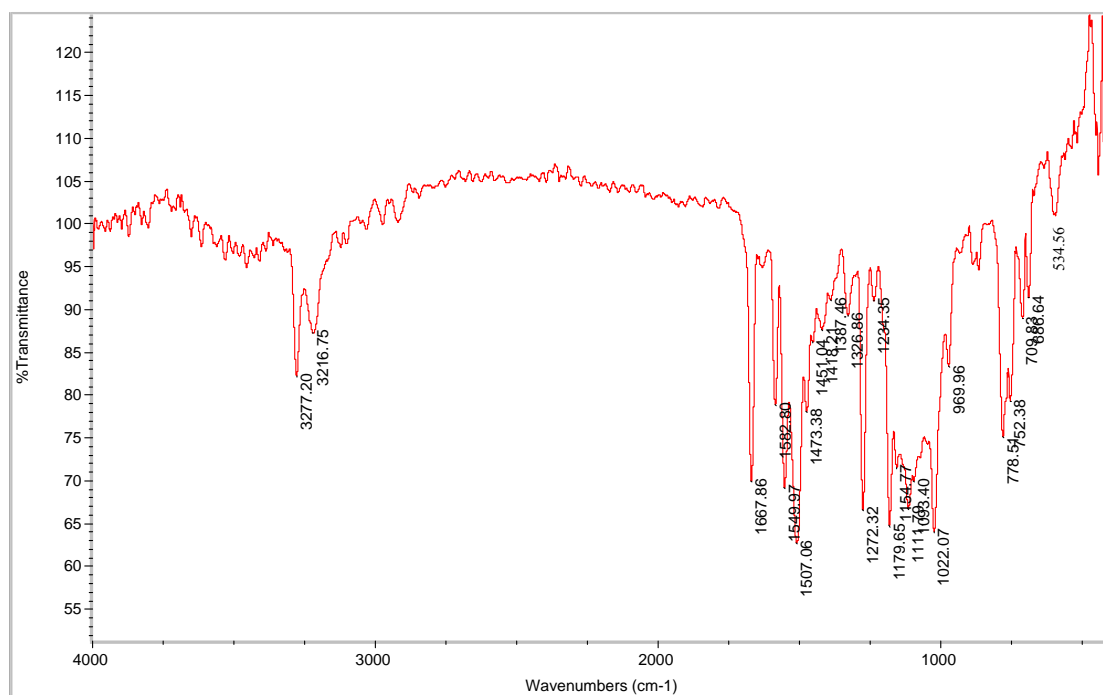


Figura 5.39.: Espectros FTIR para el material Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiourea.

Como vemos, los espectros de infrarrojos son muy diferentes entre sí, al contrario de lo que ocurría en el caso de los materiales Sonogel y Sonogel-Carbono (Capítulo IV). Los modificantes incluidos poseen diferentes grupos funcionales que dan bandas en los espectros FTIR, con lo que en este sentido los tres materiales no presentarán las mismas bandas.

Si puede señalarse la baja intensidad de transmitancia en el caso del material Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiourea. Se repitieron los espectros en varias ocasiones, obteniendo en todos los casos espectros similares. Es prácticamente imposible dilucidar ninguna banda concreta. En el caso de los otros dos materiales, podemos identificar algunas de las bandas como pertenecientes al material Sonogel-Carbono sin modificar, como las bandas correspondientes a la vibración de tensión Si-O, correspondientes a los enlaces Si-O-Si, o la que aparece sobre 770 perteneciente a la tensión Si-C, del enlace Si-CH₃, entre otras.

Reproducimos a continuación la tabla de asignación de bandas dada en el capítulo IV, de la presente memoria, con objeto de facilitar la identificación.

Número de onda (cm ⁻¹)	Referencia número de onda (cm ⁻¹) [202]	Asignaciones
a ≈3450	3450-3300	Agua
b 1273	1273	Si-CH ₃ , vibración de deformación CH ₃ simétrica
c 1125 - 1026,	1094 - 1029	Si-O-Si, tensión Si-O
d 771,	771	Si-CH ₃ , tensión Si-C
e ≈530	522	Si-O-Si, tensión Si-O-Si simétrica
f ≈450	465, 464	-Si-OCH ₃ , vibración de deformación Si-O-C asimétrica

De entre las bandas correspondientes a las 1-furoiltiureas pueden verse, aunque un poco desplazadas las bandas correspondientes a la flexión del enlace C-S que aparece sobre 1000-900 cm⁻¹; sobre 1600 cm⁻¹, aparecen las bandas correspondientes a los anillos aromáticos. No podemos observar las bandas correspondientes a los enlaces N-C-N, ya que en este caso los espectros registrados no han llegado hasta la región de infrarrojos donde aparecen dichas bandas.

5.4. Caracterización Estructural de Electrodo Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea: Difracción de Rayos X (XDR).

Se llevaron a cabo experiencias en difracción de rayos X para las muestras que anteriormente habían sido sometidas a la microscopía electrónica de barrido, al igual que hicimos las muestras de Sonogel-Carbono, recogidas en el Capítulo IV, con el fin de determinar si, como en el caso del Sonogel-Carbono, daban patrones de difracción cristalinos. Para ello se llevaron al difractómetro de rayos X las mismas muestras que se habían analizado por espectroscopía infrarroja (FTIR), y que, como ya se ha dicho en los apartados anteriores, son las muestras representativas de cada uno de los tipos de material.

Además de estas muestras, se introdujo en el difractómetro una muestra de una de las 1-furoiltiureas, utilizada en la fabricación del Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea, con el fin de identificar los patrones de difracción de los mismos y ver si existía una diferencia apreciable entre este y el correspondiente al material Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea correspondiente, ya que, como ya se observó con anterioridad, al ser el grafito un modificante masivo, el difractograma del Sonogel-Carbono se ve muy influenciado por la presencia de grafito (que es cristalino y tiene un patrón de difracción propio).

Las figuras siguientes muestran los difractogramas obtenidos para cada una de las tres muestras de material Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea, así como la superposición con el difractograma del Sonogel-Carbono. Se realizó también el difractograma para la 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)-tiourea, que fue la elegida para dicha comparativa, por ser la tiourea que se emplea en la caracterización electroquímica.

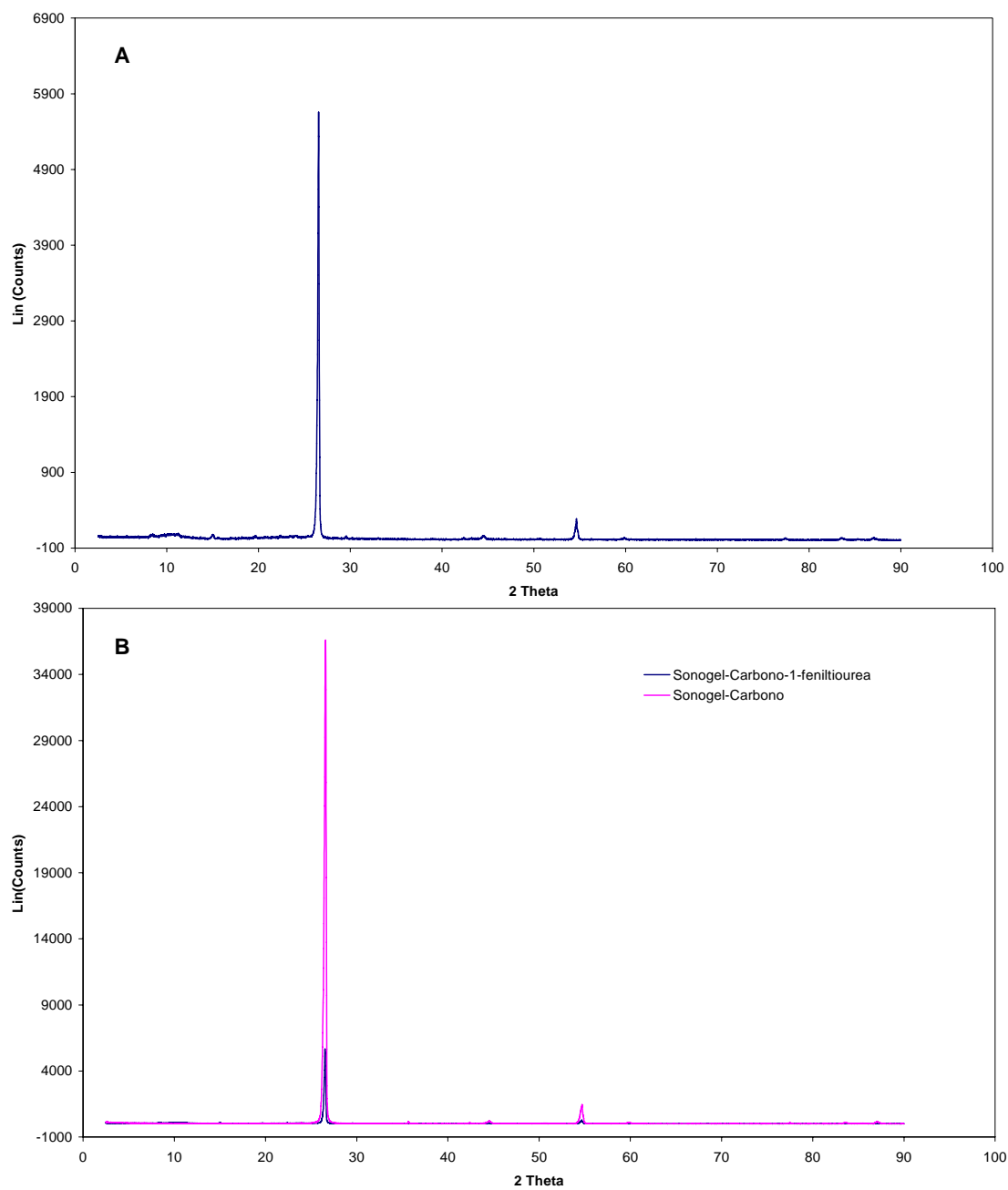


Figura 5.40.: Difractogramas de: A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-feniltiurea, B) superposición del anterior con el difractograma para Sonogel-Carbono.

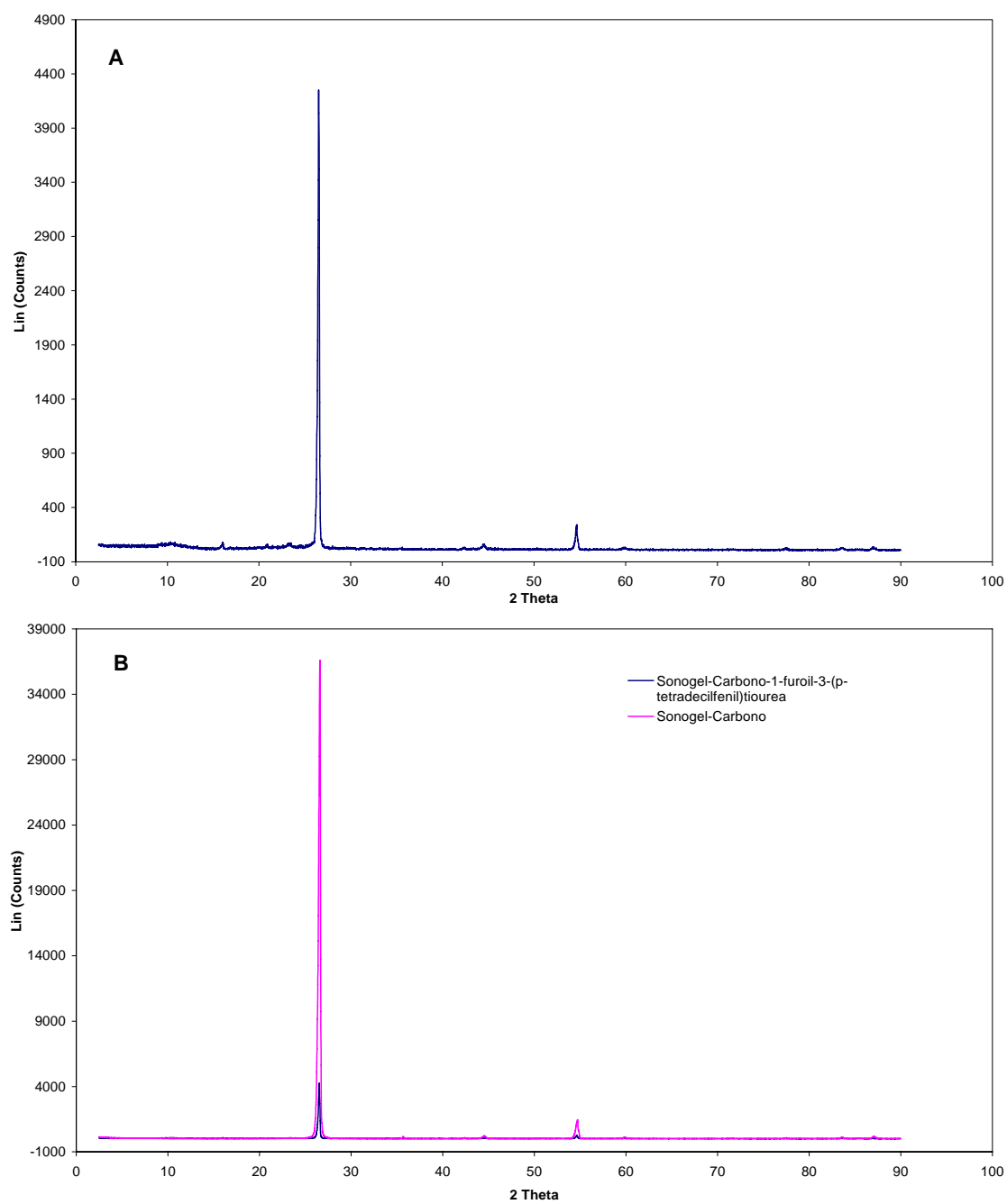


Figura 5.41.: Difractogramas de: A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(tetradecilfenil)tiourea, B) superposición del anterior con el difractograma para Sonogel-Carbono.

Electrodos Sonogel-Carbono-1-furoiltiurea.

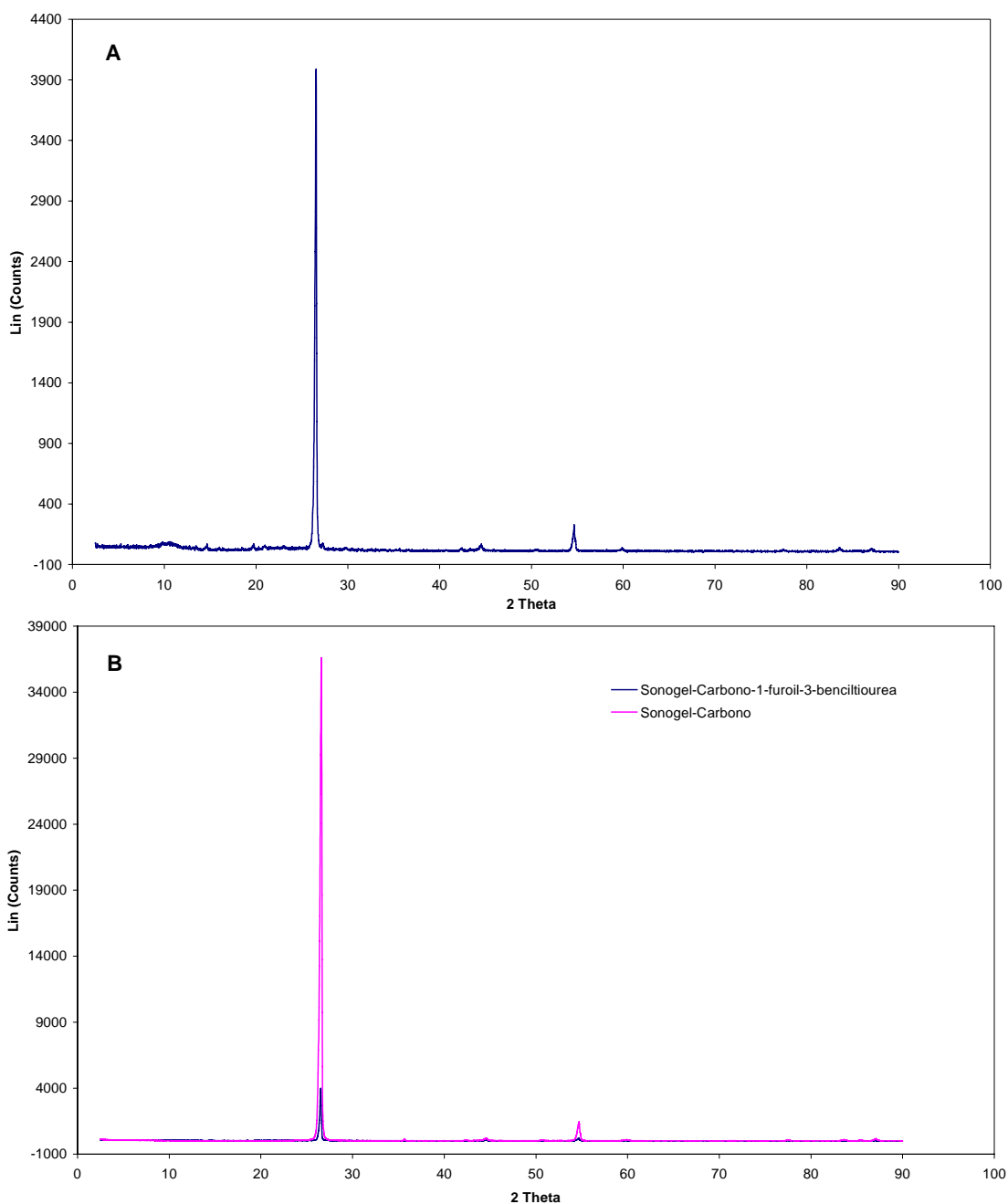


Figura 5.42.: Difractogramas de: A) Sonogel-Carbono-1-furoil-3-benciltiurea, B) superposición de la anterior con el difractograma para Sonogel-Carbono.

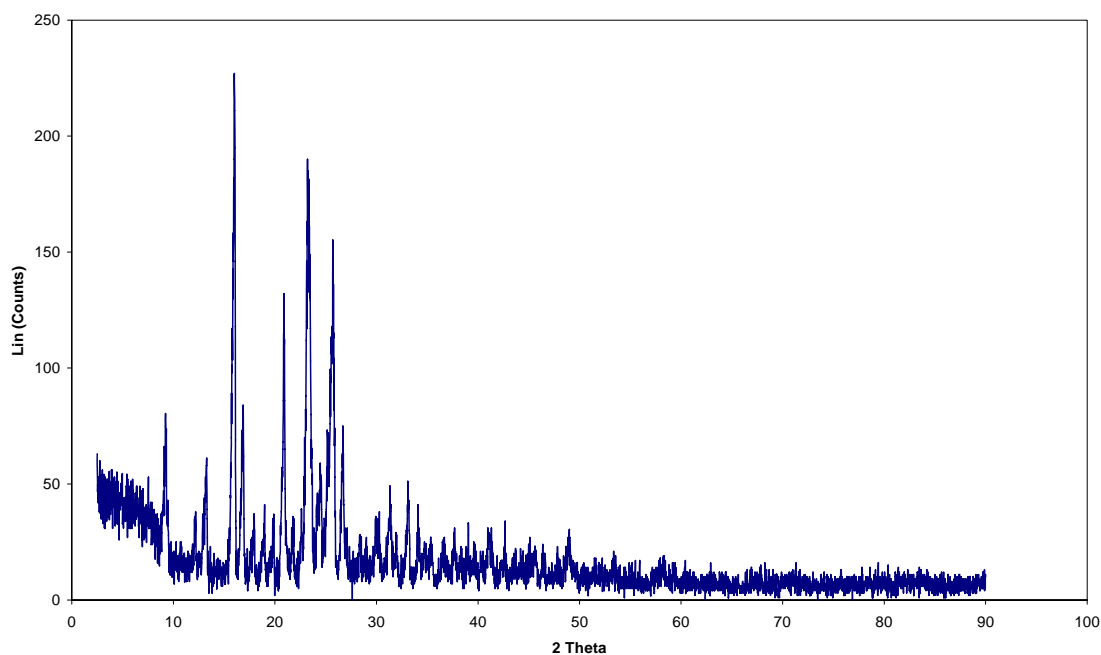


Figura 5.43.: Diffractograma de 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)tiourea.

Como puede observarse, los difractogramas correspondientes a los materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea coinciden con los obtenidos para los materiales Sonogel-Carbono, aunque presentan menor intensidad, menor número de cuentas. (**Figura 5.40**, **Figura 5.41**. y **Figura 5.42**.)

En el caso del difractograma correspondiente a la 1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)tiourea, **Figura 3.43.**, vemos como el número de cuentas está en una escala muy inferior a la que presentan los materiales Sonogel-Carbono y Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea, por lo que a primera vista, no podemos decir que la estructura cristalina de nuestros materiales se vea muy influenciada por la presencia de la tiourea en la estructura, aunque si se hiciera un estudio en profundidad de los datos obtenidos por Difracción de Rayos X, podría llegar a caracterizarse la fase cristalina correspondiente a la 1-furoiltiourea dentro del material Sonogel-Carbono-1-furoiltiourea.



Conclusiones

6. Conclusiones.

I: En los estudios voltamperométricos, llevados a cabo con la técnica DPV, del comportamiento de los electrodos fabricados con los tres tipos de grafito (APS, UF y RW-B) en ausencia de analito, se observó que los resultados que se obtenían para el grafito RW-B (desaparecido del mercado) y el grafito UF eran similares.

II: Los electrodos fabricados con el grafito APS, probado en tres proporciones diferentes, presentaban una mayor reproducibilidad y repetibilidad conforme aumentaba la cantidad de grafito, caracterizándose, además, por la mejora en su forma, disposición e intensidad de fondo. No obstante, y con independencia de la formulación empleada, los resultados no fueron del todo satisfactorios: la mejor respuesta seguía siendo peor que la obtenida para los otros grafitos.

III: Los estudios electroquímicos en presencia de un analito conocido (4-cloro-3-metilfenol), arrojaron resultados comparables para los grafitos UF y RW-B obteniéndose intensidades de pico elevadas, con una definición similar (forma y simetría) de las señales.

IV: El grafito APS volvió a presentar los peores resultados, presentando picos asimétricos y ligeramente deformados, con intensidades de pico de las señales, para la mejor de las formulaciones, que disminuían con respecto a las de los otros grafitos.

V: Los resultados obtenidos mediante los estudios de voltamperometría cíclica coinciden con los encontrados en el resto de las investigaciones. Los valores de capacidad calculados, así como las respuestas frente al analito corroboran el mejor comportamiento de los grafitos RW-B y UF. Por otra parte, la existencia de

Conclusiones

adsorción del analito y el carácter no reversible de la reacción sobre el electrodo se deduce igualmente del análisis de los datos de los voltamperogramas cíclicos.

VI: En los estudios mediante SEM y EDS, se observó que hay una ligera estratificación en la composición de las muestras (monolito del portamuestras), presentando en la cara interna de las mismas niveles muy elevados de carbono, mientras que en la cara externa la composición se repartía de manera similar entre los tres elementos (silicio, oxígeno y carbono). Esto puede deberse a que el grafito se comporta meramente como un sólido en suspensión en una disolución de sol-gel que, conforme la estructura va tomando forma en el tiempo durante la gelificación, va depositándose en la base de los portamuestras.

VII: En la sonocatálisis se producen, además de la polimerización del silano, un alcohol y agua, pero no está claro que sucede con el cloro, en forma de ion cloruro. En principio, podría considerarse como un ion espectador; por desgracia, en la bibliografía no se recoge nada al respecto. Una de las hipótesis podría sugerir que el cloro atraviesa la estructura del Sonogel, para salir al exterior; no obstante, a medida que el material gelifica, parte de los iones quedarían atrapados en los huecos. En los casos aquí descritos, se ha detectado la presencia de cloro en la superficie del material Sonogel (siempre que éste no se ha sumergido en agua), con lo que la hipótesis planteada no carece de cierto fundamento. Es más, se ha observado que la presencia de una mayor o menor cantidad de cloro en la superficie de los electrodos o portamuestras se relaciona con la cantidad de grafito presente en el material: cuanto mayor sea ésta, menos probabilidades hay de encontrar cloro en la superficie del Sonogel. Por consiguiente, podría decirse que el grafito actúa como un agente que impide la salida del cloro a la superficie de la estructura.

VIII: Finalmente, es necesario comparar el comportamiento del cloro, con el de un modificante, como el C18. Mientras que el atrapamiento del primero obedecería a un proceso fortuito en su camino hacia el exterior del Sonogel, en el caso del C18, éste se comportaría de un modo semejante al grafito: un sólido en suspensión en una disolución de sol-gel que, conforme la etapa de gelificación progresa, va depositándose en las zonas más internas del material.

IX: Con respecto al tema de la erosión, en la forma de huecos o grietas, detectada en la superficie de algunos electrodos Sonogel-Carbono, ésta se produce fundamentalmente cuando la estructura entra en contacto con una disolución acuosa, durante algún procedimiento electroquímico para probar el electrodo (lo que se ha venido denominando hasta ahora como electrodo usado).

X: Hay que diferenciar claramente la erosión, sufrida por el material, del proceso de contracción de volumen, experimentado por el material en los capilares rellenos durante la etapa gelificación/secado, el cual depende única y exclusivamente de la formulación del Sonogel (cantidad y tipo de grafito empleado) y del tiempo de secado, relacionado en cierta medida con las condiciones ambientales.

XI: El hecho de utilizar un electrodo en disolución acuosa provoca la aparición de grietas o huecos en la superficie del mismo, así como un ensanchamiento del espacio de separación material/capilar, cuya presencia inicial viene condicionada por la mayor o menor contracción de volumen de la estructura, en la etapa de formación del Sonogel anteriormente mencionada. Además, el efecto de la erosión y la consiguiente variación de la superficie del Sonogel son dependientes del tipo y cantidad de grafito empleado, como ha quedado demostrado a lo largo del presente trabajo. Esto significa que dicha erosión es más

Conclusiones

acusada cuando se utiliza grafito APS, siendo mínima con el grafito RWG. El grafito UF favorecería una situación intermedia entre ambos.

XII: En el caso del grafito APS, cabe mencionar que las partículas de grafito APS presentan menor diámetro, por lo cual, la relación superficie/volumen es mayor. Dado que el grafito no forma parte de la red de sílice, sino que sólo es rodeado por ella, un aumento en la cantidad de grafito APS implica que la estructura de sílice no pueda compactar adecuadamente el grafito presente. Esto explicaría el diferente comportamiento de este grafito y los problemas asociados a mayores cantidades del mismo. Todo esto, junto con su comportamiento electroquímico nos lleva a concluir que es el grafito de peores características para la fabricación de electrodos Sonogel-carbono.

XIII: En el caso de los estudios SEM de materiales Sonogel sin grafito, principalmente hay que resaltar que, soporta contracciones de volumen mucho más acusadas durante la etapa de gelificación/secado, lo que permite la aparición de numerosas grietas y fracturas en el material. Esto puede deberse a que, al no existir grafito, que actúa como compactador de la estructura, la salida de los compuestos resultantes de la sonocatálisis es mucho más sencilla, con lo cual se produce un secado más rápido; no da tiempo a una correcta estructuración de la red de Sonogel, con la formación de enlaces fuertes, lo que conlleva un aumento en la fragilidad del material.

XIV: Cuando se introduce PEG como modificador, la contracción de volumen es menos acusada, generando una estructura más compacta, sin grietas. Por esta razón, podemos decir que el PEG se comporta de un modo similar al grafito, aunque a menor escala, debido a su menor concentración: ambos actúan como compactadores de la estructura. La inmersión en agua de un Sonogel modificado con PEG hace que éste pierda parte de la coloración blanca, tornándose más

traslúcido, debido a la disolución de parte del modificante. Esto afecta a la estructura, puesto que se generan huecos en la superficie de la misma.

XV: En las formulaciones de material Sonogel y Sonogel-PEG, y gracias al microanálisis, es posible detectar la presencia de cloro en la superficie, aunque la proporción es mucho menor en el caso del Sonogel con PEG. Esto demuestra que la presencia de un modificante en la estructura, ya sea grafito o PEG, va a influir en la salida del cloro hacia la superficie del material. El microanálisis de las muestras que habían sido previamente sumergidas en agua revelaba la ausencia de cloro, lo cual sugiere la posible dilución de dicha especie en el agua.

XVI: Teniendo en cuenta todos los estudios realizados, las consideraciones que se han venido realizando a lo largo del presente trabajo de investigación, y las conclusiones anteriores, desprendidas de los estudios efectuados mediante técnicas voltamperométricas y microscopía electrónica de barrido, podría decirse que el grafito RW-B (usado habitualmente por nuestro grupo), y el grafito UF muestran comportamientos muy similares, por lo que ambos son adecuados para la fabricación de electrodos Sonogel-carbono.

XVII: Con respecto a los estudios de espectroscopía infrarroja (FTIR), se observa una gran similitud entre los espectros correspondientes a cada uno de los tipos de Sonogel estudiados. La principal diferencia que puede extraerse a partir de estos es la mayor intensidad en las bandas para las muestras que no contienen grafito. Esto se explica por el carácter del grafito como modificante masivo de la estructura: las muestras con grafito contienen un menor porcentaje de silano que las muestras sin grafito, provocando que las bandas correspondientes a tensiones y flexiones que implican al Si muestren mayores porcentajes de transmitancia.

Conclusiones

XVIII: De los espectros de FTIR se deriva también que la reacción de hidrólisis del silano es prácticamente completa, ya que las bandas del grupo funcional Si-OH no aparecen. Esto indica que se han roto todos los enlaces Si-OH para dar lugar a la red de silano, formada por Si-O-Si.

XIX: A partir de los estudios de microscopía de fuerza atómica, se concluye que los tamaños de poro (10 nm) son más pequeños que el tamaño de partícula del grafito, lo que implica que durante la formación de los materiales compuestos Sonogel-carbono, las partículas de grafito no entran dentro de los poros de la red de silicio, sino que el gel se forma alrededor de las partículas de grafito, y la conductividad del compuesto que finalmente se forma está promovida por un mecanismo de propagación entre esas partículas.

XX: Al depositar una película líquida de cualquier modificante, sobre la superficie de los electrodos compuestos de Sonogel-Carbono, se observa una ligera disminución de la rugosidad en la superficie del área diferenciada del material, conservando la misma estructura de poros y generando un nuevo aspecto granular del material.

XXI: A partir de los estudios realizados mediante difracción de rayos X, se concluye que el Sonogel sin grafito es un material amorfo. La presencia de grafito cristalino en la estructura le confiere esta propiedad al material.

XXII: Los estudios estructurales obtenidos mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) confirman que la cristalinidad del material Sonogel-Carbono proviene de la elevada presencia de grafito en el material. Se obtienen mediante dicha técnica una diferenciación de estructura dentro de la misma muestra, ya que encontramos por un lado partículas que presentan estructura laminar y ordenada, propia del grafito y que presenta un bajo contenido de silicio y oxígeno,

provenientes del silano. Por otra parte aparecen partículas con características propias de un sólido mesoporoso, donde encontramos una estructura hexagonal, que presenta un contenido en silicio elevado, disminuyendo bastante el contenido en carbono, y, finalmente, también pueden diferenciarse partículas con una estructura amorfa cuyo contenido de silicio era el más elevado de todos.

XXIII: La presencia de las tioureas como modificantes minoritarios no influye de manera significativa en la estructura del material Sonogel-Carbono. Los electrodos fabricados con los materiales Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)tiourea presentan un comportamiento reproducible y estable cuando se emplea la técnica de voltamperometría diferencial de impulsos.

XXIV: La respuesta de estos electrodos frente a Cd(II) es muy satisfactoria, obteniéndose límites de detección en primera aproximación de hasta $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La optimización de variables permite mejorar los registros; de todo ello se concluye que los electrodos Sonogel-Carbono modificados con 1-furoiltiourea constituyen un dispositivo adecuado para el análisis de Cd(II), quedando pendiente un estudio más en profundidad sobre la modificación con otras 1-furoiltioureas y aplicación a diversos cationes metálicos.

XXV: Los electrodos Sonogel-Carbono-1-furoil-3-(p-tetradecilfenil)tiourea resultan ser electrodos sensibles a Cd(II), no presentando interferencias frente a otros iones de características similares y con el mismo estado de oxidación, como el Hg(II) y el Zn(II), aunque si presenta interferencias con otros iones como son el Pb(II) y el Cu(II).

XXVI: En el estudio realizado mediante SEM, el comportamiento de los materiales modificados con las 1-furoiltioureas es similar al que presentan los materiales base Sonogel-Carbono.

Conclusiones

XXVII: La presencia de las tioureas en la superficie de los electrodos es imprescindible para el correcto funcionamiento de los electrodos frente al Cd(II). Esta presencia ha sido confirmada mediante las imágenes obtenidas en SEM.

XXVIII: Las tioureas son materiales cristalinos. Según los estudios realizados mediante difracción de Rayos X, esta cristalinidad no afecta a la estructura del Sonogel-Carbono, al menos de una forma visible, ya que los difractogramas obtenidos para las muestras de Sonogel-Carbono y Sonogel-Carbono-1-furoiltioureas son prácticamente superponibles.

XXIX: En los estudios realizados con espectroscopía infrarroja, de los materiales Sonogel-Carbono-1-furoiltioureas presentaban bandas comunes con los materiales Sonogel-Carbono y con la 1-furoiltiourea que está presente en cada uno de ellos.



Bibliografía

7. Bibliografía.

1. M. M. Cordero Rando, Desarrollo y caracterización de materiales Sonogel-Carbono como base para sensores electroquímicos, Tesis Doctoral, Cádiz (2001).
2. J. M. Palacios Santander, Aplicación de técnicas quimiométricas a la resolución de señales electroquímicas solapadas, Tesis Doctoral, Cádiz (2003).
3. Mohammed El Kaoutit, Desarrollo de biosensores amperométricos basados en enzimas redox y en metales sintéticos: Sonogel-Carbono y polímeros conductores. Aplicación en muestras de interés medioambiental y agroalimentario, Tesis Doctoral, Cádiz (2007).
4. L. M. Cubillana Aguilera, Estudios estructurales y electroquímicos de materiales Sonogel-Carbono, Trabajo de investigación para la consecución del Diploma de Estudios Avanzados (DEA), Cádiz (2004)
5. J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, E. Blanco-Ollero, L. Esquivias-Fedriani, Patente P200100556, España (2001).
6. M. M. Cordero-Rando, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, E. Blanco, I. Naranjo-Rodríguez, *Anal. Chem.*, 74 (2002) 2423.
7. B. Ballarin, C. Zanardi, L. Schenetti, R. Seeber, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, *Synth. Met.*, 139(1) (2003) 29.
8. B. Ballarin, M. Gazzano, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, D. Tonelli, R. Seeber, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 891.
9. B. Ballarin, M. M. Cordero-Rando, E. Blanco, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, R. Seeber, D. Tonelli, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 68 (2003) 1420.

10. M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, *Electroanalysis*, 17 (9) (2005) 806.
11. L. M. Cubillana-Aguilera, J. M. Palacios-Santander, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 40 (2006) 40.
12. M. El Kaoutit, I. Naranjo-Rodríguez, K Tensamani, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, The Sonogel-Carbons materials as basis for development of enzyme biosensors for phenols and polyphenols. A detailed comparative study of three immobilization matrixes. *Biosens. Bioelectron.* (2007) On line.
13. J. M. Palacios-Santander, M. Cocchi, A. Ulrici, I. Naranjo-Rodríguez, R. Seeber, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, Multicomponent analysis in the wavelet domain of highly overlapped electrochemical signals: resolution of quaternary mixtures of chlorophenols determined by a PEG-modified Sonogel-Carbon electrode, *Chemometric and Intelligent Laboratory System*, (2007) Enviado.
14. J. M. Palacios-Santander, A. Jiménez-Jiménez, I. Naranjo-Rodríguez, L. M. Cubillana-Aguilera, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, *Microchim. Acta*, 142 (2003) 27.
15. M. Cocchi, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, J. M. Palacios-Santander, R. Seeber, A. Ulrici, *Talanta*, 59 (2003) 735.
16. J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, Study of the relevance of voltammetric peak parameters to resolve overlapped electrochemical signals, *Chemometric and Intelligent Laboratory System*, 85 (1) (2007) 131.
17. H. El Bakouri, J. M. Palacios-Santander, L. Cubillana-Aguilera, A. Ouassini, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, *Chemosphere*,. 60 (2005) 1565.

18. H. El Bakouri, A. Ouassini, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, J. M. Palacios-Santander, I. Naranjo-Rodríguez, L. Cubillana-Aguilera. *Phys. Chem. News*, 26 (2005) 118.
19. M. E. Lozano-Chávez, J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, *Sensors and Actuators B: Chemical* 115 (2006) 575.
20. M. Ebelman, *Ann. Chimie Phys.*, 16 (1846) 129.
21. T. Graham, *J. Chem. Soc.*, 17 (1864) 318.
22. C. B. Hurd, *Chem. Rev.*, 22 (1938) 403.
23. R. Roy, *J. Am. Ceram. Soc.*, 39 (1956) 145.
24. L. Levene, I. M. Thomas, *U.S. Patent 3640093* (1972).
25. H. Dislich, *Angewandte Chemie*, 10 (1971) 363.
26. B. E. Yoldas, *J. Mater. Sci.*, 10 (1975) 1856.
27. B. E. Yoldas, *J. Mater. Sci.*, 12 (1977) 1203.
28. M. Yamane, A. Shinji, T. Sakaino, *J. Mater. Sci.*, 13 (1978) 865.
29. D. Avnir, V. R. Kaufman, *J. Non-Cryst. Solids*, 192 (1987) 180.
30. M. Ramirez del Solar, Tesis Doctoral, Cádiz (1991).
31. C. J. Brinker, G. W. Scherer, en *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press, San Diego, 1990.
32. H. Schmidt, A. Kaiser, M. Rudolph, A. Lentz, en *Science of Ceramic Chemical Processing*, Wiley, New York, 1986.
33. H. Schmidt, H. Scholze, en *Glass, Current Issues*, Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1985.
34. H. Schmidt, A. Kaiser, *Glastechn. Ber.*, 54 (1981) 338.
35. B. C. Dave, B. Dunn, J. S. Valentine, J. I. Zink, *Anal. Chem.*, 66(22) (1994) 1120A.
36. M. W. Colby, A. Osaka, J. D. Mackenzie, *J. Non-Cryst. Solids*, 99 (1988) 129.

37. M. W. Colby, A. Osaka, J. D. Mackenzie, *J. Non-Cryst. Solids*, 82 (1986) 37.
38. J. Zarzycki, Monolithic Xero and Aerogels for Gel-Glass Process, en *Ultrastructure Processing of Ceramics, Glasses and Composites*, L. L. Hench and D. R. Ulrich, Eds. Wiley, New York, 1984.
39. A. V. Narasimham, *J. De Physique, Supl. N° 11*, 40 (1979) C8-223.
40. N. V. Malykh, I. A. Ogorodnikov, *J. De Physique, Supl. N° 11*, 40 (1979) C8-300.
41. K. S. Suslick, *Pour la science*, N° 138 (1989) 88.
42. S. W. Wong, W. Y. Chon, *AIChE Journal*, N°2, 15 (1969) 281.
43. E. Blanco, L. Esquivias, R. Litrán, M. Piñero, M. Ramírez del Solar, N. De la Rosa Fox, *App. Organometal. Chem.*, 13(5) (1999) 399.
44. K. S. Alber, J. A. Cox, *Microchim. Acta*, 127 (1997) 131.
45. C. Malins, H. G. Glever, T. E. Keyes, J. G. Vos, W. J. Dressick, B. D. MacCraith, *Sens. Actuators B*, 67 (2000) 89.
46. C. von Bültzingslöwen, A. K. McEvoy, C. McDonagh, B. MacCraith, *Anal. Chim. Acta*, 480 (2003) 275.
47. M. Lechna, I. Holowacz, A. Ulatowska, H. Podbielska, *Surf. Coat. Technol.*, 151-152 (2002) 299.
48. C. McDonagh, P. Bowe, K. Mongey, B. D. MacCraith, *J. Non-Cryst. Solids*, 306 (2002) 138.
49. M. A. Macêdo, M. A. Aegerter, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 2 (1994) 667.
50. A. E. Aliev, H. W. Shin, *Solid State Ion.*, 154-155 (2002) 425.
51. N. Özer, *Solar Energy. Mater. Solar. Cells*, 68 (2001) 391.
52. H. Wang, M. Yan, Z. Jiang, *Thin Solid Films*, 401 (2001) 211.
53. A. Walkarius, *Electroanalysis*, 10(18) (1998) 1217.
54. P. Ganesan, H. Colon, B. Haran, B. N. Popov, *J. Power Sources*, 115 (2003) 12.

55. B. J. Hwang, R. Santhanam, C. H. Chen, *J. Power Sources*, 114 (2003) 244.
56. J. M. Amarilla, M. L. Pérez-Revenga, B. Casal, E. Ruiz-Hitzky, *Catal. Today*, 78 (2003) 571.
57. C. -M. Shen, X. -G. Zhang, Y. -K. Zhou, H. -L. Li, *Mater. Chem. Phys.*, 78 (2003) 437.
58. J. Seneviratne, J. A. Cox, *Talanta*, 52 (2000) 801.
59. S. V. M. de Moraes, J. B. Passos, P. Schossler, E. B. Caramão, C. C. Moro, T. M. H. Costa, E. V. Benvenuto, *Talanta*, 59(5) (2003) 1039.
60. C. A. Lundgren, R. W. Murray, *J. Electroanal. Chem.*, 227 (1987) 287.
61. J. Watson, T. W. Zerda, *Appl. Spectrosc.*, 45 (1991) 1360.
62. O. Dvorak, M. K. de Armond, *J. Phys. Chem.*, 97 (1993) 2646.
63. J. de Zeeuw, J. Luong, *Trends Anal. Chem.*, 21 (2002) 594.
64. N. Ishizuka, H. Kobayashi, H. Minakuchi, K. Nakanishi, K. Hirao, K. Hosoya, T. Ikegami, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A*, 960 (2002) 85.
65. K. Maruszewski, A. Hreniak, J. Czyżewski, W. Stręk, *Opt. Mater.*, 22 (2003) 221.
66. M. A. Kim, W. -Y. Lee, *Anal. Chim. Acta*, 479 (2003) 143.
67. M. Tsionsky, G. Gun, V. Glezer, O. Lev, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 1747.
68. J. Gun, O. Lev, *Anal. Chim. Acta*, 294 (1994) 261.
69. J. Wang, P. Pamidi, V. B. Nascimento, L. Angnes, *Electroanalysis*, 9 (1997) 689.
70. N. de la Rosa-Fox, R. Erce-Montilla, M. Piñero, L. Esquivias, *Opt. Mater.*, 22 (2003) 1.
71. W. Que, X. Hu, *Opt. Mater.*, 22 (2003) 31.
72. Y. Guo, A. R. Guadalupe, *Sens. Actuators B*, 46 (1998) 213.
73. Z. Ji, A. R. Guadalupe, *Electroanalysis*, 11(3) (1999) 167.

74. R. S. Sonawane, B. B. Kale, M. K. Dongare, *Mater. Chem. Phys.*, 85 (2004) 52.
75. M. I. Prodomidis, M. I. Karayannis, *Electroanalysis*, 14 (2001) 241.
76. L. Lvova, S. S. Kim, A. Legin, I. Vlasov, J. S. Yang, G. S. Cha, H. Nam, *Anal. Chim. Acta*, 468 (2002) 303.
77. M. Badea, A. Amine, G. Palleschi, D. Moscone, G. Volpe, A. Curulli, *J. Electroanal. Chem.*, 509 (2001) 66.
78. P. J. O'Connell, C. Gormally, M. Pravda, G. G. Guilbaut, *Anal. Chim. Acta*, 431 (2001) 239.
79. C. Yang, J. Xu, S. Hu, *J. Solid State Electrochem.*, 11(4), (2007) 514.
80. C. Yang, Q. Lu, S. Hu, *Electroanalysis*, 18(22) (2006) 2188.
81. J. Radeki, H. Radeka, J. Ciesla, B. Tudek, *Biotechnologia*, 3 (2006) 67.
82. E. Blanco, L. Esquivias, R. Litrán, M. Piñero, M. Ramírez-del-Solar, N. de la Rosa-Fox, *Appl. Organometal. Chem.*, 13 (1999) 399.
83. L. Esquivias, N. de la Rosa-Fox, M. Bejarano, M. J. Mosquera, *Langmuir*, 20 (2004) 3416.
84. L. Esquivias, N. de la Rosa-Fox, *J. Sol-Gel Science & Technol.*, 26 (2003) 651.
85. D. R. Vollet, D. A. Donatti, A. Ibáñez Ruiz, W. C. de Castro, *J. Non-Cryst. Solids*, 332 (2003) 73.
86. D. R. Vollet, D. A. Donatti, A. Ibáñez Ruiz, H. Maceti, *J. Non-Cryst. Solids*, 324 (2003) 201.
87. D. R. Vollet, D. A. Donatti, A. Ibáñez Ruiz, *J. Non-Cryst. Solids*, 306 (2002) 11.
88. Q. Wang, G. Lu, B. Yang, *Sens. Actuators B*, 99 (2004) 50.
89. R. Peña Alonso, F. Rubio, J. Rubio, J. L. Oteo, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 71 (2004) 827.
90. J. -D. Kim, I. Honma, *Electrochim. Acta*, 49 (2004) 3179.

91. J. Macan, H. Ivankovic, M. Ivankovic, H. J. Mencer, *Thermochim. Acta*, 414 (2004) 219.
92. D. Wu, R. Fu, S. Zhang, M. S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, *J. Non-Cryst. Solids*, 336 (2004) 26.
93. C. Vix-Guterl, I. Alix, P. Gibot, P. Ehrburger, *Appl. Surf. Science*, 210 (2003) 329.
94. L. Li, L. Zhang, X. Yao, *Ceram. Int.*, 30 (7) (2004) 1843.
95. V. Castelvetro, C. De Vita, *Adv. Colloid & Interf. Science*, 108-109 (2004) 167.
96. B. Ben-Nissan, A. Milev, R. Vago, *Biomaterials*, 25 (2004) 4971.
97. C. B. Rodella, R. Buffon, *Appl. Catal. A*, 263 (2004) 203.
98. J. C. Diniz da Costa, G. Q. Lu, V. Rudolph, Y. S. Lin, *J. Membr. Sci.*, 198 (2002) 9.
99. A. Kaddouri, E. Tempesti, C. Mazzocchia, *Mater. Res. Bull.*, 39 (2004) 695.
100. R. Janes, L. J. Knightley, C. J. Harding, *Dyes & Pigments*, 62 (2004) 199.
101. P. A. Robles-Dutenhefner, M. J. da Silva, L. S. Sales, E. M. B. Sousa, E. V. Gusevskaya, *J. Mol. Catal. A*, 217 (2004) 139.
102. H. Zejli, P. Sharrock, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, K. R. Tamsamani, *Talanta*, 68 (2005) 79.
103. H. Zejli, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, K. R. Tamsamani, *Anal. Letters*, 39 (2006) 1053.
104. M. El Kaoutit, I. Naranjo-Rodríguez, K. R. Tamsamani, M. P. Hernández-Artiga, D. Bellido-Milla, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros. A comparison of three amperometric phenoloxidase-Sonogel-Carbon based biosensors for determination of polyphenols in beers. *Biosens. Bioelectron.* (2007) Enviado.
105. N. Izaoumen, L. M. Cubillana-Aguilera, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, K. R. Tamsamani, A Novel β -Cyclodextrin-Sonogel-

- Carbon Electrode: Application for analysis of Catecholamines. *Anal. Letters* (2007) Enviado.
106. Electron Microscopy: Principles and Fundamentals, S. Amelinck, Dirk van Dyck, J. van Landuyt, Gustaaf van Tendeloo (Eds.), Wiley, Canadá, 1997.
107. Procedures in Electron Microscopy, A. W. Robards, A. J. Wilson (Eds.), Wiley, EE.UU., 2000.
108. A. J. Garratt-Reed, D. C. Bell, Energy Dispersive X-ray Analysis in the Electron Microscope, Springer-Verlag Telos, 2002.
109. Binnig, G., Quate, C. F., Gerber, Ch., *Phys. Rev. Lett.*, 56 (9) (1986) 930.
110. Albrecht, T.R., Grütter, P., Horna, D., Rugar, D. *J. Appl. Phys.* 69(2) (1991) 668.
111. Meyer, G. Amer, N. M. *Appl. Phys. Lett.* 53 (12) (1988) 1045.
112. Alexander, S., Hellemans, L., Marti, O., Schneir, J., Elings, V. Hansma, P.K., *J. Appl. Phys.* 65 (1) (1989) 164.
113. Putman, C.A.J., De Grooth, B.G., Van Hulst, N.F., and Greve, J., *J. App. Phys.* 72(1), (1992) 6.
114. Albretch, T.R., Akamine, S., Carver, T. E., Quate, C. F., *J. Vac. Sci. Technol. A*, 8(4) (1990) 3386.
115. Keller, D. J., Chih-Chung, C., *Surf. Sci.* 268 (1992) 333.
116. Gallego-Juárez, J.A., *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 22 (1989) 804.
117. Meyer, G., Amer, N.M., *Appl. Phys. Lett.* 57(20) (1990) 2089.
118. Authier, André. Dynamical Theory of X-ray diffraction, Editorial Oxford University Press (2003).
119. Ristig, M. L., Gernoth, K. A., Particle scattering, X-ray diffraction and microstructure of solids and liquids, Editorial Springer Verlag (2003).
120. Watts, J. F., Wolstenholme, J., An introduction to surface analysis by XPS and AES, Editorial Wiley (2003).
121. Azaroff, L. V., X-ray spectroscopy, Editorial McGraw-Hill (1974).

122. Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B.: *Metodos espectroscópicos en Química Orgánica*, Editorial Sintesis, Madrid (España) (2005).
123. Colthup, N.B., Daly, L. H. Wiberley, S. E., *Introduction to infrared and Raman Spectroscopy*, Academic Press, San Diego (1990).
124. Schrader, B. *Infrared and Raman Spectroscopy. Methods and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim (1995).
125. Nishikida, K., Nishio, E. Hannah, R. *Selected Applications of modern FTAR Techniques*, Kodansha LTD., Tokyo, (1995).
126. J. B. Flato, *Anal. Chem.*, 44(11) (1972) 75A.
127. R.S. Nicholson, *Anal. Chem.*, 44(5) (1972) 478R.
128. R. Neelo, *Mikrochim. Acta*, I(3-4) (1978) 305.
129. A. M. Bond, *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker INC., 1980.
130. María del Mar Cordero Rando. Tesis de Licenciatura (1997).
131. P. T. Kissinger, W. R. Heineman (Eds), *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, Marcel Dekker, New York, 1984.
132. A. M. Bond, *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker INC., 1980.
133. D. Schuetzle, R. Hammerle en *Fundamentals and Applications of Chemical Sensors*, ACS Symposium Series 309, American Chemical Society, Washington DC 1986.
134. Osvaldo Lázaro Estévez Hernández. Furoiltiureas: Naturaleza de sus complejos con CdCl_2 Y HgCl_2 y su utilización en sensores electroquímicos. Tesis Doctoral. 2006.
135. O Estévez-Hernández, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, E. Reguera, I. Naranjo-Rodríguez. *Sensors and Actuators, B: Chemical* (2007), B120 (2), 766.

Bibliografía

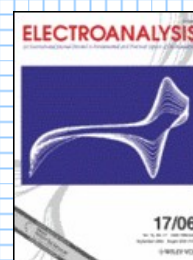
136. O. Estévez-Hernández, E. Otazo-Sanchez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, E. Reguera. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (2006), 64A (4), 961.
137. O. Estévez-Hernández, E. Otazo-Sanchez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, E. Reguera. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (2005), 62A (4-5), 964.
138. O. Estévez-Hernández, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, E. Reguera. Evaluation of carbon paste electrodes modified with 1-furoylthioureas for the analysis of cadmium by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Sensors and Actuators* (2007) On Line.
139. K. -H. König, M. Schuster, G. Schneeweiss, B. Steinbrech, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 325 (1985) 621.
140. P. Vest, M. Schuster, K. -H. König, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 335, (1989) 759.
141. M. Schuster, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 342, (1992) 791.
142. G. Zuo, M. Muhammed, *Separ. Sci. Technol.*, 25 (1990) 1785.
143. G. Zuo, M. Muhammed, *Solv. Extr. Ion. Exch.*, 13 (1995) 855.
144. G. Zuo, M. Muhammed, *React. Polym.*, 24 (1995) 165.
145. Y. Sasaki, *Anal. Chim. Acta*, 127 (1981) 209.
146. K. Chakravarti, S. Mukherjee, M. K. Saha, T. Chakrabarty, *Talanta*, 31 (1984) 215.
147. D. Sandhya, M. S. Subramanian, *J. Radioanal. And Nucl. Chem.*, 224 (1997) 53.
148. P. Muhl, K. Glock, F. Dietze, E. Hoyer, L. Beyer, *Z. Chem.*, 26 (1996) 81.
149. W. Saari, R. Seitz, *Anal. Chem.*, 55 (1983) 667.
150. K. Carroll, F. V. Hieftje, *Anal. Chem.*, 61 (1989) 1768.
151. K. -H. König, C. Holzner, J. Bosslet, *Chem. Ber.*, 122 (1989) 59.
152. M. Schuster, E. Unterreitmaier, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 346 (1993) 630.

153. E. Unterreitmaier, M. Schuster, *Anal. Chim. Acta*, 309 (1995) 339.
154. M. Schuster, M. Sandor, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 356 (1996) 326.
155. L. Pérez, Y. Martínez, O. Arias, O. Fonseca, E. Otazo, O. Estévez, Y. Fajardo, J. Alonso, J. Casabó, *Afinidad*, 474 (1998).
156. L. Pérez, G. Macedo, P. Ávila, E. Otazo, H. Carrasco, H. López, J. Alonso, O. Estévez, *Afinidad*, 483 (1999) 295.
157. L. Pérez, G. Ortiz, P. Avila, E. Otazo, H. López, J. Alonso; O. Estévez, *Afinidad*, 484 (1999) 397.
158. E. Otazo-Sánchez, L. Pérez-Marín, O. Estévez-Hernández, S. Rojas-Lima, J. Alonso-Chamorro, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.2.*, (2001) 2211.
159. L. Pérez, O. Gutiérrez, E. Otazo, H. López, P. Avila, O. Arias, O. Estévez, *Afinidad*, 59 (2002) 581.
160. A. Lazo, M. Arada, M. Bustamante, E. Otazo, O. Estévez, A. Alvarez, *Revista Cubana de Química*, 15 (2003) 60.
161. I. Naranjo-Rodríguez, M. Barea-Zamora, J.M. Barberá-Salvador, J.A. Muñoz-Leyva, M.P. Hernández Artiga, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Mikrochim. Acta*, 126 (1997) 87.
162. I. Naranjo-Rodríguez, J.A. Muñoz-Leyva, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Anal. Chim. Acta*, 344 (1997) 167.
163. I. Naranjo-Rodríguez, J.A. Muñoz-Leyva, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Mikrochim. Acta*, 122 (1997) 601.
164. M^a del Mar Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Anal. Chim. Acta*, 370 (1998) 231.
165. M^a del Mar Cordero-Rando, M. Barea-Zamora, J.M. Barberá-Salvador, I. Naranjo-Rodríguez, J.M. Muñoz-Leyva, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Mikrochim. Acta*, 132 (1999) 7.
166. I. Naranjo-Rodríguez, J.A. Muñoz-Leyva, J.L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Bull. Electrochem.*, 19 (2003) 289.

Bibliografía

167. M. Guttman, K. -H. Lubert, L. Beyer, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 356 (1996) 263.
168. K.-H. Lubert, M. Guttman, L. Beyer, *J. Solid State Electrochem.*, 6 (2002) 545.
169. A. Nosal-Wiercinska, G. Dalmata, *Electroanalysis*, 14 (2002) 1275.
170. B. Douglas, F. B. Dains, *J. Am. Chem. Soc.*, 56 (1934) 719.
171. D. Schroeder, *Chem. Rev.*, 55 (1955) 181.
172. V. Mozolis, S. P. Lokukaitito, *Uspeji Khimii*, 42 (1973) 1310.
173. R. Esmoil, F. Kuzzer, *Synthesis*, 301 (1975).
174. Y.I. Rodríguez, M.C. Cerdeña, A.M. Plutín, A. Macías, P. Del Bosque, *An. Quím.*, 91 (1995) 696.
175. M.L. Moore, F.S. Crossley, *J. Am Chem. Soc.*, 62 (1940) 3273.
176. R.M. Harrison, en *Pollution: Causes, Effects and Control*, Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995.
177. M.B. McBride, en *Environmental Chemistry of Soils*, Ed. Oxford University, New York, 1994.
178. D. Sancho, M. Vega, L. Debán, R. Pardo, G. González, *Analyst*, 122 (1997) 727.
179. L. Hernandez, J.M. Melguizo, M.H. Blanco, P. Hernandez, *Analyst*, 114 (1989) 397.
180. R. Agraz, M.T. Sevilla, J.M. Pinilla, L. Hernandez, *Electroanalysis*, 3 (1991) 393.
181. C. Bing, L. Kryger, *Talanta*, 43 (1996) 153.
182. S.-S. Huang, Y.-D. Cheng, B.-F. Li, G.-D. Liu, *Mikrochim. Acta*, 130 (1998) 97.
183. K. Fanta, B. Singh Chandravanshi, *Electroanalysis*, 6 (2001) 13.
184. C. Hu, K. Wu, X. Dai, *Shengshui Hu, Talanta*, 60 (2003) 17-24.

185. G. Marino, M.F. Bergamini, Marcos F.S. Teixeira, Éder T.G. Cavalheiro, *Talanta*, 59 (2003) 1021.
186. W. Yantasee, Y. Lin, G.E. Fryxell, B.J. Busche, *Analytica Chimica Acta*, 502 (2004) 207.
187. S.B. Hočevár, I. Švancara, K. Vytřas, B. Ogorevc, *Electrochimica Acta*, 51 (2005) 706.
188. Y.-B. Shim, D.-S. Park, M.-S. Won, *Proceedings – Electrochemical Society* (1999), 99 – 23 (Chemical Sensors IV), 156.
189. Z. N. Nazarova, I. G. Gakh, *Zh. Obščh. Khim.*, 30 (1960) 2322.
190. P. Beletskaja, A. Macías, E. Otazo, *Sur. Org. Jimii*, 18 (1982) 681.
191. B. Douglas, F. B. Dains, *J. Am. Chem. Soc.*, 56 (1934) 719.
192. A. Dago, Yu. Shepelev, F. Fajardo, F. Alvarez, R. Pomés, *Acta. Crystallogr. Sect. C*, 45 (1989) 1192.
193. Y.I. Rodríguez, M.C. Cerdeña, A.M. Plutín, A. Macías, P. Del Bosque, *An. Quím.*, 91 (1995) 696.
194. J. E. Stewart, *J. Chem. Phys.*, 26 (1957) 248.
195. G.M. Sheldrick, en *Programs for Crystal Structure Analysis (SHELX97)*, Universidad de Göttingen, Alemania, 1997.
196. L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.*, 30 (1997) 564.
197. C. Kluwer, en *International tables for X-ray Crystallography*, Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, 1995.
198. L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.*, 32 (1999) 837.
199. G. Gun, M. Tsionsky, O. Lev, *Anal. Chim. Acta*, 294 (1994) 261.
200. G. Oskam, P. C. Searson, *J. Phys. Chem. B*, 102 (14) (1998) 2464.
201. R. H. Wopschall, I. Shain, *Anal. Chem.*, 39 (13) (1967) 1514.
202. Socrates, G.: *Infrared and raman characteristic group frequencies: table and charts.*, John Wiley & Sons, England (2001), p. 244-245.
203. N. Khummalai, V. Boonamnuyvitaya, *J. Biosci. Bioeng.*, 99 (3), 277 (2005)



Anexo I:
Electroanalysis (2005) 17(9):806-814

Full Paper

Study of the Responses of a Sonogel-Carbon Electrode Towards Phenolic Compounds

M^a del Mar Cordero-Rando, Ignacio Naranjo-Rodríguez, José M^a Palacios-Santander, Laura M^a Cubillana-Aguilera, José Luis Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros*

Departamento de Química Analítica, Universidad de Cádiz, Polígono Río San Pedro, Apartado 40, 11510, Puerto Real, Cádiz, Spain
*e-mail: jluishidalgo@uca.es

Received: June 1, 2004

Final version: September 23, 2004

Abstract

The electrochemical behavior of a sonogel-carbon electrode towards nine phenolic compounds (chloro-, nitro- and alkyl-phenols) was studied; one of them (4-chloro-3-methylphenol) was used to evaluate characteristics of the electrode, such as accumulation and cleaning procedure of the electrode surface, reproducibility of the measurements, and influence of time from fabrication on electrochemical response. A polyethyleneglycol-modified sonogel-carbon electrode was found to improve the electrochemical response towards the analyte. A linear relationship between peak height and concentration in the range 0.005–0.5 mg L⁻¹ was obtained, with a detection limit of 2.8 µg L⁻¹. The studies of electrochemical parameters, as well as interferences, are also included.

Keywords: Sonogel-carbon electrode, Phenolic compounds, Differential pulse voltammetry, Polyethyleneglycol-modified electrode

1. Introduction

The use of sol-gel chemistry to produce electrical conducting matrixes based on graphite gave as a result the carbon ceramic electrodes, CCEs [1, 2]. The incorporation of graphite to the sol-gel precursors has given rise to malleable materials that can take any configuration. These materials allow making sensors with chemical and/or biological modifications, renewable surface and relative chemical inertness towards several solvents.

Nowadays there is a great interest in the developing and application of new graphite-based sol-gel electrodes, with the aim to have alternatives to other solid electrodes [3–6]. Following this idea, we have proposed a procedure to yield solid carbon composite materials for the preparation of sol-gel electrodes using sonocatalysis. By means of the direct application of high-energy ultrasound to the sol-gel precursors in acidic media, hydrolysis is carried out for a short time and without the presence of alcoholic solvents. The mixture of the sonogel obtained with spectroscopic grade graphite leads to a new type of sol-gel electrodes: the sonogel-carbon electrodes [7–10].

The sonogel-carbon electrodes show the general good properties of the other CCEs. Besides, in comparison with other carbon electrodes, they exhibit especially favorable electrochemical properties. Moreover, the electrodes show direct response towards a large group of organic compounds and several metallic ions. Thanks to these properties, and their stability, these electrodes show good characteristics to be used as electrochemical sensors.

On the other hand, phenols are compounds of the greatest interest from an environmental point of view [11, 12].

Phenol and its derivatives are between the more widely used chemicals in industry [13–15]. Consequently phenols have been found as air, water and soil pollutants. The seriousness of the environmental pollution by phenols is due to the high toxicity of many substituted phenolic compounds for living creatures [16]. For these reasons, phenols are included in the Priority Lists of all environmental agencies, and numerous procedures have been developed for their study [17–19].

In this article, nine phenols have been used to prove the good behavior of a sonogel-carbon electrode. They were chosen as follows: four chlorophenols (2-chlorophenol; 4-chloro-3-methylphenol; 2,4-dichlorophenol; 2,4,6-trichlorophenol), four nitrophenols (2-nitrophenol; 4-nitrophenol; 2-methyl-4,6-dinitrophenol; picric acid) and one alkylphenol (2,4-dimethylphenol). 4-Chloro-3-methylphenol was considered as the proof analyte. The results show the good properties of this type of electrodes to be used as detectors.

2. Experimental

2.1. Reagents and Materials

Methyltrimethoxysilane (MTMOS) was from Merck (Darmstadt, Germany) and HCl was from Panreac (Barcelona, Spain). Boric acid, ortho-phosphoric acid, acetic acid and sodium hydroxide for Britton-Robinson buffer solution were from Merck. Polyethyleneglycol (PEG, MW 550) was from Aldrich (Milwaukee, WI). All reagents were of analytical grade or higher, and used as received without further purification. Graphite powder (spectroscopic grade RBW) was from SGL Carbon (Ringsdorf, Germany).

Nanopure water was obtained by passing twice-distilled water through a Milli-Q system (18 M Ω ·cm, Millipore, Bedford, MA). Pollutants tested in this work (2,4-dimethylphenol, picric acid, 4-nitrophenol, 2-nitrophenol, 2-methyl-4,6-dinitrophenol, 4-chloro-3-methylphenol, 2,4,6-trichlorophenol, pentachlorophenol, 2,4-dichlorophenol,) were of analytical grade, and purchased from Merck, Panreac, Fluka, (Buchs, Switzerland), Riedel (Seelze, Germany) or Supelco (Bellefonte, Pennsylvania).

Pollutant stock solutions (500 mg L⁻¹) were prepared in ethanol (Merck); working solutions were prepared daily by diluting with ethanol.

Glass capillary tubes, i.d. 1.15 mm, were used as the bodies for the composite electrodes.

2.2. Instrumentation

All the electrochemical measurements were performed with an AutoLab PGSTAT20 (Ecochemie, Utrecht, The Netherlands) potentiostat/galvanostat interfaced with a personal computer, using the AutoLab software GPES for waveform generation and data acquisition and elaboration. The experiments were carried out in a single compartment three-electrode cell, at room temperature (25 \pm 1 °C), and under nitrogen atmosphere. The counter electrode was a platinum wire and a silver/silver chloride/3 M KCl electrode was used as the reference. The composite-filled glass capillary tubes were used as the working electrode.

A 600-Watt Model, 20 kHz ultrasonic processor (Kontes, Dusseldorf, Germany) equipped with a 13 mm titanium tip was used. The ultrasonic processor was enclosed inside a sound-proof chamber during operation.

Scanning electron microscopy (SEM) studies were carried out on a JSM 820 instrument (JEOL, Japan) operating at 30 keV and equipped with a Microanalyzer AN/10000.

Differential pulse voltammetry (DPV) was the electrochemical technique applied to study the behavior of the sonogel-carbon electrodes. For the study of pollutants, DPV was carried out from 0 to \pm 1.25 V depending on the nature of the process to be studied (reduction or oxidation process). Other instrumental parameters for DPV were as follow: pulse amplitude \pm 100 mV, pulse repetition time 0.2 s, scan rate 25 mV s⁻¹, and a pretreatment at 0 V during 120 s.

2.3. Procedures

2.3.1. Electrode Preparation Procedure

To prepare the sonogel-carbon, 500 μ L of MTMOS and 100 μ L of 0.2 M HCl were mixed and then insonated during 5 seconds; next, 1 g of graphite powder was added and homogeneously dispersed in the sonosol obtained. By applying ultrasonic cavitation to favor the sol-gel process to begin, we have avoided the use of alcoholic solvent and reduced drastically the time needed to get an unique phase; the mixture was insonated during 5 seconds to promote

cavitation and thus hydrolysis. The complete procedure has been described previously [8].

For the sonogel-carbon electrode modified with PEG, 12.5 μ L of a 5:2 w/w H₂O:PEG solution were added to the sonosol obtained according to the previous procedure. The addition of more than 12.5 μ L of a 5:2 w/w H₂O:PEG solution resulted in an excessive time for the composite solidification, and yielded a fragile and easily breakable material. Smaller amounts of PEG solution lead to lower peak currents.

2.3.2. Procedure for the Study of Pollutants

Nine phenolic compounds were studied by DPV with the sonogel-carbon electrode. A concentration of 1 mg L⁻¹ was used for the pollutants. All measurements were carried out in a pH 4 Britton-Robinson buffer solution. The DPV procedure described above was applied for this study.

2.3.3. Procedure for the Study of Variables

For the study of each variable, the procedure consisted of: 1) selecting a value of the variable and registering the Britton-Robinson buffer at pH 4 as background; 2) adding 0.5 mg L⁻¹ of 4-chloro-3-methylphenol in cell and homogenizing the solution with magnetic stirring; 3) applying the accumulation conditions; 4) registering; 5) cleaning the electrodes thoroughly with water; 6) changing the cell, using another one which contains only the buffer solution and applying a cleaning treatment (-0.5 V for 2 min), repeating the treatment if it is necessary; 6) changing the cell again and repeating the procedure.

Calibration and study of interferences were carried out under the operating conditions obtained through the study of variables: a sonogel-carbon electrode modified with PEG as working electrode; Britton-Robinson buffer at pH 4 as supporting electrolyte; accumulation time, 600 s; accumulation potential, 0 V; pulse amplitude, 125 mV; pulse repetition time, 0.8 s.

3. Results and Discussion

3.1. Study of Pollutants

The response of a sonogel-carbon electrode towards nine phenolic compounds (picric acid, 2,4-dinitrophenol, 4-nitrophenol, 2-nitrophenol, 2-methyl-4,6-dinitrophenol, 2,4,6-trichlorophenol, pentachlorophenol, 2,4-dichlorophenol, 4-chloro-3-methylphenol) was studied. The individual signals for these compounds in the oxidation range are shown in Figure 1. A concentration of 1 mg L⁻¹ was used for all the pollutants. No signal was obtained for picric acid.

Nitrophenols were also studied in the reduction range (Fig. 2); chloro and methyl phenols showed no signal in this range. Picric acid and 2-methyl-4,6-dinitrophenol yielded characteristic signals, with several peaks due to the nitro groups present in the molecules. The peak heights obtained

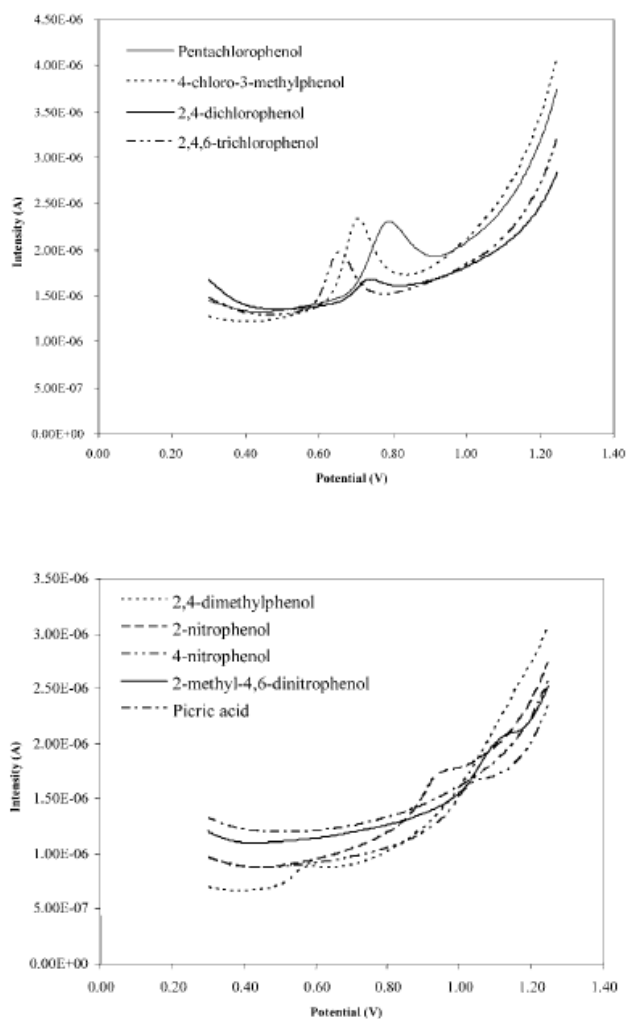


Fig. 1. Oxidation signals for the phenolic compounds in a Britton-Robinson buffer of pH 4 at a concentration of 1 mg L^{-1} . Pretreatment 0 V during 120 s; pulse amplitude 100 mV; pulse repetition time 0.2 s; scan rate 25 mV s^{-1} .

for 4-nitrophenol and 2-nitrophenol were smaller than those obtained for these compounds when other carbon electrodes are used [20, 21]; however, it must be taken into account that this electrochemical procedure is not optimized for the measurements of 4-nitrophenol and 2-nitrophenol.

Figure 3 shows the oxidation signal of a solution in which all the pollutants are present at the same concentration, 1 mg L^{-1} . The best defined signal appears at a peak potential

of about 0.74 V, and can be considered the sum of the chlorophenols present in the solution.

With the aim of carrying out a complete study of the behavior of the sonogel-carbon electrode towards an organic pollutant, one of the species tested was chosen for subsequent studies. 4-Chloro-3-methylphenol was the analyte selected, due to the sensitivity and good definition of its electrochemical signal.

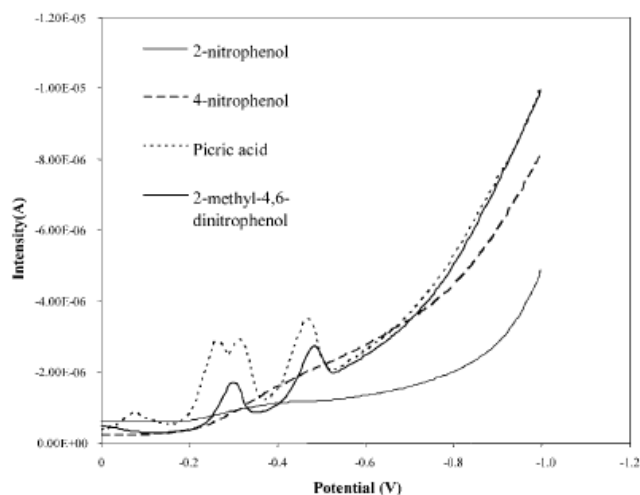


Fig. 2. Reduction signals for the nitrophenols in a Britton-Robinson buffer of pH 4 at a concentration of 1 mg L^{-1} . Pretreatment 0 V during 120 s; pulse amplitude -100 mV ; pulse repetition time 0.2 s; scan rate 25 mV s^{-1} .

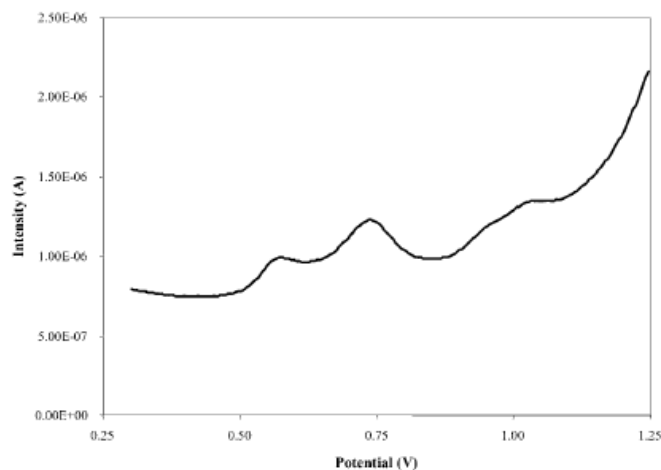


Fig. 3. Oxidation signal of a solution in which all pollutants are at a concentration of 1 mg L^{-1} for each pollutant in a Britton-Robinson buffer of pH 4. Pretreatment 0 V during 120 s; pulse amplitude 100 mV ; pulse repetition time 0.2 s; scan rate 25 mV s^{-1} .

3.2. Renewal of the Electrode Surface

As a previous step to the electrochemical study of 4-chloro-3-methylphenol, we carried out a comprehensive study about the renewal of the surface of the sonogel-carbon electrode, and the reproducibility of the measurements after a cleaning procedure. The study was carried out by using mechanical and electrochemical renewal. Tests were done

for the same electrode and for different sonogel-carbon electrodes.

3.2.1. Mechanical Renewal

In this case, three different sonogel-carbon electrodes were used. Four measurements were made for each sonogel-carbon electrode, renewing their surface before each

measurement according to the described procedure. Neither considering each electrode independently nor comparing the results of all the electrodes, an acceptable reproducibility was obtained after several mechanical renewals. Relative standard deviations obtained were between 13 and 41% [8].

2.3.2. Electrochemical Renewal

Two different procedures were applied to carry out the electrochemical renewal of the active surface: a) consecutive sweeps between 0.8 and -0.2 V; b) the application of a potential of -0.5 V for 120 s.

In the first method, and after the electrochemical measurement of the analyte, the active surface of the electrode was washed with Milli-Q water, the electrode was immersed in the cleaning solution, and then the electrochemical renewal was applied. Figure 4A shows the voltammogram of the analyte solution and the signals obtained after electrochemical cleaning of the electrode surface carrying out sweeps between 0.8 and -0.2 V in the buffer solution. There was an evidence of a decrease of the 4-chloro-3-methylphenol peak height. Three cycles of sweeps are considered sufficient to obtain a clean surface. A larger effectiveness in the cleaning procedure was possible by using five cycles of sweeps.

The last step consisted of verifying if the electrode continues being active and its capability of detecting the analyte with reproducibility. After registering 4-chloro-3-methylphenol in a second sweep, the peak height was lower than that obtained before applying this kind of electrochemical renewal (70% of its initial value). This seems to imply that these measurement conditions do not provide reproducibility.

The second possibility of electrochemical renewal consisted of applying a fixed potential of -0.5 V for 2 min with magnetic stirring. After applying electrochemical cleaning, a voltammogram of the buffer solution is recorded to check the absence of electrochemical signal, and thus that the electrode surface is clean. Voltammograms shown in Figure 4B confirm that this method is successful. The results obtained carrying out a new measurement of the analyte show an excellent reproducibility for peak height.

For 4-chloro-3-methylphenol, it was plain that the best method was the electrochemical renewal applying a fixed potential of -0.5 V during 2 min. This is the method used to clean the electrode surface in the determination of our analyte.

3.3. Accumulation Study on the Electrode Surface

The accumulation of 4-chloro-3-methylphenol on the surface of the sonogel-carbon electrode was studied. As has been described in the Experimental section, to establish the accumulation time, the electrode was immersed into the solution containing the pollutant for different periods of time. The results show that a sorption process over the

electrode surface occurs and the peak height depends on the contact time of the electrode with the solution where the analyte has been added.

A typical behavior for a sorption process was found, i.e., peak height increases with the preconcentration time up to the stabilization of the signal. From the results obtained, ten minutes was selected as the interval time in which the sorption process was stabilized.

Peak height was found to clearly decrease with the increase of the accumulation potential. 0 V was the potential that provided the highest peak height. For this reason, the value used in the following tests was an accumulation potential of 0 V for 10 min.

The next assay consisted of studying the peak height reproducibility under the optimized conditions. The results (relative standard deviation value of 0.5% for $n=9$) indicate that the cleaning treatment is valid and the application of a 10 min accumulation step at a potential of 0 V leads to very good reproducibility in the peak height measurements.

3.4. Temporary Evolution of Peak Currents for Sonogel-Carbon Electrodes

As is known, a gel has a dynamic structure because the polymerization reactions continue, even after the gelification point; thus, it is reasonable to think that peak intensities will vary with time.

A stable analytical response is essential for a sensor. It is then necessary to search strategies for getting good stability. Polyethyleneglycol, PEG, has been used to stabilize electrochemical signals [22, 23], due to the formation of microchannels that increase the electrode response.

In this paper, a study of the evolution of the voltammetric responses for 4-chloro-3-methylphenol was performed. Two electrode sets were used: six sonogel-carbon electrodes and six sonogel-carbon electrodes modified with PEG. All the electrodes were prepared the same day; but all them were not tested the same day; the first measurements were carried out 24 h after their fabrication. New electrodes were included in the study during 30 days. Results obtained are shown in Figure 5.

As observed, the peak current of the first measurement increases asymptotically with respect to the time passed from the fabrication of the electrode. In previous studies, we demonstrate the stability of the background signal after at least 42 days; so, the changes observed in presence of 4-chloro-3-methylphenol can be attributed to the interaction between the analyte and the working electrode.

All electrodes decrease their peak currents with respect to the first measurement, reaching a steady value after several days. The time for stabilization does not seem very different from one to another electrode. Apparently, neither the presence of PEG nor the time passed from the fabrication of the electrode affect the time for getting stability.

In the first measurement, the peak current for unmodified electrodes is always higher than that obtained using

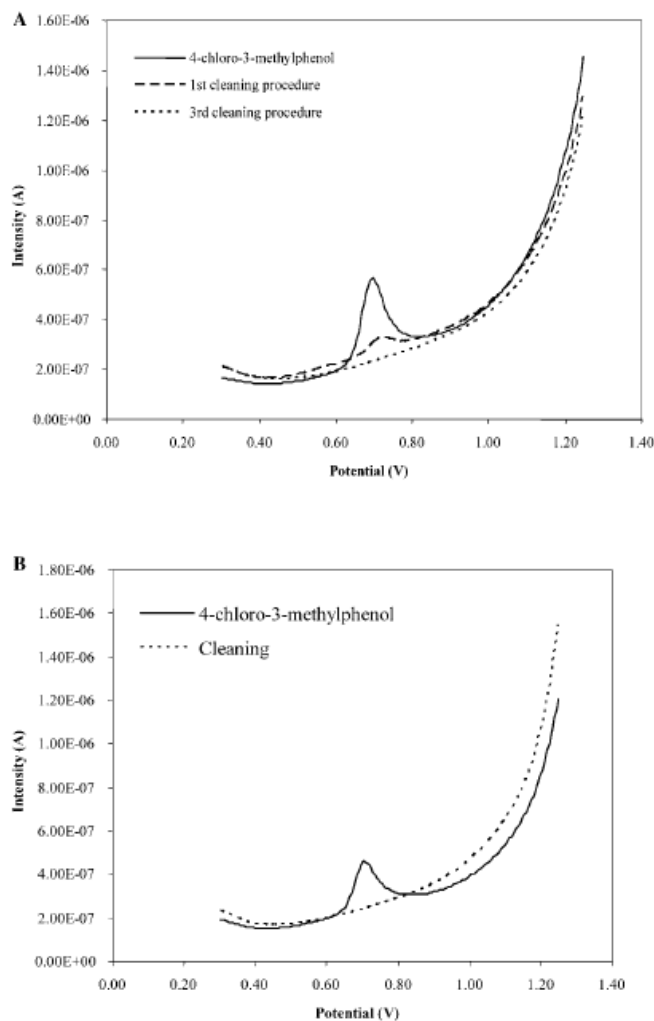


Fig. 4. Analyte (—) and the signals obtained after A) an electrochemical cleaning procedure between 0.8 and -0.2 V (one cycle ---; three cycles ----); or B) after an electrochemical cleaning procedure by applying a potential of -0.5 V during 2 min (-----). Britton-Robinson buffer of pH 4 at a concentration of 0.5 mg L^{-1} ; pulse amplitude 100 mV ; pulse repetition time 0.2 s ; scan rate 25 mV s^{-1} .

modified electrodes. As a result, the presence of PEG stabilizes the signal at higher values of peak currents.

After these studies, several questions arise that could be resolved with the use of structural analytical techniques. So, the presence of PEG seems to cause less structural changes in the gel, since the peak current decrease is not as pronounced as when PEG is not present. The highest value, in general, of the final peak currents in presence of PEG can

justify its use, although the stabilization process does not seem to decrease in time.

To answer these questions, an unused sonogel-carbon electrode modified with PEG was studied by SEM. Figure 6 shows the images obtained for the surface of the electrode before polishing (A), after polishing using the method described previously (B), and after maintaining the surface immersed in water with magnetic stirring for several days (C

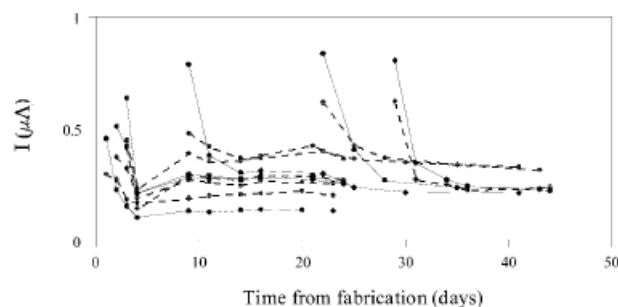


Fig. 5. Variation of peak height with time from fabrication for an unmodified Sonogel-Carbon electrode (—), and for a sonogel-carbon electrode modified with PEG (---) in a Britton-Robinson buffer of pH 4 at a 4-chloro-3-methylphenol concentration of 0.5 mg L^{-1} . Pretreatment 0 V during 600 s; pulse amplitude 100 mV; pulse repetition time 0.2 s; scan rate 25 mV s^{-1} .

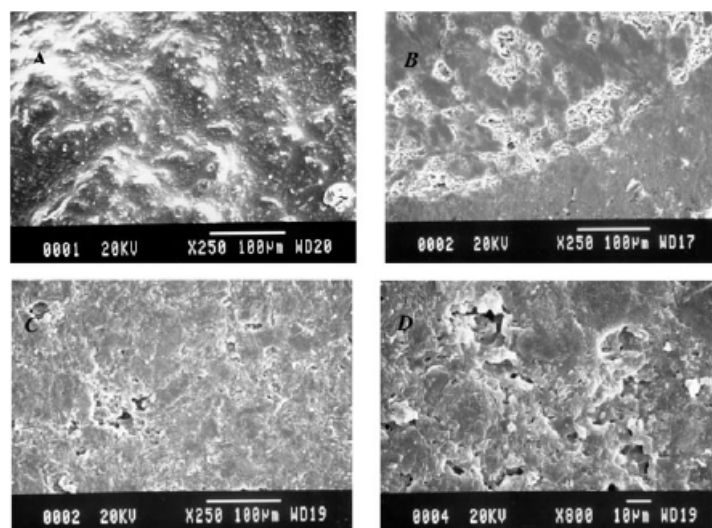


Fig. 6. SEM micrographs of the surface of a PEG-modified sonogel-carbon electrode: A) before polishing, B) after polishing, C) after maintaining the electrode immersed in water for several days with magnetic stirring, and D) like C but with a $\times 800$ magnification.

and D) with the objective of solving partially the PEG, causing the formation of microchannels in the electrode, as described in [22]. After polishing the surface (from A to B), it is evident the porosity of this material. Comparing B and C micrographs, it is observed that after immersing the electrode in water for several days, the porosity increases because of the solvation of PEG in the aqueous media. The canalization of the material is more evident in the micrograph D (higher resolution). For this reason, the presence of PEG explains that the stabilization of peak currents at higher values, given for the modified electrodes, is a

consequence of the increasing of their canalization and, therefore, of the electrochemically active surface.

With respect to the stability of the sonogel-carbon electrode and its continuous use, the response of the electrode reaches a steady state after several days, and remains with a reproducible response for a longtime. We have carried out a study of the response of a sonogel-carbon electrode toward phenolic compounds and mixtures of them; an unique electrode was used for all the measurements of the individual analytes and for all the mixtures of analytes [24], and only electrochemical renewal was used to

clean the electrode surface. Thus, we can assume that these electrodes are suitable for continuous use.

3.5. Reproducibility for a Polyethyleneglycol-Modified Electrode

One of the PEG-modified electrodes employed in the temporary evolution study was selected to evaluate the reproducibility of its response versus 4-chloro-3-methylphenol using electrochemical renewal. The measurements were carried out for several days until 14 measurements were obtained. The values showed a constant response of the electrode and so confirms the reproducibility of the measurement. The relative standard deviation was 2.5%.

A similar study was carried out using mechanical renewal of the electrode surface. The same procedure used so far was applied. The reproducibility obtained with electrochemical renewal was much better than that obtained with mechanical renewal (relative standard deviation of 6.7% for mechanical renewal). Nevertheless, it is necessary to note that mechanical renewal involves higher values of intensities and, therefore, more sensitivity, with a mean peak height value of 0.9 μA versus a value of about 0.4 μA for electrochemical renewal. This is because mechanical renewal implies a real generation of a new surface, whereas it does not occur when electrochemical renewal is used; in consequence, after a mechanical renewal, the peak height value should be comparable with the first measurement obtained with an unused electrode, whereas after an electrochemical cleaning the peak height values should be comparable with the values once stabilization is reached.

3.6. Calibration Plot and Detection Limit

In order to establish a calibration plot, electrochemical measurements of different 4-chloro-3-methylphenol concentrations were carried out using the experimental parameters previously optimized.

For each concentration the measurements were taken twice; the calibration plot included the arithmetic means of the peak heights obtained. The relationship between peak height and the concentration was evaluated in the range from 0.005 to 0.5 mg L^{-1} . An intercept of 6.93 ± 3.58 nA, a slope of 839.17 ± 16.49 nA L mg^{-1} (95% significance level), and a correlation coefficient of 0.999 were obtained.

The detection limit was considered as the concentration whose intensity value equals the blank intensity plus three times the standard deviation of the blank; for the determination limit ten times the standard deviation of the blank was used [25]. The detection limit obtained ($2.8 \mu\text{g L}^{-1}$) is satisfactory and even the determination limit is situated in the range of $\mu\text{g L}^{-1}$, with a value of $9.3 \mu\text{g L}^{-1}$.

According to previous results in the study of phenols with carbon electrodes, the stability of the sonogel-carbon electrodes is superior than for other carbon electrodes, and the detection limit obtained for 4-chloro-3-methylphe-

Table 1. Effect of organic species on the determination of 4-chloro-3-methylphenol at a concentration of 0.5 mg L^{-1} .

Interferent	Interferent:analyte mass ratio	Deviation (%)
Pentachlorophenol	2:1	>100
	1:1	69.7
	0.5:1	36.5
2,4,6-Trichlorophenol	1:1	-10.7
	0.5:1	62.8
2,4-Dichlorophenol	1:1	-67.1
2,4-Dimethylphenol	1:1	n.i. [a]
2-Nitrophenol	0.5:1	-21.0
	2:1	n.i. [a]
4-Nitrophenol	1:1	n.i. [a]
2-Methyl-4,6-dinitrophenol	2:1	n.i. [a]
Picric acid	2:1	n.i. [a]

[a] n.i.: no interference was observed.

not was better than those described in the papers [20, 21, 26, 27].

Some tests were carried out for spiked drinking water samples; 4-chloro-3-methylphenol concentrations of 0.1 and 0.25 mg L^{-1} were used. The results show recoveries of 97.8 and 98.9%, respectively, for three measurements of each concentration. In all cases electrochemical renewal was used as cleaning procedure, giving relative standard deviations for the repeated measurements of 3.0 and 2.2% for 0.1 and 0.25 mg L^{-1} 4-chloro-3-methylphenol concentrations.

A study of the response of a sonogel-carbon electrode versus binary mixtures of 4-chloro-3-methylphenol with the other eight phenols was carried out. As expected, according to Figure 1, strong interferences were observed for chlorophenols, as well as for alkylphenol; no interferences were observed for nitrophenols because of the wide separation among the peak potentials of these compounds and the reference compound. The use of a previous chromatographic step or the use of chemometric techniques should allow the resolution of a mixture of phenols. Results are shown in Table 1.

Pentachlorophenol gave a very high interference on 4-chloro-3-methylphenol signal; in addition, the cleaning procedure was very much difficult, due to the interaction of pentachlorophenol over the electrode surface.

For 2,4-dimethylphenol, the separation between peak potentials (about 130 mV) gave as a result two peaks, but with high negative deviation on analyte signal; however, for a 0.5:1 interferent:analyte concentration ratio a deviation lower than 5% was obtained.

4. Conclusions

The sonogel-carbon electrodes show electrochemical response towards phenolic compounds, in oxidation and/or reduction range according to their chemical structure.

The existence of a typical process of adsorption for 4-chloro-3-methylphenol over the electrode surface is patent.

However, mechanical or electrochemical cleaning can be used to renew the active surface of the electrode, although electrochemical renewal provides better reproducibility.

The peak heights evolve according to the time passed from the fabrication of the electrode and all of them reach a steady value; polyethyleneglycol-modified electrodes stabilize their intensities at higher values than those that do not contain polyethyleneglycol. The responses of the stabilized electrodes show a good reproducibility.

Scanning electron microscopy (SEM) micrographs show that the presence of PEG notably increases the canalization in the sonogel-carbon material, due to the partial solubilization of PEG, with the subsequent formation of microchannels, what might explain the mentioned difference between the current intensities.

According to previous results obtained by our research group in the study of phenols with carbon electrodes, the electrochemical behavior of the sonogel-carbon electrodes is better than that obtained for other carbon and sol-gel electrodes; the stability of the sonogel-carbon electrodes, as well as the detection limit obtained for 4-chloro-3-methylphenol, compare well with any other carbon electrode [8, 19–21]. Properties such as good mechanical properties, physical rigidity and a constant surface activity allow a good behavior of sonogel-carbon electrodes as electrochemical sensors.

5. Acknowledgements

The authors are grateful to FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Económico y Regional) and the Ministerio de Educación y Ciencia of Spain (Project CTQ2004-03708/BQU) and to the Junta de Andalucía for financial support.

6. References

- [1] G. Gun, M. Tsionsky, O. Lev, *Anal. Chim. Acta* **1994**, *294*, 261.
- [2] M. Tsionsky, G. Gun, V. Glezer, O. Lev, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1747.
- [3] M. A. Kim, W. Y. Lee, *Anal. Chim. Acta* **2003**, *479*, 143.
- [4] P. C. Chiang, W. T. Whang, *Polymer* **2003**, *44*, 2249.
- [5] X. Yang, L. Hua, H. Gong, S. N. Tan, *Anal. Chim. Acta* **2003**, *478*, 67.
- [6] S. S. Rosatto, P. T. Sotomayor, L. T. Kubota, Y. Gushikem, *Electrochim. Acta* **2002**, *47*, 4451.
- [7] J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, E. Blanco Ollero, L. Esquivias-Fedriani, *Patent P200100556*, Spain **2001**.
- [8] M. M. Cordero-Rando, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, E. Blanco, I. Naranjo-Rodríguez, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 2423.
- [9] B. Ballarin, C. Zanardi, L. Schenetti, R. Seeber, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Synthetic Metals* **2003**, *139*, 29.
- [10] B. Ballarin, M. Gazzano, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, D. Tonelli, R. Seeber, *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *374*, 891.
- [11] W. Frenzel, S. Kekler, *Anal. Chim. Acta* **1995**, *310*, 437.
- [12] J. Wang, Y. Lin, L. Chen, *Analyst* **1993**, *118*, 277.
- [13] A. Schultz, *J. Chromatogr.* **1983**, *269*, 208.
- [14] Y. S. Drugov, G. V. Murav'eva, *Zh. Anal. Khim.* **1991**, *46*, 2014.
- [15] A. Morales, D. A. Birkholz, S. E. Hrudehy, *Water Environ. Res.* **1992**, *64*, 660.
- [16] L. Landner, *Bull. Contam. Toxicol.* **1977**, *18*, 663.
- [17] *Drinking Water Directive 80/778/EEC*, Commission of the European Communities, Brussels **1980**.
- [18] United States Environmental Protection Authority, *Toxic Substances Control Act (TSCA)*, USEPA, Washington, DC **1979**.
- [19] I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Organic Environment Analysis by Electrochemical Methods*, in: *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Instrumentation and Applications* (Ed: R. A. Meyer), Wiley, Chichester **2000**, pp. 3035–3064.
- [20] I. Naranjo-Rodríguez, J. A. Muñoz-Leyva, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Anal. Chim. Acta* **1997**, *344*, 167.
- [21] M. M. Cordero-Rando, M. Barea-Zamora, J. M. Barberá-Salvador, I. Naranjo-Rodríguez, J. A. Muñoz-Leyva, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Mikrochim. Acta* **1999**, *132*, 7.
- [22] S. Sampath, O. Lev, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2015.
- [23] Z. Ji, A. R. Guadalupe, *Electroanalysis* **1999**, *11*, 167.
- [24] José M^o Palacios Santander, *Application of Chemometric Techniques to the Resolution of Overlapped Electrochemical Signals*, Ph.D. Thesis, University of Cádiz, Cádiz **2003**.
- [25] J. C. Miller, J. N. Miller, *Estadística para Química Analítica*, Addison-Wesley Iberoamericana, Wilmington **1993**, pp. 96–98.
- [26] I. Naranjo-Rodríguez, J. A. Muñoz-Leyva, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Analyst* **1997**, *122*, 601.
- [27] I. Naranjo-Rodríguez, J. A. Muñoz-Leyva, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Bull. Electrochem* **2003**, *19*, 289.



Anexo II:
Journal of Sol-Gel Science and Technology (2006) 40:55-44

Study of the influence of the graphite powder particle size on the structure of the Sonogel-Carbon materials

Laura M^a Cubillana-Aguilera ·
José M^a Palacios-Santander ·
Ignacio Naranjo-Rodríguez ·
José Luis Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros

Received: 2 February 2006 / Accepted: 16 May 2006 / Published online: 22 August 2006
© Springer Science + Business Media, LLC 2006

Abstract In this paper, the influence of carbon particles size on structure and on electrochemical and physical properties of the Sonogel-Carbon electrodes, with respect to Sonogel materials without graphite, have been studied. The materials have been characterized electrochemical and structurally; several Sonogel-Carbon materials were synthesized using different types of graphite powder as massive modifiers, adding in some cases other modifiers, such as octadecyl (C18) and polyethyleneglycol (PEG). Differential pulse voltammetry and cyclic voltammetry were the voltammetric techniques employed to evaluate the electrochemical behaviour; Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive Spectroscopy and Infrared Spectroscopy were the techniques employed to realize the superficial/structural characterization of the materials. The results obtained in both studies were very useful to explain the structure of the Sonogel-Carbon materials. Furthermore, they allowed to conclude that electrodes based on RW-B and UF graphites show very similar electrochemical behaviours and internal structures.

Keywords Sol-gel · Sonogel-Carbon Materials · Modified Sonogel-Carbon Electrodes · Scanning Electron Microscopy · Voltammetry

1. Introduction

The use of sol-gel chemistry to produce electrical conducting matrixes based on graphite has resulted in the carbon ceramic electrodes, CCEs [1, 2]. The incorporation of graphite to the sol-gel precursors has given way to malleable materials that can take almost any type of configuration. These materials allow to make sensors with chemical and/or biological modifications, renewable surface and relative chemical inertness towards several solvents. Moreover, other advantageous features have been described: high conductivity, wide operational voltage window, good mechanical properties, and physical rigidity, amongst others [3, 4].

Although the Sonogels had been previously reported [5, 6], the Sonogel-Carbon materials were described firstly by Cordero et al. [7, 8], and subsequently in other articles [9–12]. The fabrication procedure of Sonogel-Carbon materials is based on the use of sonocatalysis. Sonocatalysis consists of applying high-energy ultrasound directly to the precursors. In this way, ultrasonic cavitation is achieved, promoting hydrolysis with acidic water in the absence of any additional solvent. As a consequence of this, the time necessary to get a unique phase is reduced drastically, with regard to the classical sol-gel processes described in literature [13, 14]. The mixture of Sonogel with spectroscopic grade graphite leads to the Sonogel-Carbon electrodes.

With respect to the characterization, several techniques of structural characterization appear in literature. Among those more employees in the characterization of sol-gel materials, we can highlight: Scanning Electron Microscopy (SEM) [15–17], Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Infrared Spectroscopy [18, 19], X-ray diffraction (XRD) [20, 21], Atomic Force Microscopy (AFM) [22], and Termogravimetric techniques (TG) [19, 23].

L. M. Cubillana-Aguilera · J. M. Palacios-Santander ·
I. Naranjo-Rodríguez · J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros (✉)
Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias,
Universidad de Cádiz, Polígono Río San Pedro,
Apdo. 40, 11510, Puerto Real, Cádiz, Spain
e-mail: jluis.hidalgo@uca.es

In this paper, and related to the synthesis of the Sonogel-Carbon materials, the influence of carbon particles size on the structure and on electrochemical and physical properties of the Sonogel-Carbon electrodes, with respect to Sonogel materials without graphite, is studied. In a previous paper [7], we have reported a comparative study between ours electrodes and other graphite based electrodes that appear in literature. The paper is structured in two different parts: the electrochemical characterization and the superficial characterization of the materials.

With respect to the first part, several Sonogel-Carbon materials were synthesized using different types of graphite powder as massive modifiers. In some cases, polyethyleneglycol (PEG) and octadecyl (C18) were also added as modifiers. PEG, has been used to stabilize electrochemical signals [11, 24, 25] due to the formation of microchannels that increase the electrode response, and C18 has been used for the indirect determination of organochlorated pesticides [26]. Differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV) were the voltammetric techniques employed to evaluate the electrochemical behaviour.

Regarding the second part of this article, the superficial/structural characterization of the materials, the Scanning Electron Microscopy (SEM) [15–17] and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), as well as Infrared Spectroscopy [18, 19], were used in order to corroborate the results obtained with the electrochemical characterization.

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

Methyltrimethoxysilane (MTMOS) and HCl were from Merck (Darmstadt, Germany). The 0.04 M Britton-Robinson buffer solution was prepared with boric acid, orthophosphoric acid, acetic acid; sodium hydroxide was used to obtain a pH = 4, all these compounds from Merck. All reagents were of analytical grade or higher and used as received without further purification. Graphite powder spectroscopic grade RW-B (RW-B from now on), was from SGL Carbon (Ringsdorf, Germany), graphite powder, natural, high purity, – 200 Mesh, 99,9999% (metal basis), (UF from now on), and graphite powder, natural, microcrystal grade, APS 2–15 micron, 99,9995% (metal basis) (APS from now on), were from Alfa-Aesar (Johnson Matthey GmbH, Germany). Nanopure water was obtained by passing twice-distilled water through a Milli-Q system (18 M Ω /cm, Millipore, Bedford, MA). C18 was recovered from Strata (Phenomenex, Torrance, CA). PEG was from Sigma-Aldrich. 4-chloro-3-methylphenol and 2,4-dimethylphenol, both of analytical grade, were purchased from Merck and Fluka (Buchs, Switzerland) respectively. KBr for the

IR spectroscopy was from Panreac (Panreac, Barcelona, Spain).

Glass capillary tubes, i.d. 1.15 mm, were used as the bodies for the composite electrodes.

2.2. Instrumentation

All the electrochemical measurements were performed with an AutoLab PGSTAT20 (Ecochemie, Utrecht, The Netherlands) potentiostat/galvanostat interfaced with a personal computer, using the AutoLab software GPES for waveform generation and data acquisition and elaboration. The experiments were carried out in a single-compartment three-electrode cell, at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), under nitrogen atmosphere. The counter electrode was a platinum wire, and a silver/silver chloride/3 M KCl electrode was used as the reference. The composite-filled glass capillary tubes were used as the working electrode.

The synthesis of the Sonogels-Carbon was carried out sonicating with a high power ultrasonic generator, SONICATOR 3000, from MISONIX (MISONIX, Inc. Farmingdale, NY, USA) (equipped with a 13-mm titanium tip), that provides a maximum power of 600 W.

Scanning electron microscopy (SEM) studies were carried out on a QUANTA 200 (FEI Company, Hillsboro, Oregon, USA) operating at 20 keV and equipped with a Microanalyzer (EDAX) to perform energy dispersive spectroscopy (EDS).

The analysis by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were carried out using a NICOLET 20SXB (NICOLET, Warwick, UK), with software OMNIC v1.1. Pellets were prepared by mixing the samples with KBr. Measurements were carried out at room-temperature.

CV scans were carried out at several scan rate values: 5, 10, 15, 20, 30, 50 and 100 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$, in the potential range from -1.0 to $+1.5$ V. DPV was carried out from 0.3 to 1.25 V (oxidation process) and from 1.25 to -1 V (reduction process). Other instrumental parameters for DPV were as follows: pulse amplitude ± 100 mV, pulse repetition time 0.2 s, scan rate 25 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$, and a pretreatment at 0 V for 2 min when necessary. Measurements were carried out under N_2 atmosphere when it was required.

2.3. Electrode preparation procedure

To prepare the Sonogel-Carbon, a mixture of 500 μL of MTMOS and 100 μL of 0.2 M HCl was insonated for 5 s; next, several quantities of graphite powder were added and dispersed homogeneously in the sonosol obtained, depending on the graphite type (particle size). It has to be stated that the lesser the particle size of the graphite employed, the lesser the amount of graphite powder that is necessary to add to the sonosol. So, 1 g of the graphite RW-B was added, as

it had already been described previously [7]; with respect to the graphite UF, with 200 mesh of particle size, 0.5 g were added; lastly, in the case of the graphite APS, which has the smallest particle size (2–15 micron), several quantities of graphite were tested.

Higher quantities were tested for each of type of graphite powder, but the Sonogel-Carbon structures obtained did not have enough consistency and compactness to fill the capillary tubes.

For the Sonogel-Carbon electrodes modified with PEG, 12.5 μL of a 5:2 w/w H_2O :PEG solution were added to the sonosol obtained according to the previous procedure. The quantity of PEG has already been optimised in a previous paper [11].

For the Sonogel-Carbon electrodes modified with C18, 10% w/w C18: graphite was added to the sonosol obtained according to an optimization study described previously [17].

3. Results and discussion

3.1. Voltammetric studies

3.1.1. Electrochemical characterization by DPV

The studies were performed with electrodes manufactured with the three types of graphite: RW-B, UF and APS. In a first step, oxidative scans were carried out in absence of the analyte. It was observed that the signals obtained for the background were similar for the electrodes based on RW-B and UF graphites. With respect to the electrodes based on APS, corresponding to the graphite with the smallest particle size (2–15 microns), three different quantities were tested: 0.25 g, 0.30 g and 0.35 g. The experiments threw the following results: the higher the quantity of graphite APS in the Sonogel-Carbon electrode, the better the reproducibility and repeatability of the signals. These signals were also characterized for an improvement in their shape and in the background current. As a consequence of this, 0.35 g of APS graphite powder was chosen as the optimal quantity. Nevertheless, despite of this optimisation process, the results when using electrodes based on APS graphite were worse than those obtained for the other two graphites: RW-B and UF.

In a second step, the study of the response of the electrodes versus the analyte 4-chloro-3-methylphenol was carried out. Such analyte was selected because it had already been tested successfully in a previous work [11]. In this way, $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ of 4-chloro-3-methylphenol was added to the Britton-Robinson buffer solution in all the experiments. The results obtained when using electrodes based on RW-B and UF graphites were also similar again, showing well-defined signals (adequate shape and symmetry) with

Table 1 Peak potential, intensity peak values (obtained when performing two different scans) and observed capacities, using electrodes based on the three types of graphite powder: UF, APS (0.35 g), and RW-B

	Graphite UF	Graphite APS	Graphite RW-B
Potential (V)	0.708	0.738	0.718
Current Intensity (μA) (average values)	0.278	0.188	0.245
Standard deviation (%)	0.85	1.06	0.50
Observed capacities ($\mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$) ($\nu = 100 \text{ mV}$)	0.31	0.80	0.29

Buffer: 25 ml of Britton-Robinson (pH = 4); analyte: $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ of 4-chloro-3-methylphenol.

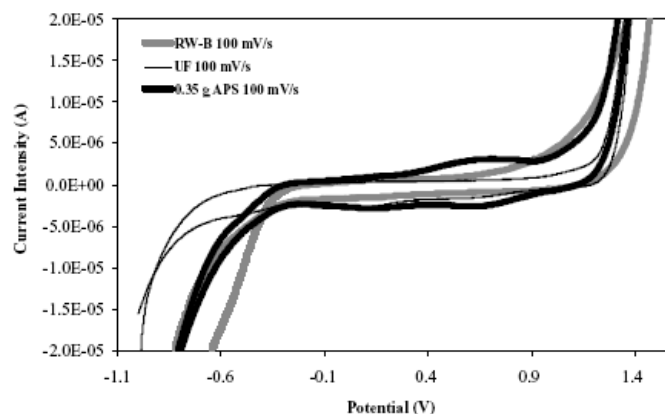
good peak current values (see Table 1). As discussed previously, electrodes built with APS graphite gave the worst results: the peak currents of the voltammograms for the best formulation (0.35 g) were lower than for the other types of graphite; besides, the signals were quite more asymmetric.

3.1.2. Electrochemical characterization by CV

CV was the other electrochemical technique applied to evaluate different aspects of the electrochemical behaviour of the electrodes, in presence/absence of the analyte. In a first step, seven different scan rate values (see Section 2.2.) were tested, in absence of the analyte, in order to calculate the experimental observed capacity C_{obs} . This parameter is defined by means of the expression: $C_{obs} = i/\nu$, where i is the average anodic and cathodic current density and ν is the scan rate. In these calculations, those parts of the voltammograms where faradaic intensities prevailed upon capacitive intensities were not considered [1]. The best C_{obs} values obtained were for the electrodes based on UF graphite, with very similar values at the highest scan rates for the electrodes built using RW-B graphite (see Table 1). The electrodes manufactured with the APS graphite powder gave quite higher observed capacities. These results corroborate the best electrochemical behaviour of the electrodes based on RW-B and UF graphites.

Furthermore, the observed capacity values give an idea about the double-layer charging, and they can be graphically related to the distance between the anodic and cathodic scans in the cyclic voltammogram for the same scan rate. Figure 1 shows the cyclic voltammograms corresponding to the electrodes based on the three types of graphite powder ($\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$). The separation between anodic and cathodic waves is higher for the APS-based electrode, as expected from its higher observed capacity value and its behaviour, both described previously. UF and RW-B-based electrodes showed similar scans, although in the case of the UF graphite

Fig. 1 Cyclic voltammogram corresponding to the electrodes based on the three types of graphite powder ($\nu = 100$ mV/s)



the baseline is more constant. Furthermore, the UF has the widest useful electroactive range of all of them. The double-layer capacity was calculated by making cyclic voltammetry scans at different scan rates in the range $0.005\text{--}0.1$ $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ and plotting average values of anodic and cathodic density currents for each scan rate versus the different scan rate values. The result must be a line whose slope gives the double-layer capacity value [27]. This parameter took similar values to those described previously [7] ($r^2 = 0.99$ in all cases) for the electrodes based on RW-B, UF and APS graphite. The double-layer capacity for the APS graphite, which is higher than for RW-B and UF ones, corroborates the previous results.

The voltammetric cyclic studies also give information about the nature of the electrochemical process occurring on the electrode surface in presence of the analyte. As this species suffers oxidation reactions, the voltammogram must show the existence of an anodic signal, and so it was (at 0.7 V approximately) for the three types of electrodes; however, the current intensity of this signal is quite low. No cathodic signal was obtained. This shows no reversible character of the electrochemical process. Besides, the study of the influence of the scan rate versus peak current (I_p) showed a linear relationship between I_p and $\nu^{1/2}$ in the three cases, what is compatible with a non-reversible process [28]. The peak current increases with the scan rate, indicating light adsorption of the analyte on the electrode surface [29].

3.2. Characterization of the Sonogel and Sonogel-Carbon materials by SEM, EDS and FTIR

The structural characterization of the Sonogel and Sonogel-Carbon materials was performed, once the best formulation for each electrode based in the different types of graphite

powder was optimised, and in order to corroborate such studies.

For each sample, the SEM and EDS studies were performed on the same equipment and at the same time, as it was mentioned in the experimental section. The samples were distributed as follows: Sonogel-Carbon materials (graphite as a massive modifier), and Sonogel materials (without graphite).

With respect to the Sonogel-Carbon materials, six different samples in five different modes (thirty samples in total) were studied. The six main samples were as follows: RW-B-modified Sonogel-Carbon, UF-modified Sonogel-Carbon, three samples of APS-modified Sonogel-Carbon and 5% C18/RW-B-modified Sonogel-Carbon (see Section 2.3. to know the quantities of each type of graphite employed in every case). The five modes in which these samples were distributed were as follows: polished electrode not used; polished electrode and used; non-polished electrode; and monolithic shapes with two faces, external (face dried in contact with the lab environment) and internal (face dried in contact with the drying recipient: polypropylene). Each of the faces constituted one mode of characterization.

With respect to the Sonogel materials, four monolithic samples (with two differenced faces) were characterized: two PEG-modified Sonogels and two unmodified Sonogels; one sample of each of them was immersed in bi-distilled water for a month to find out the effect caused by water on the materials surface.

As SEM studies were carried out at low vacuum, it was not necessary a previous step of coating the samples with gold. The micrographs were taken at 20 kV in all cases.

In the microanalysis of the monolithic samples of the Sonogel-Carbon material, it was observed certain stratification in the composition: while in the external face the proportions of the three main elements (oxygen, silicon and

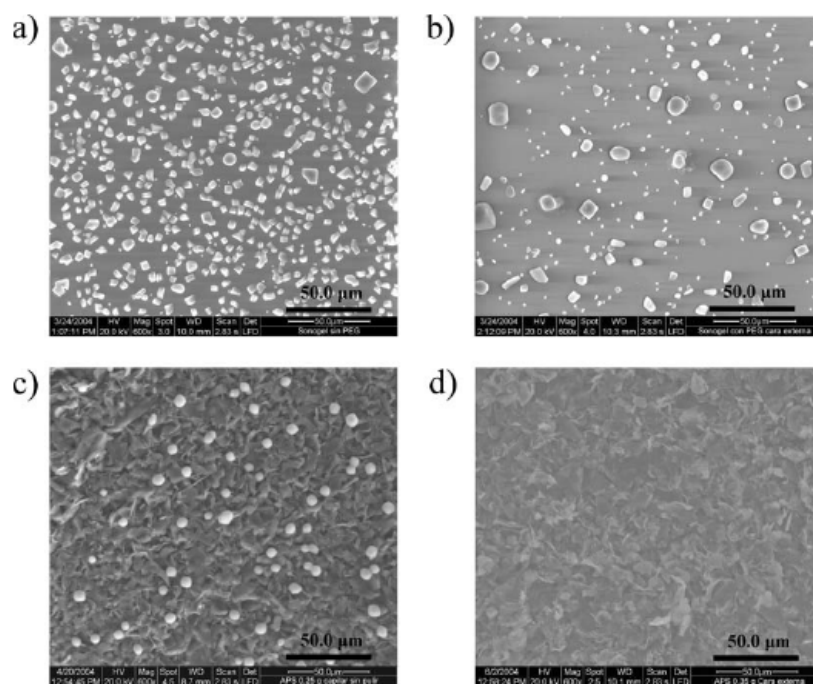


Fig. 2 Micrographs corresponding to Sonogel materials: (a) unmodified and (b) modified with PEG; and Sonogel-Carbon materials: (c) modified with 0.25 g of APS graphite, and (d) modified with 0.35 g of APS graphite

carbon) are very similar, in the internal face of the monoliths the proportion of carbon reaches very high levels, ranging from 60 to 75% in all cases; the remaining percentage was equally distributed between silicon and oxygen. This circumstance was attributed to the gravity effect through the drying process of the Sonogel-Carbon material. During the gelation step, the material is structuring and the graphite powder behaves merely as a solid in suspension in the sol-gel solution, being deposited at the base of the monoliths owing to the action of the gravity. So, we can affirm that the role of the graphite powder consists of conferring conductive character to the final material in order to be used as an electrode, besides being a supporting element to the structure of the Sonogel-Carbon material, increasing its consistency and compactness (the particles of graphite are trapped into the Sonogel network). With respect to the samples that also contained C18, the same effect of stratification was observed: an accumulation of C18 particles in the internal face.

The sonocatalysis process produces the polymerisation of the silane, resulting alcohol and water. However, it has not been reported what happens with the chloride ion from the hydrochloric acid used as the catalyst of the Sonogel reac-

tion. In a first approximation, this ion could be considered as a spectator ion. Nevertheless, other hypothesis could suggest that chloride ion goes through the Sonogel structure to reach the external surface of this material while the gelation process is taking place. In some samples, those that have not been immersed in water, certain presence of chlorine was detected in the external surface of the Sonogel material (in the internal surface of the samples this fact was not observed), corroborating this hypothesis. At the same time, it could be supposed that all chloride ions do not follow the previous path; part of them could be trapped into the Sonogel network.

The entrapment in the structure or leaving of chlorine from the network depends on the type of modifier and its quantity. Figure 2 shows this fact for both Sonogel and Sonogel-Carbon materials. It includes four micrographs: (a) and (b), corresponding to Sonogel materials, unmodified with PEG; (c) and (d), corresponding to Sonogel-Carbon materials containing 0.25 and 0.35 g of APS graphite, respectively. As it can be observed, when a modifier is added to the Sonogel material, either a massive modifier (graphite) or other modifier (PEG), the presence of chlorine in the surface decreases. In the case of the massive modifier, this diminution is more

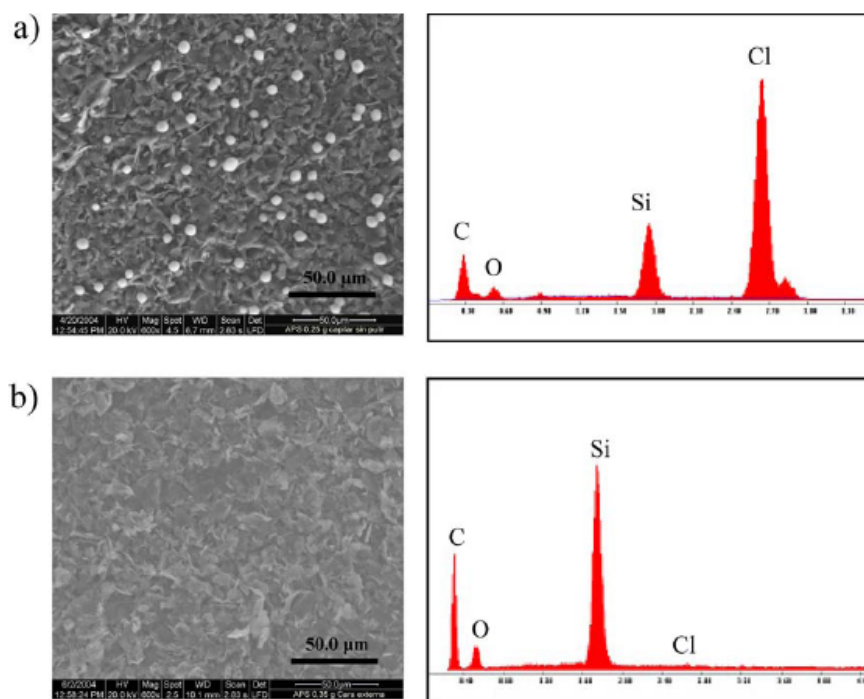


Fig. 3 Micrographs and EDS spectrum corresponding to Sonogel-Carbon materials: (a) modified with 0.25 g of APS graphite, and (b) modified with 0.35 g of APS graphite

evident when the quantity of graphite powder increases: in general, the chlorine disappears completely in the samples containing ≥ 0.35 g of graphite, independently of the type of graphite (APS 0.35 g, UF and RW-B-based samples). Figure 3 shows the micrographs and the EDS spectra corresponding to Sonogel-Carbon materials: (a) modified with 0.25 g of APS graphite, and (b) modified with 0.35 g of APS graphite.

It can be stated that the modifiers avoid the leaving of chlorine from the Sonogel structure, favouring its entrapment into the material. The SEM and EDS analysis of the samples that were previously immersed in water gave no evidence of the presence of chlorine; a solution process suffered by this species could be the most plausible explanation to this fact. At this point, we have to remember that microanalysis gives us information about the presence or absence of determined elements, and not about the form of these elements (ion, complex, etc.) or their oxidation state. To know more information about the form in which chlorine appears on the surface of the materials, other characterization techniques should be used. Nowadays, research in this sense is being carried out.

Other particularity observed in the Sonogel-Carbon electrode samples is related to the presence of certain type of erosion, in the form of a marked widening of the separation material/capillary tubes, detected in their surface. This so-called erosion appears fundamentally as a consequence of the immersion of the structure in aqueous solution when an electrochemical procedure to test the electrode is performed: these samples correspond to the mode “polished electrode and used”, described at the beginning of the section. It is necessary to distinguish between this fact and the process of volume contraction suffered by the Sonogel-Carbon material packed into the glass capillary tubes (as said previously, these capillary tubes were used as the bodies for the composite electrodes, and were filled during the drying/gelation step). The volume contraction exclusively depends on the formulation of the Sonogel-Carbon (quantity and type of graphite used) and the drying time. The volume contraction entails a light separation between the material and the wall of the capillary tubes as well. On the other hand, the fact of using an electrode on measurements in aqueous solution increases highly the quoted separation, as well as the appearance of holes and fissures in their surface. Moreover, the effect of

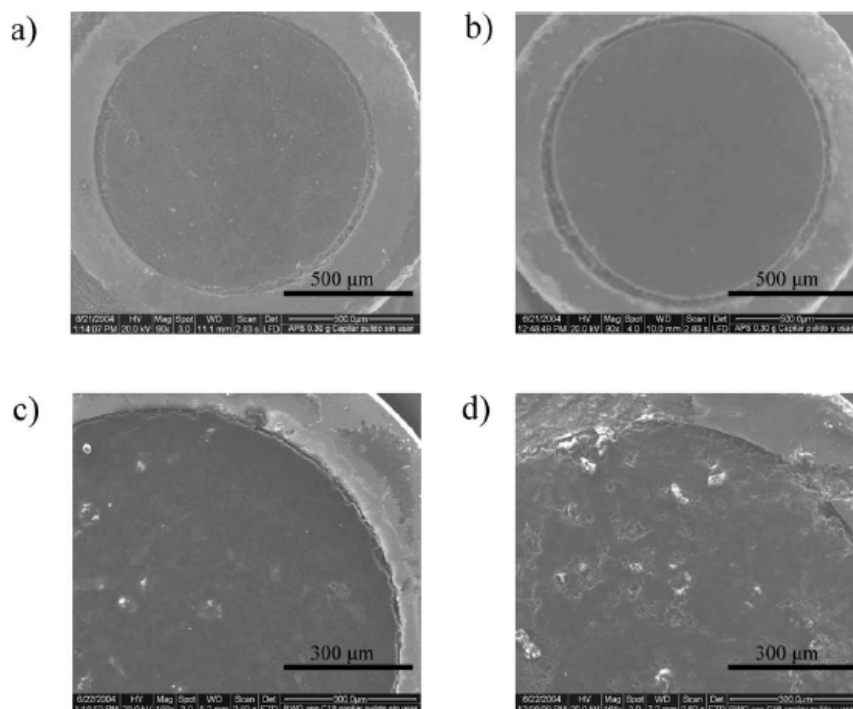


Fig. 4 Micrographs corresponding to 0.30 g APS-modified Sonogel-Carbon electrodes: (a) polished and non-used, and (b) polished and used; and RW-B-modified Sonogel-Carbon electrodes: (c) polished and non-used, and (d) polished and used

the erosion and the subsequent variation of the Sonogel-Carbon surface also depend on the quantity and type of graphite.

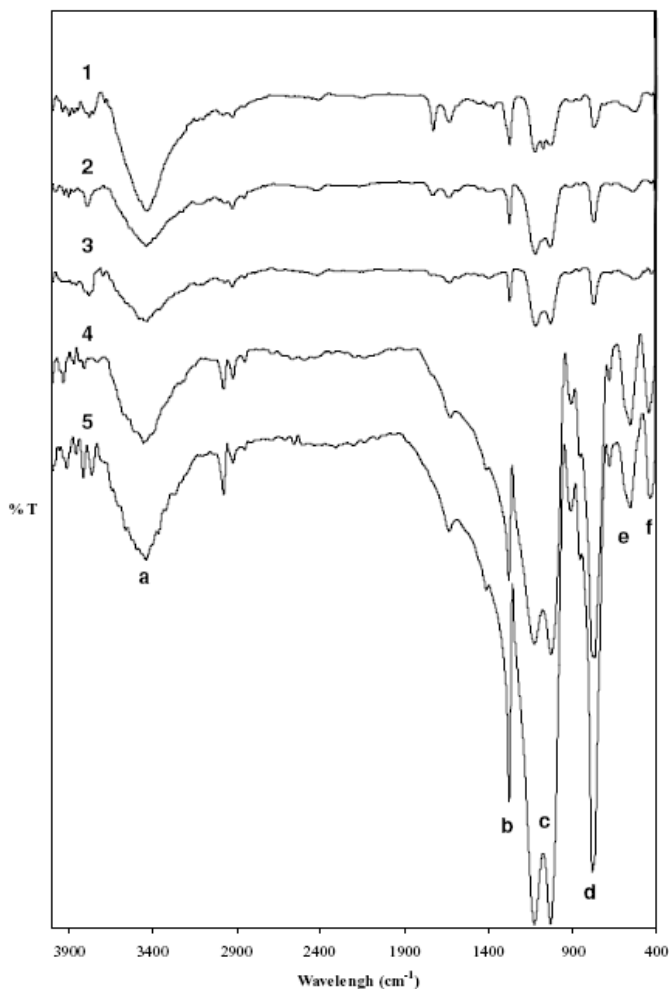
Figure 4 shows the results discussed regarding the differences between erosion and volume contraction. Figure 4 shows four micrographs: (a) and (b), corresponding to 0.30 g APS-modified Sonogel-Carbon electrodes, polished and non-used, and polished and used, respectively, (c) and (d), corresponding to RW-B-modified Sonogel-Carbon electrodes, polished and non-used, and polished and used, respectively. In (a) and (b) it can be observed the different grade of separation between material/capillary tubes before and after using the electrode, i.e., due to the volume contraction and the so-called erosion. If micrographs (c) and (d) are compared, it is clearly observable the appearance of holes and fissures after the electrochemical use.

When comparing the erosion suffered by the electrodes based on the three different types of graphite powder, it can be concluded that APS-based samples had a greater separation material/capillary tubes due to erosion than the other graphite-based samples: when increasing the quantity of graphite the volume contraction is lesser (high

compactness). This fact could be used to corroborate the worst electrochemical results obtained with APS-based electrodes.

With respect to Sonogel materials (without a massive modifier), the volume contraction is much more marked during the drying/gelation step. As a consequence of this, a great number of fissures and fractures appear in the material. This fact could be explained due to the absence of graphite as a massive modifier, what facilitates an easier leaving of the sonocatalysis resulting compounds. The drying process is much faster, avoiding the formation of strong bonds, and subsequently the right structuring of the Sonogel network. However, when PEG is added to the sonosol as a modifier, the volume contraction is quite lesser, generating a more compact structure and without fissures. We could conclude that PEG behaves in a very similar way as graphite powder, although in a minor scale, since it is not a massive modifier. Furthermore, the immersion in water of a PEG-modified Sonogel sample affects the network, because of the generation of holes in the material surface due to the solution of part of the modifier.

Fig. 5 FTIR spectra for:
 (1) MTMOS + 1 g RW-B;
 (2) MTMOS + 0.5 g UF;
 (3) MTMOS + 0.35 g APS;
 (4) MTMOS;
 (5) MTMOS + PEG



Finally, with respect to the FTIR studies, five different samples were measured: (1) MTMOS + 1 g RW-B; (2) MTMOS + 0.5 g UF; (3) MTMOS + 0.35 g APS; (4) MTMOS; and (5) MTMOS + PEG. Figure 5 shows the spectra obtained for the 5 samples. High similarity can be observed among the spectra of the samples with graphite. Table 2 shows the assignments of the FTIR spectra bands and its comparison with the FTIR spectra bands assigned in literature [30, 31]. The displacement observed in some of the bands of the spectra can be attributed to small impurities in the samples, although the deviation is minimal in all cases. The main difference that we can observe among the five spectra is the highest intensity in the bands for the samples that do not contain graphite

(spectra 4 and 5). This could be explained by the presence of graphite as a massive modifier: the pellets based on samples with graphite contain lower percentages of silane than the pellets from the samples 4 and 5, without graphite. That is why the bands corresponding to vibrations and stretchings implying Si show higher percentages of transmittance in samples 4 and 5.

Other conclusion that can be extracted from the FTIR spectra is that the hydrolysis reaction of the silane is practically complete, since the bands of the functional groups Si–OH do not appear. However, the bands of the group –Si–OCH₃, corresponding to the asymmetric Si–O–C deformation vibration, have very low percentage of transmittance

Table 2 FTIR spectra assignments

Band number (cm ⁻¹)	Reference Band number (cm ⁻¹) [30]	Assignments
a ≈ 3450	3450–3300	Water
b 1273	1273	Si–CH ₃ , symmetric CH ₃ deformation vibration
c 1125 – 1026	1094–1029	Si–O–Si, Si–O stretching
d 771	771	Si–CH ₃ , Si–C stretching
e ≈ 530	522	Si–O–Si, symmetric Si–O–Si stretching
f ≈ 450	465, 464	–Si–OCH ₃ , asymmetric Si–O–C deformation vibration

[31]. With regard to the bands of Si–O–Si, Si–O stretching, they constitute a set of bands in the interval showed in Table 2; the most frequent bands appear at 1094, 1091, 1084, 1069, 1037 and 1029 cm⁻¹, according to the bibliography [30]. In the samples spectra, there are several bands that can be assigned in a similar interval, but with small shifts depending on the type of the sample: for sample (1), bands at 1121, 1073 and 1037 cm⁻¹; for sample (2), bands at 1120 and 1030 cm⁻¹; for sample (3), bands at 1117 and 1029 cm⁻¹; for sample (4), bands at 1125 and 1026 cm⁻¹; and for sample (5), bands at 1125 and 1029 cm⁻¹.

4. Conclusions

In the present paper, the influence of the carbon particles size on the structure and on the electrochemical and physical properties of the Sonogel-Carbon electrodes, have been studied. Besides, some comparisons with respect to Sonogel materials without graphite have been established. Voltammetric studies using DPV and CV have demonstrated that the electrochemical behaviour corresponding to electrodes based on RW-B and UF graphites were similar, showing well-defined signals, with good peak current values, and the best C_{obs} values; the double-layer capacities obtained were similar to those described in literature. The superficial/structural characterization of the materials using SEM, EDS and FTIR corroborated the results obtained electrochemically. Furthermore, the role of the graphite powder has been evidenced in connection with the stratification, the volume contraction and different forms of erosion experimented by the Sonogel-Carbon materials, as well as some hypothesis concerning the chlorine ion. The FTIR spectra are very similar to those reported in literature for other types of sol-gel materials. Finally, it can be concluded that the hydrolysis reaction of the silane is almost complete because of the ab-

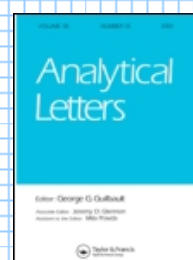
sence of bands corresponding to the functional groups Si–OH.

Acknowledgments Financial support from Ministerio de Educación y Ciencia of Spain (Project: CTQ2004–03708/BQU) is acknowledged. We also thank Consejería de Presidencia de la Junta de Andalucía for the help given with a Research Grant associated to the Project AM14/04. We want to make special mention to the research group “Solid-Phase Spectrometry” of the University of Granada, and to their manager Prof. Dr. D. Luis Fermín Capitán Vallvey, for taking the measurements of the FTIR spectra.

References

1. Gun G, Tsionsky M, Lev O (1994) *Anal Chim Acta* 294:261
2. Tsionsky M, Gun G, Glezer V, Lev O (1994) *Anal Chem* 66:1747
3. Wang J, Pamidi PVA, Rogers KR (1998) *Anal Chem* 70:1171
4. Pamidi PVA, Parrado C, Kane SA, Wang J, Smith MR, Pingarrón JM (1997) *Talanta* 44:1929
5. Blanco E, Esquivias L, Litrán R, Piñero M, del Solar Ramírez M, de la Rosa Fox N (1999) *App Organometal Chem* 13(5):399
6. Esquivias L, de la Rosa Fox N, Bejarano M, Mosquera MJ (2004) *Langmuir* 20:3416
7. Cordero-Rando MM, Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros JL, Blanco E, Naranjo-Rodríguez I (2002) *Anal Chem* 74:2423
8. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros JL, Cordero-Rando MM, Naranjo-Rodríguez I, Blanco-Ollero E, Esquivias-Fedriani L (2001) Patent n° P200100556, Spain
9. Cordero-Rando MM (2001) Development and characterization of Sonogel-Carbon materials as a base for electrochemical sensors. Doctoral Thesis, University of Cádiz, Cádiz, Spain
10. Palacios-Santander JM (2003) Application of chemometric techniques to resolve overlapped electrochemical signals. Doctoral Thesis, University of Cádiz, Cádiz, Spain
11. Cordero-Rando MM, Naranjo-Rodríguez I, Palacios-Santander JM, Cubillana-Aguilera LM, Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros JL (2005) *Electroanalysis* 17(9):806
12. Ballarín B, Gazzano M, Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros JL, Tonelli D, Seeber R (2002) *Anal Bioanal Chem* 374:891
13. Ji Z, Guadalupe AR (1999) *Electroanalysis* 11(3):167
14. Collinson MM, Howells AR (2000) *Anal Chem* 72(21):702A
15. Wu D, Fu R, Zhang S, Dresselhaus MS, Dresselhaus G (2004) *J Non-Cryst Solids* 336:26
16. Vix-Guterl C, Alix I, Gibot P, Ehrburger P (2003) *Appl Surf Science* 210:329
17. Li L, Zhang L, Yao X (2004) *Ceram Int* 30(7):1843
18. Wang Q, Lu G, Yang B (2004) *Sens Actuators B*, 99:50
19. Peña Alonso R, Rubio F, Rubio J, Oteo JL (2004) *J Anal Appl Pyrolysis* 71:827
20. Kaddouri A, Tempesti E, Mazzocchia C (2004) *Mater Res Bull* 39:695
21. Robles-Dutenhefner PA, da Silva MJ, Sales LS, Sousa EMB, Gusevskaya EV (2004) *J Mol Catal A* 217:139
22. Ballarín B, Zanardi C, Schenetti L, Seeber R, Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros JL (2003) *Synth Met* 139(1):29
23. Macan J, Ivankovic H, Ivankovic M, Mencer HJ (2004) *Temochim Acta* 414:219
24. Sampath S, Lev O (1996) *Anal Chem* 68:2015
25. Ji Z, Guadalupe AR (1999) *Electroanalysis* 11:167
26. El Bakouri H, Palacios-Santander JM, Cubillana-Aguilera L, Ouassini A, Naranjo-Rodríguez I, Hidalgo-Hidalgo de Cisneros JL (2005) *Chemosphere* 60:1565

27. Oskam G, Searson PC (1998) *J Phys Chem B* 102(14):2464
28. Wopschall RH, Shain I (1967) *Anal Chem* 39(13):1514
29. Bond AM (1980) *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*. Marcel-Dekker, Inc, New York
30. Socrates G (2001) *Infrared and raman characteristic group frequencies: table and charts*. Jonh Wiley & Sons, England, pp. 244–245
31. Khummalai N, Boonamnuayvitaya V (2005) *J Biosci Bioeng* 99(3):277



**Anexo III:
Analytical Letters (Enviado)**

A Novel β -Cyclodextrin-Sonogel-Carbon Electrode: Application for analysis of Catecholamines

Nissrin Izaoumen⁺, Laura M. Cubillana-Aguilera^{*}, Ignacio Naranjo-Rodríguez^{*}, José L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros^{*}, Khalid R Temsamani⁺

**Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Apdo.40, 11510 Puerto Real, Cadiz. Spain.*

+University Abdelmalek Essaâdi, Department of Chemistry, Faculty of Sciences of Tétouan. Equipe de Recherche Electrochimie et Systèmes Interfaciaux (ERESI). M'Hannech II, B.P. 2121. 93002 - Tétouan. Morocco.

Abstract

In this work, a novel Sonogel-Carbon modified electrode is prepared. The mixture of the sonogel with spectroscopic grade graphite carbon and β -cyclodextrin (β -CD) leads to a new sol-gel type electrode: The β -Cyclodextrin-Sonogel-Carbon electrode (β CD-SNGC electrode). The amount of β -CD necessary to form the sonogel electrode has been studied. The incorporation of β -cyclodextrin and graphite in the preparation of the Sonogel-Carbon material leads to a modification of the electrode surface properties which causes a significant increase in the oxidation peak current of biomolecules such as Dopamine, L- Epinephrine, D-L Norepinephrine and catechol. We believe this phenomenon is due to the formation of an inclusion complex

between β -cyclodextrin and the catecholamines. Electrochemical impedance spectroscopy measurements were employed to characterize the electrical parameters of the new electrode surface. Cyclic voltammetry (CV) and Differential pulse Voltammetry (DPV) measurements were also used to explore the electrochemical behaviour of the catecholamines. During this study we have noticed that the β -cyclodextrin was incorporated as a monomer into the electrode modification without any polymerisation process. The resulting Sonogel modified electrode offers interesting analytical performances such as: (1) fast and linear responses towards dopamine, Norepinephrine, epinephrine and catechol, with low detection limits of 0.585, 0.294, 0.699 and 0.059 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ respectively, (2) simultaneous detection and well resolved signals between the catecholamine and ascorbic acid. To the best of our knowledge, these LOD lie among the lowest found in the literature. Optimization of parameters such as interference effect, perm selectivity and mechanical stability of the sensor are discussed.

Key words: - β -Cyclodextrin, Catecholamines, Sonogel-Carbon electrodes

1. Introduction

Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligomers constituted of six, seven or eight (α , β or γ) glucopyranose units linked by α (1-4) bond (Bender, 1997). They are widely studied in aqueous media as examples of host molecular receptors thanks to their high affinity for hydrophobic molecules (Schneider, 1998). It is well known that CDs form inclusion complexes with a great variety of analytes having a diameter of 5-8Å (Szejtli, 1982; Bersier, 1991). The inclusion complexes property has been used

widely in pharmaceuticals (Puglisi, 1990), as well as in analysis of organic and inorganic materials (Van Der Jagt, 1970). Current methods for the measurement of these inclusion complexes include UV –VIS spectrophotometry (León-Rodríguez, 2005), IR spectroscopy (Wang, 2006), spectrofluorimetry (Jules, 1985), as well as electrochemical methods. Considerable attention has been paid to electrochemical studies of cyclodextrin complexes of electroactive species. Electrochemical techniques such as cyclic voltammetry (Gopalan, 2006), polarography (Yañez, 2003; Norkus, 2002), and pH determination (Gelb, 1978) are particularly useful in the study of guest molecules lacking a chromophore for spectrophotometric measurement but able to develop electroactivity.

Cyclodextrins, spread on an electrode surface, have proved to be effective and selective binding agents to form inclusion complexes with various compounds fulfilling structural requirements of the CD cavity. This is important for electrochemical and electroanalytical applications (Ferancová, 2001).

As far as we know, the use of CDs to modify graphite electrode using sol - gel methods is a totally new challenge in the field of the chemically modified electrodes. There are only few published articles dealing with carbon paste electrode modified with β -cyclodextrin (Ferrancová, 2002; Roa, 2005). There is also a review about immobilization of cyclodextrins, their complexation abilities and analytical applications (Ferancová, 2001). In this paper we have realized the incorporation of the monomer form of β -CD to the mass of the electrode, instead on its surface, this way no polymerization process was required. The preparation mode is different from the one usually used in other solid electrodes and similar to the one used in carbon paste electrodes with the difference that our electrodes had a longer life time than bare carbon paste electrodes.

In order to further explore these possibilities, we investigated in this article the electrochemical behaviour of some catecholamines such as Catechol, Epinephrine (EN), Norepinephrine (NE) and Dopamine (DA) at β -CD Sonogel-Carbon electrodes. The objective was to focus on the capability of these modified electrodes to detect better the neurotransmitters and thus to develop an original electroanalytical method for the determination of this substances.

Catecholamines, in spite of their very low concentrations in various biological fluids they play important physiological roles (Yakabe, 2002) as neurotransmitters in the central and peripheral nervous system (Muller, 1977). They are also thought to play a vital role in some human disease states (Boulton, 1972; Sandler, 1979). In general physiological investigations of catecholamines require high selective and sensitive methods. Dopamine (DA) is an important neurotransmitter in the mammalian central nervous system that has received much interest. The DA detection limit depends on the electrode surface modification. However the electrochemical detection of DA at conventional electrodes has suffered from interferences caused by high concentration of ascorbic acid (AA) presents in mammalian nerves and brain tissues. Due to their close oxidation potentials in one hand and on the other hand the side reaction between AA and the oxidized form of DA (Bath, 2000; Zerbino, 2000).

Graphite sol-gel materials have high conductivity, relative chemical inertness and physical rigidity, renewable surfaces suitable for chemical or biological modification and stable in various solvents. In addition, the procedure developed for electrode fabrication is easy, by simple adding graphite to the precursor's solution. Hence, the employment of sol-gel chemistry to produce carbon based conducting matrixes has received increasing interest in recent years (Collinson, 2000; Rabinovich, 2001). In precedent works (Cordero-Rando, 2002; Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, 2001) we

have developed a new way to obtain sol-gel graphite electrodes by applying high power ultrasounds directly to the precursors. We have called this type of new electrodes Sonogel-Carbon electrodes. Sonogel-Carbon electrodes exhibit better properties (physical and electrochemical) than other class of sol-gel graphite electrodes. We believe they constitute excellent basis to the development of sensitive sensors and biosensors (El Kaoutit, 2007; Palacios-Santander, 2007; Cordero-Rando, 2005; Ballarin, 2003).

In this paper, we propose a novel β -CD-Sonogel-Carbon (β CD-SNGC) modified electrode as a way to detecting several neurotransmitters: catechol, dopamine, norepinephrine, and epinephrine. The study was performed using cyclic voltammetry (CV), and Adsorptive Differential Pulse Voltammetry (AdDPV). A close attention was paid to the interferences due to ascorbic acid and some anions. As a consequence, optimal analysis conditions were set up.

2. Experimental

Reagents and Materials

Methyltrimethoxysilane (MTMOS) was from Merck (Darmstad, Germany), Chloridic (HCl) and Sulfuric (H₂SO₄) acids were from Panreac (Barcelona, Spain). β -Cyclodextrin (>99%) was obtained from Fluka Chemical Company (Switzerland). Ascorbic acid L (+) (99%) was purchased from Sigma Chemical Company (Barcelona, Spain). L-Dopamine, D,L-Norepinephrine, Epinephrine and Catechol were all purchased from Aldrich chemical company (Milwaukee, USA) and used as received. A phosphate buffer solution (PBS, 0.05 mol l⁻¹) was purchased from Merck

(Darmstadt Germany). All reagents were of analytical grade or higher and used as received without further purification. Graphite powder (spectroscopic grade RBW) was from SGL Carbon (Ringsdorff Germany). Nanopure water was obtained by passing twice-distilled water through a Milli-Q system (18M Ω .cm, Millipore, Bedford, MA).

Glassy capillary tubes, i.d. 1.15mm, were used as the bodies for the composite electrodes.

Instrumentation

All the electrochemical measurements were performed with an AutoLab PGSTAT20 (Ecochemie, Utrecht, The Netherlands) potentiostat/galvanostat interfaced with a personal computer, using the AutoLab software GPES for waveform generation, data acquisition and elaboration. The experiments were carried out in a single-compartment three-electrode cell, at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), under nitrogen atmosphere. The counter electrode was a platinum wire, and a silver/silver chloride/3M KCl electrode was used as the reference. The composite-filled glass capillary tubes were used as the working electrode.

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements were performed with a Voltalab[®] 10, type PGZ 100, from Radiometer (Villeurbanne, France).

The impedance spectra were recorded using the same three electrode-cell setup described above. The initial frequency used was 100 kHz and the final one was 10 mHz with an AC amplitude of 10mV. A potential of 0 V was chosen in order to insure the stability of the films on the electrodes during experiment.

A 600-W model, 20-kHz ultrasonic process (Kontes) equipped with a 13-mm titanium tip was used. The ultrasonic processor was enclosed inside a sound-proof chamber. SEM studies were carried out on a JSM 820 instrument (JEOL, Japan) operating at 30 Kev and equipped with a Microanalyzer AN/10000.

Electrode Preparation Procedure

To prepare the sonosol, the general procedure was as follows: 500 μ l of MTMOS was mixed with various volumes of HCl solutions of suitable concentrations, according to the amounts of water required but maintaining the quantity of the catalyst (HCl). This mixture was then insonated for 5 s (energy dose 0.083 kJ.mL⁻¹). In the next step, the adequate amounts of β -cyclodextrin and graphite powder (until 1g) were added and homogenously dispersed in the obtained Sonosol. After several minutes, the resulting material starts to acquire enough consistency thus it could fill easily the glassy tubes leaving a little extra mixture sticking out of the glass tube to make easy the subsequent polishing step. After 20-24 h, depending on the proportion of H₂O, the Sonogel-Carbon β -cyclodextrin composite electrodes become hardened and, therefore, structured. Adherence between the developed material and the glass was excellent. Before use, the electrodes were polished with N⁰: 1200 emery paper to remove extra composite material and wiped gently with weighing paper. Electrical contact was established by inserting a cooper wire into the system.

AdDPV scans of the prepared working electrode were carried out in the potential range from +0.1 to +0.8 V. The supporting electrolyte was a solution of phosphate buffer (0,05 mol/L) pH= 6,8. The instrumental parameters for AdDPV were as follows: deposition potential: 0 V, duration: 40 s, modulation time: 0.06 s, interval

time 0.6, scan rate: 0.01 V/s, modulation amplitude: 0.10005 V, standby potential: 0 V. Measurements were carried out under N₂ atmosphere when required.

3. Results

3.1. Influence of the cyclodextrin in the Sonogel-Carbon matrix

The effect of the β -cyclodextrin percentage in the manufacturing of the β CD-SNGC electrode in several supporting electrolytes was investigated employing a 5×10^{-4} M solution of catechol as the analyte and comparing the response of an unmodified SNGC electrode with β CD-SNGC modified electrodes containing successively 2.5%, 5% and 7% of cyclodextrin in 0.1M LiClO₄ as supporting electrolyte. The accumulation time and the potential were 150 s and 0 V respectively. AdDPV was used in this study.

Our results showed a negligible response for the unmodified SNGC electrode. Whereas, the presence of β -CD in the composite causes an spectacular increase in the response up to 5% of β -CD (catechol anodic current intensities of 0.2, 50 and 120 nA were obtained for 0, 2.5 and 5% CD, respectively). A further increase in the amount of Cyclodextrin leads to a decrease in this current (40 nA for 7% CD) and to a loss of the signal resolution. Furthermore, at 7% β -CD we observed that the gel doesn't form well. Similar results were obtained by using others supporting electrolytes such as 0.1M H₂SO₄ or KCl and Britton-Robinson (BR) buffer at pH 4. For these reasons, 5% β CD-SNGC electrodes were kept as optimal conditions for the subsequent experiments.

3.2. Electrochemical behaviour of neurotransmitters at 5% β -cyclodextrin-Sonogel-Carbon modified electrodes.

Fig. (1) shows the cyclic voltammograms of 5mM D,L- norepinephrine (NE) (1), (-) epinephrine (EN) (2) and dopamine (DA) (3) on bare SNGC electrode (a) and at 5% β CD-SNGC modified electrode (b). It can be clearly seen from these voltammograms that contrarily to the response obtained on the bare carbon electrode (no peak is observed), the presence of the β -cyclodextrin in the modified electrode causes the appearance of the redox activity of these substances. Compared with the response on other type of electrodes studied by our group for the detection of some neurotransmitters (Izaoumen, 2005) the 5% β -CD-SNGC modified electrode seems to exhibit better current responses towards dopamine (DA), D,L- norepinephrine, and (-) epinephrine (EN). The electrochemical parameters are summarized in (Table 1). It clearly appears from these data that, under these conditions, the 5% β -CD/sonogel-Carbon modified electrode exhibit different electrochemical kinetics: reversible or quasi-reversible behaviours with ΔE_p of 34.6mV for (DA), 28.1 mV for (NE), 37.4 mV for (D,L- NE), 43.2 mV for (EN) and 33.6 mV for (catechol). These results show clearly that the new 5% β CD-SNGC electrode exhibits better electroanalytical performances on the electrochemical study of neurotransmitters. Except for the Norepinephrine, the current ratio of the oxidation and the reduction peak are less than 1 which means that they do not undergo complex reactions and that they are stable at the modified electrode.

3.3. The effect of scan rate on the peak current

The scan rate appears to have great influence on the peak current. The anodic peak currents i_{pa} of the catecholamines on the 5% β CD-SNGC modified electrode were linear with the square root of the scan rate $v^{1/2}$ in the range 5-200 mV/s, with a correlation coefficients R^2 of 0.9997 for (DA), 0.9997 for (NE); 0.9975 for (EN) and 0.9995 for (Catechol). The linear regression equations obtained were i_{pa} (DA) = $0.3764 + 0.4121 v^{1/2}$, i_{pa} (NE) = $-0.7293 + 0.3873 v^{1/2}$, i_{pa} (EN) = $-0.0724 + 0.1211 v^{1/2}$ and i_{pa} (catechol) = $0.0316 + 0.371 v^{1/2}$. [i_{pa} (μ A), $v^{1/2}$, (mV/s) $^{1/2}$]. Our results indicate that the electron transfer reaction is diffusion controlled in the case of the neurotransmitters studied.

3.4. Influence of the parameters affecting the accumulation

To study the influence of these parameters on the peak intensity we have varied the accumulation time and the accumulation potential. We found that, for all the neurotransmitters studied in this work, the peak intensity increased with the accumulation time reaching saturation at about 120 s. The accumulation potential was varied between 0 and 500 mV, with maximum peak intensity at 0.4 V (Fig. 2). Consequently, these values were selected for the subsequent experiments.

3.5. Repeatability, reproducibility and stability of the 5% β CD-SNGC modified electrode

The repeatability was established carrying out 6 consecutive determinations of 4×10^{-5} M solutions of the catecholamines. The relative standard deviations for DA and epinephrine were 1.8% and 0.9% and for Norepinephrine was 3.9%, which showed that the 5% β CD-SNGC modified electrode has good repeatability. To investigate

both the reproducibility and the stability, a modified electrode was used to daily measure 4×10^{-5} M DA solutions; one measure was realized each day and the electrode was stored in air when not in use. A standard deviation of 2.7% was obtained after 30 days of consecutive measurements.

3.6. Impedance spectroscopy measurement (EIS)

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) is an effective method to explore the interfacial properties of modified electrodes (Ren, 1997). It is based on the perturbation of a system at equilibrium by a small ac potential amplitude wave from 5 to 10 mV. The interaction of an analyte with the electrode surface is indicated by a shift in the impedance or a change in capacitance of the bulk electrode (Montelius, 1995; Van Gerwen, 1998; Souteyrand, 2000). In our case, the impedance experiments were performed in order to characterize the electrode/electrolyte interface. (Fig 3) shows EIS spectra of bare SNGC electrode (\blacktriangle) and 5% β CD-SNGC modified electrode (\blacklozenge) in 0.1 M H_2SO_4 , recorded at 0 V (versus SCE), frequency range of 100 kHz-10 mHz and an amplitude of 10 mV. The EIS spectra are characterized by a perfect semicircle corresponding to the charge transfer process at the electrode surface with a correlation of 0.999 for the two complexes plot. The presence of cyclodextrin in the sonogel electrode seems to influence the interfacial impedance values. Electrical parameters were calculated using a Voltmaster[®] 4.0 software. Fitting results are presented in (Table 2). R_e is the electrolyte resistance, R_{ct} is the charge transfer resistance and C_{dl} is the double layer capacitance at the electrode/solution interface. From the data (Table 2) we can indeed notice a decrease in the charge transfer resistance value in the case of the 5% β CD-SNGC systems as

compared with bare SNGC one. On the other hand, the higher value calculated for the electrical double layer C_{dl} at the 5% β -CD/Graphite interface is probably due to an increase in the electrode surface area (Zoltowski, 1998). This change in the capacitance suggested that cyclodextrin were successfully incorporated into graphite carbon electrode. The reproducibility of the measurements from several 5% β CD-SNGC electrodes was good and this could be explained by a rigours control of the experimental conditions of the electrodes preparation.

3.7. SEM

Six different samples were studied: 2.5% β CD-SNGC polished electrode and not used, 2.5% β CD-SNGC polished electrode and used, 5% β CD-SNGC polished electrode and–not used, 5% β CD-SNGC polished electrode and used, 7% β CD-SNGC polished electrode and not used, 7% β CD-SNGC polished electrode and used. For each sample, the SEM and EDS studies were performed on the same equipment and at the same time.

As SEM studies were carried out at low vacuum, it was not necessary a previous step of coating the samples with gold. The micrographs were always taken at 20 kV.

In all cases, it can be observed the presence of certain type of erosion, in the form of a marked widening of the separation material/capillary tubes, detected in their surface. The fact of using an electrode on measurements in aqueous solution increases highly the quoted separation, as well as the appearance of holes and fissures in their surface. When comparing the erosion suffered by the three different electrodes, it can be concluded that 2.5% β CD modified samples had a greater separation material/capillary tubes due to erosion than the other samples. While the

other two types of materials: 5% and 7% β CD modified samples, present a minor separation. The greatest quantity of fissures and holes was present by 2.5% β CD modified samples, although electrodes with 7% of modification had a good quantity of them as well.

This fact could be used to corroborate the worst electrochemical results obtained with 2.5% and 7% β CD modified materials, and the better electrochemical results for 5% β CD modified material. This material presented smaller erosion and less number of fissures and holes, as well as better mechanical behaviour.

With regard to the data obtained by means of EDS, it was not observed differences in the composition of the materials that denote the influence of the quantity of β -cyclodextrin.

3.8. Interference studies

In order to explore possible analytical applications of the method described above, the effect of ascorbic acid (AA), which represents a severe interference, and inorganic ions, during the determination of the neurotransmitters was studied. Cyclic voltammograms of 5×10^{-3} M of ascorbic acid did not show any signal on a bare SNGC electrode, while a large anodic peak for ascorbic acid appears at 0.453 V on a 5% β CD-SNGC electrode. It seems that the β CD modified electrode has the ability to expel ascorbic acid from the electrode. The occurrence of a homogenous catalytic oxidation of AA by the oxidation of DA at carbon electrodes was also reported by Dayton et al 1980 (Dayton, 1980). Recently, the catalytic effect of DA on the ascorbic acid (AA) oxidation at a lipid modified GCE has also been observed (Ferreira, 2004). In each of these observations, the strong AA interference on the electrochemical determination of DA and catecholamines is confirmed. To

investigate this issue, we have carried out a careful study of this catalytic effect employing a 5% β CD-SNGC electrode in contact with solutions of ascorbic acid and dopamine used as the analyte of reference; adsorptive differential pulse voltammetry (AdDPV) was the technique employed. From Fig (4a) it can be seen that when the concentration of AA in the mixture was varied from 0 to 8×10^{-4} M, the peak height of DA remained constant, while peak height of ascorbic acid increased linearly with concentration. On the other hand, when reversing the experiment by varying the concentration of DA from 0 to 2×10^{-7} M, the peak height of AA remained constant (Fig.4b). These results demonstrate that there is no homogeneous catalytic coupling between ascorbic acid and DA at the 5% β CD-SNGC modified electrode. Moreover, although the peaks of ascorbic acid and dopamine are partially overlapped, it seems that the modified electrode has the ability to resolve the determination of DA even in the presence of high amounts of ascorbic acid (250 - fold higher). To achieve this purpose, we have adopted as criterion to evaluate the peak height of DA to take the distance between the maximum of the peak and the tangent to the right base line of the DA's peak (AutoLab® Manual Instructions). The linear relation between these heights and the concentration of DA can be verified with the following equation and correlation coefficient: $y = 0.0264x + 0.1318$, $r^2 = 0.9954$.

Our modified electrode has also the ability for selective determinations of other catecholamines in presence of ascorbic acid and also in presence of uric acid, which has a similar behaviour to AA.

On the other side, keeping the concentration of all the neurotransmitters at a level of 1×10^{-5} M no significant interference was obtained from the following species: K_2SO_4 (150), KCl (400), KBr (400), where the values in parentheses are the interferent/analyte concentration ratios.

3.9. Analytical Applications for neurotransmitters determination

The quantitative determination of dopamine (DA), norepinephrine (NE), epinephrine (EN) and catechol at the novel 5% β CD-SNGC electrode was performed using adsorptive differential pulse voltammetry. Therefore, the anodic peak current for these catecholamines was taken as the analytical signal.

Under the optimal experimental conditions obtained above, linear relationships between the concentration and current for DA, EN, and NE were obtained. The linear regression equations were: DA, i (μ A) = $-0.0274 + 0.0274C$ (μ M); EN, i (μ A) = $0.2279 + 0.0119C$ (μ M); NE, i (μ A) = $0.0039 + 0.002C$ (μ M). The R^2 correlation coefficients were 0.9991; 0.9989 and 0.9992, respectively. The calculated limit of detection were 0.585 μ M for Dopamine, 0.294 μ M for Norepinephrine, and 0.699 μ M for Epinephrine. This latest LOD (Epinephrine) was much lower than the one we obtained recently using a conducting polymer glassy carbon modified electrode (Izaoumen, 2005). These LOD are good enough to be exploited for the detection of some neurotransmitters in pharmaceutical products and/or biological fluids.

The detection of catechol was also studied. A linear relationship between the anodic peak current and the concentration of the catechol, within the range of 2×10^{-7} M to 2.2×10^{-5} M, was obtained with a linear regression equation i_{pa} (μ A) = $0.1467 + 0.2356C$ (μ M), and a $R^2 = 0.9992$. The LOD was 0.059 μ M, lower than the value obtained in the literature with a polymer glassy carbon electrode.

4. Conclusion

In this paper, we have reported for the first time on the electroanalytical performances of a novel β CD-SNGC modified electrode.

The results indicate that the β -cyclodextrin incorporated in Sonogel-Carbon electrode produces better responses towards catecholamine molecules as compared to unmodified Sonogel carbon electrode. This is probably due to the formation of inclusion complexes between catecholamine and the β -CD. The results are better compared to the response at modified glassy carbon electrodes. Beside the negligible effect of ascorbic and uric acids on the measurements together with the very encouraging LOD obtained make the new electrodes very stable and allow easy operation life time during more than 4 weeks. Our preparation method is sensitive enough to be applied to single tablet assay which may open new horizon for their use in the medical and biochemical analysis field.

Acknowledgements

This project was possible thanks to the Moroccan Ministry of Higher Education through the program PROTARSII: P21/96 and the Spanish Agency for International Cooperation (AECI) through the project A/2990/05.

References

- M. L. Bender, M. Komiyama. 1997. *Cyclodextrin Chemistry*. Springer- Verlag. Berlin.
- H. J. Schneider, F. Hacket, V. Rudiger. 1998. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrine complexes. *Chem. Rev.* 98 (5):1755-1785

-
- J. Szejtli. 1982. *Cyclodextrin and their Inclusion Complexes*, Ed. Akademiai Kiado, Budapest Hung, p. 296.
 - P.M. Bersier, B. Klingert. 1991. Electrochemistry of cyclodextrins and cyclodextrine inclusion complexes, *Electroanalysis* 3 (6):443-455.
 - G. Puglisi, N.A. Santagati, R. Pingnatello, C. Ventura, F.A. Bottino, S. Mangiafico, G. Mazzone. 1990. Inclusion complexation of 4-byphenylacetic acid with β -cyclodextrin, *Drug Dev. Ind Pharm.* 16 (3):395-413.
 - D. L. Van Der Jagt, F.L. Killian, M.L. Bender. 1970. Cycloamyloses as enzyme models. Effects of inclusion complex formation on intramolecular participation, *J. Am. Chem. Soc.* 92 (4):1016-1022.
 - L. M. de León-Rodríguez, D. A. Basuil-Tobias. 2005. Testing the possibility of using UV-Vis spectrophotometric techniques to determine non-absorbing analytes by inclusion complex competition in cyclodextrins. *Anal. Chim. Acta* 543 (1-2):282-290.
 - H. Y. Wang, J. Han, X. G. Feng, Y. L. Pang. 2006. Study of inclusion complex formation between tropaeolin OO and β -cyclodextrin by spectrophotometry and IR spectroscopy, *Spectrochim. Acta A* 65A (1):100-105
 - O. Jules, S. Scypinsky, L. J. C. Love. 1985. Fluorescence enhancement of several hallucinogenic drugs in cyclodextrin media. *Anal. Chim. Acta* 169:355-360.
 - A. I. Gopalan, K. P. Lee, K. M. Manesh, P. Santhosh, J. H. Kim. 2006. Gold nanoparticles dispersed into poly(aminothiophenol) as a novel electrocatalyst-fabrication of modified electrode and evaluation of electrocatalytic activities for dioxygen reduction, *J. Molec. Catalysis A: Chemical* 256 (1-2):335-345.
 - C. Yañez, L. J. Nunez-Vergara, J. A. Squella. 2003. Differential pulse polarographic and UV-Vis study of inclusion complexes formed by 1,4-dihydropyridine calcium

antagonist, nifedipine and nicardipine with β -cyclodextrin, *Electroanalysis* 15 (22):1771-1777.

- E. Norkus, G. Grinciené, R. Vaitkus. 2002. Interaction of lead (II) with β -cyclodextrin in alkaline solutions. *Carbohydrate Research* 337 (18):1657-1661.

- R. I. Gelb, L. M. Schartz, C. T. Murray, D. A. Laufer. 1978. Complexation of 4-biphenylcarboxylate by cyclodextrinaamylose. A conductometric and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectrometric analysis, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (11):3553-3559

- A. Ferancová, J. Labuda. 2001. Cyclodextrins as electrode modifiers, *Fresenius, J Anal Chem* 370 (1):1-10.

- A. Ferrancová, E. Korgova, J. Labuda, J. Zima, J. Barek. 2002. Cyclodextrin modified carbon paste based electrodes as sensors for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic amines, *Electroanalysis* 14 (23):1668-1673.

- G. Roa, M. T. Ramírez Silva, M. M. Romero Romo, L. Galicia. 2005. Heavy metal determination by anodic stripping voltammetry with a carbon paste electrode modified with α -cyclodextrin. *Appl. Anal. Chem Environm. Research*:57-66.

- T. Yakabe, H. Yoshida, H. Nohta, M. Yamaguchi. 2002. HPLC determination of catecholamines based on precolumn derivation with 6-aminomethylphthalhydrazide followed by chemiluminiscence detection, *Analytical Sciences* 18 (12):1375-1378.

- E. E. Muller, G. Nistico, U. Scapagnini. 1977. *Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function*, Academic Press, New York.

- A. A. Boulton, G.L. Marjerrison. 1972. Effect of L-Dopa Therapy on urinary p-tyramine excretion and EEG changes in Parkinson's disease, *Nature* 236 (5341):76-78.

- M. Sandler, C.R.J. Ruthven, B.L. Goodwin, G. P. Reynolds, V. A. R. Rao, A. 1979. Coppen Deficient production of tyramine and octopamine in case of depression, *Nature* 278 (5702):357-358.
- B. D. Bath, D. J. Michael, B. J. Trafton, J. D. Joseph, P. L. Runels, R. M. Wightman. 2000. Subsecond adsorption and desorption of dopamine at carbon-fiber microelectrodes. *Anal.Chem.* 72 (24):5994-6002.
- J. O. Zerbino, M. G. Sustersic. 2000. Ellipsometric and electrochemical study of dopamine adsorbed on gold electrodes. *Lamngmuir*, 16 (19):7477-7481.
- M. M. Collinson, A. R. Howells. 2000. Sol-gel and electrochemistry: research at the intersection, *Anal.Chem* 72 (21):702A-709A.
- L. Rabinovich, O, Lev. 2001. Sol-gel derived composite ceramic carbon electrode, *Electroanalysis* 13 (4):265-275.
- M. M. Cordero-Rando, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, E. Blanco, I. Naranjo-Rodríguez. 2002. The Sonogel-Carbon Electrode as a sol-gel graphite-based electrode, *Anal. Chem* 74 (10):2423-2427.
- J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, E. Blanco-Ollero, L. Esquivias-Fedriani. 2001. Patent P200100556, Spain.
- M. El Kaoutit, I. Naranjo-Rodríguez, K. R. Temsamani, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros. 2007. The Sonogel-Carbon materials as bases for development of enzyme biosensors for phenols and polyphenols monitoring. A detailed comparative study of three immobilization matrixes. *Biosensors and Bioelectronic*. Accepted.
- J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, M. Cocchi, A. Ulrici, I. Naranjo-Rodríguez, R. Seeber, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros. 2007. Multicomponent analysis in the Wavelet domain of highly overlapped electrochemical signals: resolution of quaternary mixtures of chlorophenols

determined by a PEG-modified Sonogel-Carbon electrode, *Chemometrics and Intelligent laboratory systems*, Submitted.

- M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros. 2005. Study of the Responses of a Sonogel-Carbon Electrode Towards Phenolic Compounds, *Electroanalysis* 17 (9):806-814.

- B. Ballarin, M. M. Cordero-Rando, E. Blanco, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, R. Seeber, D. Tonelli. 2003. New rigid conducting composites for electrochemical sensors. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 68(8):1420-1436.

- N. Izaoumen, D. Bouchta, H. Zejli, M. El Kaoutit, A. M Stalcup, kh. R Temssamani. 2005. Electrosynthesis and analytical performances of functionalized poly (pyrrole/ β -cyclodextrin) films. *Talanta*, 66, (1):111-117.

- X. Ren, P.G. Pickup. 1997. An impedance study of electron transport and electron transfer in composite polypyrrole+polystyrenesulphonate films, *J. Electroanal. Chem* 420 (1-2):251-257.

- L. Montelius, J.O Tegenfeldt, T.G. Ling. 1995. Fabrication and characterisation of a nanosensor for admittance spectroscopy of biomolecules, *J. Vac. Sci.& Technol. A* 13 (3, Pt2):1755-1760.

- P. Van Gerwen, W. Laureyn, W. Laureys, H. Huyberechts, M. Op De Beeck, K. Baert, J. Suls, W. Sansen, P. Jacobs, L. Hermans, R. Mertens. 1998. Nanoscaled interdigitated electrode arrays for biochemical sensors, *Sens. Actuators, B* 49 (1-2):73-80.

- E. Souteyrand, C. Chen, J.P. Cloarec, X. Nesme, P. Simonet, I. Navarro, J.R. Martin. 2000. Comparison between electrochemical and optoelectrochemical

impedance measurements for the detection of DNA hybridation, *Appl. Biochem. Biotechnol* 89 (2-3):195-207.

- P. Zoltowski. 1998. On the electrical capacitance of interface exhibiting constant phase element behaviour, *J Electroanal. Chem* 443 (1):149-154.

- M.A. Dayton, A.G. Ewing, R.M. Wightman. 1980. Response of micro-voltammetric electrodes to homogeneous catalytic and slow heterogeneous charge transfer reaction. *Anal. Chem.* 52 (14):2392-2396.

- M. Ferreira, L. R. Dinelli, K. Wohnrath, A. A. Batista, O. N. Oliveira. 2004. Langmuir-Blodgett films from polyaniline /ruthenium complexes as modified electrodes for detection of dopamine, *Thin Solid Films* 446 (2):301-306.

- AutoLab® General Purpose Electrochemical System (GPES) Instructions Manual, Ed. Eco Chemie B.V. Utrecht, The Netherlands

Figure 1.

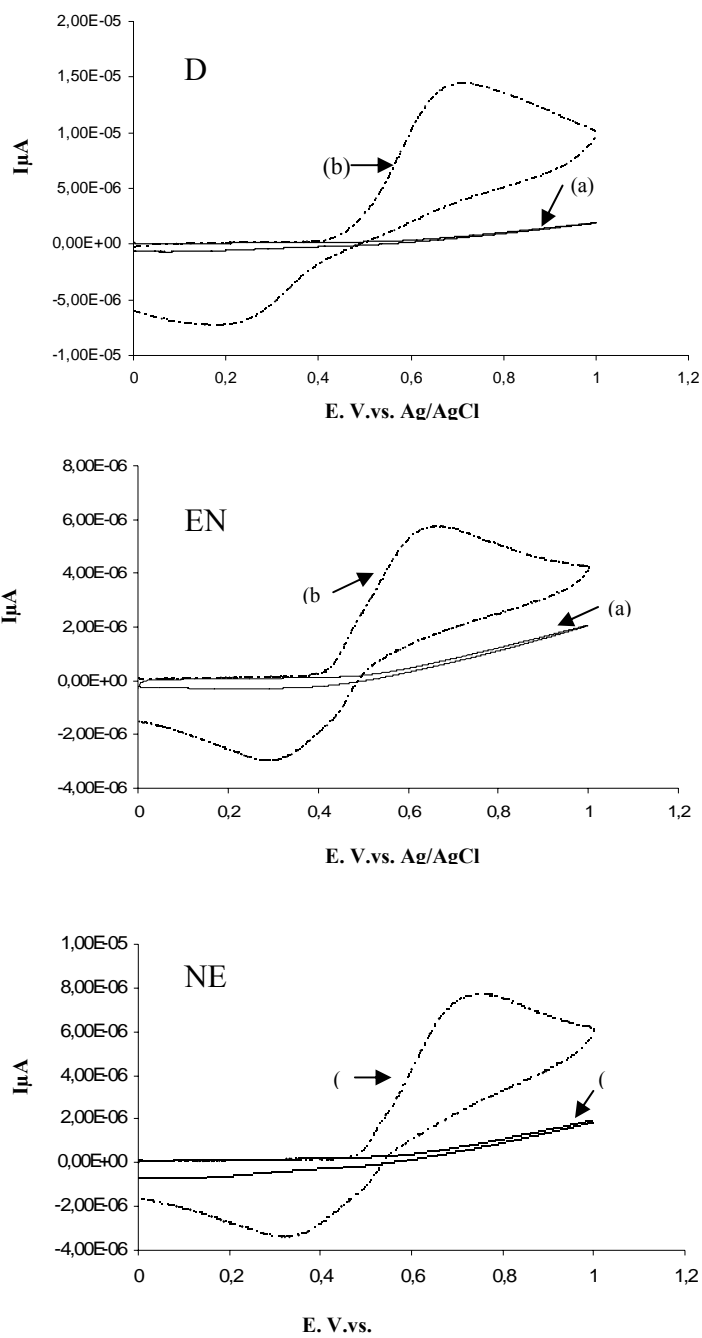


Figure 2.

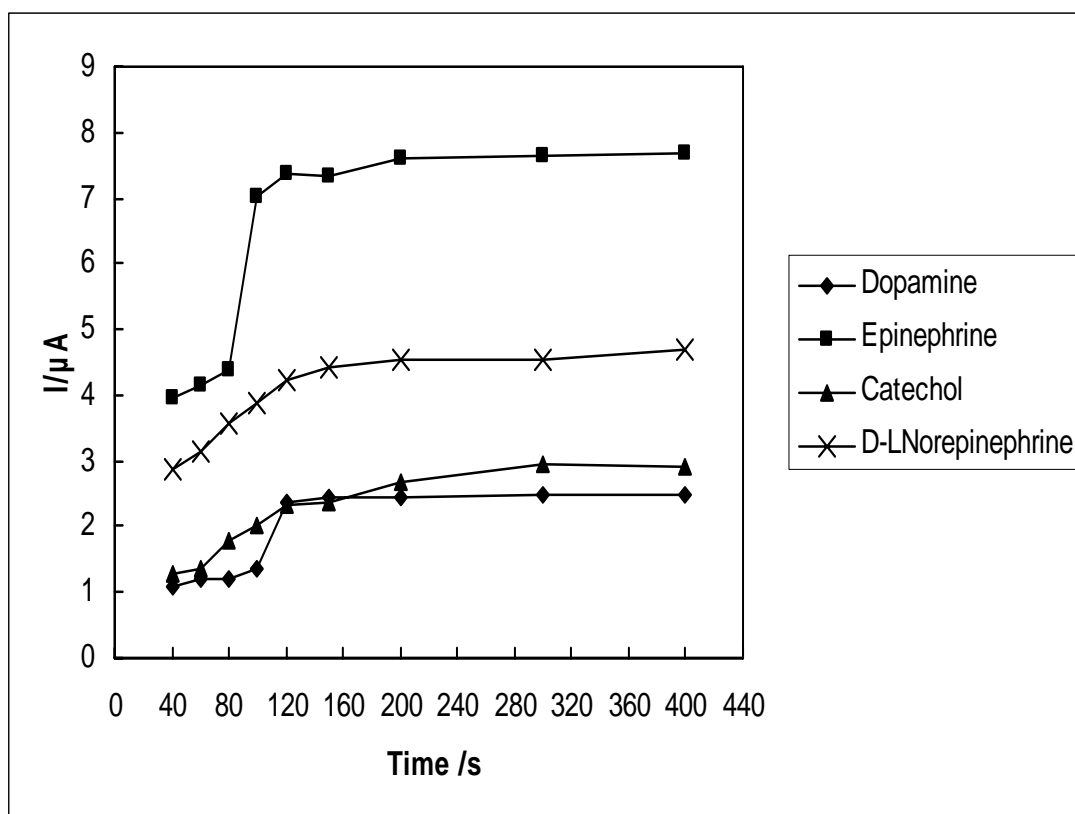


Figure 3.

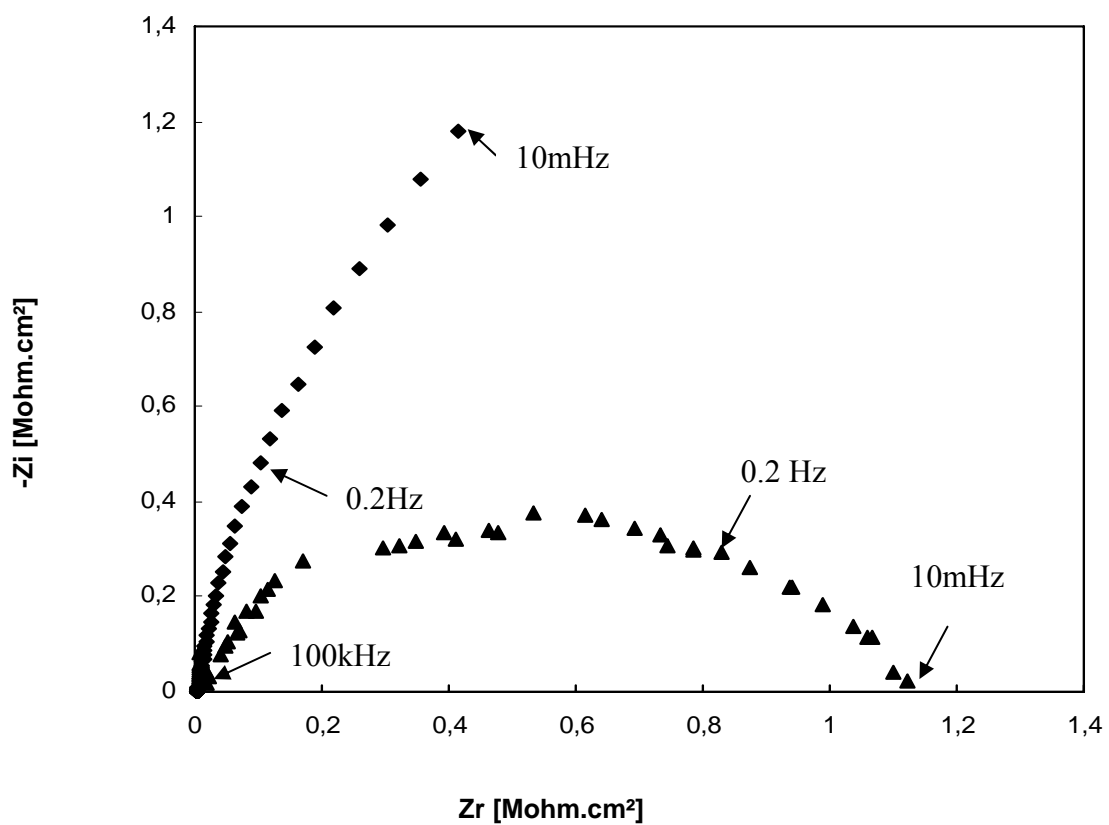


Figure 4.

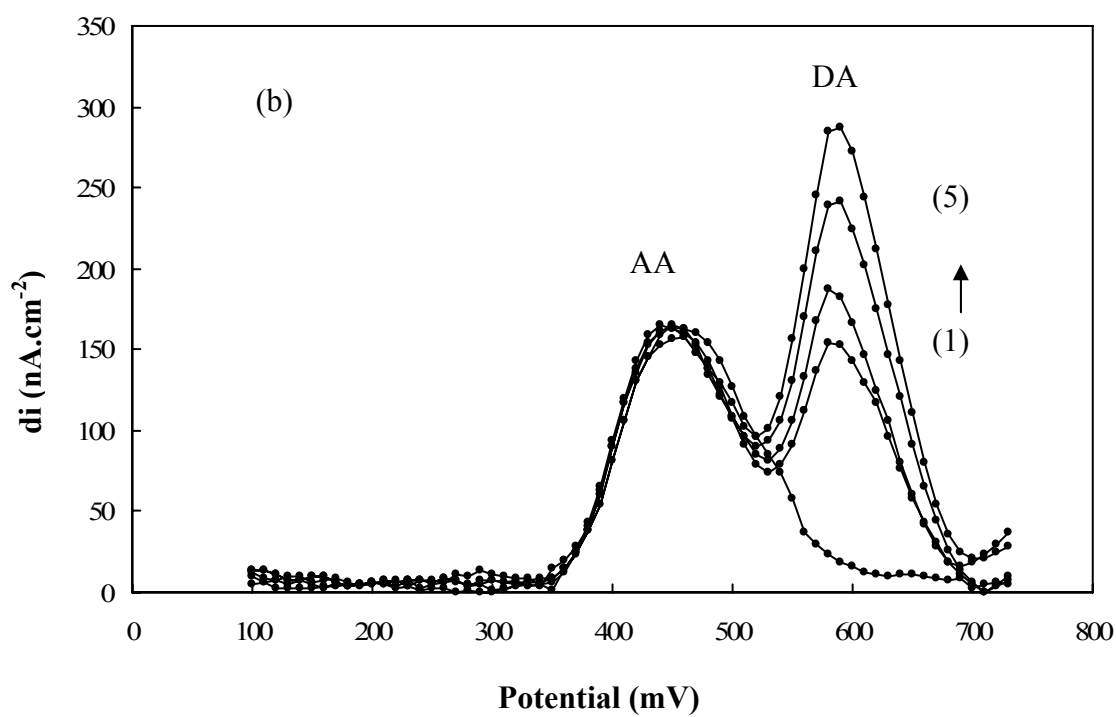
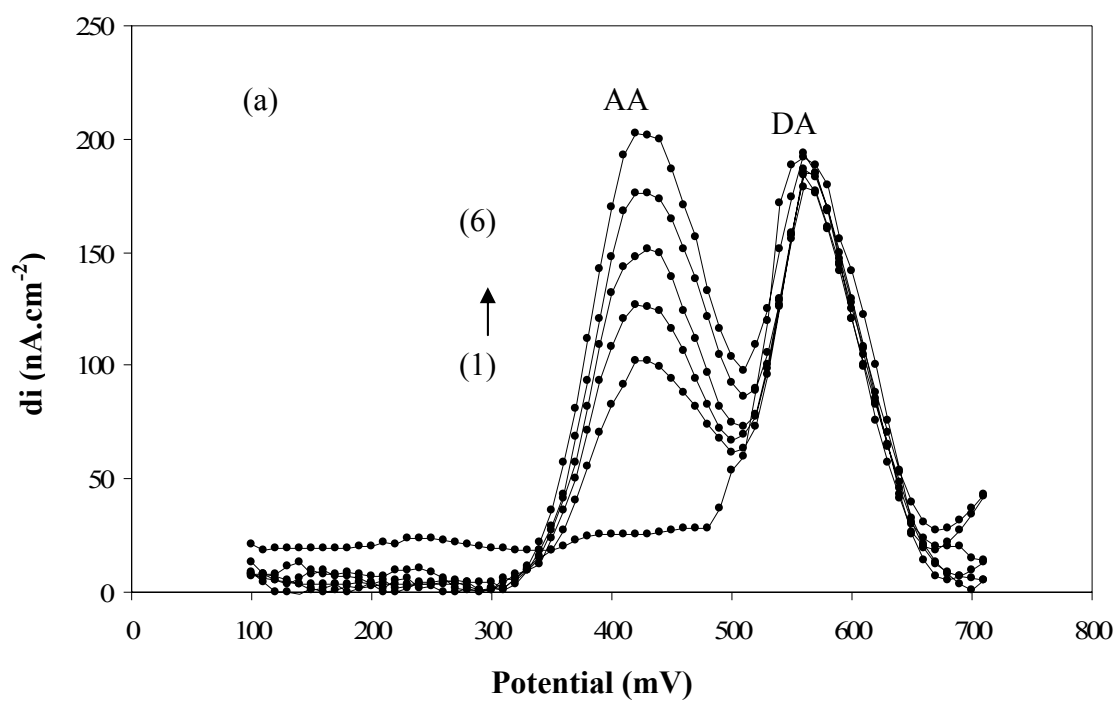


Table 1:

	Dopamine	Epinephrine	Norepinephrine	D, L- Norepinephrine	Catechol
$E_{pa}^{(a)}$ (V)	0.674	0.755	0.616	0.663	0.629
$E_{pc}^{(a)}$ (V)	0.328	0.323	0.335	0.289	0.293
I_{pa} (A)	1.06E-06	1.50E-06	1.94E-06	1.51E-06	3.96E-5
I_{pc} (A)	-1.276E-06	-1.87E-06	-1.751E-06	-1.46E-06	-2.02E-5
ΔE (V)	0.346	0.432	0.281	0.374	0,336
I_{pa}/I_{pc}	0.8322884	0.8044992	1.1085714	1.034246575	1.93069
Ep-Ep/2(oxidation)	0.074	0.077	0.075	0.076	
Ep-Ep/2(reduction)	-0.087	-0.099	0	-0.09	

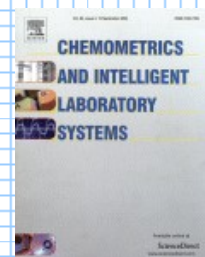
(a): E_{pa} and E_{pc} are the position peak oxidation and reduction potential.

(b): I_{pa} and I_{pc} are also current intensity of oxidation and reduction of neurotransmitters peak

ΔE (V): is the difference between oxidation and reduction potential (or the peak separations for the molecules at 5% β CD-SNGC electrode). $V = 50\text{mV/s}$, in PBS at $\text{pH}=7$, with 5mM as concentration of all analyte studies.

Table2:

	$R_e / \Omega \cdot \text{cm}^2$	$R_{ct} / \text{M}\Omega \text{ cm}$	$C_{dl} / \text{nF cm}^2$
Sonogel-Carbon	4.909	5.537	177
5% β CD-SNGC	5.012	1.006	287.3



**Anexo IV:
Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems (Enviado)**

Multicomponent Analysis In The Wavelet Domain Of Highly Overlapped Electrochemical Signals: Resolution Of Quaternary Mixtures Of Chlorophenols Using A Peg-Modified Sonogel-Carbon Electrode.

J. M. Palacios-Santander ^{a,*}, L. M. Cubillana-Aguilera ^a, M. Cocchi ^b, A. Ulrici ^c, I. Naranjo-Rodríguez ^a, R. Seeber ^b, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros ^a.

^a *Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Polígono Río San Pedro, Apartado 40, 11510, Puerto Real, Cádiz, Spain. Phone: +34 956 01 63 61; Fax: +34 956 01 64 60. E-mail: josem.palacios@uca.es*

^b *Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, via G.Campi 183, 41100 Modena, Italy.*

^c *Dipartimento di Scienze Agrarie, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia. Via Kennedy 17, 42100 Reggio Emilia, Italy*

Abstract.

Chemometric methods have been applied to resolve mixture of phenols; phenolic compounds are amongst the most interesting chemical species from an environmental viewpoint. However, the number of papers that apply multivariate calibration methods to resolve electroanalytical signals of mixture of phenols is low.

In this paper, we propose a new chemometric methodology to resolve, in the wavelet domain, quaternary mixtures of chlorophenols: 4-chloro-3-methylphenol, 4-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and 2,4,6-trichlorophenol, in a concentration range from 0.05 to 0.25 mg·L⁻¹, using differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV) as the electrochemical technique, and a new polyethylenglycol-modified Sonogel-Carbon electrode. The results obtained after applying a Fast Wavelet Transform (FWT)-based feature selection algorithm, coupled with different multivariate calibration methods (multilinear regression-MLR and partial least

squares regression-PLS) are compared with those obtained from a direct PLS. Besides, an OSC-based calibration transfer procedure (OSC-CT) is also applied, as a pre-processing tool, in order to improve the results obtained with the previous techniques.

Keywords

Fast Wavelet Transform; Multivariate Calibration; Feature Selection; Overlapped Electrochemical Signals; Voltammetry; Chlorophenols.

1. Introduction

Phenolic compounds are amongst the most interesting chemical species from an environmental viewpoint. Phenols and their derivatives can be found between the more widely used chemicals in industry [1-3]: plastics, colorants, drugs, antioxidants, herbicides, pesticides, antiseptics, disinfectants, preservatives, synthesis of pharmaceuticals, etc. Consequently, they have been detected as air, water and soils pollutants [4,5]. The seriousness of the environmental pollution caused by phenols, especially chlorophenols (2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol), is due to their high toxicity for living creatures [6,7] and their generalized application. Not only are they being produced commercially since 1950s, but they are also originated as by-products in reactions of chlorination of effluents resulting from depuration of drinking and wastewater, as well as from the process of bleaching paper pulp with chlorine. That is why phenols appear in the lists of priority pollutants of almost all environmental agencies in the world, and numerous procedures, including electrochemicals, have been developed for their study [8].

In the scientific literature, it is possible to find a great deal of research works regarding the detection of phenolic compounds, mainly nitrophenols and chlorophenols [9-12]. The matrices studied have almost always been aqueous and the phenols have been determined both individually and in mixtures, in the last case either to elaborate a phenol index or to develop a multivariate calibration from the global detection. The analytical techniques most commonly applied to these matters have been chromatography and flow injection analysis (FIA), the first of them being a method that makes feasible the separation of different phenolic constituents in mixtures. The subsequent detection is usually made by spectrophotometric (UV/Vis) and electrochemical techniques. In the last one, the process has been carried out by using different types of amperometric detectors: gold [9] and glassy-carbon [10] electrodes and polymeric [11] or enzymatic [12] sensors.

However, one of the main limitations to the application of electroanalytical techniques in the field of quantitative analysis is often due to lack of selectivity. In fact, overlapped peaks occur more commonly in voltammetry than in chromatography or most spectral methods, because the width of a voltammetric peak is an appreciable fraction of the accessible potential range: different species may undergo oxidation or reduction at potential values that are very close to each other. Besides experimental manipulations like changes of pH, of the supporting electrolyte, or the use of modified electrodes, chemometrics offers efficient alternatives to solve the problem of overlapping signals. Many successful applications of multivariate calibration to resolve phenolic mixtures have been recently reported [13-19], using different regression methods, i.e., multilinear regression (MLR) [13], principal component regression [14], classical or inverse least-squares regression (CLS and ILS) [14], partial least squares regression (PLS) [14-19], and artificial neural networks (ANN) [15]. These chemometric methods have

been mainly applied to resolve mixtures of nitrophenols, chlorophenols and cresols determined by spectrophotometric and chromatographic techniques.

Nevertheless, there are not many papers regarding electroanalysis and multivariate calibration of phenols, due to the disadvantages pointed out previously. On one hand, it can be stood out the research of Kubota et al. [20,21], in which they apply pruned ANN and PLS to resolve binary mixtures of different phenolic compounds determined by using carbon fibre electrode and tyrosinase / laccase biosensors, respectively. On the other hand, Kokot et al. [22] resolved mixtures of nitrobenzene and nitrophenols with different multivariate calibration methods: CLS, PCR and PLS.

In this paper we propose a new chemometric methodology with the aim of resolving, in the wavelet domain, quaternary mixtures of chlorophenols: 4-chloro-3-methylphenol (MF), 4-chlorophenol (CF), 2,4-dichlorophenol (DCF) and 2,4,6-trichlorophenol (TCF) in the concentration range 0.05 to 0.25 mg·L⁻¹, determined by differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV), using a new polyethylenglycol (PEG)-modified Sonogel-Carbon electrode. In this way, multivariate calibration procedures have been carried out to resolve the serious overlapping that these mixtures show and to obtain the concentrations for the individual chemical species that constitute them. The results obtained after applying a Fast Wavelet Transform (FWT)-based feature selection algorithm coupled with different multivariate calibration methods (MLR and PLS) are compared with those rendered from a direct PLS. Besides, an OSC-based calibration transfer procedure (OSC-CT) is also applied in order to improve the results obtained with the previous techniques.

The innovation of this piece of research also radicates in the following aspects:

1. This paper constitutes one of the first applications of the PEG-modified Sonogel-Carbon electrode.
2. The system is composed of quaternary mixtures, whose individual components are quite seriously overlapped.
3. The concentrations of the four chlorophenols is rather lower than in most works of literature regarding this issue; furthermore, their values are very close to the detection limit for these analytes at our experimental conditions.
4. The application of a feature selection process to a phenolic system of this characteristic is novel as well. The recently developed algorithm called WILMA (Wavelet Interface to Linear Modelling Analysis) [23], has been used for this purpose. Until now, in electrochemistry, it had only been applied to resolve mixtures of Tl^+ and Pb^{2+} .

In general, the analyte TCF was always better predicted than the others, which showed increasing errors ranking this way: MF < CF < DCF. The OSC-CT procedure did not offer significant improvement in the results.

The Sonogel-Carbon electrodes

It nowadays exists a great interest in the development and application of sol-gel-derived carbon-based electrodes for electrochemical applications. The sol-gel process is a chemical synthesis technique that enables the possibility of preparing a wide variety of oxide compounds at far lower temperatures than conventional methods. It is a fusionless method for the synthesis of ceramic and organically modified ceramic materials. In this field, we have recently proposed a novel sol-gel

procedure [24,25] based on the use of sonocatalysis as a way to yield solid carbon composite electrodes. By means of sonocatalysis, high-energy ultrasounds are applied directly to the precursors, and ultrasonic cavitation is achieved so that hydrolysis with acidic water is promoted in the absence of any additional solvent. Thanks to the phenomenon of ultrasonic cavitation, sol-gel reactions occur in a unique environment, leading to gels with special characteristics. These so-called sonogels are mainly of high density, with a fine texture and homogeneous structure. The mix of sonogel with spectroscopic grade graphite leads to a new type of sol-gel electrode: the Sonogel-Carbon electrode. The electrode preparation procedure can be found in [26].

The Sonogel-Carbon electrodes show the general good properties of the other CCE's (Ceramic Carbon Electrodes). Besides, in comparison with other carbon electrodes, they exhibit especially favourable electrochemical properties, such as broad operational range of voltage and very low values of observed charging capacity (C_{obs}). Moreover, the electrodes show direct response for a large group of organic compounds and several metallic ions [25]. These reasons, besides their stability, make them very appropriate to be used as electrochemical sensors.

The sol-gel technology is very used to produce superconducting materials [27] and optical devices [28,29]. Currently, in the field of electrochemistry, it is being applied to the construction of amperometric sensors and biosensors with the aim of determining phenolic compounds [30-32]. Nevertheless, the applications of sonogels are not very extended yet [33-36].

Chemometric techniques

The most important concepts about the theory of the main chemometric techniques used in this paper can be found in the next references: wavelet transform (WT) [37-40] and multivariate calibration methods (MLR, PLS) [41]. However, several indications about WT are given here.

Main aspects about wavelet transform: the algorithm WILMA

The wavelet transform is a powerful signal processing technique, whose peculiarity lies in the ability to map the frequency content of a signal as a function of the original domain, offering the possibility of (dual) time-frequency localisation. Therefore, WT allows modelling both aspects of an instrumental signal, i.e., point and shape characteristics. In other words, the representation in the wavelet domain offers the possibility not only to use the single intensity values of the signal, but also peak widths, slopes of selected portions, degree of smoothness, more or less evident discontinuities, and many other shape aspects, in order to achieve the information sought [42]. Moreover, removing baseline effects and reducing noise [43-45] is much easier in the WT domain than in the original one.

The discrete wavelet transform has been implemented through the Mallat's pyramidal algorithm also called Fast Wavelet Transform. It operates on an individual discrete signal of length 2^l by splitting it into 2^{l-1} long orthogonal subspaces, called approximations and details respectively. The decomposition is performed applying two filters (each wavelet being uniquely defined by a set of wavelet filter coefficients) to the original signal: a low-pass filter only retaining the low frequency content of the signal, i.e. the approximations, and a high-pass filter, collecting the high frequency

content, i.e. the details. The procedure can be recursively applied (wavelet tree) by applying the same two filters to the approximation vector, until the length of the resulting vectors equals 1. In this way, sharp and coarse properties of the signal are captured and disjointed into different sub-spaces, i.e. vectors or sets of wavelet coefficients, obtaining the so called "signal multiresolution". For each level of decomposition, j , it is possible to obtain a perfect reconstruction of the original signal by inverse FWT, using the approximations at level j and all the details from j to 1 level. In other words, the signal is represented in terms of a unique orthonormal basis $[cA_j cD_j cD_{j-1} \dots cD_1]$. On the contrary, when the goal is to remove noise or to perform data compression or feature selection, only a representative, i.e. informative for the given purposes, set of wavelet coefficients is retained by applying a suitable thresholding procedure.

The methodology proposed here consists of the multicomponent analysis based on FWT. In this way, it is foreseen to select the less number of wavelet coefficients as possible, retaining at the same time the greatest amount of chemical information contained in the voltammograms of quaternary mixtures of chlorophenols, with the aim of developing a feature selection as a previous step to the calibration process. The WILMA algorithm will be employed for this purpose.

Briefly, this novel algorithm, based on coupling of the FWT with MLR and PLS regression techniques for the selection of optimal regression models between matrices of signals and response variables, decomposes each signal into the wavelet domain and then, by means of proper criteria, selects the wavelet coefficients that give the best regression models, as evaluated by the Leave One Out cross-validation criterion. The predictive ability of the regression model is then checked by means of external test sets. Moreover, the signals are reconstructed back in the original domain using only the selected wavelet coefficients, to allow for

chemical interpretation of the results. The main advantages that can be envisaged when feature selection is performed by means of the application of this algorithm are:

1. Data reduction: very few wavelet coefficients are able to model the relevant information contained in a whole signal.
2. The possibility of doing simultaneously denoising, background removal, and feature selection.
3. The selected wavelet coefficients correspond to contiguous regions of the signal; i.e. the order of the variables is implicitly taken into account, which is particularly helpful for interpretative purposes.

WILMA goes through the following steps (scheme in Figure 1):

FIGURE 1 SHOULD APPEAR NEAR HERE

- The signals are decomposed into the wavelet domain by using the FWT at the maximum level of decomposition.
- For each level of decomposition the wavelet coefficients are ranked either according to their variance (V) or to an appropriate correlation parameter with the response variables: the squared correlation coefficient (R^2) or the squared covariance (C^2).
- For each level, the number of wavelet coefficients to be retained is iteratively determined searching for the minimum of the predicted residual sum of squares ($PRESS_{LOO}$, estimated by the Leave One Out procedure). In this step either MLR or PLS can be used; in the case of PLS the optimal number of latent variables is also chosen on the basis of the lowest $PRESS_{LOO}$.

- Finally, the optimal decomposition level is considered as that attaining the lowest $PRESS_{LOO}$.

The selected wavelet coefficients also constitute a set of descriptor variables, which can be fed to different regression techniques (ANN, for example). For interpretative purposes, both the selected wavelet coefficients and the calculated regression coefficients can be reconstructed into the original domain by the inverse FWT.

The quality of the optimal selected regression model is evaluated by means of the squared correlation coefficient (R^2), the squared correlation coefficient in Cross Validation with the Leave One Out technique, ($R^2_{CV,LOO}$), the Root Mean Squared Error of Calculation (RMSEC) and, the predictive performance of the regression model by the Root Mean Squared Error of Prediction (RMSEP). A detailed description of the algorithm and its characteristics can be found in [23].

Filters and values of the parameters

The initial data, the voltammograms (composed of 189 points in the range of 0.30 to 1.25 V) corresponding to 157 quaternary mixtures of chlorophenols, were either mean-centered or autoscaled prior to developing the feature selection procedure.

There are critical aspects when developing a feature selection procedure: the selection of 1) the optimal wavelet filter, 2) the padding criterion, 3) the optimal level of decomposition, and 4) the approach in which the feature selection process is based on.

The wavelet filters are commonly chosen empirically looking at the decomposition of the average spectrum or at the shape of the signals. While this approach is definitely preferable in compression and denoising tasks, where the whole shape of the signal has to be preserved, this cannot be true when performing calibration, where the signal's aspect that is relevant to the prediction of the response variable can be, in principle, unknown (e.g., a hardly detectable second derivative variation, or a discontinuity). Therefore, since we do not know a priori both shape and position of the descriptor variables that are relevant to the prediction of the response variable(s), a blind-analysis approach, in which more shapes (e.g., more wavelets) are tested for the identification of the best performing calibration model should be more suitable. That is why in this work, fourteen wavelets belonging to different families have been considered: 6 orthonormal wavelets from the Daubechies family (db2, db4, db5, db6, db10 and db20), 3 symlets (sym4, sym5 and sym6), and 4 coiflets (coif1, coif2, coif3 and coif5) and 1 biorthogonal wavelet (rbio 3.1).

With respect to the padding criterion, in a previous work [46] different padding criteria were tested in order to select the most appropriate approach to develop a FWT-based feature selection process on a binary system, composed of Tl^+ and Pb^{2+} , with the aim of resolving it. The results obtained after the systematic analysis conducted there suggested that no general rules for the selection of a padding criterion could be drawn. That is why the main tests carried out here were based on the zero-padding (zpd) criterion. Nevertheless, other criteria were also tested in some proofs: symmetric padding (sym), smooth padding (order 0 and 1, sp0 and spd, respectively) and periodic padding (per).

As regards feature selection, mainly two approaches have been most often proposed: 1) the wavelet coefficients are thresholded by using criteria based on the

evaluation of PLS weights [47] or of PLS regression coefficients [48]; 2) the wavelet coefficients are previously ranked by their variance [49-51] or by their squared correlation coefficient with the response variable [52]; then, the subset giving the most stable or the best performing regression model is selected. In this study, three ranking parameters (sorting criteria) were applied: the variance (V), the squared correlation coefficient (R^2), and the squared covariance (C^2).

The wavelet coefficients were selected individually for each dependant variable by using two multivariate calibration techniques: MLR and PLS. In both cases, the calibration model giving the minimum $PRESS_{LOO}$ value was selected as the optimal model.

Finally, as far as the optimal level of decomposition is concerned, generally in the literature it is either selected considering the features of the average spectrum or it is just the maximum possible level of decomposition. In this paper, the level of decomposition presenting the minimum $PRESS_{LOO}$ value was chosen as the optimal level.

2. Experimental

The Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV) measurements were carried out at an Autolab/PGSTAT20 (Ecochemie, Utrecht, Netherlands) potentiostat/galvanostat interfaced with a personal computer coupled to a VA 663 Stand (Metrohm), using the Autolab software GPES for waveform generation and data acquisition and elaboration. A single-compartment three-electrode cell, with a platinum auxiliary electrode and a silver/silver chloride, 3 M potassium chloride reference electrode was employed. A PEG-modified Sonogel-Carbon Electrode (PSCE) was used as the working electrode. It was only necessary

a previous short period of preconditioning after the fabrication of the electrode for it to be used. The polymer was added as a modifier during the process of fabrication in order to achieve the following advantages: 1) more and faster stabilization of the electrode during its previous preconditioning; 2) improving the sensibility of the electrode; and 3) better definition of the peaks of the analytes and their mixtures. Furthermore, since all measurements were carried out with the same electrode, an electrochemical procedure to renew its surface was applied to guarantee the reproducibility among the measurements: the variation coefficients were quite lower than 1-2 % in most cases. In idle condition, the electrode was hold in pure water (aqueous solution).

Analytical reagent grade chemicals were used throughout the experiments. Voltammograms were recorded at room temperature (25 ± 1 °C). All solutions were de-aerated with nitrogen for at least 1 min during the accumulation step with aims of homogenizing. A 0.04 M Britton-Robinson buffer solution ($I = 0.01$) was utilised as supporting electrolyte ($pH = 4$). Chlorophenols solutions were prepared from stock solutions at $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of concentration.

The voltammetric parameters were as follows:

- 1) Electrochemical renewal step (pre-treatment): cleaning potential = -0.5 V ; cleaning time = 120 s; rest period = 5 s.
- 2) Measurement step (pre-treatment): deposition potential = 0 V ; deposition time = 600 s; rest period = 5 s.
- 3) Electrochemical renewal and measurement step (scanning): initial potential = 0.30 V ; end potential = 1.25 V ; scan rate = 6.4 mV s^{-1} ; pulse amplitude = 100 mV ; pulse repetition time = 0.6 s .

Software

The WILMA algorithm has been written using the MATLAB[®] ver. 6.1 programming language, running on a PC equipped with an Intel Pentium[®] III 800 MHz processor and with 512 Mb RAM. Moreover, some of the subroutines available in the Wavelet Toolbox for MATLAB[®] ver. 2.1 and in the PLS_Toolbox[®] ver. 2.1 have been employed.

Data set

An experimental data set composed of 157 quaternary mixtures of chlorophenols (all measurements obtained with three replicates): 4-chloro-3-methylphenol (MF), 4-chlorophenol (CF), 2,4-dichlorophenol (DCF) and 2,4,6-trichlorophenol (TCF), in the concentration range 0.05 to 0.25 mg·L⁻¹ ($\Delta = 0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), was used. Unless specifically reported, the average voltammograms were employed as input data for the feature selection process or multivariate calibration techniques. 157 mixtures out of 625, a 25 % of the whole population were measured. The distribution of the mixtures in the experimental domain can be summarised as follows: 81 mixtures belonging to a whole 3⁴ factorial design (four analytes at three values of concentrations: 0.05, 0.15 and 0.25 mg·L⁻¹); 16 mixtures belonging to a whole 2⁴ factorial design (four analytes at two values of concentrations: 0.10 and 0.20 mg·L⁻¹); and 60 mixtures belonging to a fractional factorial design (four analytes at all values of concentrations), selected in order to maintain a good grade of representativity from the whole population.

Several distributions of signals were devised in order to constitute different sets of samples: calibration and test sets (Table 1). The strategy to select the signals in order to create these distributions is described as follows:

TABLE 1 SHOULD BE NEAR HERE

- 1) Factorial design (3^4) distribution: the calibration set was composed of all the mixtures belonging to the whole 3^4 factorial design (81); and the test sets were constituted by the rest of the mixtures dividing the 2^4 and the fractional factorial designs in an appropriate way, in order to obtain a good representativity of the whole population in both sets.
- 2) Randomised distribution (rand2): the calibration set and the test set 1 were built up taking signals randomly from the calibration set and the test set 1 of the former distribution (Orig), while maintaining the test set 2 unmodified.
- 3) Randomised distribution (rand3): in this case, the calibration set and the two test sets were obtained randomly from the three sets of signals of Orig.

FIGURE 2 SHOULD BE NEAR HERE

Figure 2 represents the overlapping voltammograms of the chlorophenols and one of their mixtures. The potential peaks (E_p) of each individual analyte were situated in a few tenths of mV, which implies a very severe grade of overlapping amongst the individual signals, as the unique peak in the voltammogram of the mixtures shows. Not only did quaternary mixtures give only one peak, but binary and ternary mixtures, which were determined in previous studies, did it as well. It has to be underlined that the individual voltammetric signals were not additive, i.e., the peak intensity value of the quaternary mixture was not the summa of the peak intensity values of the individual signals.

In order not to select the concentration range exclusively in an arbitrary way, it was decided to establish an experimental criterion based on the detection limit for every analyte below the experimental conditions previously cited. That is why the

concentrations values employed here are lower than those used in other works that appear in the scientific literature. The detection limits calculated for each chlorophenol were as follows: MF ($4.9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), CF ($4.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), DCF ($4.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and TCF ($3.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). The correlation coefficients were always over 0.999.

Data pre-treatment

Prior to developing the feature selection procedure coupled to multivariate calibration, four different normalization techniques were applied in order to carry out a baseline correction: 1) a manual baseline (linear) correction (LB) based on the tangent fitting method, 2) the Standard Normal Variate (SNV), 3) the Multiplicative Scatter Correction (MSC), and 4) the Orthogonal Signal Correction (OSC). The first one was integrated in Autolab[®]'s software, while the others were carried out in MATLAB[®] ver. 6.1. This sort of corrections was necessary because of the increase in the baseline correction as a consequence of the continuous use of the PSCE along the time, which caused a drift in the background intensity.

Experimental procedure

The experimental procedure employed in this work to determine the phenolic compounds by using the PSCE required a serial of alternating and successive steps of cleanings (electrochemical renewal) and measurements, being three steps of the first one at least, sandwiched between two measurements, what allow to re-utilize the electrode. It has to be noticed that the PSCE's electrochemical renewal step was initially developed for MF [33], although it was extended later to the other three chlorophenols, as well as the quaternary mixtures.

The experimental procedure can be described as follows: 25 ml of Britton-Robinson buffer were poured in the electrochemical cell placed in the VA 663 Stand of Metrohm with the aim of performing the cleaning step. This pre-treatment consists of applying an accumulation potential of -0.5 V during 120 s, with a subsequent sweeping from 0.3 V to 1.25 V. This procedure is repeated three times, in order to cancel any residue of the analyte(s) that could have been adsorbed in the surface of the PSCE because of previous determinations. The last sweep is considered as the register of the background. Next, the adequate amount of analyte(s) is added into the cell to carry out the measurement step. In this step, a potential of 0 V during 600 s is applied (under nitrogen atmosphere for the first minute to homogenize the solution). After a rest period of 5 s, the voltammogram is registered in the range 0.3 to 1.25 V. After cleaning the cell and the electrodes with bidistilled water, other 25 ml of Britton-Robinson buffer are added into the cell, performing again the procedure from the beginning.

3. Results and discussion

As reported previously, the individual signals obtained for the four chlorophenols were well defined and their calibration plots, as well as the detection limits, indicate that the PEG-modified Sonogel-Carbon electrode is adequate to be used as an amperometric sensor in the determination of such pollutants.

It has to be noticed that when the determination of the mixtures was developed, two curious phenomena were observed: 1) individual signal showed no additivity, as expected commonly in voltammetric signals, and 2) certain tendencies in the peak intensity values of the mixtures when maintaining constant the concentration of one analyte, varying the others. The explanation of these phenomena may be attributed to processes of interferences amongst the analytes,

which are based on the establishment of competition relationships in order to achieve the surface of the PSCE, as have been demonstrated recently [33].

Principal component analysis (PCA)

Before performing the feature selection process coupled to multivariate calibration processes, this chemometric tool (PCA) was used as an exploratory method with the aim of finding out the distribution of the 157 quaternary mixtures in a principal component space. The initial data were constituted by the voltammograms of the mixtures without any data pre-treatment. Figure 3 corresponds to the scores plot for the first two principal components. As shown, the 157 mixtures might be divided in two groups: 1) Group A: mixtures 1 to 73, and 2) Group B: mixtures 74 to 157. This implies that along the measurement process, a certain shift or variability has been produced. In the beginning, such phenomenon might be caused because of an evolution or a change in the behaviour suffered by the PSCE employed for the determination of the mixtures. Furthermore, this might also be the explanation for the increase in the background intensity when the PSCE is used along the time. Nevertheless, this statement must be confirmed yet.

FIGURE 3 SHOULD BE NEAR HERE

A priori, this problem can be solved out by means of normalization techniques, as those cited previously.

Multivariate calibration

Two kind of procedures were used to carry out the calibration process in order to build up predictive regression models and resolve the overlapping between

the organic electrochemical signals: 1) traditional PLS, and 2) a FWT-based feature selection process coupled with multivariate calibration techniques.

Partial least-square regression (PLS)

PLS models were calculated using both mean-centered and autoscaled data. The predictions obtained gave similar errors in most cases. That is why Table 2 only shows the results for mean-centered data. All the three data set arrangements: factorial design, rand2 and rand3 and both normalization procedures (SNV and MSC) have been tested. In Table 2, the results obtained for the best distributions and normalization methods are reported; for comparative purposes, the results for PLS on no-normalized data are included as well.

TABLE 2 SHOULD BE NEAR HERE

In general, quite satisfactory predictions were obtained for TCF and, partially, for MF, CF and DCF. It has to be noticed that the voltammetric peak of pure CF lies entirely in the potential range where pure DCF intensity maximum is located (see the plot of the quaternary mixture) and that is why prediction for these last analytes are higher. PLS models, based on rand2, generally performed better than other distributions. Only in one case (for CF), the models after SNV normalization shows increased performance. It seems that a random distribution of the signal improves the development of the models, making feasible the resolution of the system.

Globally, the results were not as good as expected but hopeful. This led to the application of the following chemometric method.

FWT-based feature selection process coupled with multivariate calibration techniques (WILMA)

The algorithm gave the best results working on the randomised training and monitoring sets, as shown in Table 3.

TABLE 3 SHOULD BE NEAR HERE

As happened with PLS models, quite good predictions were obtained for the analyte TCF, while MF, CF and DCF were not entirely satisfactory predicted. Rand3 performs slightly worst than rand2. In general, the normalization pretreatment does not seem to be necessary with the WILMA algorithm. It has to be noticed that the whole results correspond to MLR models; this means that MLR generally performs better than PLS and selecting a less number of wavelet coefficients. With respect to the ranking criteria, a previous ranking of the wavelet coefficients based on squared covariance or variance seems to offer better results.

Calibration transfer procedure

As shown in Figure 3, principal component analysis (PCA) on the whole signal matrix (157 mixtures) corroborated the existence of a certain degree of variability (shift) among the mixtures, depending on the time they were measured, phenomenon that seems intrinsic to the Sonogel-Carbon electrode. That is why an OSC-based calibration transfer procedure (OSC-CT) was carried out; an improvement of the results obtained until now was also pursued.

Normally, a calibration transfer procedure is applied when, having a calibration model built up from data measured with a certain instrument, another data set, determined with a different analytical instrument or in different conditions (temperature, humidity) is wished to be calibrated without remake the whole calibration process. In our case, we suppose that the experimental conditions have changed as a consequence of a variation in the electrode surface because of its continuous use along the time.

FIGURE 4 SHOULD BE NEAR HERE

In Figure 3, two groups of mixtures A (red) and B (blue) can be drawn. Thus, a calibration transfer procedure was attempted by using an OSC-based method [53]. The scores plot from the PCA after carrying out this calibration process gave place to the samples distribution that appeared in Figure 4. As seen in the figure, now group A and B are completely mixed up. This situation might improve the results after applying the traditional PLS without feature selection and the WILMA algorithm, as Table 4 demonstrate.

TABLE 4 SHOULD BE NEAR HERE

With respect to the first case (PLS), more quite satisfactory predictions were obtained for MF, CF and TCF, having been improved the RMSEP values in general. Particularly, for TCF and CF, the RMSEP values with the factorial design distribution have been almost halved. With the randomised distribution, the results are only slightly improved. As seen previously, the best predicted analyte was TCF and, then MF, while CF and DCF gave higher errors, for the same reasons discussed in former proofs. The calibration transfer procedure is particularly helpful as far as the factorial designed distribution is considered.

In the case of the application of WILMA, comparing the RMSEP values obtained with those from PLS, it is clear that apart from the similarity in the results certain improvement has been achieved, mainly for MF and CF. However, the number of selected wavelet coefficients is rather small. With respect to the results obtained without a calibration transfer procedure, only for MF there is a significant improvement. Quite satisfactory predictions were obtained for the two analytes, MF and TCF, while CF and DCF were non entirely satisfactory predicted. It has to be noticed again that the absorption peak of pure CF lies entirely in the potential range where pure DCF absorption maximum is located.

4. Future work

Artificial neural networks are being tested as regression tools, on the wavelet coefficients selected by the WILMA algorithm as descriptors. In this way, we want to check whether a non-linear regression technique can lead to a significant improvement.

Finally, other possibility consists of carrying out the feature selection process with a genetic algorithm (GA), i.e. select the wavelet coefficients previously with a GA instead of using a sorting step, as WILMA performs now.

5. Conclusions.

In this work we have shown that FWT can be effectively coupled to predictive feature selection criteria in order to find a minimum number of best performing wavelet coefficients. These coefficients constitute a new set of predictor variables that can be passed to any regression methods. The proposed procedure allowed us to calculate satisfactory multivariate calibration models for both $[Ti^+]$ and $[Pb^{2+}]$ ions, whose voltammetric responses, were seriously overlapped under the studied

experimental conditions. That of overlapped signals constitutes a well known and widely studied problem and many other chemometric approaches have been successfully applied, to thallium and lead mixtures as well;

In this paper a new algorithm, called WILMA, is proposed for the selection of optimal calibration models. The algorithm, coupling FWT to MLR and PLS, allows one to select those wavelet coefficients, deriving from the decomposition of a matrix of instrumental one-dimensional signals, which are the most significant to model the response variable of interest. WILMA has been tested on different kinds of signals (two data sets of near infrared spectra and one data set of differential pulse voltammograms), obtaining in all the cases calibration models with an extremely high predictive capability, evaluated by means of external test sets, and with a correct dimensionality. Moreover, the reconstruction of the selected wavelet coefficients into the original domain gave the possibility to visualise in an efficient manner the regions and the shapes of the signals that are actually significant to the prediction of the response variable. This aspect, together with the possibility of avoiding any signal pretreatments, renders regression in wavelet domain particularly effective.

In addition, many cycles of calculation have been performed in order to test the influence on the quality of the regression models of different parameters, such as the type of wavelet and the criteria adopted for the wavelet coefficients ranking before thresholding.

In fact, the experimental evidences confirmed that in calibration tasks the a priori choice of a particular wavelet would dramatically limit the possibility of gaining satisfactory results. Our blind analysis approach demonstrated that there is not a systematic dependence of the predictive performance of the regression models on

the wavelet type, and that it is not possible to select a priori a particular wavelet as the optimal one for a particular kind of signal.

With respect to the adoption of different ranking criteria, it can be concluded that, even if it is not possible to suggest a general rule for the selection of the optimal one, for some data sets a particular ranking criterion may be preferable with respect to others. Unfortunately, also in this case the a priori choice of the optimal ranking criterion is not a trivial task, since it would involve the knowledge of the shape and of the response variable correlated aspects of the signals resulting by the decomposition with different wavelets, at all the possible resolution levels.

Furthermore, it can be stated that the best calibration models selected by the WILMA-MLR and WILMA-PLS selection procedures show comparable performances, even if the latter method in general produces less oscillating results.

Acknowledgements

Financial support from Junta de Andalucía is acknowledged. We also thank Ministerio de Educación, Cultura y Deportes of Spain for the help given with a research grant (2000-2003).

References

- [1] W. Frenzel, S. Kekler, *Anal. Chim. Acta*, 310 (1995) 437-446.
- [2] J. Wang, Y. Lin, L. Chen, *Analyst*, 118 (1993) 277-280.
- [3] J. Gilbert, *Sci. Tot. Environ.*, 143 (1) (1994) 103-111.P.
- [4] Y.S. Drugov, G.V. Murav'eva, *Zh. Anal. Khim.*, 46 (1991) 2014-2020.

- [5] P. Ciccoli, A. Cecinato, E. Brancaleoni, M. Frattoni, *Fresenius Environ. Bull.*, 1 (1992) 73-78.
- [6] A. Buikema, M. McGinnes, J. Cairns, *Phenols in Aquatic Exosystems: A Selected Review of Recent Literature. Marine Environ. Res.* 2, Applied Science Publishers, London, 1979.
- [7] A. Morales, D. A. Birkholz, S. E. Hrudey, *Water Environ. Res.*, 64 (5) (1992) 660-668.
- [8] I. Naranjo-Rodríguez, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Organic Analysis in Environmental Samples by Electro-chemical Methods (Encyclopedia of Analytical Chemistry: Instrumentation and Applications)*. In: R. A. Meyers (Ed.) John Wiley & Sons, United Kingdom, 2000, vol. 4, p. 3035–3064.
- [9] H. -Y. Chen, A. -M. Yu, D. -K. Xu, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 359 (1997) 542-545.
- [10] M. Szewczynska, M. Trojanowicz, *Chem. Anal.*, 45(5) (2000) 667-679.
- [11] M. S. Ureta-Zañartu, P. Bustos, M. C. Diez, M. L. Mora, C. Gutiérrez, *Electrochim. Acta*, 46 (2001) 2545-2551.
- [12] M. S. Ureta-Zañartu, P. Bustos, C. Berríos, M. C. Diez, M. L. Mora, C. Gutiérrez, *Electrochim. Acta*, 47 (2002) 2399-2406.
- [13] A. Cladera, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdà, *Anal. Chim. Acta*, 421 (2000) 155-166.
- [14] F. Navarro-Villoslada, L. V. Pérez-Arribas, M. E. León-González, L. M. Polo-Díez, *Anal. Chim. Acta*, 313 (1995) 93-101.
- [15] J. C. G. Esteves da Silva, M. C. P. O. Marques Laquipai, *Anal. Lett.*, 31(14) (1998) 2549-2563.

- [16] F. Navarro-Villoslada, L. V. Pérez-Arribas, M. E. León-González, L. M. Polo-Díez, *Anal. Chim. Acta*, 381 (1999) 93-102.
- [17] M. del Olmo, C. Díez, A. Molina, I. de Orbe, J. L. Vílchez, *Anal. Chim. Acta*, 335 (1996) 23-33.
- [18] I. Rodríguez, M. H. Bollaín, R. Cela, *J. Chromatogr. A*, 750 (1996) 341-349.
- [19] R. Todeschini, D. Galvagni, J. L. Vílchez, M. del Olmo, N. Navas, *Trends Anal. Chem.*, 18(2) (1999) 93-98.
- [20] R. M. de Carvalho, C. Mello, L. T. Kubota, *Anal. Chim. Acta*, 420 (2000) 109-121.
- [21] R. S. Freire, M. M. C. Ferreira, N. Durán, L. T. Kubota, *Anal. Chim. Acta*, 485 (2003) 263-269.
- [22] Y. Ni, L. Wang, S. Kokot, *Anal. Chim. Acta*, 431 (2001) 101-113.
- [23] M. Cocchi, R. Seeber, A. Ulrici, *J. Chemometrics*, 17(8-9) (2003) 512-527.
- [24] J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, E. Blanco-Ollero, L. Esquivias-Fedriani, Patent P200100556, Spain, 2001.
- [25] M. M. Cordero Rando, Development and Characterization of Sonogel-Carbon Materials as a Base of Electrochemical Sensors, Doctoral Thesis, University of Cádiz – Spain, 2001.
- [26] M. M. Cordero-Rando, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, E. Blanco, I. Naranjo-Rodríguez, *Anal. Chem.*, 74 (2002) 2423-2427.
- [27] R. Erce-Montilla, M. Piñero, N. de la Rosa-Fox, A. Santos, L. Esquivias, *J. Mater. Res.*, 16(9) (2001) 2572-2578.
- [28] E. Blanco, L. Esquivias, R. Litrán, M. Piñero, M. Ramirez-del-Solar, N. de la Rosa-Fox, *Appl. Organomet. Chem.*, 13(5) (1999) 399-418.

-
- [29] M. M. Haridas, N. Goyal, R. Jayesh, *Ceram. Int.*, 24(6) (1998) 415-420.
- [30] Z. Liu, B. Liu, J. Kong, J. Deng, *Anal. Chem.*, 72(19) (2000) 4707-4712.
- [31] B. Wang, S. Dong, *J. Electroanal. Chem.*, 487 (2000) 45-50.
- [32] J. Li, L. S. Chia, N. K. Goh, S. N. Tan, *Anal. Chim. Acta*, 362 (1998) 203-211.
- [33] M. M. Cordero-Rando, I. Naranjo-Rodríguez, J. M. Palacios-Santander, L. M. Cubillana-Aguilera, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Electroanalysis* 17(9) (2005) 806-814.
- [34] B. Ballarin, C. Zanardi, L. Schenetti, R. Seeber, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, *Synth. Met.*, 139(1) (2003) 29-33.
- [35] B. Ballarin, M. Gazzano, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, D. Tonelli, R. Seeber, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 891-897.
- [36] B. Ballarin, M. M. Cordero-Rando, E. Blanco, J. L. Hidalgo-Hidalgo de Cisneros, R. Seeber, D. Tonelli, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 68 (2003) 1420-1436.
- [37] Y. Meyer, *Wavelets. Algorithms and Applications*, SIAM, Philadelphia, 1993.
- [38] B. Walczak (Ed.), *Wavelets in Chemistry*, Elsevier Press, Amsterdam, NL, 2000.
- [39] S. Mallat, *A Wavelet Tour of Signal Processing*, Academic Press, Oval Road, London, UK, 1998.
- [40] R. T. Ogden, *Essential Wavelets for Statistical Applications and Data Analysis*, Birkhäuser, Boston, 1996.
- [41] D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, L. M. C. Buydens, S. de Jong, P. J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*

- (Part A and B), *Data Handling in Science and Technology*, vol. 20A-B, Elsevier, Amsterdam, 1998.
- [42] M. Cocchi, R. Seeber, A. Ulrici, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 57(2) (2001) 97-119.
- [43] B. K. Alsberg, A. M. Woodward, M. K. Winson, J. Rowland, D. B. Kell, *Analyst*, 122(7) (1997) 645-652.
- [44] B. Walczak, D. L. Massart, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 36(2) (1997) 81-94.
- [45] H. W. Tan, S. D. Brown, *J. Chemometrics*, 16(5) (2002) 228-240.
- [46] M. Cocchi, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros, I. Naranjo-Rodríguez, J. M. Palacios-Santander, R. Seeber, A. Ulrici, *Talanta*, 59 (2003) 735-749.
- [47] B. K. Alsberg, A. M. Woodward, M. K. Winson, J. J. Rowland, D. B. Kell, *Anal. Chim. Acta*, 368(1-2) (1998) 29-44.
- [48] D. Jouan-Rimbaud, B. Walczak, R. J. Poppi, O. E. de Noord, D. L. Massart, *Anal. Chem.*, 69(21) (1997) 4317-4323.
- [49] J. Trygg, S. Wold, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 42 (1-2) (1998) 209-220.
- [50] L. Eriksson, J. Trygg, E. Johansson, R. Bro, S. Wold, *Anal. Chim. Acta*, 420(2) (2000) 181-195.
- [51] T. Artursson, A. Hagman, S. Bjork, J. Trygg, S. Wold, S.P. Jacobsson, *Appl. Spectrosc.*, 54(8) (2000) 1222-1230.
- [52] U. Depczynski, K. Jetter, K. Molt, A. Niemoller, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 47 (2) (1999) 179-187.
- [53] J. Sjöblom, O. Svensson, M. Josefson, H. Kullberg, S. Wold, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 44(1-2) (1998) 229-244.

CAPTION OF FIGURE 1: Superposition of voltammograms of MF, CF, DCF and TCF at a concentration of 0.25 mg•L⁻¹, as well as its corresponding mixture, with baseline correction.

CAPTION OF FIGURE 2: Scheme of the wavelet-based calibration algorithm (WILMA).

CAPTION OF FIGURE 3: Graphic of the scores for the first two main components, obtained from the PCA of the voltammograms of the mixtures.

CAPTION OF FIGURE 4: Graphic of the scores for the first two main components, obtained from the PCA of the voltammograms of the mixtures after applying a OSC-CT procedure.

Figure 1:

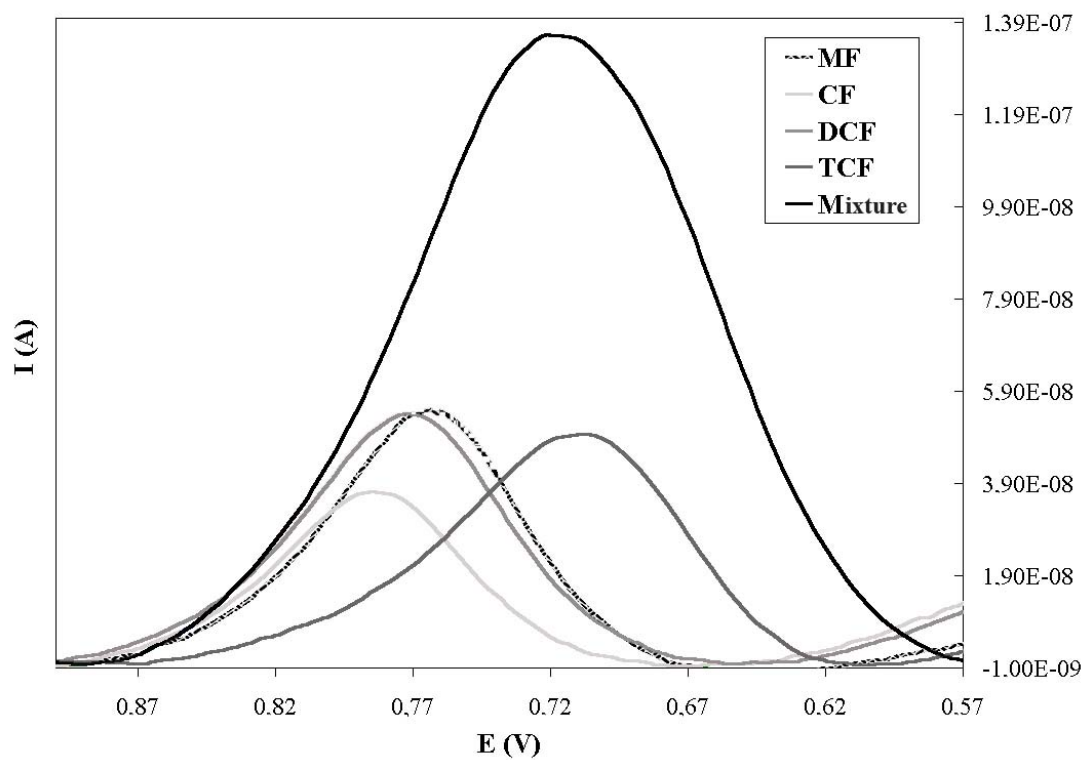


Figure 2:

Scheme of the wavelet-based calibration algorithm (WILMA)

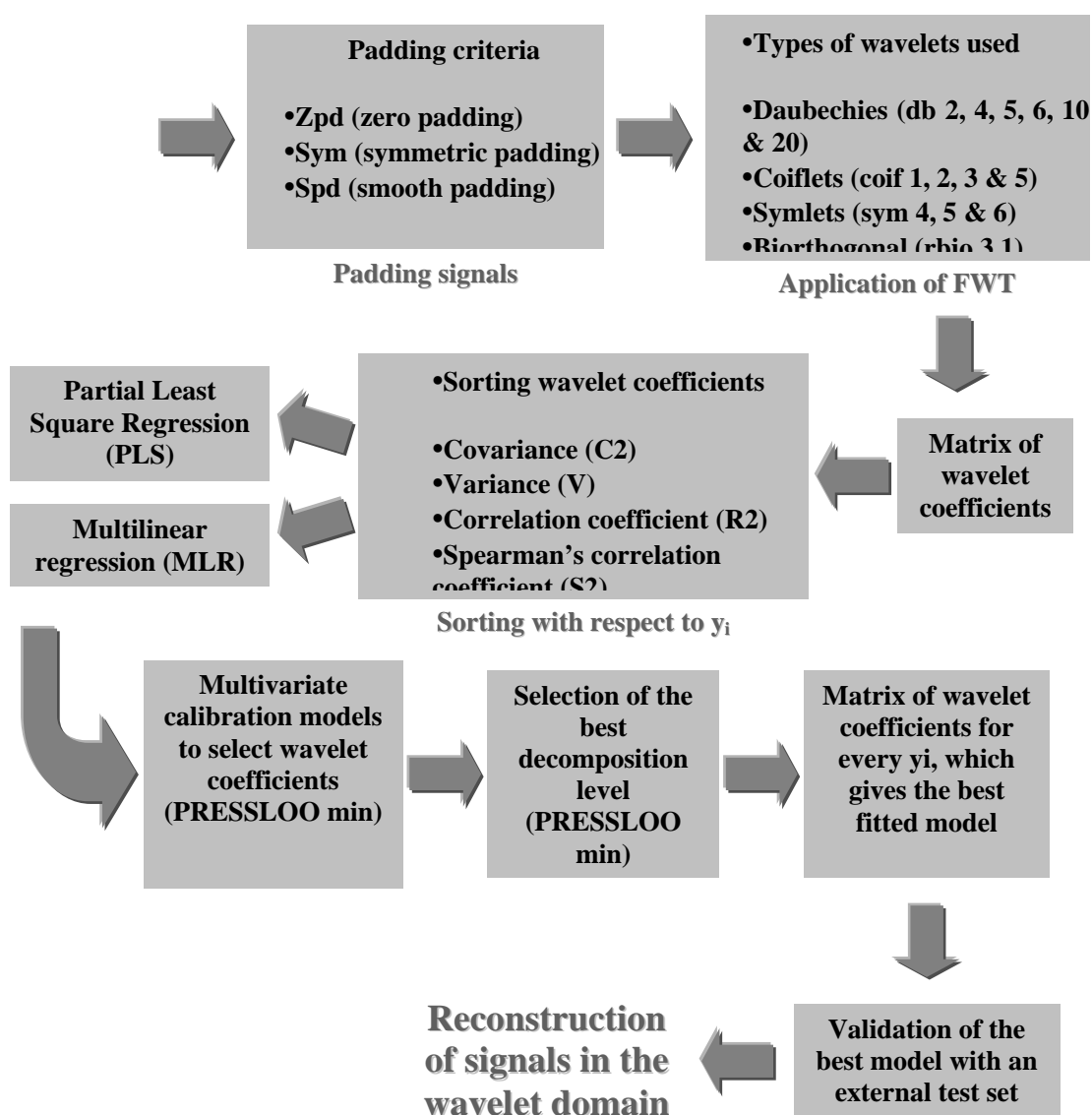


Figure 3:

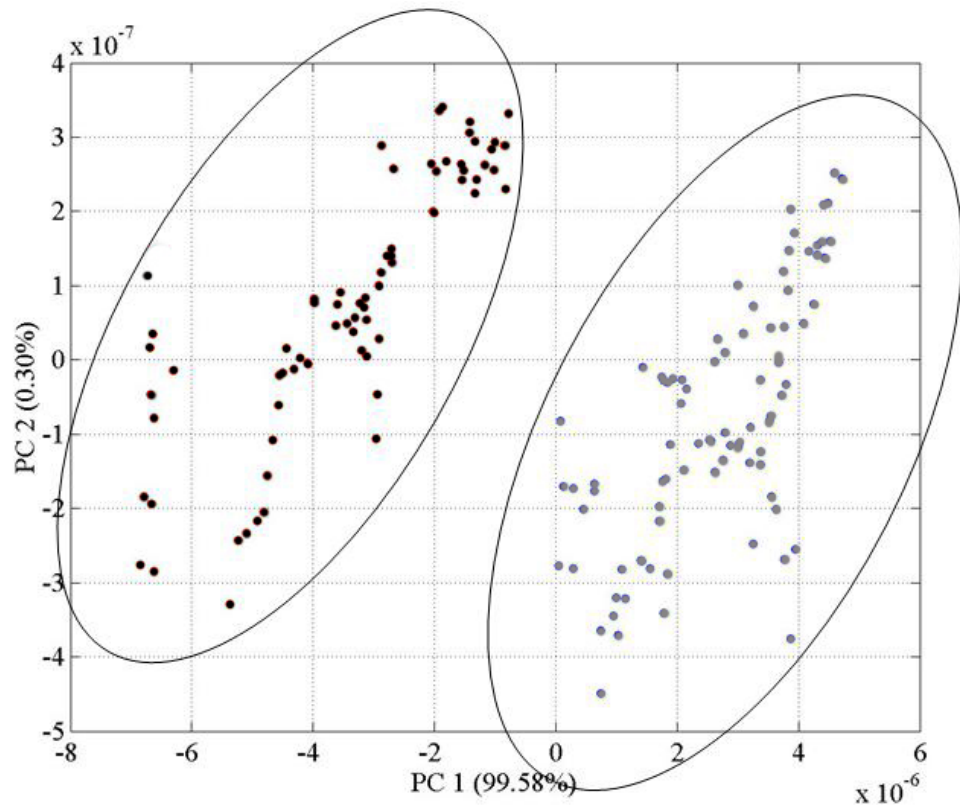


Figure 4:

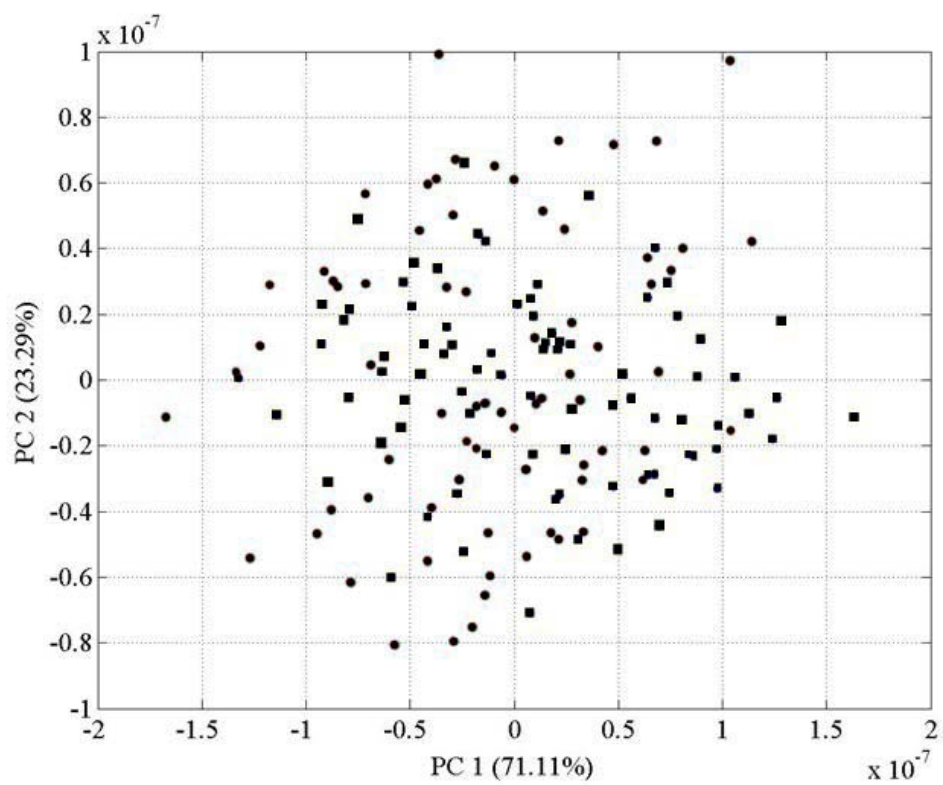


Table 1: Composition of calibration and test sets for different distributions of signals.

Distribution	Calibration set	Test set 1	Test set 2
Factorial design (3^4)	81	40	36
Random 1 (rand2)	82	39	36
Random 2 (rand3)	81	40	36

Table 2: Best calibration models obtained with traditional PLS for the prediction of the concentration values of the chlorophenols in quaternary mixtures.

Analyte	Set	Norm.	PC's	RMSEC	RMSEP ₁	RMSEP ₂
MF	Factorial Design	NO	9	0.0275	0.0688	0.0582
	Factorial Design	SNV	9	0.0230	0.0830	0.0906
	Rand2	NO	4	0.0601	0.0510	0.0475
	Rand2	SNV	3	0.0619	0.0524	0.0487
CF	Factorial Design	NO	9	0.0342	0.2385	0.2808
	Factorial Design	SNV	6	0.0532	0.1320	0.1559
	Rand2	NO	4	0.0678	0.0622	0.0675
	Rand2	SNV	4	0.0636	0.0578	0.0529
DCF	Factorial Design	NO	3	0.0613	0.0507	0.0557
	Factorial Design	SNV	2	0.0620	0.0616	0.0636
	Rand2	NO	4	0.0571	0.0595	0.0496
	Rand2	SNV	5	0.0523	0.0620	0.0478
TCF	Factorial Design	NO	5	0.0135	0.0343	0.0286
	Factorial Design	SNV	5	0.0104	0.0555	0.0554
	Rand2	NO	7	0.0143	0.0148	0.0141
	Rand2	SNV	8	0.0133	0.0137	0.0138

Table 3: Best calibration models obtained with WILMA algorithm for the prediction of the concentration values of the chlorophenols in quaternary mixtures.

Analytes	Set	Norm.	Parameters	RMSEC	RMSEP ₁	RMSEP ₂	Coef.
MF	Rand2	NO	db2 / zpd / V / MLR	0.0283	0.0421	0.0509	13
	Rand2	SNV	sym4 / zpd / C ² / MLR	0.0229	0.0353	0.0466	25
	Rand3	NO	coif3 / zpd / C ² / MLR	0.0512	0.0574	0.0551	6
	Rand3	SNV	db4 / zpd / R ² / PLS (3)	0.0307	0.0571	0.0633	151
CF	Rand2	NO	coif3 / zpd / V / MLR	0.0448	0.0336	0.0553	16
	Rand2	SNV	db4 / zpd / V / MLR	0.0458	0.0416	0.0503	15
	Rand3	NO	db2 / zpd / C ² / MLR	0.0481	0.0700	0.0724	10
	Rand3	SNV	sym6 / zpd / C ² / MLR	0.0482	0.0711	0.0792	13
DCF	Rand2	NO	coif1 / zpd / C ² / MLR	0.0347	0.0490	0.0503	18
	Rand2	SNV	coif1 / zpd / V / MLR	0.0327	0.0481	0.0411	21
	Rand3	NO	coif1 / zpd / C ² / MLR	0.0458	0.0520	0.0464	11
	Rand3	SNV	db4 / zpd / C ² / MLR	0.0451	0.0583	0.0596	15
TCF	Rand2	NO	db10 / zpd / C ² / MLR	0.0107	0.0106	0.0138	15
	Rand2	SNV	db2 / zpd / C ² / MLR	0.0121	0.0104	0.0131	12
	Rand3	NO	rbio3.1 / zpd / R ² / MLR	0.0348	0.0427	0.0451	8
	Rand3	SNV	db4 / zpd / C ² / MLR	0.0325	0.0449	0.0435	9

Table 4: Best calibration models obtained with traditional PLS for the prediction of the concentration values of the chlorophenols in quaternary mixtures after applying a OSC-CT procedure.

Analyte	Model	Set	PC's	RMSEC	RMSEP ₁	RMSEP ₂
MF	WILMA ^a	Factorial Design	2	0.0477	0.0409	0.0378
		Factorial Design	5	0,0297	0,0656	0,0580
	PLS	rand2	3	0,0442	0,0525	0,0408
		rand2	6	0.0328	0.0448	0.0371
CF	WILMA ^b	Factorial Design	3	0.0594	0.0549	0.0695
		Factorial Design	5	0.0489	0.0473	0.0498
	PLS	rand2	3	0.0573	0.0517	0.0651
		rand2	8	0.0581	0.0479	0.0613
DCF	WILMA ^c	Factorial Design	0	0.0374	0.0542	0.0515
		Factorial Design	2	0.0638	0.0441	0.0499
	WILMA ^d	Factorial Design	4	0.0467	0.0566	0.0618
		Factorial Design	2	0,0639	0,0447	0,0511
	PLS	rand2	2	0,0606	0,0526	0,0507
		rand2	4	0,0513	0,0500	0,0538
TCF	WILMA ^e	Factorial Design	3	0.0151	0.0160	0.0141
		Factorial Design	3	0.0171	0.0159	0.0135
	PLS	Factorial Design	3	0,0143	0,0163	0,0141
		rand2	3	0,0149	0,0155	0,0131

PC's: number of principal components; RMSEC and RMSEP: root mean square error of calculation and prediction, respectively. ^a mean-centering / db5 / R^2 / PLS / 10 wavelet coefficients from level 6. ^b mean-centering / sym6 / V / PLS / 10 wavelet coefficients from level 2. ^c db6 / C^2 / MLR / 12 wavelet coefficients from level 4. ^d mean-centering / coif3 / C^2 / PLS / 9 wavelet coefficients from level 4. ^e mean-centering / db6 / C^2 / PLS / 63 wavelet coefficients from level 1. ^f autoscaling / db6 / C^2 / PLS / 63 wavelet coefficients from level 1.

Otros Artículos

1. J. M. Palacios-Santander, A. Jiménez-Jiménez , I. Naranjo-Rodríguez, L. M. Cubillana-Aguilera, J. L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros. "Use Of Artificial Neural Networks, Aided By Methods To Reduce Dimensions, To Resolve Overlapped Electrochemical Signals. A Comparative Study With Other Statistical Methods". *Mikrochim. Acta* 142 (2003) 27-36.
2. Hicham El Bakouri, J.M. Palacios Santander, L. Cubillana Aguilera, Abdelhamid Ouassini, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros. "Electrochemical determination of Endosulfan using a C18-Modified Carbon Paste Electrode". *Chemosphere* 60 (2005) 1565-1571.
3. Maria Esther Sánchez Fernández, L. Cubillana Aguilera, J.M. Palacios Santander, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros. "An Oxidative Procedure for the Determination Of Chromium (VI) using Modified Carbon Paste Electrodes". *Bulleting of Electrochemistry* 21(12)(2005) 529-535.
4. Hicham El Bakouri, J.M. Palacios Santander, L. Cubillana Aguilera, Abdelhamid Ouassini, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros. "A New Modified Carbon-Paste Electrode For Electrochemical Analysis". *Physical & Chemical News* 26 (2005) 118-123.
5. Maria Elisa Lozano Chavez J.M. Palacios Santander, L. Cubillana Aguilera, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros. "Modified Carbon Paste Electrodes as Sensors for the Determination of 1,4-benzodiazepines. Application to the Determination of iazepam and Oxazepam in Biological Fluids". *Sensors and Actuators B: Chemical* 115 (2006) 575-583.
6. J.M. Palacios Santander, L. Cubillana Aguilera, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros. "A Chemometric Strategy Based on Peak Parameters to Resolve Overlapped Electrochemical Signals". *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 85 (2007) 131-139



Comunicaciones a Congresos

1. M.M. Cordero-Rando; L.M. Cubillana-Aguilera; J.M. Palacios-Santander; E. Blanco; B. Ballarin; J.L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros; I. Naranjo Rodríguez. Póster P2-61: "Use of a Sonogel-Carbon electrode as sensor for 4-chloro-3-methylphenol". Sol-Gel 2001. Abano Terme, Padua 2001.
2. M.M. Cordero-Rando; J.M. Palacios-Santander; L.M. Cubillana-Aguilera; L. Esquivias-Fedriani; I. Naranjo-Rodríguez; J.L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros. Póster P2-60: "Study of the behaviour of a Sonogel-Carbon electrode in the presence of metallic ions". Sol-Gel 2001. Abano Terme, Padua 2001.
3. M.M. Cordero-Rando; L.M. Cubillana-Aguilera; J.M. Palacios-Santander; M. Ramírez-del-Solar; E. Blanco; L. Esquivias-Fedriani; I. Naranjo-Rodríguez; J.L. Hidalgo-Hidalgo-de-Cisneros. Póster P2-8: "Sonogel-Carbon materials". Sol-Gel 2001. Abano Terme, Padua 2001
4. Cubillana Aguilera, Laura; Sánchez Fernández, María Esther; Palacios Santander, José María; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster: "Sensor amperométrico de Pasta de Carbono modificado con difenilcarbocida para la determinación de Cr(VI) en Medio Acuoso Mediante un Procesos de Oxidación Electroquímica". VIII Reunión del Grupo Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica. Almuñécar (Granada) 2002.
5. Palacios Santander, José María; Cordero Rando, María del Mar; Cubillana Aguilera, Laura; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster 20-M: "Determinación voltamperométrica de compuestos fenólicos mediante un electrodo Sonogel-Carbono". VIII Reunión del Grupo Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica. Almuñécar (Granada) 2002.
6. Cubillana Aguilera, Laura María; Cordero Rando, Maria del Mar; Palacios Santander, José María; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis; Naranjo Rodríguez, Ignacio. Póster P1-121 "Electrochemical Studies of Phenolic Compounds and Their

- Interferences versus 4-Chloro-3-methylphenol using a Sonogel-Carbon Electrode". X International Conference on the Physics of Non-crystalline Solids. Parma (Italia) 2003.
7. Palacios Santander, José María; Cubillana Aguilera, Laura María; Cocchi, Marina; Ulrici, A.; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Seeber, Renato; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster P-122 "Voltammetric Determination of Phenolic Compounds using a Sonogel-Carbon Electrode in the Resolution of Mixtures of Chlorophenols". X International Conference on the Physics of Non-crystalline Solids. Parma (Italia) 2003.
 8. El Kaoutit, Mohamed; Cubillana Aguilera, Laura María; Palacios Santander, José María; Tensamani, Khalid; Seeber, Renato; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis; Naranjo Rodríguez, Ignacio. Póster "Amperometric Tyrosinase Biosensor Based on Sonogel-Carbon Materials". The 6th Workshop on Biosensors and Bioanalytical Microtechniques in Environmental and Clinical Analysis. Roma (Italia) 2004.
 9. El Bakouri, Hicham, Cubillana Aguilera, Laura María; Palacios Santander, José María; Ouassini, Abdelhamid; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Comunicacion Oral "Determinación electroquímica de Endosulfan con un Electrodo de Pasta de Carbono Modificado con C18". Iberic Meeting of Electrochemistry. XXVI Reunion Bienal del Grupo de Electroquímica de la Real Sociedad Española de Química. Cordoba (España) 2004
 10. Cubillana Aguilera, Laura María; Palacios Santander, José María; Cordero Rando, Maria del Mar; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster "Materiales Sonogel-Carbono: Estudio de la Variación del Comportamiento en Función del Tamaño de Partícula de Grafito". IX Reunion del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica. Sevilla (España) 2004.

11. Palacios Santander, José María; Cubillana Aguilera, Laura María; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster "Study of the Relevance of the Voltammetric Peak Parameters to Resolve Overlapped Electrochemical Signals". Euroanalysis XIII. Salamanca (España) 2004.
12. Cubillana Aguilera, Laura María; Estévez Hernández, Osvaldo; Palacios Santander, José María; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Póster "Application of Scanning Electron Microscopy to Study the Behaviour of Electrochemical Sensors Based on Sonogel-Carbon Materials." VIII Congreso Interamericano de Sociedades de Microscopía Electrónica (CIASEM 2005). La Habana (Cuba) 2005
13. Cubillana Aguilera, Laura María; Estévez Hernández, Osvaldo; Palacios Santander, José María; Naranjo Rodríguez, Ignacio; Hidalgo Hidalgo de Cisneros, José Luis. Comunicación Oral "Application of Scanning Electron Microscopy to Study the Behaviour of Electrochemical Sensors Based on Sonogel-Carbon Materials." VIII Congreso Interamericano de Sociedades de Microscopía Electrónica (CIASEM 2005). La Habana (Cuba) 2005.
14. M^a Elisa Lozano Chaves, Laura M. Cubillana Aguilera, José María Palacios Santander, Ignacio Naranjo Rodríguez, José Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros. Póster "Electrodo De Pasta De Carbono Modificado Como Sensor Para La Determinación De 1,4-Benzodiazepinas En Fluidos Biológicos". X Reunion del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica. Cádiz (España) 2006.
15. Laura M. Cubillana Aguilera, Ronan Marion, José María Palacios Santander, Ignacio Naranjo Rodríguez, José Luis Hidalgo Hidalgo de Cisneros. Póster "Análisis Electroquímico De Pesticidas Organoclorados Mediante Un Electrodo De Pasta De Carbono Modificado Con C18". X Reunion del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica. Cádiz (España) 2006.