



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Grado

Cuantificación electroanalítica del disruptor  
endocrino Bisfenol A y su interacción con  
microplásticos de poliestireno

Autor/es

Ana Belén Vidal Zalaya

Director/es

Juan Carlos Vidal Ibáñez

Facultad de Ciencias / Universidad de Zaragoza

Junio de 2022

## Tabla de contenido

<b>Resumen.....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>INSTRUMENTACIÓN Y REACTIVOS .....</b>	<b>7</b>
<b>PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.....</b>	<b>8</b>
<b>Modificación (nanoestructuración) de electrodos serigrafados de base carbono (SCPEs) ..</b>	<b>8</b>
SW-CNTs (single walled carbon nanotubes) .....	8
MW-CNTs (multi-walled carbon nanotubes) .....	9
Óxido de grafeno (GO).....	9
<b>Caracterización voltamétrica de electrodos voltamétricos <i>bare</i> (sin modificar) y nanoestructurados. ....</b>	<b>9</b>
Microelectrodos de carbón vítreo ( $\mu$ GCE), de Pt ( $\mu$ PtE). Minielectrodos de GC .....	9
Electrodos serigrafados de base carbono (SPCEs), sin modificar (SPCEs- <i>bare</i> ) y modificados con óxido de grafeno (SPCEs-GO).....	9
<b>Cuantificación electroquímica de BPA.....</b>	<b>9</b>
Voltametría diferencial de pulsos (DPV).....	9
Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) .....	11
<b>Estudio de la Interacción del BPA con micropartículas de poliestireno (PS-<math>\mu</math>Ps) .....</b>	<b>11</b>
Ultrafiltración .....	11
Centrifugación .....	11
<b>Resultados y Discusión.....</b>	<b>12</b>
<b>Caracterización voltamétrica de electrodos de trabajo y microelectrodos.....</b>	<b>12</b>
<b>Cuantificación electroquímica de Bisfenol A.....</b>	<b>13</b>
Técnicas voltamétricas: voltametría cíclica (CV) y diferencial de pulsos (DPV) .....	14
<b>Modificación química de los SCPEs para la cuantificación de BPA.....</b>	<b>15</b>
Cuantificación del BPA mediante espectroscopia de impedancia electroquímica .....	17
Medidas EIS faradaicas con electrodos SPCEs- <i>bare</i> y modificados con GO, SW-CNTs y MW-CNTs ..	18
Medidas EIS para el estudio de la adsorción de BPA sobre el electrodo de trabajo que permitan su posible cuantificación en la disolución .....	21
Medidas de tipo capacitativo con $E_a=+0,4V$ . .....	24
<b>Interacción del BPA con micropartículas de poliestireno (PS-<math>\mu</math>Ps) .....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>29</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXO</b>	

## Resumen

En la actualidad hay una preocupación creciente en la Unión Europea (en general, en todos los países desarrollados de todo el mundo) sobre la contaminación del medio ambiente producida por los **microplásticos** y por otros **contaminantes emergentes**, por ejemplo, sobre disruptores endocrinos, cuyo prototipo más importante y de mayor presencia es la molécula de bisfenol A (BPA).

La adsorción del BPA sobre los microplásticos agrava el problema, por lo que la legislación europea es cada vez más restrictiva en este sentido. El avance en la legislación va acompañado de la disponibilidad de nuevas y mejores herramientas analíticas que definan mejor y cuantifiquen de forma más sensible y selectiva el problema planteado en este trabajo.

El **trabajo planteado** y realizado experimentalmente en este trabajo **TFG**, resumido en esta memoria, tiene como objetivo aportar nuevas herramientas analíticas que profundicen en el conocimiento anterior. Este trabajo, se estructura en **tres partes** diferenciadas:

- (1) **Caracterización electroquímica** de electrodos voltamétricos nanoestructurados con grafeno (óxido de grafeno, GO) y nanotubos de carbono (CNTs) *single-walled* (SW) y *multi-walled* (MW). **Cuantificación voltamétrica** del BPA con estos electrodos, empleando voltametría diferencial de pulsos (DPV).
- (2) Empleo de la **espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)** en la caracterización y estudio de procesos de adsorción del BPA sobre electrodos serigrafiados de base carbono (SPCEs) *bare* (sin modificar) y nanoestructurados (GO, SW-CNTs, MW-CNTs). Utilización de las medidas EIS para la **cuantificación** de BPA en disolución.
- (3) Estudio voltamétrico de la **interacción y cinética** de la **adsorción** producida entre dispersiones de micropartículas de poliestireno (PS- $\mu$ Ps), tomadas como modelo de **microplásticos**, y el **BPA** en disolución. Se emplearon 2 procedimientos de separación del BPA en disolución de la dispersión de los microplásticos, y se llevó a cabo la cuantificación del BPA no absorbido con medidas voltamétricas DPV optimizadas en la 1ª parte de la memoria.

Todo el trabajo anterior tuvo como objetivo el diseño simple de **nuevos procedimientos analíticos** y como prueba de concepto de nuevas aproximaciones de obtención de información analítica (por ejemplo, la utilización del EIS en la cuantificación de BPA en disolución, que no se ha descrito hasta la fecha en la literatura científica). Como iniciación a la investigación y dentro del nivel propio de un TFG. Y que, como conclusión importante, abre **nuevas vías de trabajo** sobre el tema que requieren de una mayor profundidad en su estudio y de posterior investigación científica más exhaustiva.

## Abstract

There is currently a growing concern in the European Union (in general, in all developed countries around the world) about the pollution of the environment caused by **microplastics** and other **emerging pollutants**, for example, about endocrine disruptors, whose prototype the most important and most present is the bisphenol A (BPA) molecule.

The adsorption of BPA on microplastics aggravates the problem, which is why European legislation is increasingly restrictive in this regard. The advance in the legislation is accompanied by the availability of new and better analytical tools that better define and quantify in a more sensitive and selective way the problem raised in this work.

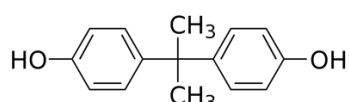
The **work proposed** and carried out experimentally in this TFG work, summarized in this report, aims to provide new analytical tools that delve into previous knowledge. This work is structured in three different parts:

- (1) **Electrochemical characterization** of nanostructured voltammetric electrodes with graphene (graphene oxide, GO) and single-walled (SW) and multi-walled (MW) carbon nanotubes (CNTs). **Voltammetric quantification** of BPA with these electrodes, using differential pulse voltammetry (DPV).
- (2) Use of **electrochemical impedance spectroscopy (EIS)** in the characterization and study of BPA adsorption processes on *bare* (unmodified) and nanostructured (GO, SW-CNTs, MW-CNTs) carbon-based screen-printed electrodes (SPCEs). Use of EIS measurements for the quantification of BPA is another new topic that is treated in this work.
- (3) Voltammetric study of the **interaction** and **kinetics** of the **adsorption** produced between dispersions of polystyrene microparticles (PS- $\mu$ Ps), taken as a model of **microplastics**, and BPA in solution. Two procedures were used to separate the BPA in solution from the microplastic dispersions, and the quantification of the unabsorbed BPA was carried out with optimized DPV voltammetric measurements as in the 1st part of this report.

All the previous work was aimed at the simple design of **new analytical procedures** and as a proof of concept of new approaches for obtaining analytical information (for example, the use of EIS in the quantification of BPA in solution, which has not been described in the scientific literature to date). As an initiation to research and within the level of a TFG. And that, as an important conclusion, it **opens new ways of working on the subject** that will require a greater depth in its study and subsequent more exhaustive scientific research.

## INTRODUCCIÓN

El **bisfenol A (BPA)** (Fig. 1) es uno de los productos químicos de mayor volumen producido en todo el mundo, y se emplea como monómero, plastificante, agente reticulante, y como aditivo en numerosos tipos de plásticos [ (1)]. El BPA se utiliza, por ejemplo, en la producción de plásticos de policarbonato que pueden contener por encima del 95% en BPA, y en todo tipo de resinas epoxi utilizadas en numerosos productos de consumo (envases de plástico, envases alimentarios, compuestos dentales ... etc.) [ (2)]. Alrededor del 30% de la producción global de BPA se emplea en la fabricación de resinas epoxi, y alrededor del 65% en la fabricación de policarbonato mediante su polimerización [ (2)].



*Ilustración 1. Estructura química del bisfenol A (BPA) (4,4'-(propano-2,2-diil)diphenol).*

La **producción mundial** de BPA se estima en alrededor de 5 millones de toneladas por año en 2015 [ (3)]. El BPA se encuentra presente en cantidades importantes en el medio ambiente en todo el mundo, y su asociación con los microplásticos y otros tipos de partículas contaminantes demuestra su persistencia y capacidad de transporte en aguas y a través del aire [ (4)]. Por ejemplo, se estima que su ingesta diaria a través de aguas de consumo es del orden de 0,36-0,72 ng kg<sup>-1</sup> [ (3)]. Los niveles de ingesta diaria admitidos en las normativas europeas y de la EFSA (European Food Safety Authority) son del orden de 4 µg kg<sup>-1</sup>, con límites de migración del 0,05 mg kg<sup>-1</sup> [ (3) (5)]

Por su estructura química similar a ciertos estrógenos, el BPA forma parte de los llamados **compuestos disruptores endocrinos (EDCs)**, sustancias exógenas al organismo que forman parte de un grupo muy amplio de contaminantes emergentes en el medio ambiente y en alimentos [ (5)]. Los EDCs interfieren la biosíntesis de hormonas y el metabolismo, dada su afinidad por los receptores de estrógenos. Por lo tanto, es una molécula tóxica que es preciso controlar. La presencia de BPA en el cuerpo humano se asocia a enfermedades cardiovasculares, dificultad respiratorio crónica, cáncer de mama, endometriosis, transtornos del desarrollo y enfermedades autoinmunes [ (6)].

La creciente preocupación sobre los efectos **tóxicos** y **contaminantes** del BPA hace que su normativa europea (y de la mayoría de países) sea cada vez más exigente [ (7)], a la vez que se demandan nuevas técnicas y procedimientos analíticos más rápidos y sensibles para su detección y cuantificación. En este sentido, la aportación de este trabajo tiene esta finalidad.

Un problema añadido se produce en la adsorción del BPA sobre los **microplásticos (µPs)**, también contaminantes emergentes del medio ambiente, tanto por la liberación de BPA en muchos de ellos como por la gran capacidad de retención del BPA (y de otros contaminantes biológicos, como antibióticos) por estos µPs, lo que agrava el problema [ (8)]. Ésto último provoca su persistencia en el medio ambiente y en facilitar su transporte, expandiendo esta capacidad contaminante. Además de los problemas ocasionados en salud alimentaria (muchos de estos plásticos conteniendo BPA se emplean en recipientes de alimentos o recubrimiento interno de paquetes alimentarios, como las latas) [ (9)].

Las **partículas de los  $\mu$ Ps** se forman a causa de la degradación física y química de los plásticos contaminantes del medio ambiente, teniendo tamaños típicos en el rango de 0.1–5000  $\mu\text{m}$  [ (10)]. Recientemente, existe una creciente y enorme preocupación por estas partículas debido a su toxicidad y efectos muy perjudiciales en la salud humana y el medio ambiente [ (8)]. Para comprender la importancia de los  $\mu$ Ps en nuestro mundo con datos sencillos, la producción de plásticos en el mundo aumentó desde 2,3 millones de toneladas en 1950 a 448 millones de toneladas en el año 2015, de los cuáles en Europa se producen alrededor de 60 [ (11)]. Debido a su gran uso (todo tipo de recipientes y envases, productos cosméticos, abrasión producida en neumáticos, ropa de vestir, señales en carreteras, productos de consumo diario, ... etc.), se calcula que, aproximadamente, un 79% de estos plásticos terminan en vertederos y en el medio ambiente, un 9% se incineran, 13 millones de toneladas acaban en mares/oceános, y sólomente se reciclan aproximadamente un 9% de los plásticos generados [ (11)].

Las técnicas habitualmente empleadas en la **cuantificación del BPA** en matrices biológicas y otros tipos de matrices provenientes del medio ambiente se basan en separaciones previas para la limpieza de la matriz, y posteriores separaciones con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acopladas a detectores basados en espectrometría de masas (HPLC-MS, HPLC-MS/MS, UPLC-MS/MS), con límites de detección por debajo del  $\text{ng g}^{-1}$  de BPA [ (12)].

Se han propuesto también en la bibliografía científica numerosos **sensores y biosensores** para la cuantificación del BPA en todo tipo de matrices, y dispositivos microfluídicos, sobre todo de tipo **electroquímico** (nanoestructurados), pero también (bio)luminiscentes, quimiluminiscentes, y basados en microorganismos, anticuerpos (inmunosensores), e incluso aptámeros o inhibición enzimática, por ejemplo, empleando microbalanza de cuarzo, resonancia de plasmón superficial, y en ensayos de tipo ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assays*) [ (6)]. Los límites de detección llegan (empleando biosensores) a concentraciones de BPA entre  $10^{-5}$  y  $10^{-12}$  M. [ (6)].

Debido a que el BPA es **electroactivo**, se han descrito numerosos procedimientos electroquímicos (sobre todo voltamétricos) para su cuantificación en niveles de concentración muy pequeños (del orden de  $\text{ng mL}^{-1}$ ) [ (13)]. Este comportamiento se basa en la bien conocida electroactividad de los grupos fenólicos presentes en el BPA, que son oxidados electroquímicamente (intercambio de 2 electrones y 2 protones) a su estructura quinónica. No obstante, se presenta el problema de la electropolimerización del BPA simultánea a su oxidación, que se adsorbe fuertemente sobre el electrodo de trabajo (ET) y dificulta (o elimina) la transferencia de carga del mismo con las especies disueltas. La solución es la limpieza (física mediante pulido, o electroquímica) del ET de una medida a la siguiente. Otra opción, es su modificación química (por ejemplo, con nanomateriales) que impidan la adsorción del electropolímero BPA sobre la superficie del ET, la opción que estudiamos en este trabajo.

Adicionalmente, la **nanoestructuración del electrodo de trabajo** (su modificación física y/o química con nanomateriales) mejora muy notablemente las propiedades analíticas de la medida electroquímica, a través de medidas de corrientes mucho mayores y electrocatálisis de la transferencia de electrones, lo que redundará sobre todo en una mucho mayor sensibilidad analítica [ (14) (15) (16)]. En este trabajo se proponen diversos tipos de nanoestructuración de electrodos serigrafados de base carbono con esta finalidad.

En **este trabajo** que se presenta, se tiene como objetivo poner a punto procedimientos electroquímicos para la cuantificación del BPA, que permitan evaluar su interacción con  $\mu\text{Ps}$  y su capacidad de adsorción. Dada la pretensión y el nivel de un TFG, se trata del desarrollo sencillo de nuevos procedimientos electroquímicos. Por ejemplo, se emplea la **espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)**, para la cuantificación de BPS (esta aproximación es novedosa, al no haber sido descrita en la bibliografía científica) o en la caracterización de su adsorción en plásticos. Se utilizan nuevos nanomateriales en la modificación de electrodos de trabajo que permitan cuantificar voltamétricamente el BPA con una mejor sensibilidad y selectividad, debido a sus propiedades electroactivas. Se demuestra también la remediación efectiva de BPA empleando filtros de poli-éster-sulfona, que retienen de forma muy eficiente el BPA.

La **EIS** es una técnica electroquímica muy potente, que permite aislar los componentes físicos individuales que ocurren en un proceso electródico global (transferencia de carga, impedancia capacitativa, impedancia debida a velocidad de difusión, e influencia de la adsorción en la doble capa eléctrica del ET). Se han escogido como modelo **micropartículas de poliestireno (PS- $\mu\text{Ps}$ )**. Para la cuantificación voltamétrica del BPA se han estudiado distintas formas de nanoestructurar su superficie (SW-CNTs, MW-CNTs, GO), y se ha empleado un barrido de potenciales **DPV** (*differential-pulse voltammetry*), de gran sensibilidad al descomponer las corrientes faradaica y capacitativa, y poder eliminar esta última que limita la sensibilidad de la técnica instrumental.

## INSTRUMENTACIÓN Y REACTIVOS

Para la realización de la parte experimental se emplearon los siguientes **reactivos** e **instrumentación**:

- Ferroceno-metanol (FcMeOH) (Apollo Scientific, ref.1273865) como mediador de transferencia de carga.
- Bisfenol A (Alfa-Aesar, Ref. A10324) de calidad del 97%. Se prepararon disoluciones estándar 1mM. Se disolvió en agua desionizada y se sometió a ultrasonidos durante 30 min. aproximadamente. A partir de esta disolución se prepararon más diluídas eluyendo con agua desionizada.
- Ferrocianuro de potasio (Sigma- Aldrich, Ref. 13746-66-2), como mediador de transferencia de carga.
- Dimetilformamida (Panreac, ref. 141785.1611).

Las experiencias electroquímicas (voltametría) se llevaron a cabo empleando como electrolito soporte disoluciones 0,1M de KCl (Sigma-Aldrich) y 0,1 M de  $\text{NaClO}_4$  (Sigma-Aldrich).

Para las modificaciones químicas (nanoestructuración) de los electrodos, se utilizaron óxido de grafeno (GO, Metrohm-Dropsens, ref. DRP-GPHOX), nanotubos de carbono de pared sencilla (SW-CNTs, Sigma-Aldrich, ref. 519306 SW-CNTs,  $\phi \sim 1.2-1.5$  nm,  $L \sim 2-5$   $\mu\text{m}$ ) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MW-CNTs, Sigma-Aldrich, ref.412988,  $\phi \sim 7-15$  nm,  $L \sim 0,5-10$   $\mu\text{m}$ ). Las micropartículas de poliestireno (PS- $\mu\text{Ps}$ ) (Fluka, ref.72822) empleadas fueron de un diámetro ( $\phi$ ) nominal próximo a 10 $\mu\text{m}$ . Dada su baja solubilidad en agua, se prepararon dispersiones de los nanomateriales anteriores en disoluciones acuosas de dimetilformamida (DMF).

Para separaciones del BPA de los PS- $\mu$ Ps se empleó una centrifugadora Multifuge X1R Centrifuge (Thermo Scientific) en tubos de polipropileno *ependorf* (ref. OD003C34), de un volumen total de muestra de 50 a 500  $\mu$ L, sin y con un filtro de polietersulfona modificada (0,45  $\mu$ m, tamaño de poro 3K, ref. OD003C34).

Se utilizaron los siguientes **electrodos** (voltamétricos) de trabajo:

- Microelectrodo de fibra de carbono ( $\mu$ GCE), diámetro  $11\pm 2$   $\mu$ m (ref. MF-2007, BAS-i-BioAnalytical Systems Inc., West Lafayette-IN, USA).
- Microelectrodo de platino ( $\mu$ PtE), diámetro  $10\pm 1$   $\mu$ m (ref. MF-2005, BAS-i)
- Electrodo (mini) de carbono vítreo (GC) (diámetro  $\phi=3$ mm (ref. MF-2012, BAS-i).
- Electrodo (mini) de referencia Ag/AgCl (ref. MF-2079, BAS-i).
- Electrodo (mini) auxiliar de hilo de platino (BAS-i, ref. MW-4130).
- Electrodos de base carbono serigrafiado (SCPE) (diámetro  $\phi=4$  mm, ref. DS 110) de Metrohm-DropSens.

Los **instrumentos** utilizados para las medidas electroquímicas fueron (ver Figs. del Anexo):

- **Potenciostato**  $\mu$ Autolab-III (Metrohm), con un módulo FRA2 para medidas de impedancia electroquímica en frecuencias comprendidas entre 10 kHz y 10  $\mu$ Hz.
- **Interfase de conexión** en caja para electrodos serigrafiados (Metrohm-DropSens, ref. DSC).

Para el potenciostato se utilizó el software de control propio de Metrohm NOVA v.2.1.2, que permite la medida en los voltagramas obtenidos (áreas de pico, corrientes máximas de pico, potenciales), su representación gráfica, y el *fitting* (ajuste de ecuaciones) de las medidas EIS con algoritmos dependientes de los circuitos equivalentes empleados, para obtener los valores individuales de impedancia de estos circuitos en el espectro de frecuencias en el que se han medido la impedancia electroquímica.

## PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Para la parte experimental de este trabajo se emplearon los **procedimientos experimentales** que se resumen esquemáticamente a continuación.

### Modificación (nanoestructuración) de electrodos serigrafiados de base carbono (SPCEs)

#### *SW-CNTs (single walled carbon nanotubes)*

Se pesó 1 mg de SW-CNTs y se dispersaron en 1 mL de disolución DMF:H<sub>2</sub>O (1:1) (v/v). Se sometió a ultrasonidos durante aproximadamente 20 min. (35 kHz., 230 W), y a continuación se depositaron 5-10  $\mu$ L de esta dispersión sobre el ET de los SPCEs (sólamente en el ET, sin recubrir los electrodos de referencia ni auxiliar). Se dejó secar a temperatura ambiente, obteniéndose de esta forma un recubrimiento nanoestructurado fuertemente adherido sobre la superficie de base carbono del ET de los SPCEs.



#### *MW-CNTs (multi-walled carbon nanotubes)*

De forma similar a los SW-CNTs, se pesó 1 mg de MW-CNTs y se dispersaron en 1 mL de una disolución DMF:H<sub>2</sub>O (1:1) (v/v). Se les mantuvo en ultrasonidos durante 20 min. aproximadamente, y se depositaron 5-10 µL de esta dispersión sobre el ET de los SPCEs, dejando secar a temperatura ambiente.

#### *Óxido de grafeno (GO)*

Se pesaron 1 mg del óxido de grafeno (GO) y se dispersó en una disolución DMF:H<sub>2</sub>O (1:1) (v/v). De igual forma a las modificaciones anteriores, se homogeneizó en ultrasonidos durante 20 min, y se depositaron 5-10 µL sobre el ET de los SPCEs, dejando secar a temperatura ambiente.

Caracterización voltamétrica de electrodos voltamétricos *bare* (sin modificar) y nanoestructurados.

#### *Microelectrodos de carbón vítreo (µGCE), de Pt (µPtE). Minielectrodos de GC*

Para la caracterización electroquímica de los electrodos indicados se utilizó una disolución acuosa 1 mM de FcMeOH y 0,1 M. de electrolito soporte (KCl). En la cubeta voltamétrica (volumen total 10 mL) se introdujo el electrodo de trabajo (ET), electrodo de referencia (ER) Ag/AgCl↓ y un electrodo auxiliar (EA) de hilo de platino. Se registraron los correspondientes voltagramas cíclicos con velocidades de barrido (lineal o escalonado) entre 20-200 mV s<sup>-1</sup>, empleando el software de medida NOVA v.2.1.2 asociado a los instrumentos voltamétricos Metrohm (permite la introducción de los parámetros voltamétricos y adquisición de las medidas -voltagramas- para su análisis posterior).

#### *Electrodos serigrafados de base carbono (SPCEs), sin modificar (SPCEs-bare) y modificados con óxido de grafeno (SPCEs-GO)*

Se utilizaron disoluciones 1 mM de FcMeOH en 0,1 M KCl como electrolito soporte. Se depositaron 30 µL sobre los SPCEs serigrafados sobre el soporte cerámico (recubriendo sólo el ET). Los voltagramas obtenidos fueron estudiados posteriormente con el software NOVA v.2.1.2 con el que se midieron la altura de los picos voltamétricos y el cálculo de sus áreas, como señales empleadas en la cuantificación o caracterización electroquímica.

#### Cuantificación electroquímica de BPA

##### *Voltametría diferencial de pulsos (DPV)*

Previamente a su cuantificación, se caracterizó el comportamiento electroquímico del BPA sobre los electrodos utilizados, para comprobar sus procesos de oxidación/reducción y los potenciales de pico ( $E_p$ ) de los voltagramas correspondientes. Para esta caracterización previa se empleó la voltametría cíclica, con barridos escalonados (lineales) a diversas velocidades de barrido de potencial (v), entre potenciales de -0,2 a +1 V, en KCl 0,10 M como electrolito soporte. Los picos significativos debidos al BPA (10µM) y las adsorciones de BPA sobre el ET se controlaron realizando medidas de blancos (electrolito soporte sin la presencia de BPA) alternativas a las medidas de BPA.

De los voltogramas cíclicos obtenidos (Fig. 1), se vió que el proceso más relevante para la cuantificación del BPA fué su oxidación ( $E_p \sim -0,78$  V), y la dificultad de su reducción electroquímica. Sin embargo, se observó también la adsorción del BPA sobre los electrodos de base carbono (nanoestructurados), que puede preconcentrar a la molécula sobre el ET de base carbono y dar posteriormente mayores corrientes en los voltogramas directos correspondientes, en función del tiempo de contacto de las disoluciones de BPA con los electrodos SPCEs.

Por otro lado, es conocida la formación de polifenoles (electropolimerización del PBA) y de moléculas quinónicas que son fuertemente adsorbidas sobre los electrodos orgánicos de base carbono, haciendo disminuir su capacidad de transferencia de carga [ (13)]. En consecuencia, en la cuantificación voltamétrica del BPA es precisa la limpieza de los electrodos después de cada medida [ (14)]. En algunos casos, la nanoestructuración de los SPCEs disminuye o elimina esta adsorción [ (17)].

Para la limpieza física de los mini-electrodos voltamétricos, el GCE (electrodo de carbón vítreo, *glassy-carbon*) se pulió con óxido de alumina ( $Al_2O_3$ ,  $\phi=0,05$   $\mu m$ ) frotando sobre una superficie abrasiva de fieltro durante aproximadamente 15 s. En el caso de los electrodos serigrafados (SPCEs) no es posible su limpieza física, y se realizó una limpieza electroquímica de los polifenoles generados en la oxidación electroquímica del BPA, aplicando una pre-electrólisis catódica a  $E_e=-0,8V$  durante  $t_e=200$  s, que mostró ser muy eficiente.

Debido también a la capa nanoestructurada sobre los SPCEs (o *bare*) tampoco es posible su limpieza física, y de una medida a la siguiente se limpiaron empleando pre-electrólisis con un  $E_e=-0,8$  V. durante un  $t_e=200$  s. (tiempo de electrólisis), para la reducción de los polifenoles generados sobre el ET en la oxidación del BPA, y su tendencia a quedar adheridos sobre los SPCEs.

Una vez que sabemos que la especie se oxida a un potencial llevamos a cabo distintas medidas voltamétricas DPV a distintas concentraciones de BPA y con los distintos electrodos para obtener aproximaciones previas al calibrado realizado posteriormente para cada electrodo (tabla 1).

	CONCENTRACION DE BPA ( $\mu M$ )					
GC	0,5	10	20	50	75	100
SPCE- Bare	1	5	10	15	20	
SPCE-GO	0,1	0,3	0,5	0,75	1	
SPCE-MW	0,5	0,75	1	2,5	5	
SPCE-SW	10	15	25	50	75	

Tabla 1.: *Intérvalos de concentración de BPA empleados para los calibrados previos con cada electrodo de trabajo estudiado. Varían en función de la sensibilidad obtenida en cada caso.*

En los calibrados se representaron tanto las alturas máximas de los picos voltamétricos ( $i_p$ ) como sus áreas ( $A_p$ ), frente a la concentración. La cuantificación del BPA se realizó por interpolación en las curvas de calibrado correspondientes al electrodo usado en cada caso.

### *Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)*

Se ensayó la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) para la caracterización electroquímica de las superficies de los electrodos y su viabilidad como técnica transductora de sensores electroquímicos que permitan cuantificar BPA en disolución.

Las medidas de impedancia electroquímica (módulo del analizador de respuesta de impedancia FRA2 del potenciostato empleado) se realizaron midiendo la impedancia electroquímica de las disoluciones entre un rango de frecuencias de 10kHz a 0,1 Hz, a distintos potenciales ( $E_a$ ) y con una amplitud sinusoidal máxima de variación del potencial de  $\Delta E_a=10$  mV.

Las medidas de impedancia se representaron en un gráfico *Nyquist* (variación de la parte imaginaria de la impedancia frente a la parte real), y gráficos Bode (variación de la impedancia en función de la frecuencia). Estas medidas se ajustaron a las respuestas producidas por los correspondientes circuitos equivalentes, basados en un circuito simple inicial de tipo *Randles* (Fig. 9), que describe los procesos electródicos básicos que ocurren sobre electrodos voltamétricos.

Se realizaron dos tipos experimentales de medida de impedancia:

- a) *Medidas de tipo capacitivo*. Para ello no se utilizó mediador, para potenciar la impedancia debida a la doble capa eléctrica del electrodo, y sus variaciones debidas al BPA adsorbido sobre los electrodos.
- b) *Medidas de tipo faradaico*, empleando un mediador de transferencia de carga en disolución (Ferri/Ferrocianuro, 1mM, en KCl 0,10 M como electrolito soporte) y midiendo las variaciones de la impedancia debida a la transferencia de carga del mediador en función de la adsorción del BPA.

### *Estudio de la Interacción del BPA con micropartículas de poliestireno (PS- $\mu$ Ps)*

Se emplearon los siguientes **métodos de separación** del BPA de los microplásticos para el estudio de su interacción.

#### *Ultrafiltración*

Se añadieron en un tubo *ependorf* 25  $\mu$ L de una dispersión de PS- $\mu$ Ps 20 mg mL<sup>-1</sup> y se diluyó en 1 mL de disolución de NaClO<sub>4</sub> 1mM. Se realizaron separaciones a través de un filtro de polietersulfona modificada incluido en los tubos *ependorf*. Se realizó la ultrafiltración centrifugando durante 10 minutos a 14.000 rpm.

#### *Centrifugación*

Se realizaron sobre tubos *ependorf* (volumen total 1 mL.) en disoluciones de NaClO<sub>4</sub> 1mM con distintas concentraciones de BPA (10, 50, 100, 200, 300 y 400  $\mu$ M) y dispersiones de PS- $\mu$ Ps de 20 mg mL<sup>-1</sup>. Las cuantificaciones voltamétricas del BPA no adsorbido sobre las micropartículas de poliestireno se realizaron sobre la parte sobrenadante, empleando electrodos serigrafados modificados con óxido de grafeno (SPCEs-GO, los más sensibles), y empleando una limpieza electroquímica como la descrita en el apartado anterior.

## Resultados y Discusión

### Caracterización voltamétrica de electrodos de trabajo y microelectrodos.

El primer paso que se realizó, para una correcta valoración de nuestros resultados y comparación con distintos electrodos, fue la caracterización electroquímica de los electrodos de trabajo empleados. Mediante equivalencia faradaica se calculó la superficie real de los electrodos de trabajo, empleando un mediador de transferencia de carga, y se comparó con su área geométrica en función de sus dimensiones. De esta manera se conoció y comparó el estado superficial y la rugosidad de los electrodos que se emplearon en este trabajo, que tiene una gran influencia en su capacidad de adsorción (bisfenol A, productos oxidados) y en las densidades de corriente medidas.

El cálculo del área real de los electrodos (ET) se realizó por voltametría cíclica, a partir de la ecuación teórica *Randles–Sevcik* que calcula con precisión la corriente faradaica en función de la geometría y de las velocidades de transferencia de masa del mediador (FcMeOH):

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} v^{1/2} D^{1/2} AC$$

en donde  $i_p$  es la corriente voltamétrica obtenida (A),  $n$  es el número de electrones de la reacción electroquímica ( $n=1$ ),  $v$  es la velocidad de barrido de potenciales ( $V, s^{-1}$ ),  $D$  es el coeficiente de difusión del FcMeOH ( $7,5 \times 10^{-6} cm^2 s^{-1}$ ),  $A$  es el área electroactiva (real) del electrodo de trabajo ( $cm^2$ ) y  $C$  la concentración de FcMeOH ( $5 mol cm^{-3}$ ).

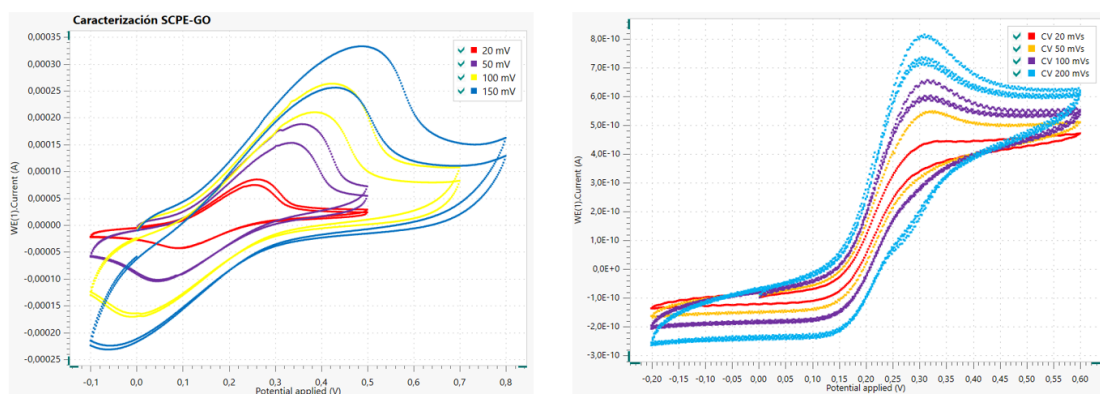


Figura 1. Voltagramas cíclicos de ferro/ferricianuro (5 mM) obtenidos a distintas velocidades de barrido sobre electrodo SCPE-GO (izda. (A)) y  $\mu$ GCE (dcha.(B))

El área geométrica de un electrodo de trabajo se calculó a partir de su diámetro, indicado por el fabricante según sus especificaciones (BASi). Mientras que el área real se identifica en función de las densidades de carga medidas, empleando la ecuación anterior.

En la Fig. 1 se han representado distintos voltagramas para los distintos electrodos SCPE-GO y  $\mu$ -GCE a velocidades de barrido entre 20 y 150  $mV s^{-1}$  y entre 20 y 200  $mV s^{-1}$ , respectivamente. Se observa que al aumentar la velocidad de barrido aumenta los picos obtenidos se hacen más grandes (la relación teórica de la vtm -velocidad de transferencia de masa- por difusión es de  $v^{1/2}$ ).

En el caso de los microelectrodos (Fig. 1(b)), el transporte de masa del mediador (vtm, velocidad de transferencia de masa) en disolución está dominado por la difusión radial o esférica, y la corriente alcanza en un momento dado un valor en estado estacionario independiente del dominio de tiempo (es decir, de la velocidad del barrido de potenciales), dado que por su pequeña área no llega a producir un gradiente de concentraciones suficiente que limite por difusión en la corriente total.

v(V/s)	a) electrodo $\mu$ -GC		b) electrodo $\mu$ -Pt		c) electrodo GC		f) electrodo SCPE-Bare		d) electrodo SCPE-GO	
	área ( $\mu\text{m}^2$ )	diámetro ( $\mu\text{m}$ )	área ( $\mu\text{m}^2$ )	diámetro ( $\mu\text{m}$ )	área ( $\text{mm}^2$ )	diámetro (mm)	área ( $\text{mm}^2$ )	diámetro (mm)	área ( $\text{mm}^2$ )	diámetro (mm)
0,02	103,45	11,477085	107,86	11,71892	7,18	3,0235232	26,8	5,84155	44,9698	7,567
0,05	108,66	11,762619	104,41	11,53033	9,11	3,4050472	27,08	5,87217	56,181	8,4578
0,1	106,83	11,663127	99,59	11,26066	9,01	3,3864405	26,39	5,79617	55,666	8,4189
0,2	104,66	11,543729	98,15	11,1789	8,16	3,2223798	25,44	5,69087	43,229	7,4191

Tabla 2. Áreas y diámetros teóricos obtenidos a distintas velocidades de barrido en voltametría cíclica aplicando la ecuación de Randles-Sevcik, de los distintos electrodos de trabajo caracterizados.

En la tabla 2 se resumen los valores calculados de áreas y diámetros de los electrodos que se caracterizaron ( $\mu\text{GCE}$ ,  $\mu\text{PtE}$ ,  $\text{GCE}$  y electrodos serigrafados sin modificar y nanoestructurado con óxido de grafeno).

El diámetro medio que se calculó para el electrodo  $\mu\text{-GCE}$  de  $11,61 \pm 0,11 \mu\text{m}$  no es significativamente distinto del valor indicado en las especificaciones del fabricante de  $11 \pm 2 \mu\text{m}$ . Para el electrodo  $\mu\text{-PtE}$  se calculó un diámetro  $11,42 \pm 0,22 \mu\text{m}$ , este valor un mayor que el valor especificado por el fabricante  $10 \pm 1$ , debido a la rugosidad del electrodo. El valor del diámetro medio del electrodo  $\text{GCE}$  es de  $3,26 \pm 0,18 \text{ mm}$ , el valor no es muy diferente con el valor establecido por el fabricante  $3 \text{ mm}$ . Para el electrodo  $\text{SCPE}$  obtenemos un diámetro medio de  $5,80 \pm 0,08 \text{ mm}$ , significativamente superior al valor indicado en las especificaciones del fabricante  $4 \text{ mm}$ , se debe a la rugosidad de la superficie de este microelectrodo, que a su vez depende de su historial de uso.

Como observamos en la tabla, al modificar el electrodo con  $\text{GO}$  el diámetro medio aumenta, ya que al modificarlo aumentamos notablemente su superficie debido a las nanopartículas, que hacen que las corrientes medidas sean muy superiores (por ejemplo, para una misma densidad de carga). En consecuencia, se comprueba que la introducción de nanopartículas en el ET de electrodos serigrafados produce un aumento en la corriente y en la sensibilidad de estos electrodos.

Hay que reseñar que, si bien los microelectrodos se caracterizaron electroquímicamente al principio, se emplearon para comprobar sus propiedades en la cuantificación del BPA o en medidas EIS. Sin embargo, una vez comparados con los electrodos  $\text{SPCE}$ , se comprobó que no aportaron mejoras ni facilidad de uso, por lo que el trabajo posterior se llevó a cabo únicamente con estos  $\text{SPCEs}$ .

### Cuantificación electroquímica de Bisfenol A

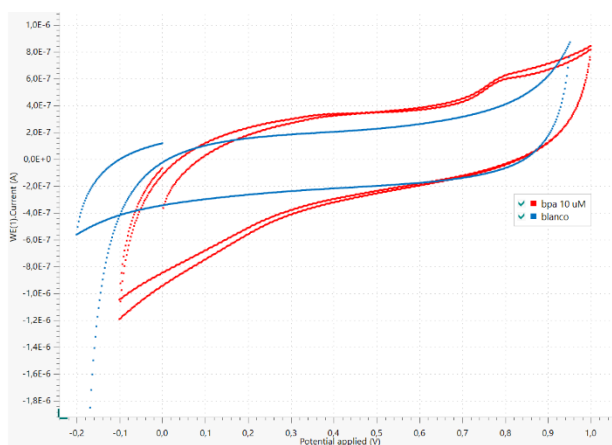
En esta parte del trabajo, se pusieron a punto distintos procedimientos electroquímicos para la cuantificación sensible de BPA en disolución. Se optimizaron modificaciones (nanoestructuraciones) de electrodos serigrafados para medidas mediante voltametría diferencial de pulsos (DPV), y se ensayaron nuevos procedimientos de ESI para la posible

cuantificación del BPA en disolución y/o adsorbido sobre los electrodos de trabajo serigrafados (SPCEs). Previamente, se caracterizó el comportamiento electroquímico del BPA sobre estos electrodos.

#### *Técnicas voltamétricas: voltametría cíclica (CV) y diferencial de pulsos (DPV)*

El primer paso para realizar la cuantificación de BPA es saber si nuestro contaminante es una especie electroactiva, es decir, que se oxide (o se reduzca) en los tipos de electrodos empleados en el laboratorio (SPCEs) con una sensibilidad voltamétrica suficiente para su determinación en concentraciones típicas de su interacción con los plásticos. Se escogió como técnica de barrido voltametría diferencial de pulsos (DPV), con una gran eficiencia en la eliminación de las corrientes capacitativas (limitantes de la sensibilidad) por la medida diferencial al aplicar los impulsos de potencial, y poco influenciada por la irreversibilidad electroquímica al emplearse bajas velocidades de barrido (normalmente inferiores a  $v \sim 10 \text{ mV s}^{-1}$ ).

Inicialmente se empleó la voltametría cíclica (CV) para comprobar el comportamiento electroquímico del BPA. Como podemos apreciar en la Fig. 2 aparece sólo el pico de la oxidación de BPA eso es probable debido a que las moléculas una vez oxidadas interaccionan unas con otras, formando una capa sobre el electrodo. Sin embargo, este pico aparece a potenciales muy altos, por lo que es conveniente disminuir este sobrepotencial mediante la nanoestructuración de los electrodos de trabajo, como se explicará posteriormente.



*Figura 2. Voltagramas cíclicos de blanco (azul) y BPA en disolución (10  $\mu\text{M}$ ) (rojo), sobre un electrodo GCE en 0,10 KCl M como electrolito soporte. Voltagrama cíclico realizado a  $v=100 \text{ mV s}^{-1}$ .*

El pico de oxidación (anódico) del BPA en el voltagrama cíclico aparece a un potencial  $E_p$  entre +0,7 y +0,85 V, significativamente distinto a un voltagrama de un blanco, en donde este pico no aparece. Si bien este pico no es muy sensible y aparece con un sobrepotencial anódico alto, sí es proporcional a las concentraciones de BPA en la disolución, y se debe un mecanismo de difusión ( $i_p$  es proporcional a  $v^{1/2}$ ). El pico anódico no se corresponde con su pico catódico (reducción), lo que significa que esta oxidación es irreversible. Es bien conocido que la oxidación electroquímica de los polifenoles conduce a la formación de polifenoles mediante electropolimerización, con estructuras quinónicas, lo que se corrobora en los voltagramas anteriores. Estos polímeros tienden a quedarse adheridos en superficies de base carbono, por ejemplo, sobre los ET de los SPCEs o en la superficie de electrodos GCE, lo que hace que después

de una o varias medidas disminuya su capacidad de transferencia de carga (constante de velocidad de intercambio de electrones,  $K^{\circ}$ ). En conclusión, la electroactividad anódica encontrada en el voltagrama cíclico permite la cuantificación voltamétrica directa del BPA en disolución, sobre los electrodos empleados (GCE y SPCEs). Para esta cuantificación se empleó el tipo de barrido de potenciales más sensible, como es la voltametría diferencial de pulsos (DPV).

A la hora de realizar las medidas voltamétricas de BPA, hay que tener en cuenta que se debe de limpiar el electrodo de trabajo, puliendo si trabajamos con GC y electroquímicamente si utilizamos SCPE, entre una medida y la siguiente, ya que el BPA oxidado se adsorbe sobre el electrodo de trabajo y hay que regenerar su superficie para obtener medidas correctas.

En la Fig. 4 se representan voltagramas DPV típicos del BPA en disolución, para distintas concentraciones, sobre un mini-electrodo de trabajo *glassy-carbon* (GCE).

En las Figs. 5 y 6 se muestran calibrados de BPA, empleando voltametría DPV, sobre electrolito soporte KCl 0,10 M, con electrodos GCE y SPCEs, respectivamente. Por otro lado, se midieron y calcularon los límites de detección en la cuantificación con ambos tipos de electrodos, disminuyendo las concentraciones de BPA hasta obtener un pico significativo debido al BPA con respecto a la señal del blanco. Los valores obtenidos fueron de 0,05  $\mu\text{M}$  con el GCE, y de 0,10  $\mu\text{M}$  con los SPCEs, Se comparó la reproducibilidad con medidas repetidas de BPA (10  $\mu\text{M}$ ), obteniendo valores de %DSR (porcentaje de desviación estándar relativa) de alrededor del 5%, no observándose variaciones significativas de las propiedades analíticas de los calibrados tomando como señal la altura de los picos voltamétricos ( $i_p$ ) o su área ( $A_p$ ), dado que la anchura de los picos voltamétricos DPV a mitad de su altura tuvo un valor prácticamente constante.

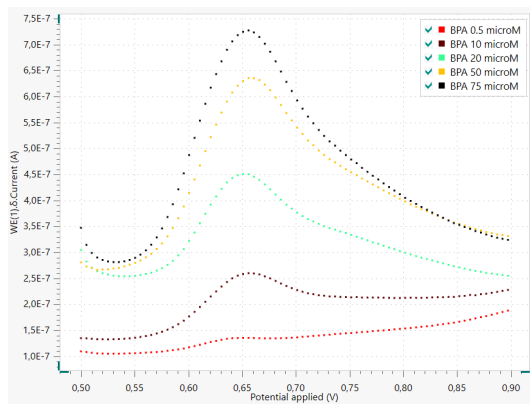


Figura 4. Voltagramas DPV a distintas concentraciones de BPA en la disolución (0.5, 10, 20, 50 y 75  $\mu\text{M}$ ). Electrodo GCE. DPV:  $v=8\text{ mV s}^{-1}$ ,  $\Delta E_p=25\text{ mV}$ . Electrolito soporte: KCl 0,10 M.

### Modificación química de los SCPEs para la cuantificación de BPA

Con el objetivo de cuantificar pequeñas concentraciones de BPA, al tratarse de un contaminante emergente, y de estudiar su interacción con  $\mu\text{Ps}$ , se escogieron los electrodos SPCEs que proporcionaron buena sensibilidad y propiedades analíticas. Además de su facilidad de uso y de necesitar muy pequeños volúmenes de muestra, tan sólo 15-50  $\mu\text{L}$ . No obstante, se ensayaron modificaciones de estos electrodos con el objetivo de mejorar esta sensibilidad, y minimizar la adsorción de los polifenoles formados en cada medida voltamétrica anódica. Óbviamente, tanto los electrodos SPCEs-*bare* como modificados no pueden pulirse físicamente para esta limpieza, por lo que se ensayó su limpieza catódica electroquímica, dando muy buenos resultados como



se comprobó con medidas de control con disoluciones blanco de electrolito soporte sin BPA. Los procedimientos de limpieza se explican en el apartado anterior de esta memoria (procedimientos experimentales).

Para estas modificaciones, se emplearon tres tipos de nanomateriales para la nanoestructuración del ET de los SPCEs (SW-CNTs, MW-CNTs y GO), siguiendo los procedimientos experimentales anteriores, y se compararon las sensibilidades que produjeron en las medidas voltamétricas entre ellos y en comparación con los SPCEs-*bare*.

En la tabla 4 se resumen los parámetros de las curvas lineales de calibrado calculados por el método de mínimos cuadrados, y los límites de detección de BPA en cada caso, calibrando tanto como  $i_p$  ( $\mu\text{A}$ ) como en  $A_p$  ( $\mu\text{C}$ ). Los LODs (límites de detección) se indican como  $\mu\text{M}$ .

		a	b	R <sup>2</sup>	LOD
SCPE-BARE	[BPA]-area	$2 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-9}$	0,9678	1
	[BPA]-altura	$2 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-9}$	0,9678	1
SCPE-MW	[BPA]-area	$7 \cdot 10^{-10}$	$5 \cdot 10^{-10}$	0,8668	0,5
	[BPA]-altura	$2 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-9}$	0,85066	0,5
SCPE-SW	[BPA]-area	$5 \cdot 10^{-10}$	$2 \cdot 10^{-9}$	0,9599	10
	[BPA]-altura	$7 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-8}$	0,939	10
SCPE-GO	[BPA]-area	$8 \cdot 10^{-10}$	$1 \cdot 10^{-10}$	0,9071	0,1
	[BPA]-altura	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-9}$	0,9536	0,1

Tabla 4. Comparación de los parámetros de la ecuación lineal de calibrado y LODs en la determinación de BPA con electrodos SPCEs-*bare* y nanoestructurados con MW-CNTs, SW-CNTs y GO, tanto de las medidas  $i_p$  como  $A_p$ . a: ordenada en el origen,  $\mu\text{A}$ ; b: pendiente,  $\mu\text{A mM}^{-1}$ ; R: coeficiente de regresión (mínimos cuadrados).

Como se aprecia en la tabla al modificar el electrodo con nanotubos de Carbono *multi-walled* (MW-CNTs) y con óxido de grafeno (GO) mejoramos el límite de detección y la sensibilidad para el BPA, debido a que se produce un aumento de la superficie en la nanoestructuración de los electrodos de trabajo de los SPCEs con respecto a la superficie de los ET en los SPCEs-*bare*. Singularmente, se produce el efecto contrario en los electrodos modificados con SW-CNTs, posiblemente debido a la simetría de este tipo de nanomaterial que produce menores flujos de electrones (menores constantes estándar de intercambio de electrones,  $K^0$ ) que, por ejemplo, los MW-CNTs mucho más entrelazados. Monocapas de grafeno oxidado también producen una conductividad electrónica muy mejorada, lo que se traduce en la obtención de mayores corrientes voltamétricas y mejores LODs, así como mayores valores de  $K^0$  ( $\text{cm s}^{-1}$ ) en su transferencia de carga con el BPA en disolución. Por otro lado, los tres tipos de nanomateriales producen un efecto electrocatalítico, al disminuir los sobrepotenciales (valores de  $E_p$ ) de los picos voltamétricos DPV debidos a la oxidación del BPA en disolución ( $E_p \sim +0,36$  V con SPCEs-MW-CNTs;  $E_p \sim +0,43$  V con SPCEs-SW-CNTs;  $E_p \sim +0,38$  V con SPCEs-GO), y con respecto a los  $E_p$  obtenidos con los electrodos SPCEs-*bare* ( $E_p \sim +0,42$  V).

En conclusión, la nanoestructuración de las superficies de los electrodos voltamétricos SPCEs producen dos efectos electroquímicos importantes, como son el aumento del área real del ET (es decir, aumentan las corrientes medidas) y un efecto electrocatalítico que disminuye el sobrepotencial de oxidación del BPA, apareciendo los potenciales máximos de los picos en potenciales anódicos más pequeños (a excepción de los electrodos modificados con MW-CNTs).



Óbviamente, ambos efectos son distintos con los distintos nanomateriales empleados, por lo que nuestro objetivo ha sido comparar las mejoras de sensibilidad y menores límites de detección obtenidos con los tipos de nanomateriales empleados en las medidas voltamétricas DPV realizadas. Se empleó una técnica de barrido diferencial de pulsos (DPV, *differential pulse voltammetry*), que es la más sensible dado que permite eliminar las corrientes de fondo capacitativas de las faradaicas debidas al BPA, mejorando adicionalmente los límites de detección obtenidos.

#### *Cuantificación del BPA mediante espectroscopia de impedancia electroquímica*

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) es una técnica instrumental de medida que describe la respuesta de una celda electroquímica a una señal de voltaje sinusoidal de pequeña amplitud en función de la frecuencia. La onda sinusoidal de corriente resultante difiere en el tiempo (cambio de fase) con respecto a la onda perturbadora (voltaje), y la relación  $V(t)/I(t)$  (en función del tiempo) se define como la impedancia ( $Z$ ) y explica la oposición combinada de todos los componentes dentro de la celda electroquímica al flujo de iones y electrones [ (18)].

La EIS es una técnica de caracterización de superficies muy potente. Permite individualizar y separar los valores de los componentes de un circuito equivalente, que recogen de forma separada el comportamiento electroquímico global del sistema que estamos midiendo. Bajo un punto de vista cuantitativo, podemos relacionar alguno de estos componentes con la concentración de la especie química que queremos cuantificar, diseñando adecuadamente la experiencia de medida.

El circuito equivalente más simple y utilizado para modelar los datos experimentales de una medida voltamétrica, es el llamado circuito *Randles* (Fig. 7), que comprende la resistencia no compensada de la disolución de electrolito soporte ( $R_s$ ), en serie con la capacitancia de la doble capa dieléctrica del ET ( $C_{dl}$ ), en su caso con corrección experimental (capacitancia con distintos valores de  $n$ ,  $CPE$ ) y la resistencia de transferencia de carga de la especie electroactiva ( $R_{ct}$ ), por ejemplo un mediador de transferencia de carga añadido a la disolución. La impedancia de *Warburg* ( $W$ ) explica la difusión de las especies electroactivas (ej. un mediador) iones desde la disolución hacia la superficie del ET.

La clave de las medidas de impedancia es que los valores de  $R$  (resistencia) no llevan desfase en el tiempo (se define como un valor real, independiente de la frecuencia del potencial aplicado), mientras que la capacitancia presenta un desfase de  $90^\circ$  (por lo que la impedancia se representa como un número imaginario). La impedancia *Warburg*, presenta un desfase de  $45^\circ$ . Por otro lado, al realizar las medidas de  $i(t)$  (en función de  $V(t)$ ), a altas frecuencias de la variación sinusoidal del potencial predomina  $R_s$ , mientras que a bajas frecuencias predomina  $R_{ct}$  y  $W$ . La parte de impedancia debida a la velocidad de transferencia de masa (por difusión) de la especie faradaica, predomina a muy bajas frecuencias (impedancia *Warburg*). Los valores de  $C_{dl}$  predominan a frecuencias intermedias. En consecuencia, si representamos la parte imaginaria de la impedancia en función de la parte real, se obtienen los llamados gráficos *Nyquist* (Fig. 9), de cuyo ajuste podemos calcular los valores individuales de los componentes del circuito equivalente. Se observa, además, que en el conjunto de la impedancia total el componente  $C_{dl}$  se comporta en paralelo a los componentes faradaicos  $R_{ct}$  y  $W$ . Por otro lado, a veces el componente  $C_{dl}$  (teórico) se ajusta mejor y de forma más empírica y real al llamado componente

*CPE (constant phase element)*, dado que la doble capa eléctrica que se produce en los ET voltamétricos (especialmente con electrodos SPCEs) difícilmente se comporta como un condensador ideal.

Para facilitar la comprensión de los términos anteriores, en el ANEXO se incluye una tabla de comportamiento en la impedancia electroquímica de estos componentes en función de la frecuencia, y otro tipo de gráficos que ayudan a dilucidar la variación de cada componente en función de la frecuencia (gráficos Bode).

La finalidad de esta parte de la memoria que se presenta es la utilización de la EIS en la caracterización del comportamiento del BPA sobre los electrodos SPCEs-*bare* y nanoestructurados, por ejemplo, acreditando si se produce o no su adsorción previa sobre los ET. Esta adsorción, por ejemplo, produciría cambios apreciables en  $C_{dl}$  en medidas EIS de tipo capacitativo (sin transferencia de carga), posiblemente proporcionales a la concentración de BPA en disolución, aunque muy sensibles al tiempo en el que el BPA comience a estar en contacto con el ET y comience a adsorberse. Alternativamente, la adsorción de BPA (a distintas concentraciones en la disolución) habrá de producir cambios en  $R_{ct}$  de las especies electroactivas en la disolución (mediador) y al potencial aplicado en las medidas EIS.

Lo que se pretende abordar en el estudio de este TFG es emplear las condiciones experimentales adecuadas para potenciar ambos casos extremos, con la finalidad de poder cuantificar concentraciones de BPA en disolución empleando EIS (no se han publicado en la bibliografía científica aproximaciones similares).

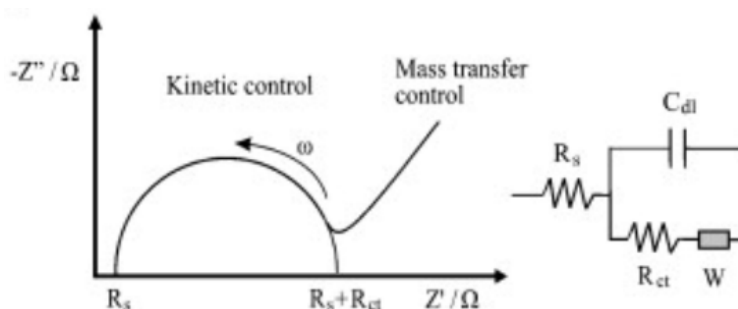


Figura 7. Representación del circuito Randles simplificado, que responde a la mayoría de los procesos electroquímicos que ocurren en una medida voltamétrica. Este circuito proporciona un gráfico Nyquist típico como el representado.

Lo que se describe en los apartados posteriores son los resultados de medidas EIS capacitativas (sin mediador, electrolito  $\text{NaClO}_4$  0,10 M,  $[\text{BPA}] = 0,5\text{-}10 \mu\text{M}$ ) y faradaicas (con ferri/ferrocianuro 1mM como mediador de transferencia de carga en 0,10 M  $\text{NaClO}_4$  como electrolito soporte). Se ensayaron electrodos serigrafados SCPE-*bare*, SCPE-SW-CNTs, SCPE-MW-CNTs y SCPE-GO, con distintas concentraciones de BPA. Varias de estas experiencias también se diseñaron para comprobar y acreditar el comportamiento electroquímico voltamétrico del BPA en DPV. Los resultados se describen brevemente en los apartados posteriores.

#### Medidas EIS faradaicas con electrodos SPCEs-*bare* y modificados con GO, SW-CNTs y MW-CNTs

Los circuitos equivalentes a los que se ajustaron las medidas experimentales en los espectros de impedancia (medidas de impedancia en rangos de frecuencia y para una variación sinusoidal de

$V(t)$ ) han de reflejar el comportamiento físico real de la experiencia electroquímica. Dado que se trata de discernir si existen los procesos previstos o no existen, por ejemplo, si el BPA se adsorbe o no en las condiciones de medida, la forma de evaluarlo fue proponiendo distintos procesos (o distintos circuitos equivalentes) y ver cuál se ajustaba mejor a las medidas experimentales. Como resultado, se representan los gráficos *Nyquist* (los gráficos *Bode* se emplearon también, aunque sólo para corroborar los gráficos *Nyquist*) y los valores de sus componentes individuales, cuya información nos corrobora o no los resultados previstos inicialmente.

Cada circuito se representa con su notación simplificada (ver el pie de la Fig. 8 como ejemplo), poniendo entre paréntesis/corchetes los componentes en paralelo (se suman sus valores inversos al inverso de la impedancia total), y sin separadores los componentes en serie (se suman de forma directa a la impedancia total).

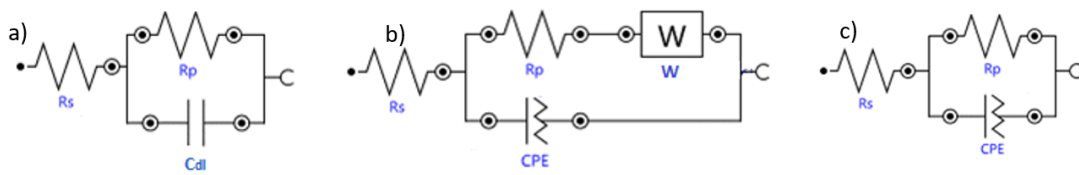


Figura 8. Circuitos equivalentes típicos empleados para los ajustes de las medidas de impedancia: (a) circuito  $R(RC)$ ; (b) circuito  $R(Q[RW])$ ; (c) circuito  $R(RQ)$ . Disolución de medida EIS: electrolito soporte  $KClO_4$  0,10 M.

En la Fig. 8, se representan los 3 circuitos equivalentes que se propusieron inicialmente para medidas EIS de disoluciones de  $[BPA]=0,5-10 \mu M$  en  $KClO_4$  0,10 M. y Ferri/ferrocianuro 1 mM. El circuito (b)  $R(C[RW])$  es el circuito estándar *Randles* simplificado, válido para la mayoría de experiencias. Este circuito equivalente consta de una resistencia electrolítica activa  $R_s$  (resistencia eléctrica de la disolución) en serie con la combinación en paralelo de la capacitancia de doble capa eléctrica del ET ( $C_{dl}$ , ajustada a un valor mejorado CPE) y la impedancia de la

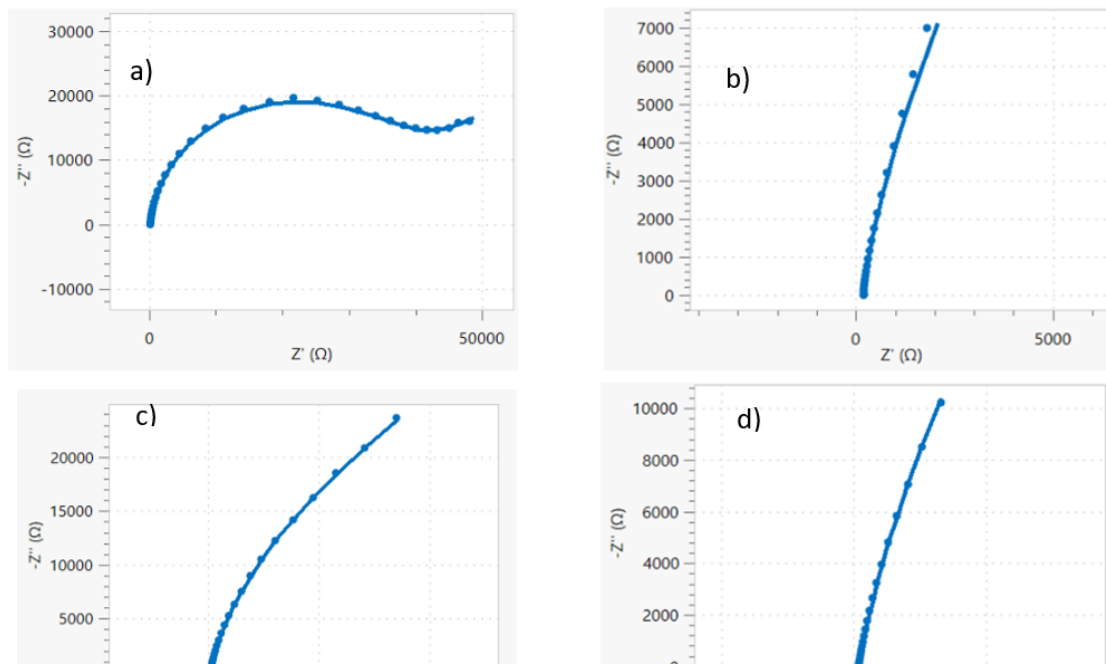


Figura 9. Gráficos *Nyquist* de las medidas EIS de una disolución  $[BPA]=0,5-10 \mu M$  en  $KClO_4$  0,10 M. Electrodo empleados: (a) SPCE-GO; (b) SPCE-bare; (c) SPCE-MW-CNTs; y (d) SPCE-SW-CNTs.

transferencia de carga faradaica ( $R_p$ ) en serie con la velocidad de transferencia de masa del mediador ( $W$ ). Este circuito es el que proporcionó el ajuste (*fitting*) más preciso en las medidas con los distintos electrodos, es decir, que es el circuito que más se ajusta a los procesos físicos que están ocurriendo. Lo que corroboran también de forma más visual los gráficos *Nyquist* correspondientes, que se muestran en la Fig. 9.

En la Fig. 9(a) se observa que se llega a producir impedancia *Warburg* debida a impedancia por limitación de vtm por difusión del mediador en las pequeñas frecuencias empleadas (desde 10 kHz a 0,1Hz), sumada al clásico semicírculo *Nyquist* que manifiesta buena transferencia de carga. Lo que no ocurre en los demás casos, significando una mala transferencia de carga asociada al electrodo *bare* y modificados con nanotubos de carbono.

Por este motivo, para las medidas EIS faradaicas en lo sucesivo se emplearon electrodos SPCEs-GO. En una siguiente experiencia, se ensayaron medidas EIS con este tipo de electrodos con distintas concentraciones de BPA en disolución (0.5, 1, 5 y 10  $\mu\text{M}$ ) en una disolución de Ferri/ferrocianuro 1mM aplicando un potencial de 0 V. Los parámetros calculados para un circuito equivalente *Randles* (Fig. 8(b)), dieron los valores de la tabla 5.

[BPA] ( $\mu\text{M}$ )	$R_s$ ( $\Omega$ )	$R_p$ ( $\text{k}\Omega$ )	$W$ ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^{1/2}$ )	$\text{CPE}$ ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^N$ )	N
blanco	191	28	67,2	2,36	0,951
0,5	193	23,8	65	2,44	0,952
1	194	24,2	62,9	2,52	0,95
5	195	22,1	62,7	2,54	0,95
10	191	22,8	68,3	2,63	0,948

Tabla 5. Parámetros calculados de medidas EIS con distintas concentraciones de BPA, ajustando a un modelo *Randles* (Fig. 8(b)). Disolución: Ferro/ferrocianuro 1 mM en  $\text{KClO}_4$  0,10 M. Medida EIS:  $E_a = 0$  V;  $\Delta E = 10$  mV. Electrodos SPCE-GO.

De los datos calculados de la tabla 5, se observa un valor constante de  $R_s$  (la resistencia eléctrica de la disolución), dado que las variaciones de la concentración de BPA no la modifican significativamente, como era de esperar. Tampoco variaciones de la concentración de BPA modifican la  $R_{ct}$  (el software NOVA lo denomina  $R_p$ ), ni la impedancia debida a la difusión del mediador ferro/ferrocianuro, comportamiento también el esperado. Sin embargo, sí se ven variaciones pequeñas (significativas) de la capacitancia del ET, lo que puede significar que el BPA queda adsorbido sobre el ET de los SPCE-GO y modifica su capacitancia de doble capa eléctrica. Los valores de N indican la aproximación a un comportamiento capacitativo del 100%, que ocurre cuando  $N=1$ . Sin embargo, difícilmente se produce este comportamiento, debido a la falta de homogeneidad de la doble capa eléctrica del electrodo de trabajo.

Para confirmar esta última conclusión, se diseñaron nuevas experiencias EIS que se describen a continuación.

*Medidas EIS para el estudio de la adsorción de BPA sobre el electrodo de trabajo que permitan su posible cuantificación en la disolución*

Para comprobar con EIS la adsorción del BPA sobre electrodos SPCEs-*bare*, se mantuvieron disoluciones de BPA durante 18 h sobre estos electrodos (0,5 mg L<sup>-1</sup> de BPA en KClO<sub>4</sub> 0,10 M), y

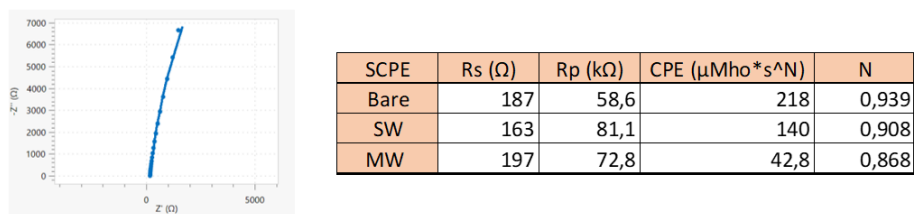


Figura 10. Grafico Niquist y parámetros EIS obtenidos con electrodos SPCEs -bare, -SW-CNTs y -MW-CNTs. Circuito equivalente óptimo: R(RQ).

a continuación se realizaron las medidas EIS depositando sobre los mismos electrodos 25 μL de una disolución 1 mM de ferri/ferrocianuro en NaClO<sub>4</sub> 0,10 M. Después de las medidas de impedancia, y ajustando con distintos circuitos equivalentes, se comprobó que el que mejor se ajustaba a las medidas experimentales fue el circuito R(RQ) (Fig. 8(c)) cuando los electrodos que se emplearon fueron los indicados en la tabla de la Fig. 10.

De los datos de la tabla de la Fig. 10, se deduce que, una vez producida la adsorción del BPA sobre los electrodos, disminuye notablemente su capacidad de transferencia de electrones (frente al mediador), siendo los valores  $R_{ct}$  más pequeños con electrodos nanoestructurados con nanotubos de carbono (SPCE-SW-CNTs, SPCE-MW-CNTs) que con respecto a los electrodos SPCE-*bare*. Posiblemente este resultado sea debido a una muy mayor capacidad de retención del BPA por este nanomaterial. Es reseñable también que la adsorción del BPA durante un tiempo largo (18 h) produce una adsorción monocapa muy uniforme y próxima a una adsorción ideal del 100%, como lo indican los valores de N muy próximos a 1,0.

En el caso de los electrodos **SPCEs-GO**, los resultados a partir de las medidas EIS realizadas como se ha indicado en los párrafos anteriores fueron distintos. En este caso, el ajuste de las medidas experimentales EIS se produjo de forma óptima para el circuito equivalente R(R[RC]C) (Fig. 11). Este circuito diferencia la transferencia de carga producida entre la parte del electrodo sin BPA adsorbido y la parte del ET en el que se produce adsorción de ET (RW en paralelo, es una forma típica de expresar este comportamiento). Los parámetros calculados para un tiempo de adsorción del BPA de 18 h se muestran en la tabla de esta misma Fig. 11.

Lo más reseñable es que, efectivamente, la adsorción del BPA sobre los electrodos SPCE-GO no se produce de forma completa, sino parcial. Por lo que la capacidad de ser adsorbido el BPA es muy inferior al de los electrodos *bare* o modificados con CNTs. Esta conclusión la consideramos

importante, pues este tipo de electrodo tenderá a contaminarse menos y requerirá de una menor limpieza (electroquímica) en su aplicación voltamétrica.

SCPE	$R_s$ ( $\Omega$ )	$R_p$ (k $\Omega$ )	$R_f$ (k $\Omega$ )	CPE 1 ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^N$ )	N	CPE 2 ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^N$ )	N
GO	159	5,24	137	2,93	0,977	21,4	0,421

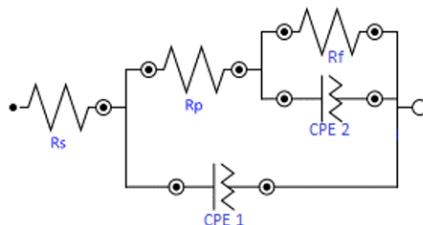


Figura 11. Parámetros EIS obtenidos con electrodos SPCE-GO y el ajuste al circuito equivalente óptimo indicado, según el diseño de la experiencia y los resultados de las medidas EIS.

Ahondando en lo anterior, se simuló una medida DPV poniendo en contacto disoluciones de BPA de distinta concentración durante 5 min., y posteriormente realizarse las medidas EIS. Los resultados se resumen en la Fig. 12. Estos datos son los correspondientes a un tiempo de adsorción del BPA de 5 min., próximo al tiempo en el que se encuentra el BPA en contacto con los electrodos cuando se realizaron las medidas voltamétricas de la parte anterior de esta memoria. En este caso, y dado que la adsorción del BPA durante este tiempo no produjo de forma importante la adsorción del BPA sobre los SCPE-GO, el comportamiento fue distinto, como se observa en el gráfico *Nyquist* de la Fig. 14, por lo que el circuito equivalente óptimo fue un circuito *Randles* simple  $R([RW]C)$  (Fig. 12)

Los parámetros de ajuste EIS para las concentraciones de BPA indicadas en la tabla ( $\text{mg L}^{-1}$ ) se resumen en la tabla 6.

	$R_s$ ( $\Omega$ )	$R_p$ (k $\Omega$ )	CPE ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^N$ )	N	$W$ ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^{1/2}$ )
Blanco	189	51,6	6,07	0,927	37,3
0,5	190	21,8	4,51	0,944	25,5
1	190	45	5,37	0,924	36,9
5	187	53,2	5,18	0,934	39,8
10	192	46,3	5,85	0,928	36,9

Tabla 6. Valores del ajuste EIS de los parámetros del circuito  $R(C([RW]))$ . Condiciones: ver texto. Electrodos SPCE-GO.

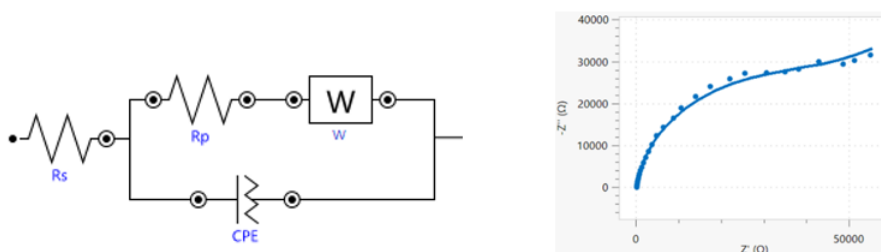


Figura 12. Circuito equivalente óptimo y Gráfico *Nyquist* de las medidas EIS. Condiciones: ver texto. Electrodos SPCE-GO.

Como observamos en estos parámetros, no se observan variaciones significativas de los parámetros  $R_s$ ,  $R_{ct}$ ,  $CPE$  ni  $W$ , lo que significa que los procesos de adsorción del BPA en estas condiciones (tiempo de contacto de 5 min para la posible adsorción del BPA sobre los electrodos

SPCE-GO) no se producen de forma apreciable (las variaciones de  $R_{ct}$  del orden de varios  $k\Omega$  son pequeñas), ni producen cambios en las condiciones de medidas voltamétricas para la cuantificación del BPA. Otra conclusión de estos resultados es que las variaciones de la difusión *Warburg* que se producen con el cambio de concentraciones de BPA en disolución, y que dependen de su vtm por difusión, no son suficientes para utilizar esta señal en calibrados de BPA para la cuantificación del mismo. Si bien, el gráfico *Nyquist* nos confirma que existe este aumento de la impedancia (cambio de fase de  $45^\circ$ ) a muy bajas frecuencias en donde predomina la limitación producida por la velocidad de difusión del mediador.

Para el caso de electrodos **SPCE-bare**, se ensayó la posibilidad de cuantificación de BPA mediante medidas EIS faradaicas. En la Fig. 13 se muestra el ajuste óptimo y el gráfico Nyquist, mientras que en la tabla 8 se resumen los parámetros encontrados para las distintas concentraciones de BPA (unidades  $\mu\text{M}$ ).

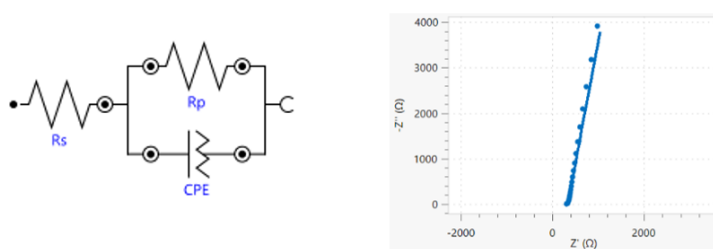


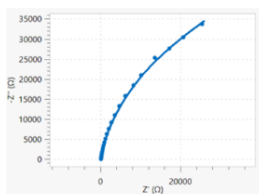
Figura 13. Circuito [R(RQ)] óptimo y gráfico Nyquist de las medidas EIS realizadas. Electrodo SPCE-bare.

	$R_s$ ( $\Omega$ )	$R_p$ ( $M\Omega$ )	CPE ( $\mu\text{Mho}\cdot\text{s}^N$ )	N
Blanco	332	110	351	0,876
0,5	343	110	335	0,884
1	332	110	392	0,882
5	334	110	423	0,85
10	342	110	429	0,865

Tabla 7. Parámetros de ajuste de las medidas EIS al circuito óptimo R(RQ). Electrodo SPCE-bare.

Se observó una tendencia a aumentar los valores de CPE a medida que aumentamos la concentración de BPA (la medida con concentración  $0,5 \mu\text{M}$  de BPA fué anómala). Esto es debido a una ligera mejora de la transferencia de carga en la doble capa, eléctrica. Sin embargo, se vuelve a comprobar las bajas velocidades de intercambio de electrones (gráfico *Nyquist*), mientras que los cambios pequeños de CPE no tendrían buena sensibilidad para la determinación de BPA en disolución.

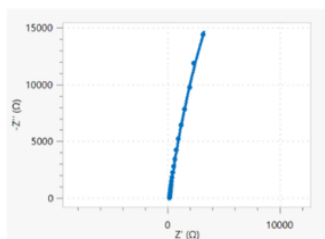
Para el caso de electrodos **SPCE-MW-CNTs**, se realizaron igualmente medidas EIS con distintas concentraciones de BPA ( $\mu\text{M}$ ), como en los casos anteriores. El ajuste óptimo se produjo con un circuito equivalente  $R([RW]C)$  (Fig. 14). Los resultados de las medidas (gráfico *Nyquist*) y su ajuste a este modelo se resumen en la Fig. 14. Si bien el resultado con BPA  $5 \mu\text{M}$  fue anómalo, a veces por causas externas (vibraciones o corrientes de aire), sí se ve un aumento de pequeños valores de CPE, aunque nuevamente con poca sensibilidad como señal analítica para su cuantificación. Posiblemente, estos pequeños cambios se deban a aumentos de carga iónica polarizada en la doble capa eléctrica.



	Rs (Ω)	Rp (kΩ)	CPE (μMho*s^N)	N	W (μMho*s^1/2)
Blanco	221	53,3	23,1	0,914	37,6
0,5	229	47,1	22,7	0,92	36,9
1	234	45	28,1	0,917	34
5	226	46,4	32	0,91	33,4
10	233	45	30,9	0,918	26,9

Figura 14. Gráfico Niquist de las medidas realizadas con electrodos SPCE-MW-CNTs y tabla con los parámetros calculados a partir del circuito óptimo  $R(C[(RW)])$

Finalmente, la misma experiencia se realizó con electrodos **SPCE-SW-CNTs**. La primera conclusión es la baja transferencia de electrones que producen los SW-CNTs, como ya se ha comentado anteriormente. Además de su mala conductividad como material de electrodo y la fácil adsorción del BPA sobre esta superficie. Los resultados se resumen en la Fig. 15. No se produjeron diferencias importantes en la calidad de los ajustes en función del circuito equivalente empleado, por lo que los datos de la tabla de la Fig. 15 se ajustaron a un modelo  $R(RW)$  Randles sencillo.



	Rs(Ω)	Rp (kΩ)	CPE (μMho*s^N)	N
Blanco	191	172	101	0,924
0,5	195	160	98,8	0,933
10	193	176	115	0,937

Figura 15. Gráfico Niquist de las medidas realizadas con electrodos SPCE-SW-CNTs y tabla con los parámetros calculados a partir del circuito óptimo  $(R(RQ))$

En cuanto a la **reproducibilidad** de los ajustes y del cálculo de los parámetros EIS, como muestra se resumen los resultados de 3 medidas repetidas con electrodos **SPCE-GO** (tabla 8), después de mantener en contacto una disolución 10,0 μM de BPA durante 5 minutos, y realizando medidas EIS faradaicas en presencia del mediador ferro/ferricianuro. Los valores obtenidos tienen reproducibilidades estándar relativas de entre %RSD~ 0,3-13%, que significa una reproducibilidad aceptable para este tipo de cálculos.

	Rs (Ω)	Rp (kΩ)	CPE (μMho*s^N)	N	W (μMho*s^1/2)
MEDIDA 1	190	52	7,03	0,923	35
MEDIDA 2	187	30,9	7,1	0,929	28,8
MEDIDA 3	186	54,7	7,72	0,926	34,4

Tabla 8. Reproducibilidad de los parámetros calculados a partir de 3 medidas EIS repetidas de la misma disolución de BPA. Electrodos: SPCE-GO.

#### Medidas de tipo capacitativo con $E_0=+0,4V$ .

De forma distinta a las medidas anteriores, se estudiaron medidas EIS de tipo **capacitivo**, minimizando la transferencia de carga (al no añadir el mediador de transferencia de carga ferri/ferrocianuro). Las medidas se realizaron en  $KClO_4$  0,10 M. como electrolito soporte. El objetivo de estas condiciones experimentales es provocar cambios significativos en la contribución de  $C_{dl}$  a la impedancia total, minimizando la contribución de  $R_{ct}$  a esta impedancia. Teóricamente, las zonas del espectro de impedancia en las que predomina la contribución de  $C_{dl}$



son intermedias entre los valores máximos de impedancia (10 kHz) y los valores más pequeños (se alcanzaron valores de 0,1 Hz).

Para su posible aplicación hacia la cuantificación de BPA en disolución, se realizaron medidas EIS con distintas concentraciones de BPA. Se empleó un potencial  $E_a=+0,40$  V., próximo al potencial de onda media del BPA en estas condiciones, por lo que también podría contribuir a la impedancia total la  $R_{ct}$  debida al BPA en disolución. La variación sinusoidal del potencial fue de  $\Delta E=10$  mV (es decir, una amplitud algo alta, lo habitual sería del orden de 5 mV, para ver diferencia de transferencia de carga no muy pequeñas). En cada caso, también debería de tenerse en cuenta la posible adsorción del BPA sobre el material del electrodo de trabajo.

Realizando medidas con electrodos **SPCE-bare** (los resultados se muestran en la Fig. 16), el ajuste simplificado más óptimo se produjo con un circuito equivalente R(RC) con un elemento real CPE.

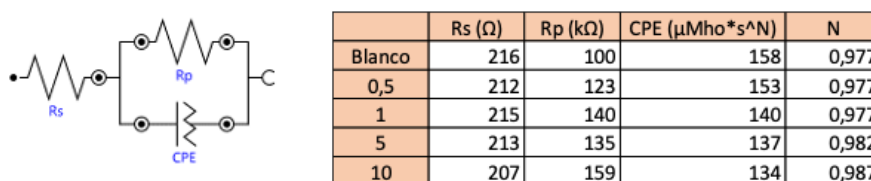


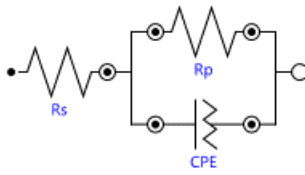
Figura 16. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-bare. Ver las disoluciones medidas en el texto.

Tal y como esperábamos, se produjo una disminución de la impedancia debida a la doble capa eléctrica producida por un aumento de la concentración del BPA. Si bien la sensibilidad no es muy elevada (los cambios son pequeños para los cambios de concentración), sí que estos cambios podrían emplearse en la cuantificación (no muy sensible) de concentraciones de BPA en disolución. No debidos a su adsorción, sino a la modificación del BPA disuelto en la capacidad de la doble capa eléctrica del electrodo.

En estas medidas no tenemos electrolito soporte, por lo que no se produce transferencia de carga. Aplicamos en cada medida un potencial constante de  $E_a=+0,4$  V, queremos comprobar la impedancia debida a la doble capa eléctrica del electrodo, y sus variaciones debidas al BPA adsorbido sobre los electrodos. Se realizaron 5 medidas a distintas concentraciones (blanco, 0,5, 1, 5 y 10  $\mu\text{M}$ ) para observar la variación de las medidas con la concentración.

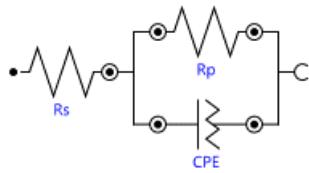
Dadas las limitaciones de un ajuste de estas características, se ensayó también el ajuste al mismo circuito equivalente, pero forzando un valor constante de  $R_{ct}$  (que físicamente ha de producirse, dadas las muy bajas concentraciones del BPA, del orden de  $\mu\text{M}$ ). En este caso (no se muestran los resultados), se observaron cambios mayores de  $C_{dl}$  para las concentraciones anteriores, con lo que de esta forma se mejora la sensibilidad en la determinación de BPA en disolución.

Finalmente, se realizaron las mismas medidas EIS de tipo capacitativo a distintas concentraciones de BPA en disolución con electrodos **SPCE-GO** (Fig. 17) y **SPCE-MW-CNTs** (resultados en la Fig. 18). Los ajustes óptimos para los gráficos *Nyquist* provenientes de las medidas EIS (capacitativas) se obtuvieron con circuitos simples R(RW) de tipo CPE.



	Rs (Ω)	Rp (MΩ)	CPE (μMho*s^N)	N
Blanco	183	4,87	6,87	0,866
0,5	193	1,24	3,77	0,94
1	186	1,1	3,98	0,943
5	190	0,963	3,87	0,941
10	186	0,902	3,79	0,94

Figura 17. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-GO. Ver las disoluciones medidas en el texto.



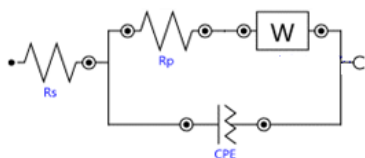
	Rs (Ω)	Rp (kΩ)	CPE (μMho*s^N)	N
Blanco	226	1070	35,2	0,905
0,5	228	860	26,9	0,919
1	223	753	26,4	0,914
5	223	888	25,6	0,915
10	218	751	25,7	0,914

Figura 18. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-MW-CNTs. Ver las disoluciones medidas en el texto.

Como conclusión de las medidas anteriores, en el caso de electrodos **SPCE-GO** se observaron cambios apreciables de  $R_{ct}$  con la concentración de BPA, además de disminuciones importantes de Cdl, manteniéndose la idealidad de las muy pequeñas adsorciones de BPA sobre el grafeno (esta conclusión coincide con la de estudios anteriores). Ambas señales responden a las concentraciones de BPA en disolución. En el caso de electrodos SPCE-MW, se producen disminuciones significativas de  $R_{ct}$ , si bien no son significativas para las medidas de Cdl. Esto último significa que no se producen cambios apreciables en la doble capa eléctrica del material nanoestructurado con MW-CNTs, pero sí se observan cambios apreciables en  $R_{ct}$ .

Es preciso indicar que al aplicar un potencial de base de  $E_o=+0,4$  V se favorece la adsorción del BPA sobre los distintos ET de los electrodos SPCE. Para completar este estudio de tipo capacitativo, se comprobó el comportamiento EIS realizando medidas en **modo OCP (open circuit potential)**. En esta forma instrumental de medida, el potencióstato del instrumento realiza una medida potenciométrica del potencial eléctrico de la disolución frente al ER, que depende únicamente de las especies redox disueltas en ella. De forma que, la influencia de  $\Delta E$  en la variación sinusoidal del potencial aplicado se produce para el conjunto de las especies disueltas y no sólo para el BPA. Los potenciales medidos en OCP fueron próximos a  $E_o=+0,001$  V. (frente al ER de los SPCEs). Las medidas EIS en OCP se realizaron tanto en modo capacitativo como faradaico (ferri/ferrocianuro 1 mM), siempre con  $KClO_4$  como electrolito soporte.

Se realizaron ambos tipos de medidas con distintas concentraciones de BPA ( $\mu M$ ) en disolución. Los resultados se resumen en las Figs. 19 y 20, con circuitos equivalentes óptimos R(RW) de tipo CPE. Se emplearon electrodos **SPCE-GO**, dadas sus mejores propiedades analíticas.



	Rs (kΩ)	Rp (kΩ)	W (μMho*s^1/2)	CPE (μMho*s^N)	N	OCP
Blanco	1,2	335	11,1	7,06	0,921	0,075
10	1,13	405	16,4	7,18	0,918	0,084
50	0,913	71,3	21,4	8,76	0,905	0,103
75	0,829	158	20,8	8,37	0,906	0,079
100	0,884	170	25	8,32	0,901	0,078
300	0,564	117	30,8	8,53	0,903	0,075

Figura 19. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de sus componentes a partir de las medidas EIS de tipo faradaico realizadas en modo OCP. Electrodos SPCE-GO.

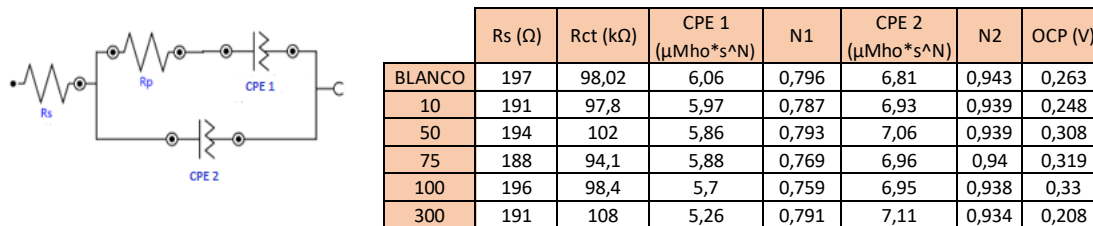


Figura 20. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de sus componentes a partir de las medidas EIS de tipo capacitativo realizadas en modo OCP. Electrodo SPCE-GO.

Las **conclusiones** más importantes de ambas medidas OCP son las siguientes: (1) Los ajustes de  $R_s$  en modo faradaico son incorrectos, lo que puede resolverse fácilmente forzando un valor constante próximo a 196  $\Omega$ , si bien este muy pequeño valor no contribuye en la impedancia total; (2) En modo faradaico OCP se producen cambios apreciables de  $R_{ct}$  muy por encima de los cambios  $C_{dl}$ , que pueden ser empleados en la cuantificación de BPA en disolución, una vez optimizadas las condiciones experimentales (fuera del alcance y los objetivos de este TFG); (3) la doble capa eléctrica de los electrodos se mantiene uniforme a distintas concentraciones de BPA; (4) Aumentos en la concentración de BPA producen aumentos de la difusión Warburg, proporcionales a esta concentración (otra posible forma de cuantificación, no explorada hasta la fecha); (5) En modo capacitativo, los cambios  $R_{ct}$  son muy pequeños con cambios en las concentraciones de BPA, lo que es inherente a las características de esta forma de medida; (6) Se producen cambios en la doble capa eléctrica de los electrodos, debidos a las variaciones de concentración de BPA y los cambios que producen en la conductividad de la doble capa eléctrica del ET, aunque son muy pequeños para usarse en calibrados del BPA en disolución.

#### Interacción del BPA con micropartículas de poliestireno (PS- $\mu$ Ps)

El objetivo de esta última parte trabajo TFG ha sido la de explorar la información estudiada en los dos apartados anteriores (cuantificación voltamétrica y EIS) en nuevas aproximaciones para el estudio de las interacciones que se producen entre  $\mu$ Ps y el BPA. Ambos han sido considerados por la Unión Europea (y en consecuencia en España) como contaminantes emergentes [ (7)], y preocupa su presencia cada vez mucho mayor en el medio ambiente. Se han tomado como modelo micropartículas de poliestireno (PS- $\mu$ Ps). Este estudio es solamente inicial, propio de la extensión y del trabajo/dedicación de un TFG, y se ha tomado tan sólo como desarrollo simple, confirmación de resultados y sus causas, y prueba de concepto teórico.

El objetivo ha sido estudiar la interacción entre PS- $\mu$ Ps y BPA en disolución. Es conocida la capacidad de adsorción de los  $\mu$ Ps sobre otras moléculas contaminantes (antibióticos, disruptores endocrinos como el BPA, moléculas orgánicas, ... etc.), que agrava notablemente el problema de estos contaminantes emergentes [ (3) (5) (9) (10)].

La finalidad es estudiar la capacidad de las PS- $\mu$ Ps de adsorber el BPA sobre su superficie. Para ello se dejaron un tiempo en contacto (con agitación orbital) las dispersiones de las PS- $\mu$ Ps con distintas concentraciones de BPA, y posteriormente se emplearon 2 métodos de separación de las micropartículas de PS para medir a continuación las concentraciones resultantes de BPA en la disolución. De esta manera, las concentraciones en disolución se asociaron al BPA no adsorbido sobre las PS- $\mu$ Ps.

Los 2 procedimientos de separación empleados se basaron en la ultrafiltración y en cambios de densidad separando por centrifugación (se explican en el apartado de procedimientos experimentales). Una vez realizada la separación, se cuantificaron las concentraciones de BPA de la disolución (no adsorbidos por las PS- $\mu$ Ps dispersas), con el procedimiento voltamétrico optimizado en la 1ª parte de esta memoria y con electrodos SPCE-GO.

Sin embargo, para el caso de la ultrafiltración, se emplearon tubos *ependorf* con filtros 0,45  $\mu$ m de poli-éter-sulfona modificada, los únicos disponibles en ése momento. Este material de la membrana se emplea en la remediación de la contaminación de BPA [ (5)], por lo que (de forma esperada) se produjo la retención completa del BPA disuelto. En consecuencia, sería necesario explorar este tipo de separación con membranas inertes al BPA (por ejemplo, membranas de vidrio del mismo fabricante).

Con el 2º procedimiento de separación, mediante centrifugación, se realizaron inicialmente calibrados de BPA de disoluciones de BPA, sin PS- $\mu$ Ps, centrifugadas en las mismas condiciones (ver procedimientos experimentales). Los calibrados con y sin centrifugación se muestran resumidamente en la Fig. 21, no encontrándose variaciones significativas en la sensibilidad (pendientes del calibrado).

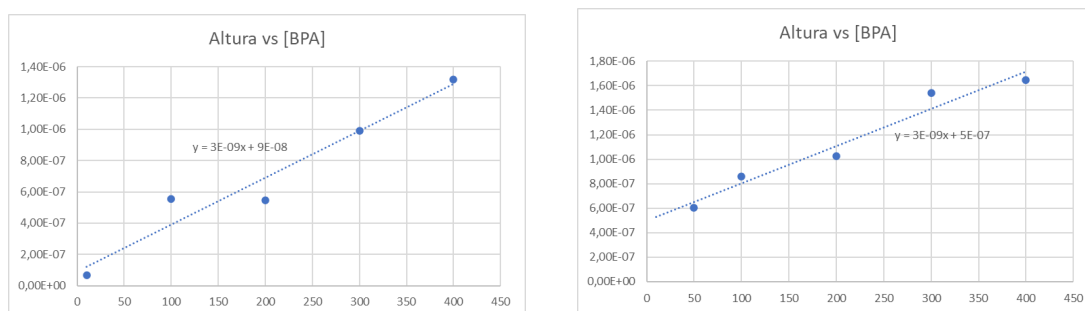


Figura 21. Calibrado en función de la altura de pico ( $i_p$ ) y la concentración de BPA, centrifugado (izq) y sin centrifugar (der)

Para el estudio de la interacción de BPA y PS- $\mu$ Ps, se emplearon dispersiones con las mismas concentraciones (300 $\mu$ M de BPA y 0.5 mg/mL de PS- $\mu$ Ps) que estuvieron previamente en contacto distintos tiempos de adsorción. Los resultados se resumen en la Fig. 22.

tiempo (h)	Peak height (A)	BPA ( $\mu$ M)
0	9,92E-07	300
24	7,21E-07	210,18
48	6,84E-07	198,07

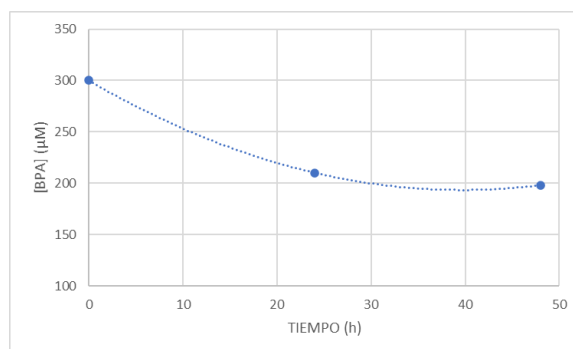


Figura 22. Variación de la concentración en disolución de BPA no adsorbido, una vez puesto en contacto con PS- $\mu$ Ps en los tiempos indicados.

Se observó claramente una disminución de la concentración de BPA no adsorbido por las PS- $\mu$ Ps con mayores tiempos de contacto, lo que acredita la capacidad de adsorción del BPA por las PS-

$\mu\text{Ps}$ . La adsorción tiene una cinética rápida en las primeras 24 h, llevándose a cabo más lentamente en las 24 h siguientes de las 48 h en las que se midió.

En definitiva, las herramientas desarrolladas en este trabajo permiten la cuantificación voltamétrica sensible del BPA, la caracterización de las interacciones que se producen del BPA con distintos materiales nanoestructurados, y medir la cuantificación/cinética de la adsorción del BPA producida por micropartículas de PS.

## Conclusiones

En este apartado se resumen muy brevemente las **conclusiones** más importantes del trabajo, además de las que ya se han ido comentando a lo largo de sus apartados experimentales.

- Se ha estudiado distintas **nanoestructuraciones** de electrodos SPCEs (*bare*, GO, SW-CNTs, MW-CNTs) para la **cuantificación voltamétrica** DPV sensible de BPA en disolución. Una vez optimizadas las condiciones experimentales, la cuantificación voltamétrica DPV permite determinar concentraciones muy pequeñas de BPA, del orden de muy pocos  $\mu\text{M}$ .
- Se han acreditado los **mecanismos de los procesos de electrodo** que se producen en los electrodos SPCE-*bare* y SPCEs nanoestructurados con GO, SW-CNTs y MW-CNTs, empleando medidas EIS que nos proporcionan gran información analítica. Las conclusiones más importantes en cada caso se han resumido en los apartados correspondientes anteriores de esta memoria. Bajo un punto de vista de aplicación analítica, la conclusión más relevante (de las explicadas) es la escasa adsorción del BPA sobre el GO comparando con los nanotubos de carbono (MW y SW) y con respecto a los electrodos SPCEs-*bare* sin modificar, importante para la determinación voltamétrica.
- Se han ensayado (por primera vez, no existen referencias bibliográficas en la literatura científica) distintas opciones para utilizar las medidas **EIS** (en modo capacitativo y en modo faradaico) en la **cuantificación** sensible y reproducible del BPA en disolución. Minimizando, en su caso, la adsorción del BPA sobre las superficies de los ET. Con esta finalidad, nuevamente los electrodos SPCEs modificados con óxido de grafeno son los más prometedores y los que proporcionaron las mejores propiedades analíticas.
- Las herramientas analíticas que se han desarrollado en este trabajo permiten (como prueba de concepto) el estudio de las **interacciones** que se producen entre **PS- $\mu\text{Ps}$**  y el **BPA** en disolución, y el cálculo de la cinética de esta adsorción. Lo que nos proporciona una información muy valiosa para el estudio analítico en el medio ambiente de estos contaminantes emergentes.

## Bibliografía

1. *Review Worldwide bottled water occurrence of emerging contaminants: A review of the recent scientific literature.* **R. Akhbarizadeha et al.** 2020, *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 392, pp. 100071-100083. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122271.
2. *An overview of the occurrence, fate, and human risks of the bisphenol-A present in plastic materials, components, and products.* **J. N. Hahladakis et al.** 2022, *Integrated Environmental Assessment and Management*, Vol. 0, pp. 1-18. doi: 10.1002/ieam.4611.
3. *Occurrence and Exposure Assessment of Bisphenol Analogues Through Different Types of Drinking Water in Korea.* **H. B. Moon et al.** 2022, *Exposure and Health*, pp. 1-13. doi: 10.1007/s12403-022-00483-3. . doi: 10.1007/s12403-022-00483-3.
4. *Organic pollutants adsorbed on microplastics: Analytical methodologies and occurrence in oceans.* **S. Santana-Viera et al.** 2021, *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, Vol. 29, pp. 114-124. doi: 10.1016/j.teac.2021.e00114.
5. *Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: Occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology.* **A. Ismanto et al.** 2022, *Environmental Pollution*, Vol. 302, pp. 119061-119076. doi: /10.1016/j.envpol.2022.119061.
6. *Sensors and biosensors for analysis of bisphenol-A.* **K. V. Ragavan.** 2013, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 52, pp. 248-260. doi: 10.1016/j.trac.2013.09.006.
7. *A Comprehensive Analysis of Plastics and Microplastic Legislation Worldwide.* **C. S. Lam et al.** 2018, *Water and Soil Pollution*, Vol. 229, pp. 11-30. doi: 10.1007/s11270-018-4002-z.
8. *Micro- and nanoplastics – current state of knowledge with the focus on oral uptake and toxicity.* **M. B. Paul et al.** 2020, *Nanoscale Advances*, Vol. 2, pp. 4350-4360. doi: 10.1039/d0na00539h.
9. *Review of micro- and nanoplastic contamination in the food chain.* **B. Toussaint et al.** 2019, *Food Additives and Contaminants: Part A*, Vol. 36, pp. 639-673. doi: 10.1080/19440049.2019.1583381.
10. *Review - Nano-plastics and their analytical characterisation and fate in the marine environment: From source to sea.* **S. Gangadoo et al.** 2020, *Science of the Total Environment*, Vol. 732, pp. 138792-138813. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138792.
11. **T. Anumol, Agilent Technologies, Inc.** *Micro- and Nanoplastics: A Deep Dive into a Global Issue.* 2019.
12. *Analytical Methods for the Quantification of Bisphenol A, Alkylphenols, Phthalate Esters, and Perfluorinated Chemicals in Biological Samples.* **H. Nakazawa et al.** 2014, *Analytical Sciences*, Vol. 30, pp. 25-34. doi: 10.2116/analsci.30.25.
13. *Recent Advances in Electrochemical Sensors and Biosensors for Detecting Bisphenol A.* **S. Tajik et al.** 2020, *Sensors*, Vol. 20, pp. 1-18. doi: 10.3390/s20123364.
14. *Review-Nanocomposite-Based Sensors for Voltammetric Detection of Hazardous Phenolic Pollutants in Water.* **B. R. Patel et al.** s.l. : *Journal of the Electrochemical Society*, 2020, Vol. 167, pp. 37568-37589. doi: 10.1149/1945-7111/ab71fa.

15. *Review-Recent Progress in the Graphene-Based Electrochemical Sensors and Biosensors*. **M. Coros et al.** 2019, *Journal of the Electrochemical Society*, Vol. 167, pp. 37528-37537. doi: 10.1149/2.0282003JES.
16. *Review Article Recent advances in carbon nanomaterials-based electrochemical sensors for phenolic compounds detection*. **S. Fu et al.** 2021, *Microchemical Journal*, Vol. 171, pp. 106776-106799. doi: 10.1016/j.microc.2021.106776.
17. *"Click" Chemistry on Gold Electrodes Modified with Reduced Graphene Oxide by Electrophoretic Deposition*. **V. Mishyn et al.** 2019, *Surfaces*, Vol. 2, pp. 193-204. doi: 10.3390/surfaces2010015.
18. *Impedimetric immunosensors—A review*. **M. I. Prodromidis et al.** 2010, *Electrochimica Acta*, Vol. 55, pp. 4227-4233. doi: 10.1016/j.electacta.2009.01.081.
19. **O. Pänke et al.** *Impedance Spectroscopy and Biosensing. Advanced Biochemistry Engineering and Biotechnology Series*. s.l. : Springer-Verlag, 2008. pp. 195-237. doi: 10.1007/10\_2007\_081. Vol. 109.
20. *Electrochemical characterization of different screen printed gold electrodes*. **R. García-González et al.** 2008, *Electrochimica Acta*, Vol. 53, pp. 3242-3249. doi: 10.1016/j.electacta.2007.07.059.



## ANEXO

1. Laboratorio de electroanálisis del Departamento de Química Analítica e instrumentación empleada en este trabajo.



Figura 23. Potenciostato Metrohm (Eco-Chemie)  $\mu$ Autolab III, utilizado para medidas de voltametría cíclica e impulsional. Incluye un analizador de frecuencias FRA2 para medidas de impedancia electroquímica en frecuencias comprendidas entre 10 kHz y 10  $\mu$ Hz. Incertidumbres en la medida de potencial  $\pm 0,1$  mV y de la corriente  $\pm 0,1$  nA.

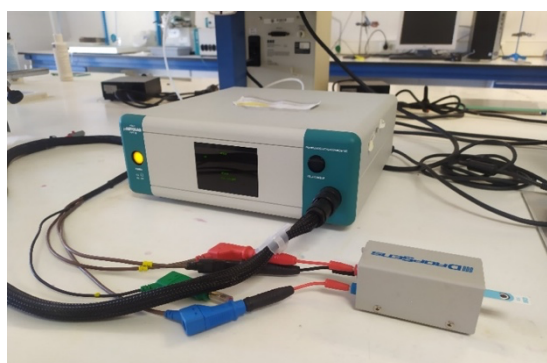


Figura 24. Potenciostato unido a la interfase de conexión de electrodos serigrafados SPCEs DropSens DSC.

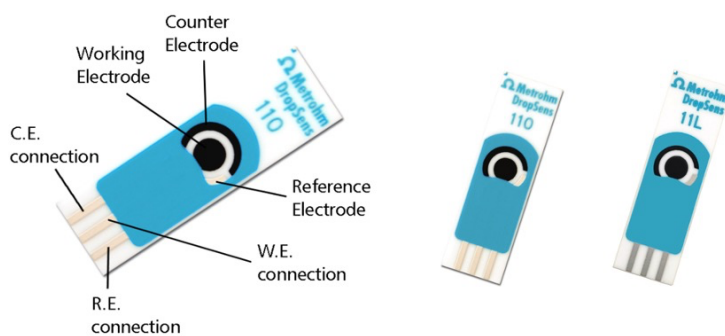


Figura 25. Electrodo serigrafado de base carbono empleados (SPCEs-bare). El sustrato base cerámico tiene unas dimensiones 33x10x0,5 mm. Los electrodos ET y ER están serigrafados con tintas de base carbono, mientras que el EA se fabrica con tintas serigrafables de base Ag o Ag/AgCl según los modelos empleados. La capa



dieléctrica queda impresa en color azul, y delimita el espacio de contacto con la disolución depositada para su medida, con un volumen del orden de 10-50  $\mu\text{L}$ .



Figura 26. Vista general del laboratorio de electroanálisis del grupo de investigación consolidado GEAS: Grupo de espectroscopía Analítica y Sensores (<http://geas.unizar.es>). Situado en el Departamento de Química de la Facultad de Ciencias (Universidad de Zaragoza).

## 2. Propiedades químicas del BPA.

TABLE 1 Physicochemical properties of bisphenol-A (BPA)

Property	Value
Molecular type	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$
$m$	228.29
$\rho$	1.17 g/ml (average value), at 20 °C–25 °C
Boiling point	360 °C at 760 mm Hg
Octanol-water partition coefficient (log $K_{ow}$ )	3.64 $\pm$ 0.32
Heat of combustion	–7.46 J/kmol
Color and form	White or creamy crystal flakes; forms prisms and needles, in acetic acid and water, respectively
Dissociation constant ( $\text{p}K_a$ )	10.29 $\pm$ 0.69
Henry constant	$4.0 \times 10^{-11}$ atm-cu m/mol, at 25 °C
Critical $T$ and $P$	849 K and $2.93 \times 10^6$ Pa, respectively
Melting point	153 °C
Bioconcentration factor (BCF)	220–344 <sup>a</sup> , 5.1–73.4 <sup>b</sup>
Solubility	210 mg/(average value in water), at 25 °C. Solubility increases in alcohol and acetone
Odor	Mild phenolic odor
Hydroxyl radical reaction rate constant	$8.1 \times 10^{-11}$ $\text{cm}^3/\text{molecule/s}$ , at 25 °C
Vapor pressure	$4.0 \times 10^{-8}$ mm Hg, at 25 °C
Half-life (day)	38 (in water), 75 (in soil), 340 (in sediment), and 0.2 (on air)

<sup>a</sup>Values reported in the USEPA's EPI Suite program.

<sup>b</sup>Values reported in the US NIHHS Data Bank TOXNET, and represent findings for aquatic organisms reported in scientific articles.

Figura 27. Propiedades químicas del BPA (tomadas de la referencia [ (2) ]).

Fungibles y centrífugadora empleados en las separaciones del BPA de las micropartículas de poliestireno PS- $\mu$ Ps.

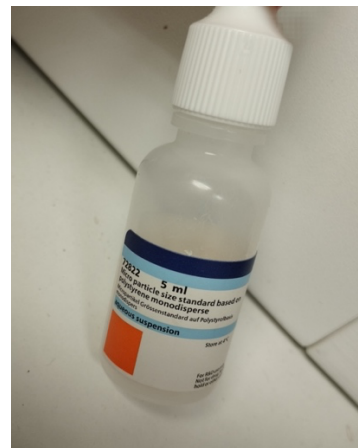


Figura 28. (A) y (B) tubos eppendorf con un microfiltro de poliéster-sulfona modificada, de 0,45  $\mu$ m de tamaño de poro. (C) Centrífuga empleada (Multifuge X1R Centrifuge, Thermo Scientific); (D) Micropartículas de poliestireno.

3. Resumen gráfico de conceptos básicos de la espectroscopía de impedancia electroquímica empleados en la interpretación de las medidas EIS realizadas en esta memoria.

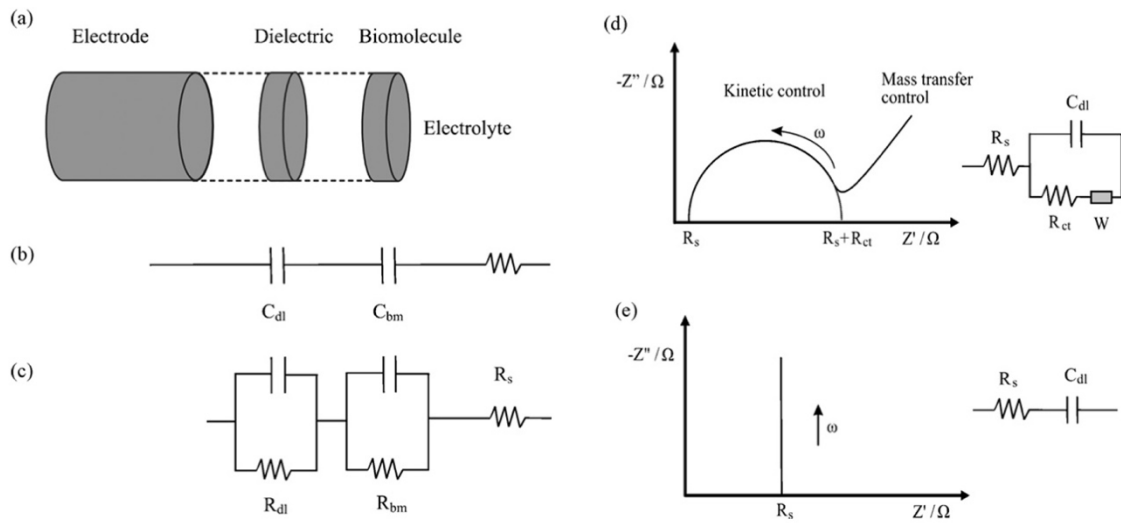


Figura 29. Resumen gráfico básico de la técnica EIS: (a) representación de la doble capa eléctrica del ET voltamétrico, modificada por una monocapa sobre su superficie; (b) Circuito equivalente de la situación anterior; (c) Otros posibles circuitos equivalentes que pueden ajustarse a la situación anterior (modificación de la superficie de un ET voltamétrico con una o más monocapas adsorbidas sobre su superficie). Este circuito equivalente (c) con dos interfases en paralelo (la del electrodo y la de la capa modificadora), no obstante, puede simplificarse para ajustarse con un modelo más sencillo; (d) Circuito Randles simplificado, con su correspondiente comportamiento reflejado en el gráfico Nyquist; (e) Circuito RC en el que no se manifiesta (incluso a bajas frecuencias) limitación de la difusión del mediador electroactivo ni variaciones debidas a  $R_{ct}$ , y su correspondiente representación Nyquist. Estas Figs. se han tomado de la ref. [ (18)].

$$Z = \frac{V(t)}{I(t)} = \frac{V_0 \sin(2\pi ft)}{I_0 \sin(2\pi ft + \phi)} = \frac{1}{Y}$$

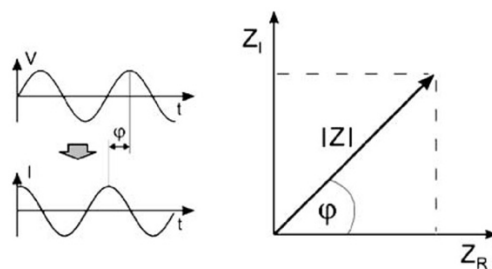


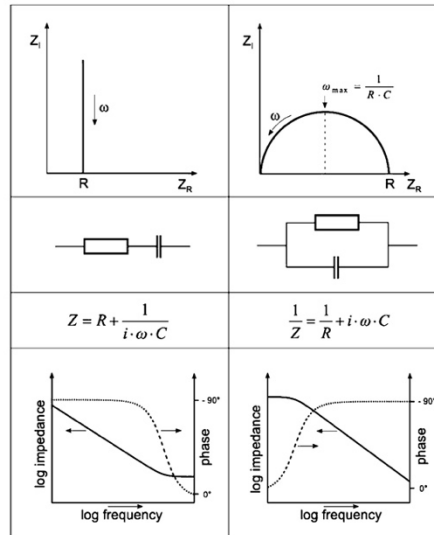
Fig. 1 Impedance is a complex value and defined as quotient of the voltage(time) and current(time) function. It can be expressed as modulus  $|Z|$  and phase angle  $\phi$  or can be given by the real part ( $Z_R$ ) and the imaginary part ( $Z_I$ ) of impedance

Figura 30. Definición básica de la impedancia electroquímica, y su representación como número imaginario que describe los cambios de fase de las variaciones sinusoidales de la corriente en función del tiempo  $I(t)$  con respecto a la variación sinusoidal del potencial aplicado  $V(t)$ . Las Figs. se han tomado de la ref. [ (19)].

**Table 1** Impedance definition, frequency dependence and phase shift of different impedance elements most often used for the description of (bio)electrochemical systems

Impedance element	Definition	Phase angle	Frequency dependence
R	$Z = R$	$0^\circ$	No
C	$Z_C = \frac{1}{j\omega C}$	$90^\circ$	Yes
CPE	$Z_{CPE} = \frac{1}{A(j\omega)^\alpha}$	$0-90^\circ$	Yes
W (infinite)	$Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}(1-j)$  $\sigma = \frac{R \cdot T}{n^2 \cdot F^2 \cdot \sqrt{2}} \left( \frac{1}{\sqrt{D_O \cdot c_O}} + \frac{1}{\sqrt{D_R \cdot c_R}} \right)$	$45^\circ$	Yes
W (finite)	$Z_W = R_0 \frac{\tanh l \cdot \sqrt{j\omega/D}}{l \cdot \sqrt{j\omega/D}}$	$0-45^\circ$	Yes

$\omega$  angular frequency  
 $l$  length of diffusion region  
 $D$  diffusion coefficient  
 $R_0$  diffusion resistance for  $\omega = 0$   
 $c_O, c_R$  concentration of oxidized and reduced species



**Fig. 2** The figure illustrates a series (left) and a parallel circuit (right) of a capacitance and a resistance. The frequency dependence of the impedance is given as a Nyquist plot (above) and Bode plot (below). The overall impedance is the sum of the individual impedance elements in a series circuit whereas the reciprocal impedance (admittance) is the sum of the reciprocal impedances of the individual elements for a parallel circuit

Figura 31. Relaciones básicas de los componentes individuales de los circuitos equivalentes empleados en la interpretación de las medidas EIS (tabla 1). Representaciones Nyquist y Bode de circuitos equivalentes típicos empleados en los ajustes de medidas EIS. Tabla y Fig. tomadas de la ref. [19].

## Listado de las **abreviaturas** más importantes empleadas en esta memoria

- Amplitud de la onda sinusoidal en la variación del potencial en *EIS* ( $\Delta E_a$ )
- Área del pico voltamétrico ( $A_p$ )
- *Bare* (electrodos sin modificar)
- Bisfenol A (BPA)
- Capacitancia de la doble capa dielectrica del ET ( $C_{dl}$ )
- Compuestos disruptores endocrinos (*EDCs*)
- Constante estándar de intercambio de electrones ( $k^\circ$ )
- Corriente del máximo del pico voltamétrico ( $I_p$ )
- Cromatografía líquida de ultra rendimiento- espectroscopia de masas/ espectroscopia de masas (*UPLC MS/MS*)
- Cromatografía líquida de alta resolución- espectroscopia de masas (*HPLC-MS*)
- Cromatografía líquida de alta resolución- espectroscopia de masas- espectroscopia de masas (*HPLC-MS/MS*)
- Diámetro ( $\varnothing$ )
- Dimetilformamida (*DMF*)
- electrodo auxiliar (*EA*)
- Electrodo de carbón vitreo (*GCE*)
- electrodo de referencia (*ER*)
- Electrodo de trabajo (*ET*)
- Electrodo serigrafiado de base carbono (*SCPEs*)
- Elemento de fase constante (*CPE*)
- Espectroscopia de impedancia electroquímica (*EIS*)
- Ferroceno-metanol (*FcMeOH*)
- Impedancia de *Warburg* (*W*)
- Incremento de potencial escalonado en el barrido de potenciales ( $\Delta E$ )
- Microelectrodos de carbón vítreo ( $\mu$ -*GCE*)
- Microelectrodos de platino ( $\mu$ -*PtE*)
- Micropartículas de poliestireno (*PS- $\mu$ Ps*)
- Microplásticos ( $\mu$ *Ps*)
- *Multi-walled carbon nanotubes* (*MW-CNTs*)
- Nanotubos de carbono (*CNTs*)
- Oxido de grafeno (*GO*)
- Poliestireno (*PS*)
- Porcentaje de desviación estándar relativa ( $\%DSR$ )
- Potencial aplicado en *EIS* ( $E_a$ )
- Potencial de electólisis ( $E_e$ )
- Potencial del máximo pico voltamétrico DPV del BPA ( $E_p$ )

- Resistencia de transferencia de carga de la especie electroactiva ( $R_{ct}/R_p$ )
- Resistencia no compensada de la disolución de electrolito soporte ( $R_s$ )
- *Single-walled carbon nanotubes (SW-CNTs)*
- Tiempo de electrólisis ( $t_e$ )
- Velocidad de barrido de potenciales ( $v$ )
- Velocidad de transferencia de masa ( $v_{tm}$ )
- Voltametría cíclica (CV)
- Voltametría diferencial de pulsos (DPV)

## Listado de las Figs. de esta memoria

Figura 1. Voltagramas cíclicos de ferro/ferricianuro (5 mM) obtenidos a distintas velocidades de barrido sobre electrodo SCPE-GO (izda. (A)) y $\mu$ GCE (dcha.(B)).....	12
Figura 2. Voltagramas cíclicos de blanco (azul) y BPA en disolución (10 $\mu$ M) (rojo), sobre un electrodo GCE en 0,10 KCl M como electrolito soporte. Voltagrama cíclico realizado a $v=100$ mV $s^{-1}$ .....	14
Figura 4. Voltagramas DPV a distintas concentraciones de BPA en la disolución (0.5, 10, 20, 50 y 75 $\mu$ M). Electrodo GCE. DPV: $v=8$ mV $s^{-1}$ , $\Delta E_p=25$ mV. Electrolito soporte: KCl 0,10 M.....	15
Figura 5. Valores y curva de calibrado para el electrodo Bare-SCPE.....	15
Figura 6. Valores y curva de calibrado para el electrodo GCE .....	15
Figura 7. Representación del circuito Randles simplificado, que responde a la mayoría de los procesos electródicos que ocurren en una medida voltamétrica. Este circuito proporciona un gráfico Nyquist típico como el representado. ....	18
Figura 8. Circuitos equivalentes típicos empleados para los ajustes de las medidas de impedancia: (a) circuito R(RC); (b) circuito R(Q[RW]); (c) circuito R(RQ). Disolución de medida EIS: electrolito soporte $KClO_4$ 0,10 M.....	19
Figura 9. Gráficos Nyquist de las medidas EIS de una disolución [BPA]=0,5-10 $\mu$ M en $KClO_4$ 0,10 M. Electrodo empleado: (a) SPCE-GO; (b) SPCE-bare;(c) SPCE-MW-CNTs; y (d) SPCE-SW-CNTs. ....	19
Figura 10. Grafico Niquist y parámetros EIS obtenidos con electrodos SPCEs -bare, -SW-CNTs y -MW-CNTs. Circuito equivalente óptimo: R(RQ).....	21
Figura 11. Parámetros EIS obtenidos con electrodos SPCE-GO y el ajuste al circuito equivalente óptimo indicado, según el diseño de la experiencia y los resultados de las medidas EIS.....	22
Figura 12. Circuito equivalente óptimo y Gráfico Niquist de las medidas EIS. Condiciones: ver texto. Electrodo SPCE-GO.....	22
Figura 13. Circuito [R(RQ)] óptimo y gráfico Niquist de las medidas EIS realizadas. Electrodo SPCE-bare.....	23
Figura 14. Gráfico Niquist de las medidas realizadas con electrodos SPCE-MW-CNTs y tabla con los parámetros calculados a partir del circuito óptimo R(C[(RW]) .....	24
Figura 15. Gráfico Niquist de las medidas realizadas con electrodos SPCE-SW-CNTs y tabla con los parámetros calculados a partir del circuito óptimo (R(RQ)).....	24
Figura 16. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-bare. Ver las disoluciones medidas en el texto.....	25
Figura 17. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-GO. Ver las disoluciones medidas en el texto. ....	26
Figura 18. Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de los parámetros EIS con electrodos SPCE-SW-CNTs. Ver las disoluciones medidas en el texto. ....	26

Figura 19.	Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de sus componentes a partir de las medidas EIS de tipo faradaico realizadas en modo OCP. Electrodo SPCE-GO.....	26
Figura 20.	Circuito equivalente de ajuste óptimo y valores calculados de sus componentes a partir de las medidas EIS de tipo capacitativo realizadas en modo OCP. Electrodo SPCE-GO. .	27
Figura 21.	Calibrado en función de la altura de pico ( $i_p$ ) y la concentración de BPA, centrifugado (izq) y sin centrifugar (der) .....	28
Figura 22.	Variación de la concentración en disolución de BPA no adsorbido, una vez puesto en contacto con PS- $\mu$ Ps en los tiempos indicados. ....	28
Figura 23.	Potenciostato Metrohm (Eco-Chemie) $\mu$ Autolab III, utilizado para medidas de voltametría cíclica e impulsional. Incluye un analizador de frecuencias FRA2 para medidas de impedancia electroquímica en frecuencias comprendidas entre 10 kHz y 10 $\mu$ Hz. Incertidumbres en la medida de potencial $\pm 0,1$ mV y de la corriente $\pm 0,1$ nA. ....	1
Figura 24.	Potenciostato unido a la interfase de conexión de electrodos serigrafiados SPCEs DropSens DSC.....	1
Figura 25.	Electrodos serigrafiados de base carbono empleados (SPCEs-bare). El sustrato base cerámico tiene unas dimensiones 33x10x0,5 mm. Los electrodos ET y ER están serigrafiados con tintas de base carbono, mientras que el EA se fabrica con tintas serigrafiables de base Ag o Ag/AgCl según los modelos empleados. La capa dieléctrica queda impresa en color azul, y delimita el espacio de contacto con la disolución depositada para su medida, con un volumen del orden de 10-50 $\mu$ L.....	1
Figura 26.	Vista general del laboratorio de electroanálisis del grupo de investigación consolidado GEAS: Grupo de espectroscopía Analítica y Sensores ( <a href="http://geas.unizar.es">http://geas.unizar.es</a> ). Situado en el Departamento de Química de la Facultad de Ciencias (Universidad de Zaragoza). ....	2
Figura 27.	Propiedades químicas del BPA (tomadas de la referencia [ (2)]). ....	2
Figura 28.	(A) y (B) tubos eppendorf con un microfiltro de poliéster-sulfona modificada, de 0,45 $\mu$ m de tamaño de poro. (C) Centrífuga empleada (Multifuge X1R Centrifuge, Thermo Scientific). ....	3
Figura 29.	Resumen gráfico básico de la técnica EIS: (a) representación de la doble capa eléctrica del ET voltamétrico, modificada por una monocapa sobre su superficie; (b) Circuito equivalente de la situación anterior; (c) Otros posibles circuitos equivalentes que pueden ajustarse a la situación anterior (modificación de la superficie de un ET voltamétrico con una o más monocapas adsorbidas sobre su superficie). Este circuito equivalente (c) con dos interfases en paralelo (la del electrodo y la de la capa modificadora), no obstante, puede simplificarse para ajustarse con un modelo más sencillo; (d) Circuito Randles simplificado, con su correspondiente comportamiento reflejado en el gráfico Nyquist; (e) Circuito RC en el que no se manifiesta (incluso a bajas frecuencias) limitación de la difusión del mediador electroactivo ni variaciones debidas a $R_{ct}$ , y su correspondiente representación Nyquist. Estas Figs. se han tomado de la ref. [ (18)]. ....	4
Figura 30.	Definición básica de la impedancia electroquímica, y su representación como número imaginario que describe los cambios de fase de las variaciones sinusoidales de la corriente en	



función del tiempo  $I(t)$  con respecto a la variación sinusoidal del potencial aplicado  $V(t)$ . Las Figs. se han tomado de la ref. [ (19)]. .....4

Figura 31. Relaciones básicas de los componentes individuales de los circuitos equivalentes empleados en la interpretación de las medidas EIS (tabla 1). Representaciones Nyquist y Bode de circuitos equivalentes típicos empleados en los ajustes de medidas EIS. Tabla y Fig. tomadas de la ref. [ (19)]. .....5

#### Listado de las **tablas** de esta memoria

Tabla 1.: Valores de concentración de BPA empleados para los calibrados con cada electrodo de trabajo estudiado. Varían en función de la sensibilidad obtenida en cada caso. ....10

Tabla 2. Áreas y diámetros teóricos obtenidos a distintas velocidades de barrido en voltametría cíclica aplicando la ecuación de *Randles-Sevcik*. de los distintos electrodos de trabajo caracterizados. ....13

Tabla 4. Comparación de los parámetros de la ecuación lineal de calibrado y LODs en la determinación de BPA con electrodos SPCEs-bare y nanoestructurados con MW-CNTs, SW-CNTs y GO, tanto de las medidas  $i_p$  como  $A_p$ . a: ordenada en el origen,  $\mu A$ ; b: pendiente,  $\mu A\ mM^{-1}$ ; R: coeficiente de regresión (mínimos cuadrados). ....16

Tabla 5.. Parámetros calculados de medidas EIS con distintas concentraciones de BPA, ajustando a un modelo *Randles* (Fig. 10(b)). Disolución: Ferro/ferricianuro 1 mM en  $KClO_4$  0,10 M. Medida EIS:  $E_a = 0\ V$ ;  $\Delta E = 10\ mV$ . Electrodo SPCE-GO. ....20

Tabla 6. Valores del ajuste EIS de los parámetros del circuito  $R(C[(RW)])$ . Condiciones: ver texto. Electrodo SPCE-GO. ....22

Tabla 7. Parámetros de ajuste de las medidas EIS al circuito óptimo  $R(RQ)$ . Electrodo SPCE-bare. ....23

Tabla 8. Reproducibilidad de los parámetros calculados a partir de 3 medidas EIS repetidas de la misma disolución de BPA. Electrodo: SPCE-GO. ....24