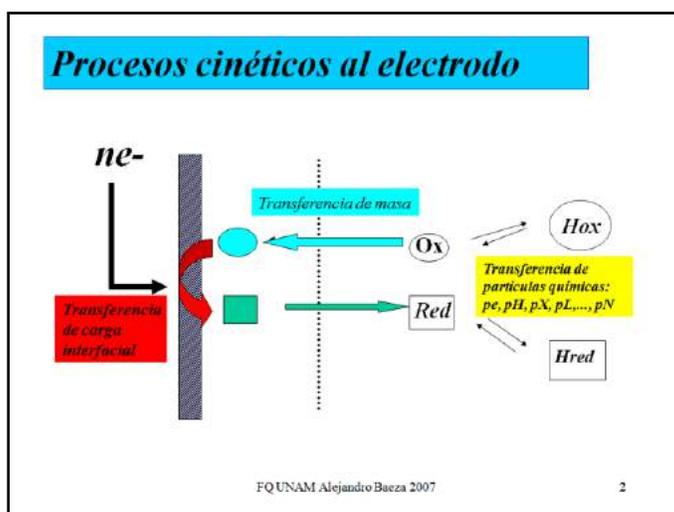


Al aplicar un programa de perturbación sobre una interfase polarizada (electrodo) se obtiene un patrón de respuesta característico de la magnitud y del tiempo de aplicación del programa, de la capacidad cinética de la interfase para intercambiar carga a través de ella y de la limitación por transferencia de masa en condiciones generalmente controladas por la difusión hacia o desde la interfase.

Adicionalmente el patrón de respuesta puede estar modificado por las *reacciones químicas homogéneas* acopladas a la reacción electroquímica manifestándose éstas también al aplicar el programa de perturbación.



El grado de influencia de estas reacciones química acopladas, por tanto de la capacidad de su detección experimental, depende de la combinación sistemática de los tiempos de perturbación y los tiempos en que dichas reacciones ocurren.

Para una reacción química homogénea de primer orden el tiempo en el cual ha reaccionado aproximadamente el 37% es igual a  $t' = (1/k)$  y para una reacción de segundo orden ha reaccionado el 50% para un tiempo igual a  $t' = (1/kC_0)$ .

Para cada técnica electroquímica existe un tiempo,  $\tau$ , a partir del cual se alcanza un estado estacionario sensible a la concentración del electroanalito.

Si  $t' \ll \tau$ , la reacción química acoplada tendrá un gran efecto sobre el patrón de respuesta y viceversa. Este tiempo  $\tau$ , se vuelve entonces un factor discriminante de los mecanismos acoplados y se conoce como "tiempo ventana" de la técnica electroquímica empleada:

**TABLE 12.1.1 Approximate Time Windows for Different Electrochemical Techniques**

Technique	Time parameter	Usual range of parameter <sup>a</sup>	Time window (s) <sup>b</sup>
ac Impedance	$1/\omega = (2\pi f)^{-1}$ (s) ( $f$ = freq. in Hz)	$\omega = 10^{-2} - 10^5 \text{ s}^{-1}$	$10^{-5}$ -100
Rotating disk electrode voltammetry	$1/\omega = (2\pi f)^{-1}$ (s) <sup>c</sup> ( $f$ = rotation rate, in r/s)	$\omega = 30$ -1000 $\text{s}^{-1}$	$10^{-3}$ -0.03
Scanning electrochemical microscopy	$d^2/D$	$d = 10 \text{ nm}$ -10 $\mu\text{m}$	$10^{-7}$ -0.1
Ultramicroelectrode at steady state	$r_0^2/D$	$r_0 = 0.1$ -25 $\mu\text{m}$	$10^{-5}$ -1
Chronopotentiometry	$t$ (s)	$10^{-6}$ -50 s	$10^{-6}$ -50
Chronoamperometry	$\tau$ (Forward phase duration, s)	$10^{-7}$ -10 s	$10^{-7}$ -10
Chronocoulometry	$\tau$ (Forward phase duration, s)	$10^{-7}$ -10 s	$10^{-7}$ -10
Linear scan voltammetry	$RT/Fv$ (s)	$v = 0.02$ -10 <sup>6</sup> V/s	$10^{-7}$ -1
Cyclic voltammetry	$RT/Fv$ (s)	$v = 0.02$ -10 <sup>6</sup> V/s	$10^{-7}$ -1
dc Polarography	$t_{\text{max}}$ (drop time, s)	1-5 s	1-5
Coulometry	$t$ (electrolysis duration, s)	100-3000 s	100-3000
Macroscopic electrolysis	$t$ (electrolysis duration, s)	100-3000 s	100-3000

<sup>a</sup>This represents a readily available range; these limits can often be extended to shorter times under favorable conditions. For example, potential and current steps in the nanosecond range and potential sweeps above 10<sup>6</sup> V/s have been reported.

<sup>b</sup>This time window should be considered only approximate. A better description of the conditions under which a chemical reaction will cause a perturbation of the electrochemical response can be given in terms of the dimensionless rate parameter,  $\lambda$ , discussed in Section 12.3.

<sup>c</sup>This is sometimes also given in a term that includes the kinematic viscosity,  $\nu$ , and diffusion coefficient,  $D$ , (both with units of cm<sup>2</sup>/s), such as,  $(1.61)^2 \nu^{1/2} / (\omega D^{1/3})$ .

Para cada técnica se ha reportado en la literatura las ecuaciones que relacionan el E, I y los parámetros cinéticos de la reacción química acoplada. Estas ecuaciones pueden servir para hacer análisis teórico de “*fitting*” y determinar información termodinámica y cinética de la reacción química acoplada *ajustando* las mediciones procesadas del patrón de respuesta a un comportamiento determinado para diversas valores de k, y sendos parámetros de tiempo dependiendo de la técnica empleada, para ello es muy útil *adimensionar* esta información, *parámetros*  $\lambda$ , y representarla en **DIAGRAMAS DE PREDOMINIO CINÉTICO**.

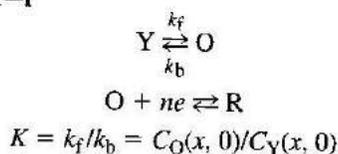
**TABLE 12.3.1 Dimensionless Parameters for Various Methods**

Technique	Time parameter(s)	Dimensionless kinetic parameter, $\lambda$ , for		
		$C_r E_r$	$E_r C_i$	$E_r C_i'$
Chronoamperometry and polarography	$t$	$(k_f + k_b)t$	$kt$	$k' C_Z^* t$
Linear sweep and cyclic voltammetry	$1/v$	$\frac{(k_f + k_b)}{v} \left( \frac{RT}{nF} \right)$	$\frac{k}{v} \left( \frac{RT}{nF} \right)$	$\frac{k' C_Z^*}{v} \left( \frac{RT}{nF} \right)$
Chronopotentiometry	$\tau$	$(k_f + k_b)\tau$	$k\tau$	$k' C_Z^* \tau$
Rotating disk electrode	$1/\omega$	$(k_f + k_b)/\omega^{\alpha}$	$k/\omega$	$k' C_Z^* \omega$

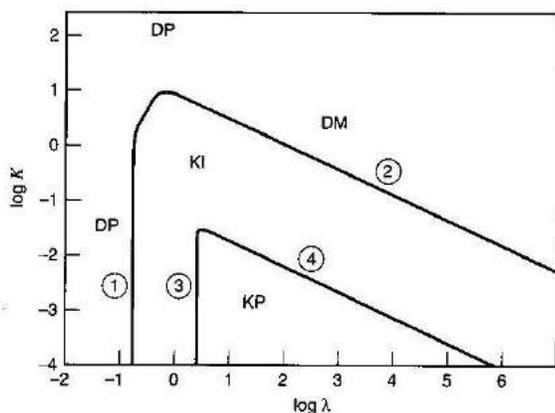
<sup>a</sup>Or  $\delta/\mu = 1.61 k^{1/2} \nu^{1/6} / \omega^{1/2} D^{1/6}$ .

Por ejemplo para un mecanismo  $C_rE_r$  :

### 12.3.1 Preceding Reaction— $C_rE_r$



se genera el Diagrama de Predominio Cinético que relaciona el parámetro  $\lambda$  y el  $\log K_f$  de la reacción química acoplada precedente:



**Figure 12.3.1**  $C_rE_r$  reaction diagram with zones for different types of electrochemical behavior as a function of  $K$  and  $\lambda$  (defined in Table 12.3.1). The zones are DP, pure diffusion; DM, diffusion modified by equilibrium constant of preceding reaction; KP, pure kinetics; and KI, intermediate kinetics. The circled numbers correspond to the boundaries calculated in Section 12.3.1(c). [Adapted with permission from J.-M. Savéant and E. Vianello, *Electrochim. Acta*, **8**, 905 (1963). Copyright 1963, Pergamon Press PLC.]

#### Ejemplo 1

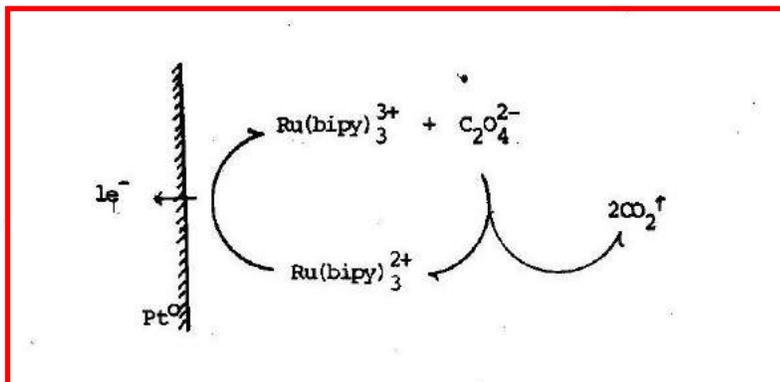
El ácido oxálico es muy importante para el metabolismo vegetal. La forma de cuantificarlo es por HPLC. Por vía electroquímica se ha propuesto su electrooxidación directa en forma sólida con electrodos de pasta de carbón o bien detectar la luz generada por la reacción química acoplada entre el Ru(III)bipy electrogenerado y el oxalato en solución mediante un mecanismo catalítico  $EC'$ .

Para ello es necesario caracterizar los procesos involucrados en el mecanismo. Se emplea un estudio voltamperométrico para generar el Diagrama de Predominio Cinético y determinar las condiciones electroanalíticas para la detección cuantificación en condiciones de predominio de la reacción química acoplada.

la corriente de electrólisis en la detección de los oxalatos sino la luz generada por la reacción del rutenio (II) oxidado con los oxalatos lo cual lleva a la necesidad de la detección con un fotodetector potente (fotomultiplicador Hamamatsu R928 a 700V de trabajo).

La propuesta de este primer trabajo de Tesis se basa en los siguientes hechos:

- es posible oxidar al Ru(II) a Ru(III) sobre electrodos de platino o carbón de manera reproducible.
- la reacción entre Ru(III) electrogenerado y el  $C_2O_4^{2-}$  es selectiva y rápida.
- El proceso reaccional al electrodo obedece a un mecanismo  $E_r C_i'$  (reacción electroquímica y posterior reacción química regenerando a la especie electroactiva; mecanismo electrocatalítico):



- bajo condiciones electroquímicas controladas (cinética controlada) para los mecanismos  $EC'$  la corriente de electrólisis se presenta proporcional a la concentración del analito que reacciona con la especie electrogenerada.

Lo que se propone básicamente se basa en el punto (d) arriba mencionado ya que permite conservar la especificidad de las reacciones pero evita el uso del detector de luz ya que no se mide la luz emitida de la reacción química acoplada sino la corriente de electrólisis CAUSADA por la presencia del oxalato.

### I.3 Objetivos.

De lo propuesto en apartados anteriores se puede plantear como objetivo general el corroborar la hipótesis de trabajo haciendo incapié en la determinación de las condiciones cinéticas electroquímicas que permitan proponer el diseño de curvas de calibración para dosificar oxalatos en solución.

Para lograr el objetivo general se proponen los siguientes objetivos específicos:

- a) Caracterizar el comportamiento electroquímico del Ru(II) en ausencia de oxalatos en las celdas de trabajo. Esta caracterización se refiere a definir la cinética de la oxidación del Ru(II).
- b) Caracterizar el comportamiento electroquímico del Ru(II) bajo el mecanismo EC' en presencia de  $C_2O_4^{2-}$ . Esta caracterización se refiere a definir la cinética de la reacción química acoplada y el intervalo de concentraciones de oxalato que definen el estado cinético predominante.
- c) Determinar la curva de calibración  $\Delta I_p^a = f(C_2O_4^{2-})$  e ilustrar su potencial utilidad en la dosificación de oxalatos en un extracto vegetal.

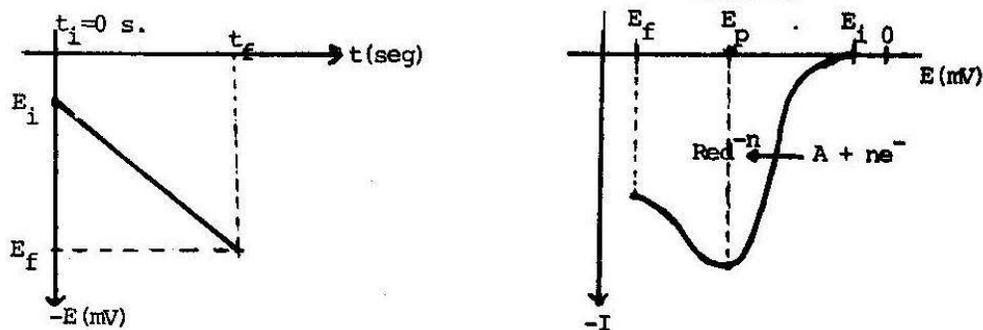
Es conveniente hacer notar que no es objetivo de este primer trabajo poner a punto la técnica de dosificación de oxalatos por una reacción electrocatalítica ya que esto requiere un trabajo a profundidad posterior. El estudio presente si bien es básico es necesariamente previo a la puesta a punto de cualquier técnica en electroanálisis.

## II.2 Voltamperometría de barrido lineal y triangular en RDP.

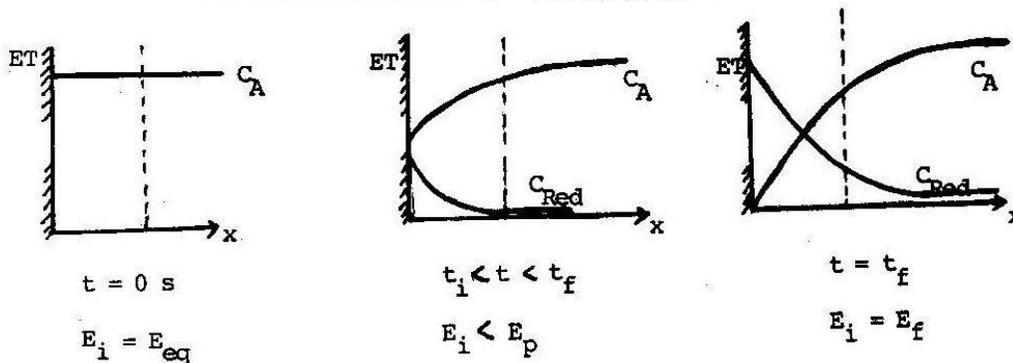
Dado que la metodología que lleva a corroborar la hipótesis de trabajo en esta tesis es la voltamperometría de barrido lineal (VA) y de barrido triangular (VR), en esta sección se describen las relaciones funcionales entre la corriente, el potencial y la concentración para un sistema electroquímico en ausencia de reacciones químicas acopladas, esto es, sólo se considerará el aporte difusional y la rapidez de la reacción electroquímica en los procesos reaccionales.

### Principios del método.

Una vez establecidas las condiciones generales para realizar una reacción electroquímica con todas sus condicionantes, ver sección II.1, se comienza por imponer la perturbación con una rapidez de cambio constante. En efecto la imposición del potencial se realiza a una rapidez constante y con un sentido determinado hacia potenciales más negativos o más positivos. Se dice que se efectúa un barrido de potencial de manera lineal en sentido catódico o anódico. Las siguientes figuras muestran la variación del potencial, el voltamperograma obtenido y el perfil de concentraciones de las especies en la interfase durante la realización de la voltamperometría VA: Reacción de reducción con barrido lineal catódico:



"x" es la distancia efectiva al electrodo.



En todo momento el potencial impuesto,  $E_i$ , estará dado por la velocidad de barrido de potencial,  $v$  (mV/s), según:

$$E_i = E_{eq} - vt$$

La concentración de A y la concentración de Red producido se distribuirá a lo largo de la disolución de acuerdo a sus patrones de difusión (recordar que la transferencia de masa por migración se ha mantenido constante, y que en VA en RDP la transferencia por convección es cero), y estas concentraciones estarán definidas por las coordenadas  $(x,t)$  (distancia al electrodo, y tiempo de barrido de potencial).

Si la reacción electroquímica es rápida, esto es la transferencia de electrones es rápida en la interfase electrodo-disolución, puede establecerse que el potencial del electrodo viene dado por la relación de Nernst (12):

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_A(o,t)}{C_{Red}(o,t)}$$

donde:

$E$  = potencial del electrodo ( voltios, V ).

$E^{\circ}$  = potencial estándar del par A/Red

$R$  = constante de los gases, 8.32 J/grad·mol

$T$  = temperatura, (grados Kelvin).

$n$  = número de electrones intercambiados

$F$  = valor del Faradio, 96500 culombios/equiv.

$C_A(o,t)$  = concentración de A al electrodo a un tiempo  $t$ .  
(mol/cc.)

$C_{Red}(o,t)$  = concentración de Red al electrodo a un tiempo  $t$ .  
(mol/cc.)

De la expresión de Nernst puede deducirse que la relación de concentración de A/Red dependerá del tiempo de imposición de potencial:

$$C_A(o,t)/C_{red}(o,t) = e^{(nF/RT)(E_{eq}-vt - E^{\circ})}$$

La velocidad de electrólisis dependerá sobre todo de la velocidad de difusión de A a la interfase ya que como se ha dicho la reacción es rápida y en consecuencia la transferencia de electrones no limita la velocidad de la reacción electroquímica. En efecto dependiendo de la velocidad de difusión se puede establecer la corriente de electrólisis para cualquier potencial impuesto  $E_{eq}-vt$ . Ya en 1855 Fick establece las leyes generales

del transporte de masa provocado por un gradiente de concentración. En el caso de una reacción al electrodo la variación de la concentración en el tiempo será:

$$\frac{\partial C_A(x,t)}{\partial t} = D_0 \frac{\partial^2 C_A(x,t)}{\partial x^2}$$

donde  $D_0$  = coeficiente de difusión de A, ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ).  
 $x$  = distancia al electrodo.

Por lo tanto la resolución de la ecuación diferencial mostrada arriba lleva a establecer la concentración de A y Red y en consecuencia al establecimiento de la corriente de electrólisis.

En 1948 A. Ševičk y J. E. Randles (14,15) propusieron la resolución a la ecuación diferencial bajo las siguientes condiciones de frontera:

a) a  $t = 0$ ,  $x \geq 0$  (al inicio y lejos del electrodo):

$$C_A(x,0) = C_A^* \quad \text{y} \quad C_{\text{Red}}(x,0) = C_{\text{Red}}^* = 0$$

el asterisco denota las concentraciones en el seno de la disolución y corresponden a las concentraciones analíticas molares.

b) a  $t > 0$ ,  $x \rightarrow \infty$  (comenzado el barrido y lejos del electrodo):

$$C_A \rightarrow C_A^* \quad C_{\text{Red}} \rightarrow 0$$

c)  $t > 0$ ,  $x = 0$  (comenzada la electrólisis y cerca del electrodo, i.e. en la interfase E/S):

$$D_0 \left( \frac{\partial C_A}{\partial x} \right) = -D_{\text{Red}} \left( \frac{\partial C_{\text{Red}}}{\partial x} \right)$$

$$C_A/C_{\text{Red}} = e^{(nF/RT)(E_1 - E^0)} \quad (\text{sistema rápido}).$$

La solución encontrada por medio de una Transformada de Laplace y aplicando las condiciones de frontera arriba descritas, llevó a los autores a la siguiente expresión:

$$i = nFA C_A^* (\pi D_0 v)^{1/2} X(st) \quad (\text{II.1})$$

donde:

$$st = \frac{nF}{RT} vt \quad (v = \text{velocidad de barrido de potencial, V/s}).$$

y  $X(st)$  es una función numérica que se evalúa para cada caso. Valores de  $X(st)$  han sido propuestos en general por diversos autores utilizando series o bien

en términos de una integral evaluada numericamente. Nicholson y Shain (16), reportan como consecuencia de estos cálculos una tabla de valores de  $X(st)$  en función de  $n(E-E_{1/2})$  ( $E_{1/2}$  = potencial de media onda). Con estos valores se llega a que la función  $\pi^{1/2}X(st)$  alcanza un máximo que corresponde a la corriente de pico que se obtiene en los voltamperogramas ya mostrados anteriormente. Este máximo se presenta para un valor de  $-\pi^{1/2}X(st)\pi^{1/2} = 0.4463$  y  $n(E_p - E_{1/2}) = -28.5$  mV, la ecuación II.1 toma el valor particular de la corriente de pico igual a:

$$i_p = 0.4463 nFA C_A^* \left(\frac{nF}{RT}\right)^{1/2} v^{1/2} D_{oA}^{1/2} \quad (II.2)$$

conocida como la ecuación de Randles-Ševičk que a 25° C toma la forma de:

$$i_p^C = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D_{oA}^{1/2} v^{1/2} C_A^* \quad (II.3)$$

donde:

$i_p^C$  = corriente de pico catódico (amperios)

$n$  = número de electrones intercambiados.

$A$  = área del electrodo ( $\text{cm}^2$ )

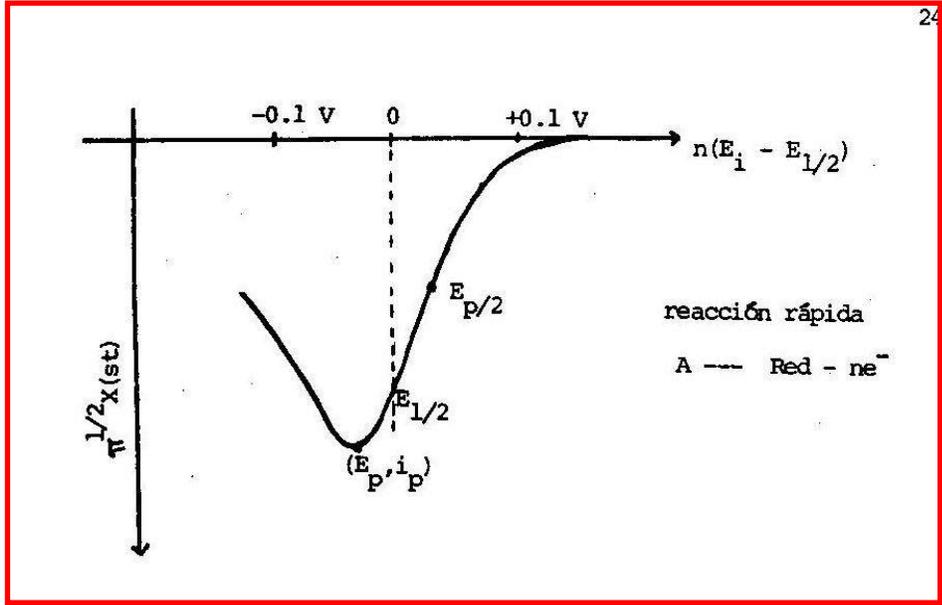
$D_{oA}$  = coeficiente de difusión de A ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

$v$  = velocidad de barrido de potencial (V/s)

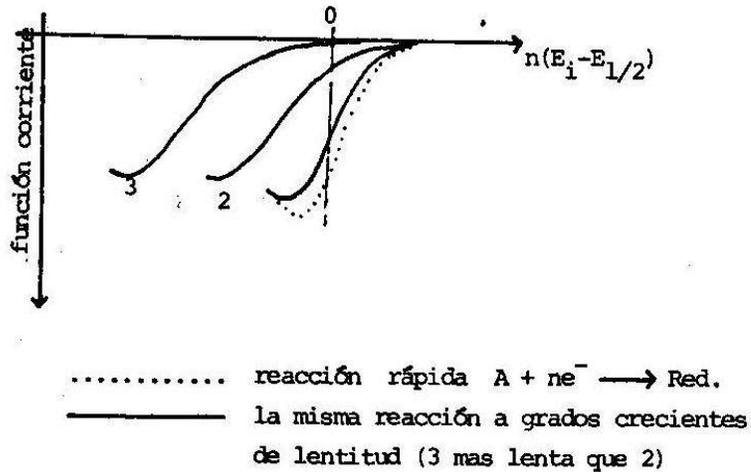
$C_A^*$  = concentración analítica de A en el seno de la disolución ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ).

Se dice que una reacción electroquímica en un proceso reaccional dado que se comporta como lo predice la ecuación de Randles-Ševičk, sigue un comportamiento de un proceso controlado por la difusión y de cinética rápida al electrodo y es una primera evidencia de que no hay reacciones químicas acopladas (lo anterior es una condición necesaria pero no suficiente). Entonces para una reacción electroquímica, la corriente de pico seguirá un comportamiento lineal con la velocidad de barrido según  $v^{1/2}$ , o bien con respecto a  $C_A^*$ .

Con todo lo anterior es posible caracterizar correctamente un voltamperograma para una reacción electroquímica rápida en ausencia de reacciones químicas acopladas obtenido por VA:



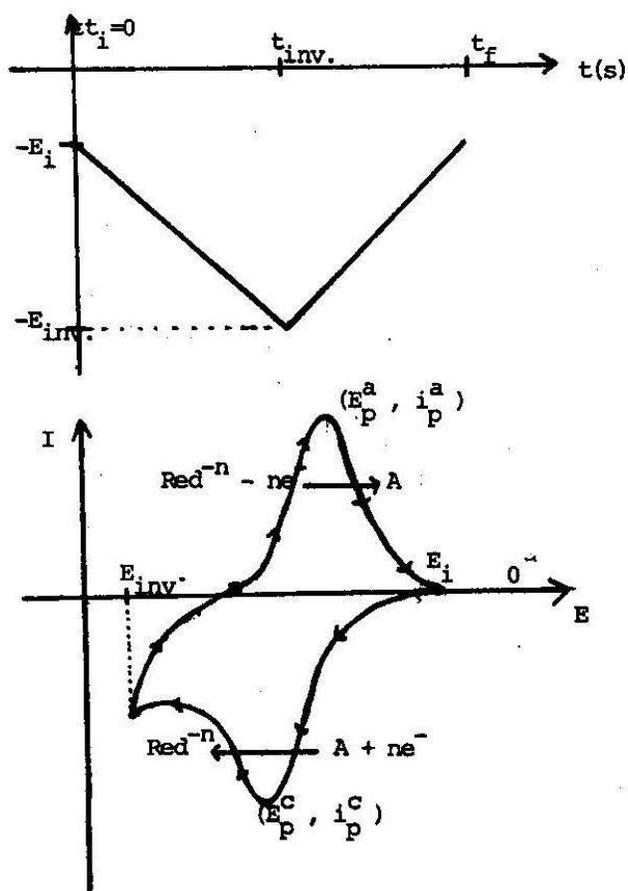
Es conveniente hacer notar que todo lo expuesto es válido solo si el sistema es rápido, de lo contrario el tratamiento cambia y las expresiones de Randles-Sěvičk también. A modo de ejemplo comparativo se muestran los voltamperogramas que se obtienen teóricamente de un sistema de cinética rápida y varios de creciente aumento de lentitud según Matsuda y colaboradores (17):



Ya que la oxidación de Ru(II)  $\rightarrow$  Ru(III) ha sido demostrada como rápida (10) no se ahonda en el tratamiento de los sistemas VA lentos.

El tratamiento desarrollado para la voltamperometría de barrido lineal, VA, es extrapolable a la voltamperometría de barrido triangular o cíclica en RDP, (VR).

En efecto la voltamperometría cíclica o mas bien la voltamperometría en RDP de barrido de potencial triangular de uno o más ciclos, consisten en imponer un potencial a velocidad constante como en VA, pero al llegar a un valor de potencial conveniente, llamado  $E_{inv.}$ , potencial de inversión, se invierte justamente el sentido del barrido de potencial a la misma o a diferente velocidad de barrido. Las siguientes figuras muestran la variación de potencial realizado, el voltamperograma obtenido después de un ciclo para una reacción de reducción rápida y en ausencia de reacciones químicas acopladas:



donde :  $E_p^a$  = potencial de pico anódico  
 $i_p^a$  = corriente de pico anódica.  
 $E_p^c$  = potencial de pico catódico  
 $i_p^c$  = corriente de pico catódica

La ecuación de Randles-Sevcik se cumple igual para la reducción y como una hipótesis aproximada también se cumple para la reacción que ocurre de regreso (en este ejemplo la oxidación de Red producido), si el sistema es rápido y no hay reacciones químicas acopladas, i.e. el sistema esta regido por la difusión.

En las condiciones mencionadas arriba es útil mencionar que (18):

$$(i_p^a/i_p^c) = 1 \quad \text{y} \quad E_p^a - E_p^c = 60 \text{ mV} / n \quad (\text{a } 25^\circ\text{C}).$$

$$(E_p^a + E_p^c)/2 = E_{A/Red}^0.$$

La voltamperometría en RDP de barrido triangular es muy útil en la evaluación de la constante heterogénea de transferencia de carga,  $k^0$ , que caracteriza a una reacción electroquímica como rápida, casi-rápida o lenta. En efecto Nicholson reporta que existe una relación entre los parámetros de difusión, de barrido de potencial y una función Y evaluada teóricamente y reportada por este autor (21):

$$Y = \frac{k^0}{\left[ D_{O,A} \nu (nF/RT) \right]^{1/2}}$$

La función Y depende de  $n(E_p^a - E_p^c)$  por ejemplo (21):

Y	$n(E_p^a - E_p^c)$
20	61
7	63
6	64
4	66
2	72
0.5	105
0.1	212

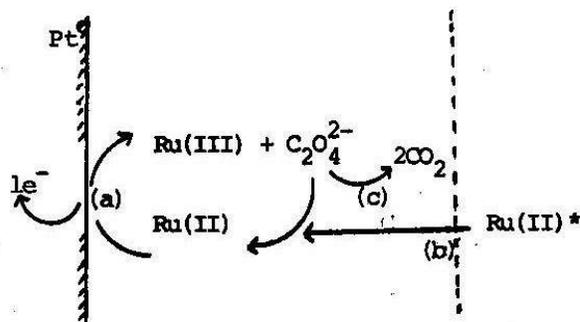
De esta manera si se evalúa el valor de  $D_{O,A}$  en el medio de trabajo puede determinarse  $k^0$  y reportar un valor que puede caracterizar la rapidez del intercambio de electrones en la interfase electrodo-disolución.

### II.3 Reacciones químicas acopladas catalíticas.

En la sección anterior se han deducido las relaciones que rigen una reacción electroquímica rápida controlada por la difusión y en ausencia de reacciones químicas. La presencia de tales reacciones acopladas al intercambio de electrones modifica la respuesta del sistema electroquímico a la imposición lineal o triangular del potencial.

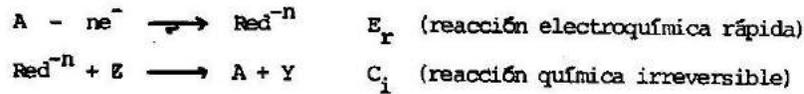
La teoría involucrada en los sistemas con reacciones químicas acopladas, i.e. en un proceso reaccional complejo, es tratado con profundidad por Nicholson y Shain (16) y por Galus (19) para diversos casos.

En esta sección se trata el estudio de un mecanismo  $E_r C_i^1$ , reacción - electroquímica rápida y posterior reacción química irreversible que regenera a la especie electroactiva. Esto es el proceso reaccional esta determinado por (ver sección I.2, propuesta de trabajo):



- (a) Cinética de transferencia de carga: Dado que la oxidación es de cinética rápida este evento del proceso global prácticamente no limitará la velocidad de la reacción salvo muy al principio de la electrólisis.
- (b) Cinética de transferencia de masa por difusión. Como ya se ha establecido este evento condiciona importantemente la velocidad de electrólisis y su aporte viene dado por la ley de Randles-Ševičk.
- (c) Cinética de la reacción química homogénea acoplada al intercambio de electrones. Esta velocidad de reacción condiciona fuertemente la velocidad de electrólisis, i.e. la corriente medida cambiará en función de  $C_{C_2O_4^{2-}}$  y del modo en que se aplica la perturbación del  $E_i$ .

El esquema general de este proceso electroquímico es:



Nicolson y Shain (16) basados en trabajos previos realizados por Savéant y Vianello (20), han establecido y resuelto las ecuaciones diferenciales que corresponden a la corriente de difusión medida y modificada por la presencia de la reacción química acoplada:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = D_{O_A} \left( \frac{\partial^2 C_A}{\partial x^2} \right) \quad \text{y} \quad \frac{\partial C_{\text{Red}}}{\partial t} = D_{O_{\text{Red}}} \left( \frac{\partial^2 C_{\text{Red}}}{\partial x^2} \right) - k' C_{\text{Red}}$$

como se puede observar a diferencia de la reacción electroquímica en ausencia de la reacción química, el patrón de difusión difiere por el término de  $k' C_{\text{RED}}$  donde  $k'$  es la constante cinética de reacción química acoplada. Esta constante depende de la concentración de  $\text{Red}^{-n}$  y de  $Z$  en solución por lo que es una reacción bimolecular, a menos que uno de los dos este en concentración aproximadamente constante durante el proceso, para crear un pseudoorden.

Los autores mencionados proponen el estudio del proceso global catalítico en términos de un parámetro cinético adimensional,  $K$ , que relaciona todas las variables que modifican la corriente medida de difusión:

$$K = \frac{k' C_Z^* RT}{v nF} = k' C_Z^* t$$

donde:  $K$  = parámetro cinético adimensional.

$k'$  = constante cinética homogénea de la reacción química acoplada.

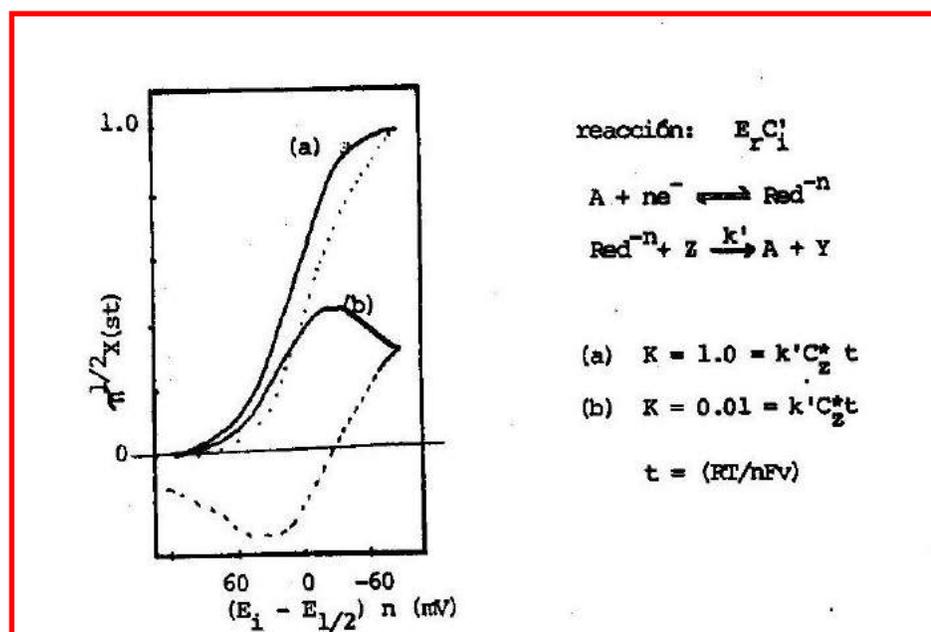
$C_Z^*$  = concentración de  $Z$  en solución (en este trabajo  $C_2O_4^{2-}$ ).

$t = (RT/nFv)$ , parámetro de "tiempo de ventana", (seg).

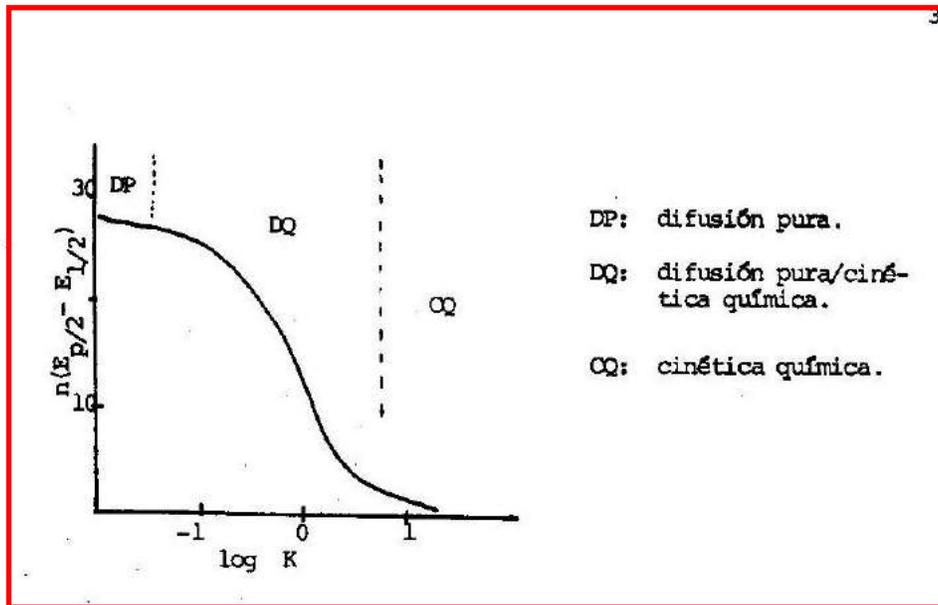
NOTA: Se dice que el tiempo ventana es el intervalo de tiempo dentro del cual debe situarse el tiempo de imposición de potencial para cada método electroquímico para poder detectar las modificaciones que la reacción química acoplada cause. Por supuesto la elección de la técnica de estudio dependerá de la velocidad de la reacción química acoplada y en consecuencia del tiempo ventana asociado. Para VA el tiempo ventana es del orden de  $10^{-4}$  a 1 segundo por lo que esta técnica es adecuada para estudiar reacciones acopladas rápidas ( $k' \approx 10^4$ ).

La influencia de la reacción química acoplada se estudia mediante la forma de los voltamperogramas obtenidos por VA y VR haciendo variar tanto la velocidad de barrido,  $v$ , o bien  $C_2^*$  para una reacción química establecida ( $k'$  dada). Esta influencia es predecible por los llamados criterios de Nicholson y Shain (16) que establecen que para un mecanismo  $E_r C_1$  la variación del cociente de pico anódico y catódico no se altera permaneciendo igual a la unidad y que la diferencia de potenciales de pico anódico y catódico tiende a disminuir.

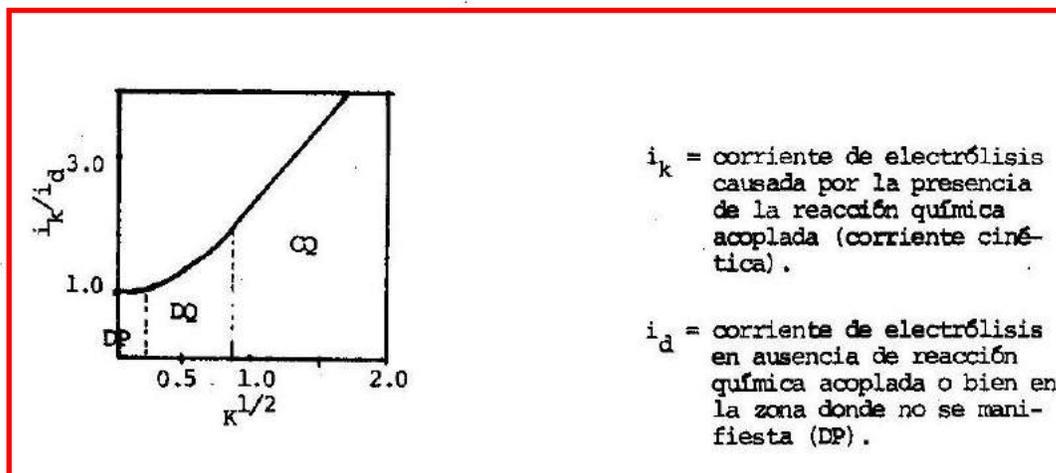
Para caracterizar en general el proceso se ilustrarán los cambios que ocurren con los voltamperogramas por medio de la función corriente ya definida en la sección II.2 así como por medio del parámetro cinético  $K$  (16):



La gráfica anterior significa que si  $k'$  es muy pequeña y/o  $C_2^*$  es prácticamente cero o la velocidad de barrido muy alta, entonces  $K$  tiende a cero y la influencia de la reacción química acoplada será muy pequeña, i.e. el voltamperograma que se obtiene es aquel que predice la ley de Randles-Ševčík simple, se dice que en estas condiciones solo predomina el control del proceso por difusión. Por el contrario si  $K$  es grande ya sea porque la reacción química acoplada es muy rápida,  $k'$  grande, o la concentración de  $Z$  es muy alta en solución y/o la velocidad de barrido es muy lenta, entonces la influencia de la reacción química acoplada determinará la velocidad del proceso global y esta reacción predominará sobre la difusión pura.



Esta diagrama representa como varía la diferencia de potencial de medio pico y de media onda con respecto a  $\log K$  y muestra aquellos valores de  $K$  ( $K$  muy pequeño) donde la reacción química acoplada no tiene influencia predominando el control por difusión pura; muestra también la zona en donde  $K$  es muy grande representando el estado en donde la reacción química controla el proceso global, se dice que se esta bajo control cinético.



El diagrama anterior muestra LAS ZONAS DE DOMINIO DE ESTADO ELECTROQUIMICO para el mecanismo  $E_R C_i^*$  estudiado y señala las condiciones que deben de cumplirse para que la corriente de difusión de la reacción electroquímica se modifique por la reacción química acoplada, i.e. los valores de  $K$  ( $k'$ ,  $v$  o  $C_2^*$ ).

Los autores mencionados han mostrado que la corriente de electrólisis en la zona donde existe competencia entre la velocidad de difusión y la velocidad de reacción química acoplada, es decir para potenciales iguales o mayores a  $E_p$ , la corriente se vuelve dependiente de la reacción química acoplada, i.e.  $i_d \rightarrow i_k$ , y viene dada por (16):

$$i_k = nFA C_A^* (D_0 k' C_2^*)^{1/2}$$

Si se retoma la ecuación de Randles-Ševičk en ausencia de reacción química acoplada, se tendrá (19):

$$\frac{i_k}{i_d} = \frac{k^{1/2} C_2^{1/2}}{0.44 t^{-1/2}} \quad t = (RT/nFv).$$

Resumiendo lo tratado en la sección II.2 y II.3 se puede decir que el proceso electroquímico global de la reacción de oxidación de Ru(II) en presencia de oxalatos, estará controlado por la concentración de los oxalatos en solución. Al adicionar oxalatos se espera que aumente la corriente de difusión que se obtiene en ausencia de éstos. El aumento en la corriente por adición de los oxalatos es proporcional a la concentración de oxalatos adicionada y tendrá un comportamiento predicho por la gráfica  $(i_k/i_d) = f(K^{1/2})$ .

La ecuación general de este mecanismo muestra la influencia de los tres eventos cinéticos que limitan la reacción electroquímica que ya se habían planteado (19):

evento principal: reacción electroquímica  $A + ne^- \rightarrow Red^{-n}$

eventos condicionantes:

- a) cinética de transferencia de electrones.
- b) cinética de transferencia de masa por difusión.
- c) cinética de la reacción química acoplada.

En el esquema siguiente se muestra la ecuación general (19) y los términos que representan cada estado cinético;

$$i_k = \frac{(nFA D_o^{1/2} C_A^*) (k' C_2^* / 2)}{1 + e^{(nF/RT)(E_i - E_{1/2})}}$$

(b) aporte de la cinética de transporte por difusión.

(a) aporte de la cinética electroquímica rápida.

(c) aporte de la reacción química acoplada.

Dependiendo en que valor de  $K$  se encuentre el sistema predominarán los términos (a) y (b) (zona DP) o bien predominarán los términos (b) y (c) (zona CQ), esto es:

$$\text{zona DP} \quad i_k/i_d = 1$$

$$\text{zona CQ} \quad i_k/i_d > 1$$

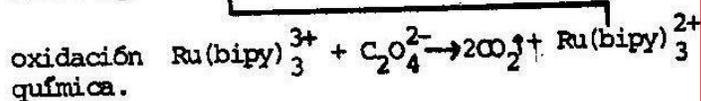
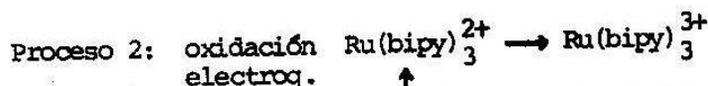
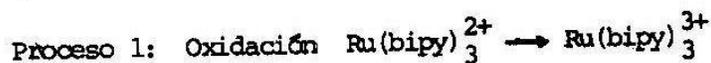
o bien para ciertos valores de  $K$  no habrá predominio y ambos términos (a,b) y (c) serán predominantes.

### III.0 TRABAJO EXPERIMENTAL.

#### III.1 Estrategia experimental.

Considerando los objetivos planteados en la sección 1.3 se propone la siguiente estrategia de trabajo:

Dado que los procesos reaccionales a estudiar son:



Entonces se realizarán los siguientes experimentos:

VR : para caracterizar el proceso 1; determinar  $k^0$  de la oxidación electroquímica y el intervalo de velocidad de barrido de potencial donde el proceso está controlado por la difusión. Determinar  $D_0$  de  $\text{Ru}(\text{II})(\text{bipy})_3^{3+}$  al corroborar la ley de Randles-Ševičk.

VA y VR : para caracterizar el proceso 2: determinar la influencia del medio reaccional y demostrar la inactividad de los oxalatos al electrodo. Verificar la relación de corrientes de pico anódica y catódica para corroborar el mecanismo EC'. Determinar las zonas de dominio de estados electroquímicos. Obtener la relación  $\Delta I_p = f(\text{C}_2\text{O}_4^{2-})$ : ilustrar su utilidad en la cuantificación de oxalatos.<sup>4</sup>  
Determinar  $k'$ .

El medio reaccional químico se fijará en un valor de pH adecuado con disoluciones reguladoras del pH.

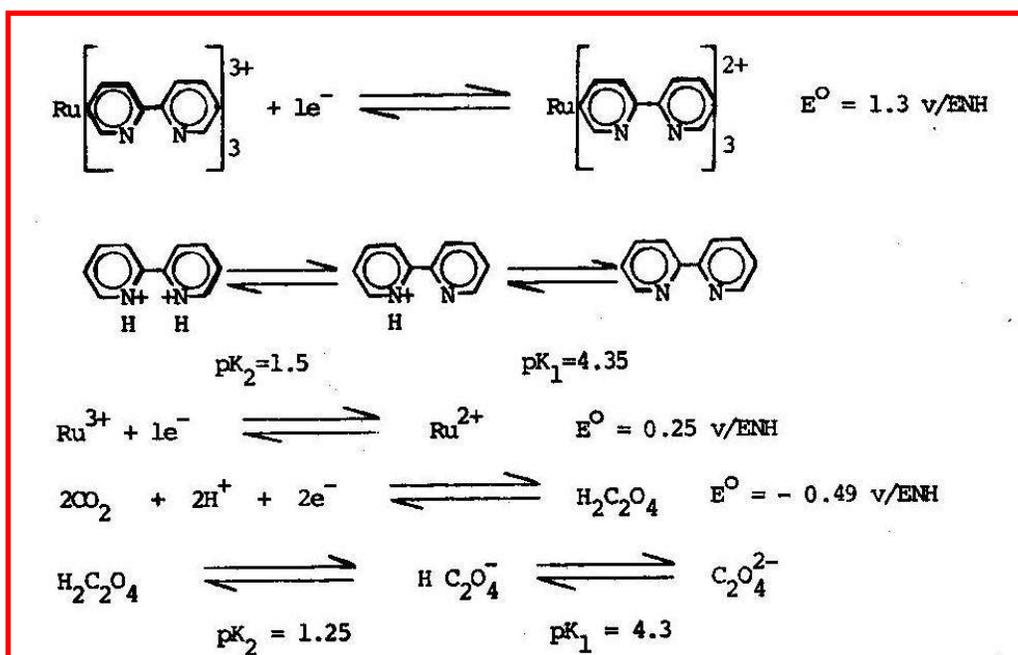
### III.2 Analitos y medios reaccionales.

#### III.2.1 El compuesto de Ru(II) y $C_2O_4^{2-}$ .

Se trabaja con el compuesto Ru(II)  $(bipy)_3Cl_2$  sintetizado por la Dra. Lena Ruiz y colaboradores según la técnica descrita en la literatura (22,26). El compuesto presenta un color anaranjado y es estable en solución ligeramente ácida. Para conocer los detalles de la síntesis consultar el anexo - de este trabajo.

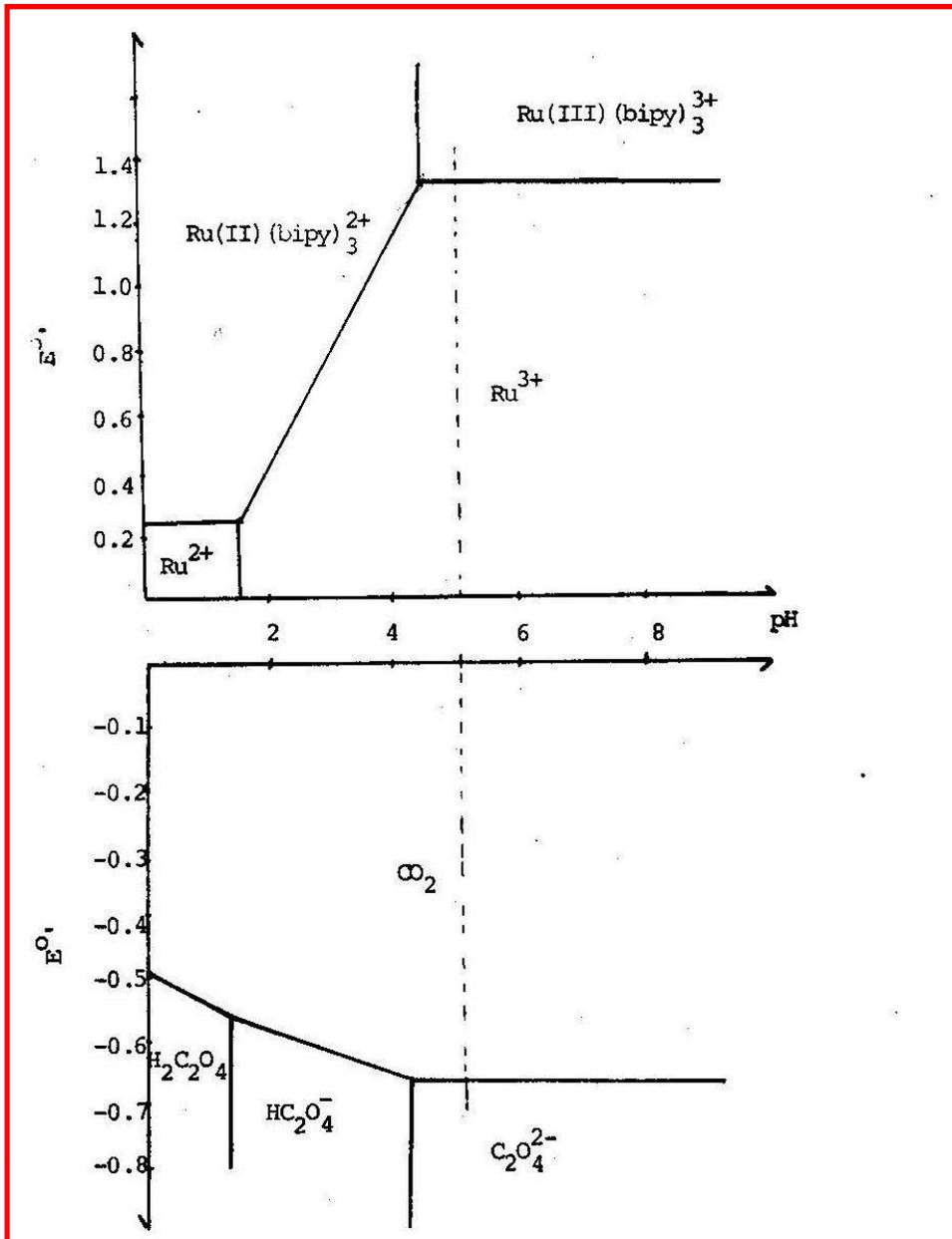
El  $C_2O_4^{2-}$  se prepara a partir de oxalato de sodio,  $Na_2C_2O_4$  R.A.

De la información disponible en la literatura se puede deducir la información necesaria para elegir el pH de trabajo. Efecto se conoce la siguiente información (5), (6).



Con esta información se pueden trazar los diagramas de zona de dominio - potencial / pH y deducir el intervalo de pH de trabajo. Hay que hacer no tar que el Ru(II) y Ru(III) son cationes en solución acuosa muy ácidos - lo que provoca que se formen complejos hidróxido insolubles que fácilmente llevan a la formación de complejos polinucleares, también insolubles. Sin embargo la coordinación con el ligante 2:2'-bipiridina, estabiliza - estos grados de oxidación; sobretodo el grado de oxidación (II), lo cual permite tener en solución estos complejos.

diagramas generalizados de interés son los siguientes:



Dado que el Ru(II) y el Ru(III) no forman complejos con los iones acetato, se ha seleccionado como medio reaccional químico un amortiguador de acetato de sodio/ácido acético  $C_0 = 0.5$  M y de pH = 5.0. La capacidad amox

tiguadora de tal disolución es 0.2731 M/pH. En lo sucesivo se nombrará a tal disolución con el membrete de: AcBS/5 .

Las disoluciones de trabajo son: Ru(II) = 20 mM en AcBS/5 y  $C_2O_4^{2-}$  = 10 mM en AcBS/5 .

En tal medio reaccional el oxalato reacciona cuantitativamente con el Ru(III). La reacción es espontánea:

$$\text{a pH}=5.0 \quad E^{\circ}_{\text{Ru(III)/Ru(II)}} = 1.3 \text{ v/ENH}$$

$$E^{\circ}_{\text{CO}_2/\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = -0.66 \text{ v/ENH}$$

$$\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ} = -(2)(23,063.0)(1.3+0.66) = -91.62 \text{ Kcal/mol. (23).}$$

En consecuencia el medio reaccional no interfiere en el mecanismo EC'.

### III.2.2 Las celdas de trabajo.

Se trabaja con dos celdas, una de simple fabricación y una de composición habitual en electroquímica. La finalidad es mostrar que el control del proceso reaccional permite obtener voltamperogramas aún en celdas de fácil construcción.

Las figuras III.a y III.b muestran las dos celdas de trabajo.

Las disoluciones no se agitan salvo unos instantes después del trazo de cada voltamperograma con la finalidad de renovar las condiciones iniciales en la interfase electrodo/disolución.

### III.2.3 Los equipos de trabajo:

Se usan indistintamente dos equipos:

\* Polarógrafo Beckman-Electroscán de barrido automático acoplado a potenciómetro externo Sargent y a graficador lineal Cole-Parmer.

\* Polarógrafo Princeton Applied Research modelo 174A acoplado a graficador X-Y Houston.

La graficación por medio del graficador lineal Cole-Parmer permite medir con precisión los voltamperogramas en VA y la graficación con el graficador X-Y facilita la obtención de las gráficas en VR.

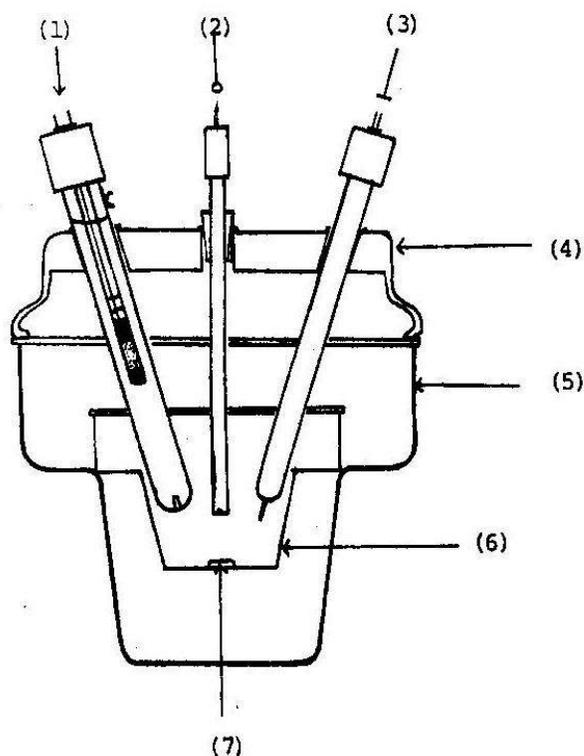


FIG. III.a Celda de trabajo convencional

- (1) Electrodo de referencia de calomel saturado, ECS, (ER).
- (2) Electrodo de trabajo de microdisco de platino, (ET). Area =  $0.015 \text{ cm}^2$ .
- (3) Electrodo auxiliar, (EA), de wolframio.
- (4) Porta electrodos y tapa de la celda.
- (5) Celda externa de 50 ml de capacidad, usada como porta celda interna pequeña.
- (6) Celda de trabajo interna de 10 ml de capacidad.
- (7) Barrita magnética.

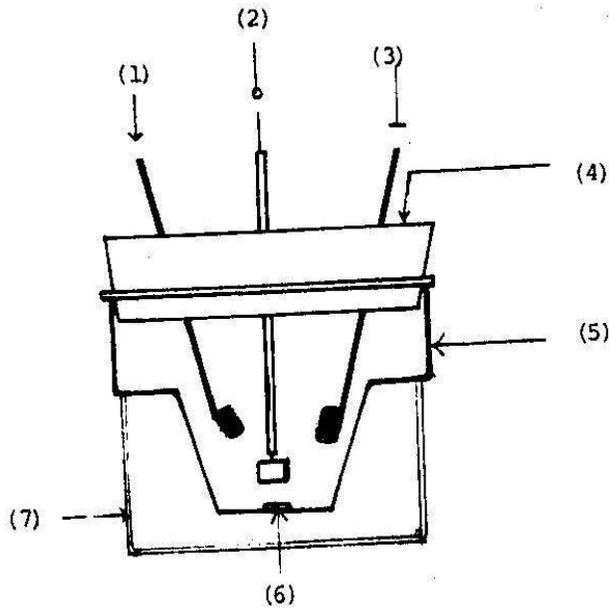


FIG. III.b Celda de trabajo simplificada:

- (1) Electrodo de cuasi-referencia, (ER), de  $\text{Cu}^{\text{O}}$  de gran superficie.
- (2) Electrodo de trabajo de placa de Pt, (ET), Area =  $0.64 \text{ cm}^2$ .
- (3) Electrodo auxiliar, (EA), de  $\text{Cu}^{\text{O}}$  de gran superficie.
- (4) Porta electrodos y tapa de la celda.
- (5) Celda de trabajo de 10 ml de capacidad.
- (6) Barrita magnética.
- (7) Porta celda.

### III.3 Voltamperometría lineal en Régimen de Difusión Pura: VA.

#### Procedimiento.

En la celda de 10 ml de capacidad se colocan disoluciones preparadas en AcBS/5 con la siguiente composición:

disolución	Ru(II) (bipy) <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> (mM)	Na <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (mM)
1	---	---
2	---	1
3	5	---
4	5	1
5	5	0.1
6	5	0.4
7	5	0.6
8	5	0.7
9	5	0.9
10	5	1.2
11	5	1.5
12	5	1.8
13	5	2.3
14	5	2.5

Para cada disolución se traza el voltamperograma en el polarógrafo Electroscan bajo las siguientes condiciones:

$$E_i = 0.4 \text{ v/ER. (Celda simplificada III.b)}$$

$$v = 50 \text{ mV/s sentido anódico.}$$

$$E_f = 1.1 \text{ v/ER.}$$

La figura III.c muestra los voltamperogramas de las disoluciones 1, 2, 3 y 4 obtenidos.

Para las disoluciones 3, 9 y 12 se trazan los voltamperogramas lineales pero haciendo variar la velocidad de barrido de potencial desde 5 mV/s hasta 500 mV/s, i.e. para cada disolución la concentración de Ru(II) y de oxalatos es constante pero se hace variar la velocidad de barrido de potencial.

En todos los voltamperogramas se registra la corriente de pico anódico.

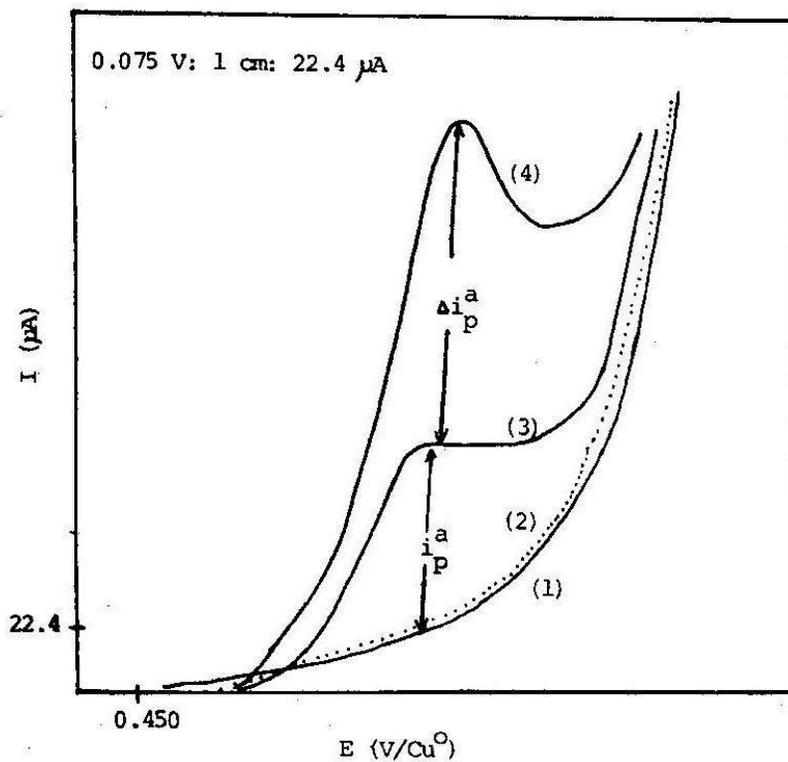


FIG. III.c voltamperogramas lineales :

- (1) AcBS/5
- (2)  $C_2O_4^{2-}$  1 mM en AcBS/5
- (3)  $Ru(II)(bipy)_3^{2+}$  5 mM en AcBS/5
- (4)  $Ru(II)(bipy)_3^{2+}$  5 mM +  $C_2O_4^{2-}$  1 mM

Celda de trabajo simplificada III.b ET: Pt;  
EA: Cu; ER: Cu.

velocidad de barrido de potencial: 50 mV/s.

De los voltamperogramas obtenidos para las disoluciones 3, 9 y 12 se mide la corriente de pico anódico para cada velocidad de barrido de potencial y se grafica contra el valor de  $v^{1/2}$ . Las gráficas obtenidas se muestran en la figura III.d.

Por otra parte se grafican los incrementos de corriente de pico anódico que se obtienen de los voltamperogramas lineales de las disoluciones 5, 6, etc., hasta la disolución 14, trazados a 50 mV/s. Se grafica este incremento de corriente contra la concentración creciente de oxalatos en disolución. La gráfica obtenida se muestra en la figura III.e.

#### III.4 Voltamperometría de barrido triangular en RDP: VR.

##### Procedimiento y Resultados.

En la celda de 10 ml de capacidad se colocan disoluciones preparadas en AcBS/5 con la siguiente composición:

disolución	Ru(II) (bipy) <sub>3</sub> <sup>2+</sup> (mM)	C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mM)
1	---	---
2	---	2.0
3	1.7	---
4	1.7	0.2
5	1.7	0.4
6	1.7	0.6
7	1.7	0.8
8	1.7	1.0
9	1.7	1.2
10	1.7	1.4
11	1.7	1.6
12	1.7	2.5

Para cada disolución se trazan los voltamperogramas de barrido triangular de un solo ciclo bajo las siguientes condiciones:

$$E_i = 0.0 \text{ V/ECS} \quad (\text{Celda convencional III.a})$$

$$E_{\text{inv.}} = 1.2 \text{ V/ECS}$$

$$\text{velocidad de barrido de potencial } v = 50 \text{ mV/s}$$

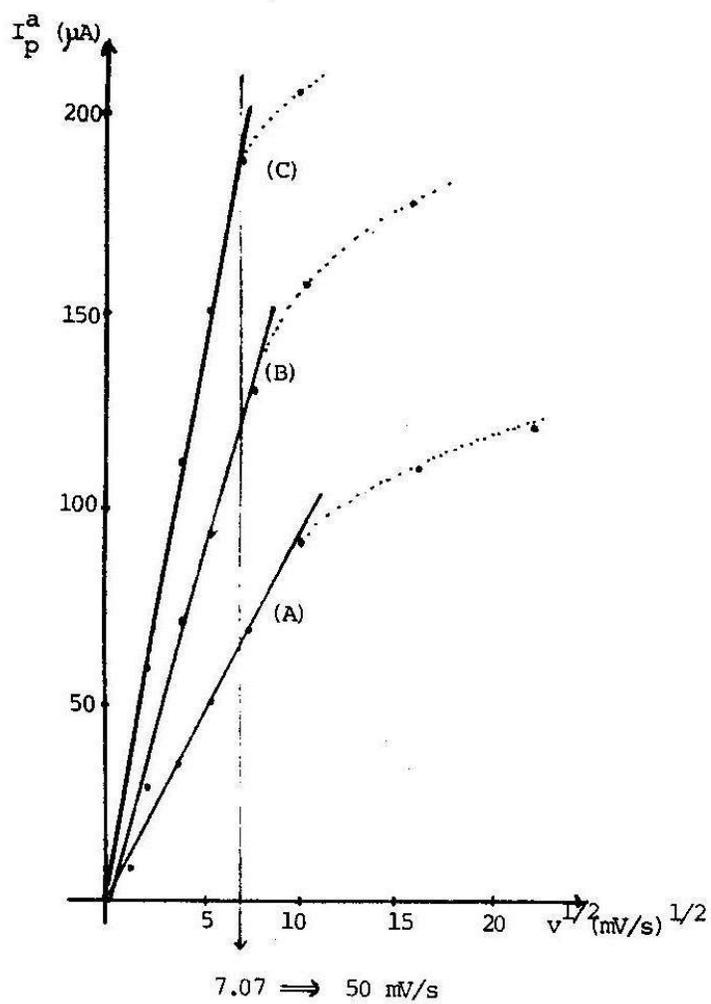


FIG. III.d Gráficas  $I_p^a = f(v^{1/2})$  para VA de:

- (A) Ru(II) 5 mM
- (B) Ru(II) 5 mM +  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  0.9 mM
- (C) Ru(II) 5 mM +  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  1.8 mM

Celda simplificada III.b  
Polarógrafo Electroscan.

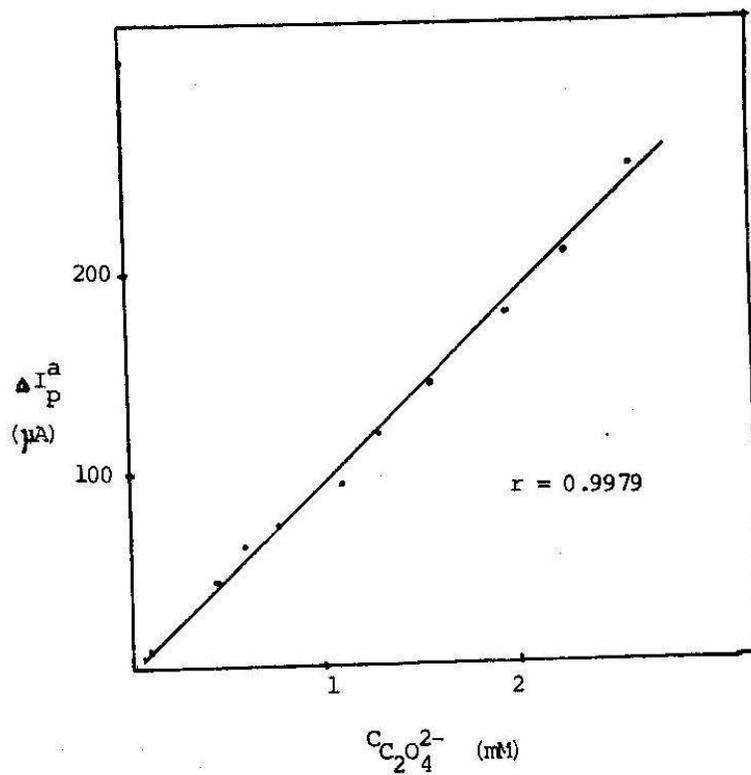


FIG. III.e Gráfica  $\Delta i_p^a = f(C_{\text{oxalatos}})$

en VA del sistema:

$[Ru(II)]_T = 5 \text{ mM}$  en AcBS/5

Celda simplificada III.b

$v = 50 \text{ mV/s}$

Polarógrafo Electroscan.

Los voltamperogramas cíclicos se trazan con el polarógrafo PAR y el graficador X-Y. La figura III.f muestra los voltamperogramas obtenidos para las disoluciones 1, 2 y 3 . De igual modo la figura III.g muestra las gráficas correspondientes a las disoluciones 3, 10 y 12.

Se mide de la parte anódica de los voltamperogramas cíclicos el incremento de corriente de pico anódica para las disoluciones 4, 5, etc. y se grafica este incremento en función de la concentración de oxalatos en solución para una velocidad de barrido de potencial de 50 mV/s. La gráfica obtenida se muestra en la figura III.h .

Por otro lado se trazan los voltamperogramas cíclicos de la disolución 8 a diferentes velocidades de barrido de potencial. Se mide la corriente de pico catódico y anódico y se grafica el cociente de tales valores de corriente contra la velocidad de barrido de potencial. La gráfica resultante se muestra en la figura III.i .

Con la finalidad de analizar posteriormente el carácter cinético del proceso se obtiene la gráfica de  $i_k/i_d = f[(C_2O_4^{2-})^n]$  donde  $i_k$  es la corriente de pico anódico en presencia de oxalatos e  $i_d$  es la corriente de pico anódico en ausencia de oxalatos. Las gráficas resultantes se muestran en la figura III.j .

### III.5 Ensayos de sondeo en la cuantificación de oxalatos en planta de amaranto.

Con la finalidad de mostrar el potencial uso del proceso electroquímico en estudio a la cuantificación de oxalatos en muestras se cuantificó oxalatos por medio de la extracción ácida caliente sin precipitación con Ca(II) y cuantificación volumétrica con Mn(VII), y también se cuantificó oxalatos en un extracto de oxalatos en medio ácido caliente y posterior precipitación con Ca(II). Se resuspende en medio AcBS/5 y se mide la corriente de pico anódico en presencia de Ru(II).

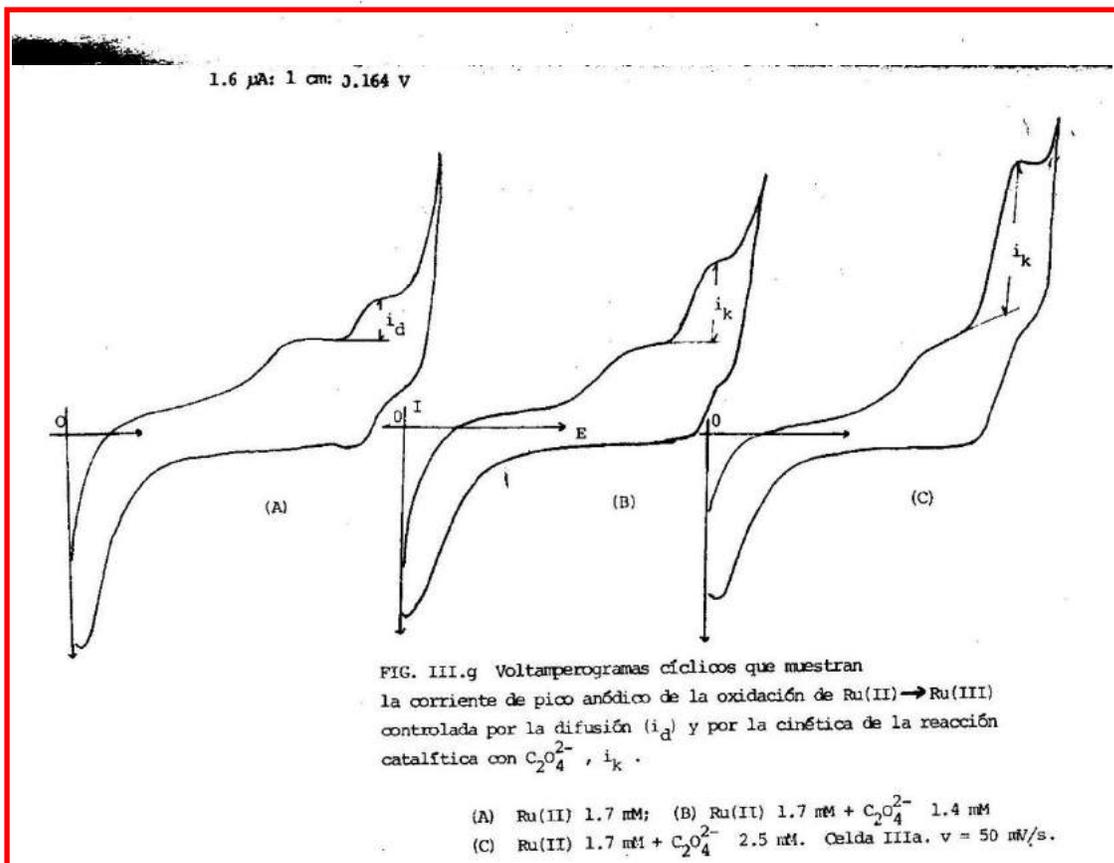
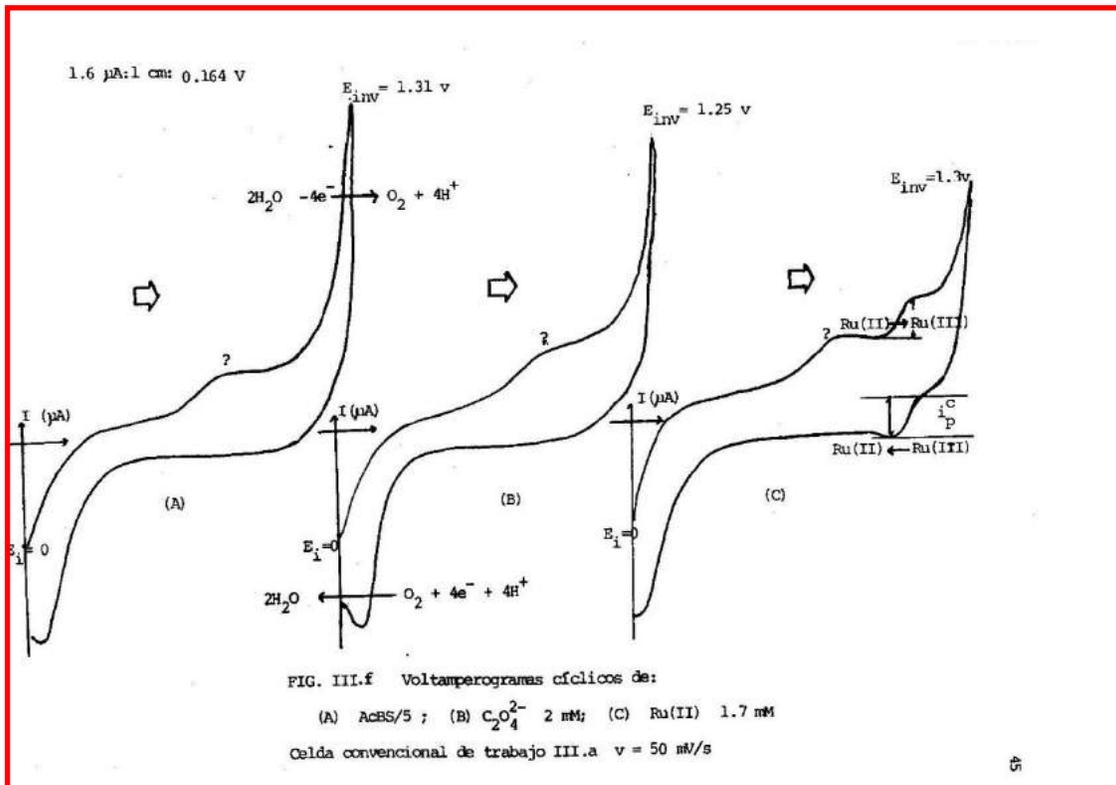
La técnica empleada fué: Método volumétrico. Se colocan 0.5 g de muestra de planta de amaranto seca y molida (muestra no fresca) y se coloca en un embudo de vidrio poroso. Se hacen pasar 50 ml de HCl al 5% v/v ligeramente caliente. Al filtrado se le toma una alícuota de 10 ml a la cual se le agrega 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y se titula en caliente con KMnO<sub>4</sub> de concentración normalizada e igual a  $1.9671 \times 10^{-2}$  F. Se gasta un volumen de 15.0 ml al punto final marcado por la autoindicación del titulante.

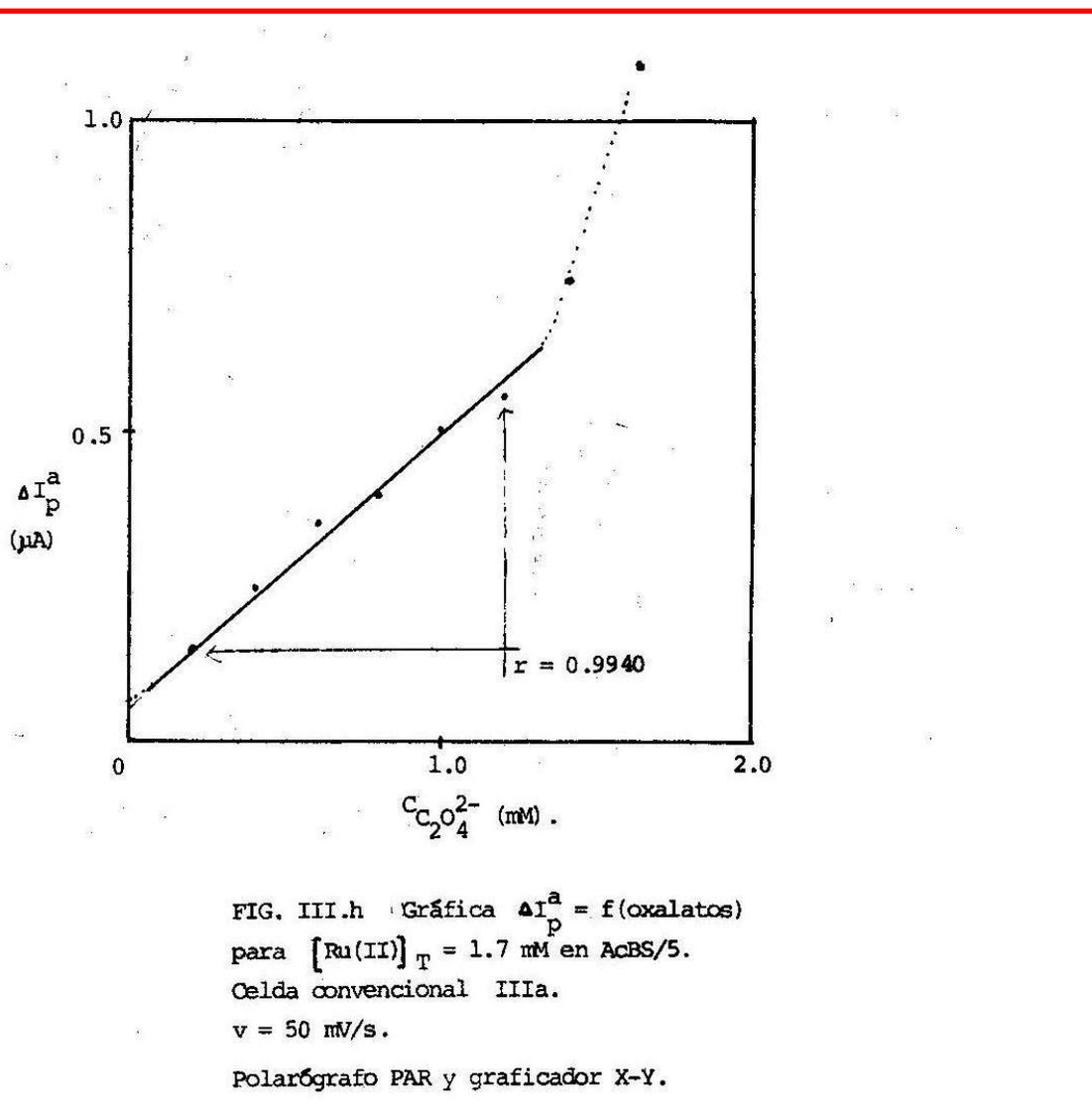
Método electroquímico. Se colocan 0.5 g de muestra de planta de amaranto seca y molida (no fresca) en el embudo de vidrio y se hace pasar 10 ml de HCl al 5% v/v ligeramente caliente. Al filtrado se le adiciona  $\text{CaCl}_2$  hasta fijar el pCa\*aproximadamente en 1, se neutraliza con  $\text{NH}_3$  concentrado (aprox. 14 M) hasta que ya no precipite más. Se centrifuga a 3000 rpm durante 1 minuto y se separa el sobrenadante (extracto libre de oxalato). El precipitado se redisuelve en AcBS/5. El extracto libre de oxalatos se ajusta a pH=5.0 con ácido acético concentrado.

A 5 ml de una disolución 5 mM de Ru(II) en AcBS/5 se le traza el voltamperograma en VA en la celda simplificada III.b. A la disolución anterior se le adiciona 1 ml de la disolución de oxalatos resuspendidos y se traza el voltamperograma. Se duplica la cantidad por adición de otra alícuota de 1 ml y se vuelve a registrar el voltamperograma. Por otro lado a 5 ml del extracto libre de oxalatos y fijado en pH=5 se le adiciona una alícuota de Ru(II) hasta fijar su concentración en 5 mM. Se traza el voltamperograma. Se hacen dos adiciones de oxalato estándar y se trazan sendos voltamperogramas.

Los resultados obtenidos se muestran en la figura III.k .

\* La definición de pCa es: 
$$\text{pCa} = - \log [\text{Ca}^{2+}]_T$$





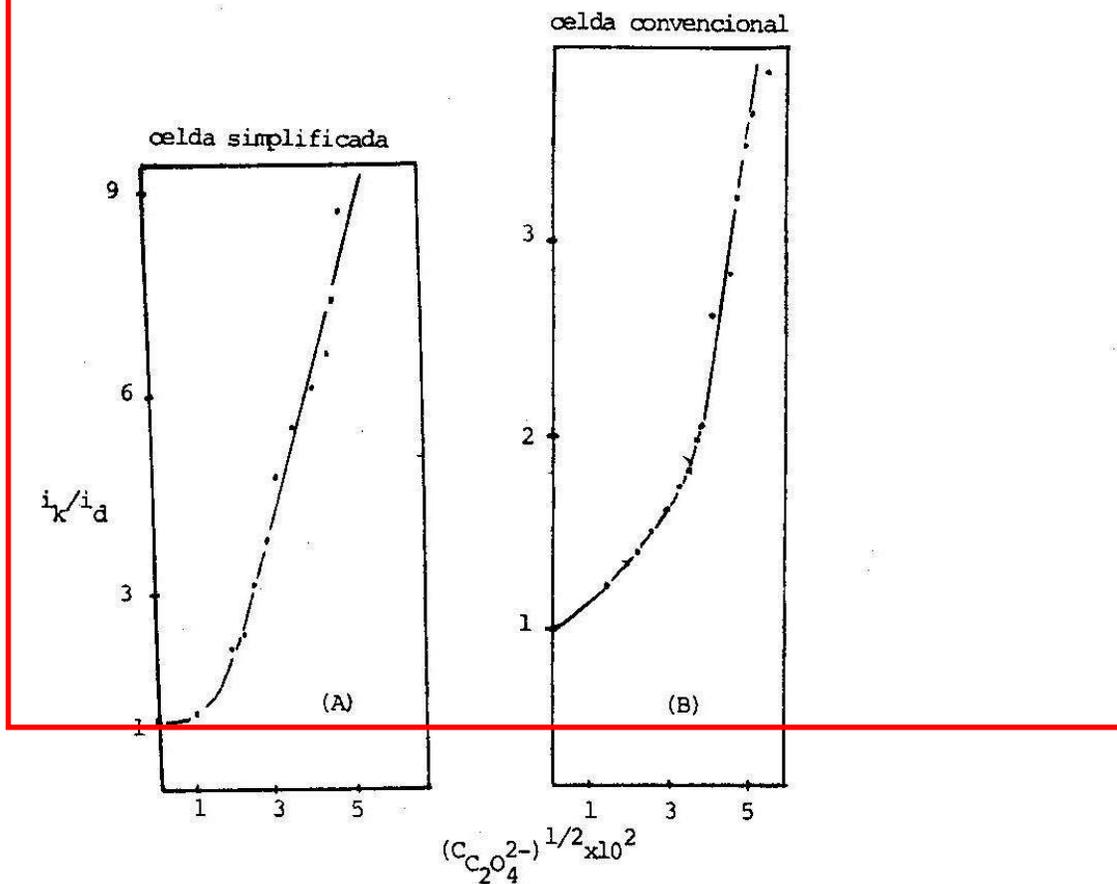


FIG. III.j Gráficas del cociente de corriente cinética/corriente de difusión para: (A) curvas en VA en celda III.b; (B) curvas en VR en celda III.a

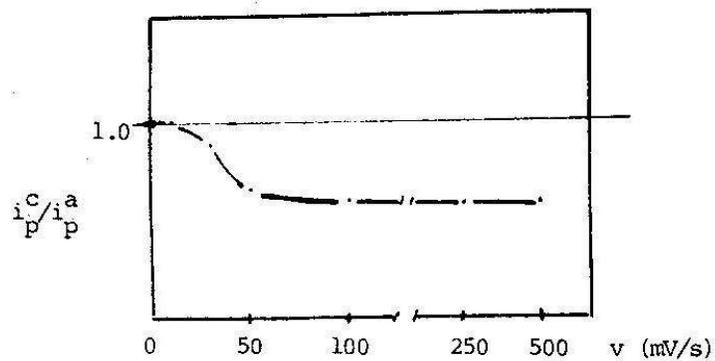


FIG. III.i Cociente de pico catódico y anódico para la oxidación de Ru(II) 1.7 mM en AcBS/5 en presencia de  $C_2O_4^{2-}$  0.7 mM .

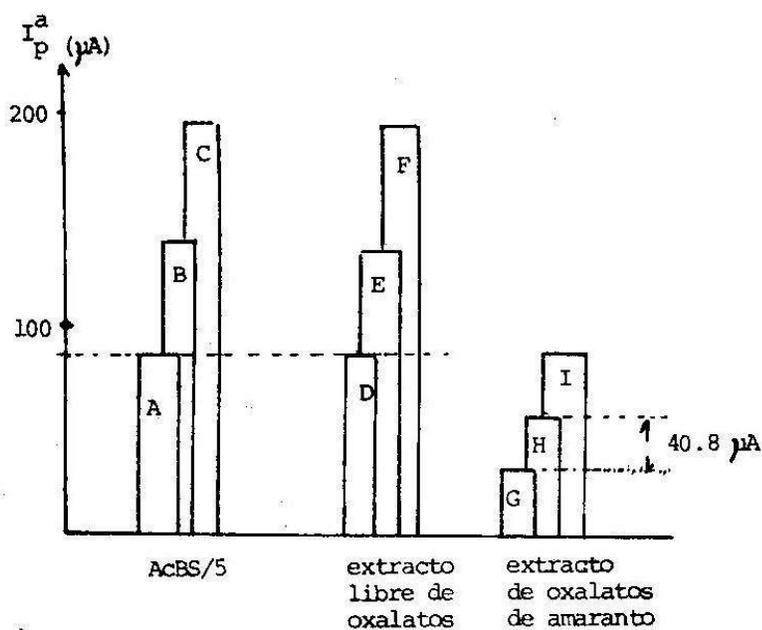


FIG. III.k Histogramas que muestran los resultados de la VA para los ensayos de cuantificación de oxalatos:

- (A) Ru(II) 5 mM; (B) Ru(II) 5 mM +  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  1mM;  
 (C) Ru(II) 5 mM +  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  2 mM;  
 (D) Igual que (A) pero en el extracto libre de oxal.;  
 (E) Igual que (B) pero en el extracto libre de oxal.;  
 (F) Igual que (C) pero en el extracto libre de oxal.;  
 (G) Ru(II) 5 mM en AcBS/5 1.7 mM;  
 (H) La disolución (G) + 1 ml de oxalatos resuspendidos.  
 (I) La disolución (H) + 1 ml más de oxalatos resuspendidos.

Datos obtenidos en la celda III.b a  $v = 50$  mV/s .

#### IV.0 DISCUSION.

##### IV.1 Relación de Randles-Ševičk: Control por difusión. Determinación de $D_0$ . Evaluación de $k^0$ .

De la gráfica III.c que muestran los voltamperogramas lineales trazados en la celda simplificada se puede observar que la disolución de AcBS/5 y el  $C_2O_4^{2-}$  no presentan electroactividad. Que el  $Ru(II)(bipy)_3^{2+}$  presenta una onda de oxidación cerca de la barrera anódica de oxidación la cual esta dada por la oxidación del disolvente. De esta gráfica se observa también que la corriente de oxidación del  $Ru(II)$  se incrementa por adición de oxalatos los cuales no presentan ninguna corriente de electrólisis per se. En consecuencia se corrobora lo que se había propuesto en el inicio de este trabajo con base a la información encontrada previamente.

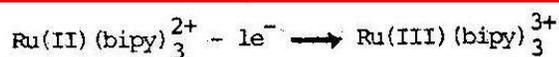
Ahora bien de los voltamperogramas obtenidos con la celda convencional, (i.e. con microelectrodo de  $Pt^0$ , electrodo formal de referencia y un electrodo auxiliar de gran superficie) que se muestran en la figura III.f, se observa que se detecta una onda de oxidación tanto en el amortiguador solo como en presencia de oxalatos y  $Ru(II)$ . Esta onda de oxidación es de origen desconocido y no interfiere en la determinación ya que como se muestra aparece antes de la oxidación del  $Ru(II)$ . Se propone que sea debida a alguna impureza del microelectrodo de  $Pt^0$  ya que no se detecta con el electrodo de la celda simplificada de electrodo de placa de  $Pt^0$  en los mismos medios reaccionales químicos.

El estudio hecho a diferentes velocidades de barrido para el  $Ru(II)$  solo así como en presencia de oxalatos muestra relaciones lineales hasta un intervalo de barrido de potencial dado a partir del cual la corriente empieza a presentar una meseta (a "saturarse"), como puede observarse de las gráficas de la figura III. d. Efectivamente la parte lineal corresponde a un comportamiento predicho por la Ley de Randles-Ševičk ( ver sección II.2), que garantiza que en estas condiciones de imposición de la perturbación la corriente esta dada por la velocidad de difusión de  $Ru(II)$  a la interfase. En presencia de oxalatos también se observa un comportamiento lineal al principio ya que la corriente esta limitada tanto por la difusión como por la velocidad de regeneración de  $Ru(II)$  en la interfase a causa de la reacción química acoplada. Este comportamiento lineal ya sugiere que la reacción química acoplada es muy rápida ya que garantiza concentraciones de  $Ru(II)$  en un estado estacionario en la interfase (ver sección II.3).

El hecho de que la corriente a velocidades de barrido de potencial muy grandes se empiece a limitar, muestra que en estas condiciones el proceso empieza a estar limitado por la cinética de transferencia de carga, i.e. la velocidad de intercambio de electrones se muestra lenta con respecto a la velocidad de difusión y/o de regeneración de masa al electrodo por tanto la corriente empieza a limitarse. De este estudio se muestra que la velocidad de barrido de potencial usada en el resto de los experimentos es adecuada ya que no se tiene en esta velocidad de barrido, 50 mV/s, la limitante de la cinética electrónica. Se tiene controlada el proceso por medio de la difusión durante los experimentos.

De los experimentos de VR con microelectrodos puede evaluarse el coeficiente de difusión de Ru(II) (bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> el cual servirá mas adelante para evaluar las constante de transferencia electrónica y corroborar el comportamiento global del proceso electroquímico.

En efecto para la disolución de Ru(II) de 1.7 mM cuyo voltamperograma se muestra en la figura III.f se puede deducir el valor de D<sub>o</sub> por medio de la ecuación de Randles-Sevičk ya que como se demostró en la gráfica III.d ésta se cumple:



$$i_p^a = (2.65 \times 10^5) n^{3/2} A D_o^{1/2} v^{1/2} C_{\text{Ru(II)}}^* \quad (\text{ec.II3})$$

$$i_p^a = 7 \times 10^{-7} \text{ A}$$

$$2.65 \times 10^5 \text{ c.mol}^{-1} \text{ V}^{-1}$$

$$n = 1$$

$$A = 0.015 \text{ cm}^2$$

$$v = 0.05 \text{ V/s} ; v^{1/2} = 0.22 \text{ V}^{1/2} \text{ s}^{-1/2}$$

$$C_{\text{Ru(II)}}^* = 1.7 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3$$

Por tanto sustituyendo los valores y despejando D<sub>o</sub> se tiene que:

$$D_{\text{Ru(II) (bipy)}_3^{2+}} = 2.1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$$

Con este valor de  $D_0$  es posible evaluar la constante de transferencia heterogénea de carga,  $k^0$ , de la oxidación de Ru(II) a Ru(III). Del voltamperograma cíclico de la disolución de Ru(II) 1.7 mM mostrado en la figura III.f se deduce que:

$$(E_p^a - E_p^c) = 70 \text{ mV}$$

con este valor se busca la función  $Y$  que le corresponde según Nicholson (21), ver sección II.2:

$$Y = 2.5$$

con este valor se evalúa el valor de  $k^0$  mediante la función propuesta:

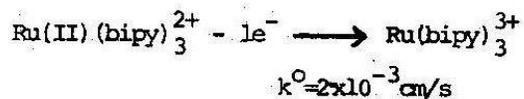
$$k^0 = Y \left[ D_{\text{Ru(II)}} \pi v (nF/RT) \right]^{1/2}$$

$$(nFv/RT) = 1.18 \text{ s}^{-1}$$

$$k^0 = 2.5 \left[ (2.1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}) (1.18 \text{ s}^{-1}) (3.1416) \right]^{1/2}$$

$$k^0 = 2.1 \times 10^{-3} \text{ cm/s}$$

Por tanto se tiene que el intercambio de electrones obedece a una transferencia casi-rápida:



Se considera arbitrariamente que una reacción electroquímica es muy rápida si  $k^0$  es mayor a 0.01 o muy lenta si es menor a  $10^{-4}$ .



El diagrama  $E^0 = f(\text{pH})$  generalizado mostrado en la sección III.2 para el Ru(III)/Ru(II) apoya termodinámicamente los eventos químicos propuestos arriba. De cualquier manera esta eventual reacción parásita no altera la validez de la propuesta general como se discutirá en la siguiente sección.

Para caracterizar por completo el proceso reaccional estudiado se propone determinar el diagrama de zonas de dominio de estados electroquímicos. Para ello se hace uso de las gráficas de  $i_k/i_d = f[(C_2O_4^{2-})^{1/2}]$  mostrados en las figuras III.j de la sección anterior.

Con ayuda de tales gráficas y de la función reportada por Nicholson y Shain (16) que relaciona el cociente  $i_k/i_d$  como función del parámetro adimensional como  $K^{1/2}$ , se puede deducir la gráfica experimental  $i_k/i_d = f(K^{1/2})$  para los resultados obtenidos con el sistema de la celda III.a y III.b.

Para el sistema de la celda III.b se tiene que experimentalmente:

$$\begin{aligned} \text{celda simplificada: } i_k/i_d &= 2.4 \quad (\text{gráfica III.j}) \\ \implies C_{\text{oxalat}}^* &= 0.6 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3 \end{aligned}$$

de acuerdo a Nicholson y Shain (16):

$$\begin{aligned} i_k/i_d = 2.4 \implies K^{1/2} &= 1.045 \\ K &= 1.093 \end{aligned}$$

Ya que la relación entre  $K$ ,  $k'$ ,  $C_{\text{oxal}}$ , y  $v$  esta dada por:

$$K = k' C_{\text{oxal}}^* t \quad \text{donde } t = (RT/nFv)$$

Entonces puede evaluarse  $k'$  experimental con el valor de  $K=1.093$  evaluado con el cociente de valores de corriente determinados experimentalmente para la velocidad de barrido de potencial de 50 mV/s usada. Con el valor de  $k'$  se hace el cálculo de  $K$  para el resto de valores de  $C_{\text{oxal}}^*$  ensayados y obtener la gráfica experimental  $i_k/i_d = f(K^{1/2})$ .

Para el sistema reaccional electroquímico de la celda III.b entonces:

$$k' = \frac{1.093}{(1.18 \text{ s}) (0.6 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3)} \quad t = 1.18 \text{ s}$$

para  $v = 50 \text{ mVs}$

$$k' = 1.5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}/\text{s}$$

Con este valor de  $k'$ , se deducen los valores de  $K$  y se gráfica  $i_k/i_d$  como una función de  $K^{1/2}$ . La gráfica obtenida se muestra en la figura IV.a .

Efectuando el mismo procedimiento pero con los datos generados con la gráfica III.j correspondiente al sistema reaccional electroquímico de la celda III.a, se tiene que:

$$i_k/i_d = 1.57 \quad (\text{gráfica III.j})$$

$$\implies C_{\text{oxal}}^* = 0.8 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3$$

según Nicholson y Shain,  $1.57 \implies K = 0.56$ , por tanto:

$$k' = \frac{0.56}{(1.18 \text{ s}) (0.8 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3)}$$

$$k' = 5.93 \times 10^5 \text{ M}^{-1}/\text{s}$$

Hay una diferencia de 2.6 veces entre cada valor lo cual no representa una variación significativa. En la gráfica de la figura IV. b se muestran la relación entre los valores experimentales de  $i_k/i_d$  como una función de  $K^{1/2}$  deducida con el valor anterior de  $k'$  calculada.

Se corrobora por el valor de  $k'$  calculado que la reacción química acoplada es muy rápida y en consecuencia controla el proceso electroquímico ya que es relativamente mas rápida de la velocidad representada por  $k^0$  y  $D_0$ .

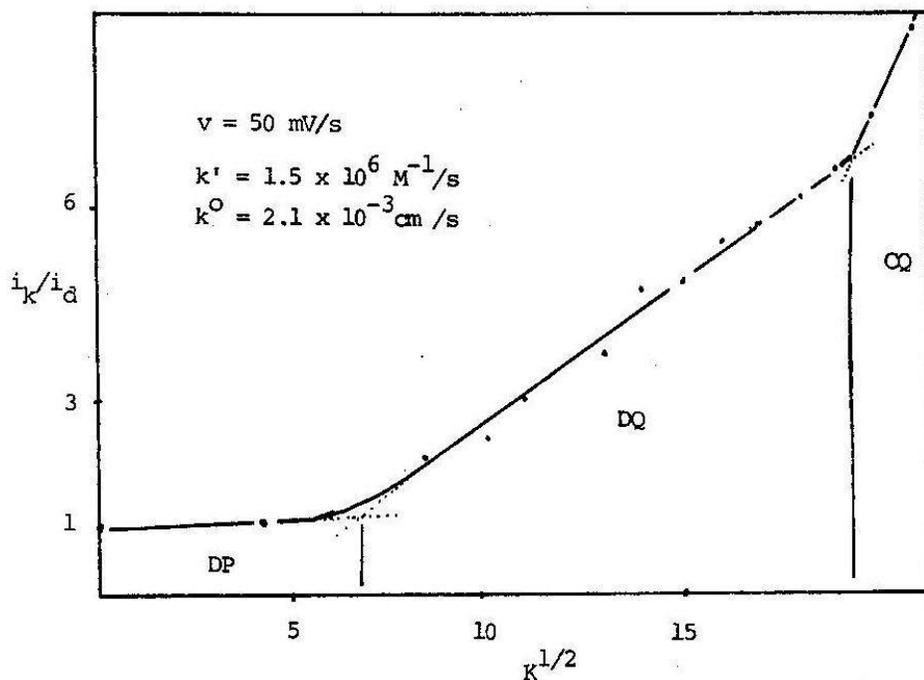


FIG. IV.a Diagrama de zonas de dominio de estado electroquímico obtenidos con el sistema experimental de la semicelda simplificada III.b. Se muestran el valor de  $k'$  usado para deducir  $K$  y se indica la velocidad de barrido de potencial y  $k^0$  de la reacción electroquímica.

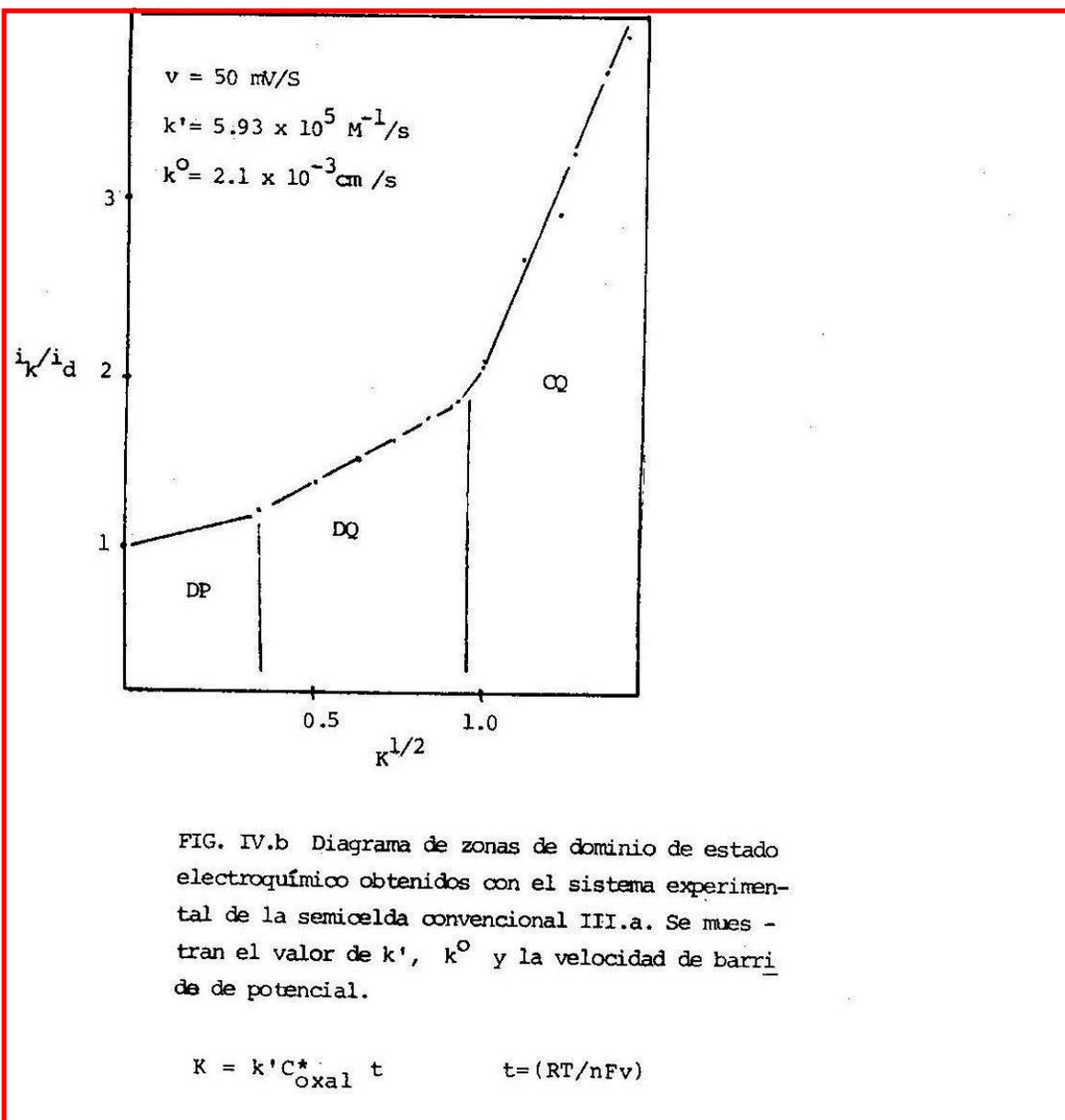


FIG. IV.b Diagrama de zonas de dominio de estado electroquímico obtenidos con el sistema experimental de la semicelda convencional III.a. Se muestran el valor de  $k'$ ,  $k^0$  y la velocidad de barrido de potencial.

$$K = k' C_{\text{Oxal}}^* t \quad t = (RT/nFv)$$

IV.3 Curvas de calibración  $\Delta I_p^a = f(C_2O_4^{2-})$ . Evaluaciones preliminares.

Por todo lo expuesto en la sección anterior puede concluirse que las concentraciones que corresponden al proceso electroquímico en la zona de DQ, son las que se presentan proporcionales a la concentración de oxalatos en solución. En efecto se se analizan las gráficas de  $\Delta I_p^a = f(C_{\text{oxalatos}})$  mostradas en las figuras III.e y III.h se observa que para la celda simplificada el intervalo de concentraciones en que se presenta proporcional es mayor que con la curva de calibración obtenida con el microelectrodo. Estos intervalos de concentración lineal corresponden a las concentraciones que arrojan valores de  $K^{1/2}$  dentro de la zona OQ. Lo anterior limita los intervalos útiles en cada caso:

semicelda	intervalo	índice de correlación lineal
III. a	0.2 - 1.2 mM	0.9940
III. b	0.1 - 2.4 mM	0.9979

La concentración mínima esta dada por el límite entre la zona DP y la DQ en el diagrama de dominio electroquímico. El límite superior de concentración superior viene dado por el paso de la zona DQ a la zona OQ donde la proporcionalidad se guarda pero con la concentración de oxalatos como  $C_{\text{oxal}}^{1/2}$ .

Con respecto al índice de correlación hay que mencionar que los métodos en régimen de difusión pura son poco precisos. De hecho para electroanálisis se prefiere trabajar con electrodos giratorios o bien Polarografía moderna. Sin embargo tales métodos en RDC no aportan señales de intensidad de corriente,  $i_k$ , lo suficientemente diferentes para usarlos como método analítico. Las curvas de calibración encontradas son adecuadas desde el punto de vista electroanálisis por VA (24).

Con respecto a los ensayos hechos sobre muestras de amaranto se determina que la cuantificación hecha por vía húmeda de extracción en medio ácido y valoración directa con  $KMnO_4$  arroja un contenido de oxalatos igual a:

$$\begin{aligned}
 w &= 0.5 \text{ g muestra} \\
 F_{\text{KMnO}_4} &= 1.9671 \times 10^{-2} \\
 v_{\text{eq}} &= 15 \text{ ml} \\
 \text{MM}_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4} &= 128.1
 \end{aligned}$$

El contenido de oxalatos esta dado por:

$$15 \times 1.96 \times 10^{-2} \times 4 \times 128.1 = 150.6 \text{ mg/g}$$

Por medio de la curva de calibración electroquímica se tiene que 1 ml de muestra de oxalatos resuspendida da una lectura de 40.8 uA que en la curva de calibración correspondiente le hace corresponder una concentración de 0.36 mM. El contenido de oxalatos en la muestra (0.5 g) viene dado por:

$$0.36 \times 10^{-3} \times 20 \times 128.1 = 0.92 \text{ mg/g}$$

La diferencia entre los dos contenidos es de 163 veces.\* Experimentos no reportados en el presente trabajo muestran que la diferencia entre la determinación de oxalatos reales y los encontrados por valoración con permanganato por lo menos es de 50 veces.

Los experimentos colaterales muestran que los compuestos extraíbles con el HCl caliente aparentemente no interfieren en la reacción electroquímica ya que se genera la misma señal que se obtiene con el trazo de las curvas en amortiguador solo.

Hay que recordar que estos datos son solo preliminares y de sondeo. Sin embargo evidencian la potencialidad del método que habrá que ponerse a punto.

\* Una diferencia tan grande, corrobora el hecho de, que las determinaciones son diferentes y en consecuencia es necesario establecer una de ellas como referencia.

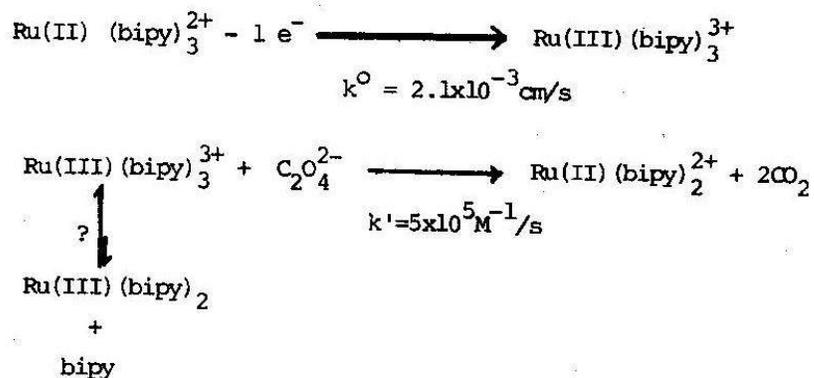
V.0 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

En este trabajo se ha estudiado a profundidad el proceso reaccional que soporta el principio de la determinación electroquímica de los oxalatos. De igual manera se han establecido los principios del método de electroanálisis que permitirá en posteriores trabajos poner a punto la exactitud, la precisión y la selectividad del método así como su aplicación en la dosificación en muestras diversas.

Si bien los experimentos de cuantificación no fueron exhaustivos si se realizaron por duplicado y fueron repetibles.

En general se concluye que:

- \* Se caracterizó el proceso reaccional electroquímico:



- \* Se establecieron las condiciones cinéticas de dominio para realizar la determinación:

Voltamperometría de barrido lineal en RDP:

$v = 50 \text{ mV/s}$ ;  $0.2 \text{ mM} < C^* < 2.0 \text{ mM}$

$C_{\text{Ru(II)}} = 5 \text{ mM}$

Medio reaccional químico: AcBS/5

ET :  $\text{Pt}^0$   $0.64 \text{ cm}^2$ .

- \* Se ilustró el principio del método determinando el contenido de oxalatos en una muestra de planta de amaranto (no controlada).

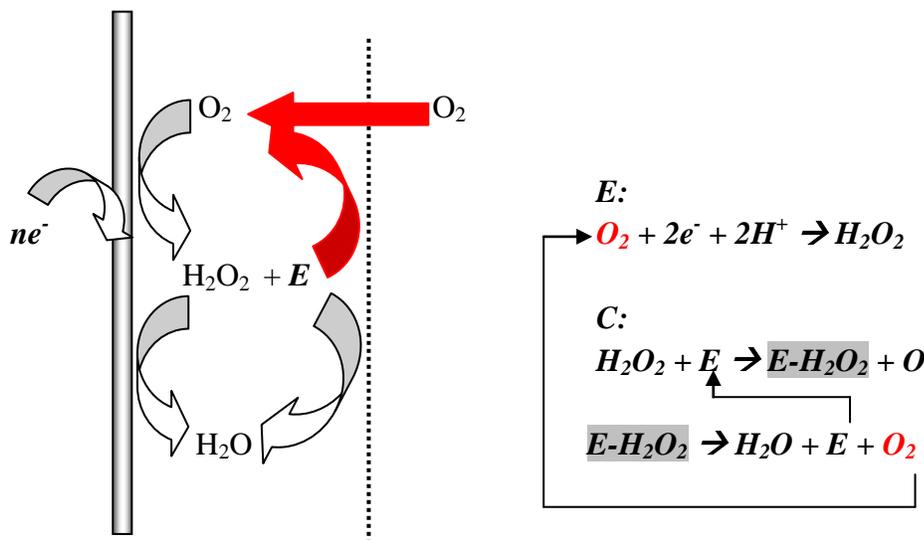
Las perspectivas del trabajo son:

- \* En planta de amaranto controlada en cuanto a su fuente de cultivo, cuantificar la cantidad de oxalato y seguir el porcentaje de recuperación por volumetría redox.
  - \* Efectuar el procedimiento anterior pero efectuando la cuantificación electroquímicamente en las condiciones establecidas en este trabajo.
  - \* Efectuar curvas de recuperación a pCa y pH controlado en presencia de Fe(III) (posible contaminante).
  - \* Probar el uso de intercambiadores iónicos celulósicos para separar compuestos fenólicos que permitan cuantificar electroquímicamente extractos semipurificados.
  - \* Poner a punto curvas de calibración por adiciones estándar según el método electroquímico propuesto en este trabajo.
-

*Planteamiento del sistema a experimentar*

El oxígeno se reduce en dos etapas sobre EGM. El  $H_2O_2$  electrogenerado *in situ*. En presencia de la enzima catalasa, el peróxido dismuta rápidamente para regenerar el oxígeno al electrodo por medio de la formación del complejo **ES**.

Los patrones de respuesta polarográfica se modifican en presencia de la enzima y puede expresarse como un mecanismo catalítico EC':

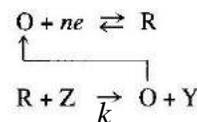


El objetivo de este trabajo práctico es determinar el valor de la constante de catálisis del peróxido de hidrógeno por la catalasa con ayuda del diagrama  $(I_k/I_d) = f(\lambda)$  de acuerdo al modelo propuesto por *Koutecky*, donde:

$I_d$  = corriente límite de difusión de la electroreducción de  $O_2$  en **ausencia** de la enzima.

$I_k$  = corriente límite de difusión de la electroreducción de  $O_2$  en **presencia** de la enzima.

$\lambda$  = parámetro adimensional polarográfico para un mecanismo EC':  $\lambda = kC_zt$ :



$t$  = tiempo de goteo del EGM.

---

### ***Procedimiento experimental***

- 1.0 Obtener el polarograma de 10 mL disolución de amortiguador de fosfatos 0.1 mol/L pH = 7, EBS, sin burbujear nitrógeno, aplicando el siguiente programa de perturbación:  $E_i = 0.2V$ ;  $E_f = -1.7V$ ,  $(dv/dt) = -4 \text{ mV/s}$ .  $I = 1 \mu A/V$ .
- 2.0 Preparar una disolución de catalasa 1mg/500 $\mu$ L en EBS. Para ello pesar 10 mg de enzima y disolverla en 0.5 mL de EBS. Diluir 1:10 con EBS.
- 3.0 Obtener el polarograma de la disolución (1.0) después de adicionar y mezclar 50 $\mu$ L de solución enzimática.
- 4.0 Repetir el paso anterior adicionando hasta completar 4 alícuotas adicionadas.
- 5.0 Antes de bajar la columna de mercurio, enjuagar el capilar generosamente con agua destilada primero y con etanol después y dejar gotear 1 minuto sobre agua destilada.

---

### ***Procesamiento de datos***

- 1.0 Efectuar el gráfico  $(I_k/I_d) = f(C_{Enz})$ .
- 2.0 Determinar el tiempo de goteo, t.
- 3.0 Determinar el valor de k con ayuda del gráfico de Koutecky.

---

### ***Bibliografía de apoyo***

- 1.0 Allen J. Bard, Larry R. Faulkner. "Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications" 2nd Ed. John Wiley & Sons Inc. 2001.
- 2.0 Z. Galus, "Fundamentals of Electrochemical Analysis". Ellis Horwood Limited. 1976.
- 3.0 V. M. Ugalde Saldívar. "Propuesta inicial en el estudio de la dosificación electroquímica de oxalatos por un mecanismo EC". Tesis de licenciatura. 1989. Asesor: A. Baeza. Facultad de Química. UNAM.
- 4.0 J. Jesús García Valdés. "Electroquímica Analítica de Sistemas Enzimáticos: catalasa y superóxido dismutasa". Tesis de maestría en Q. A. 1993. Asesor: A. Baeza. Facultad de Química. UNAM.

***ANEXO 2.4 de ref. 4. Modelo de Koutecky:***

## 2.4 Polarografía clásica.

### 2.4.1 Marco teórico.

Después de haber efectuado los experimentos de cronocoulombimetría y de tensometría; se procedió a diseñar las mejores condiciones de operación en polarografía clásica, para evitar en la medida de lo posible la adsorción. La ventana de tiempo en polarografía clásica es grande ya que está determinada por el tiempo de goteo (1-3s). Debido a que un polarograma comprende la existencia de varias gotas (electrodos nuevos); no existe tiempo de preconcentración mayor al tiempo de goteo, y como su tiempo ventana es distinto; los resultados obtenidos son también diferentes.

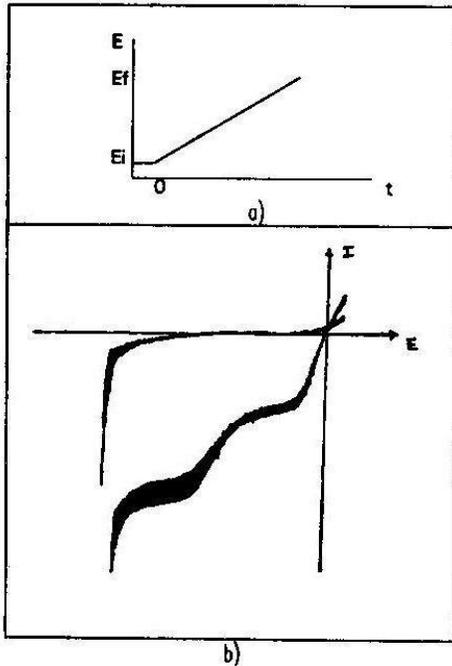


Fig 2.4.1.1 Programa de potencial aplicado a experimentos de polarografía. b) Respuesta característica para la disolución de electrodo soporte en presencia de oxígeno a saturación, con sistema de electrodos de ET: EGM, EA: platino y ER: ECS. Se observa que la reducción de oxígeno se lleva en dos etapas.

El programa de potencial aplicado es un barrido lineal, que se presenta en la gráfica 2.4.1.1.a. La figura 2.4.1.1.b es la respuesta característica para la reducción de oxígeno a saturación en ES.

La expresión que rige un proceso electroquímico en condiciones de gradiente máximo (corriente límite de difusión); para polarografía clásica, fué propuesta por Ilkovic:

$$i_d = 607nm^{2/3}t^{1/6}D^{1/2}C_0^o \quad (2.4.1.1a)$$

m es el flujo de mercurio; t es tiempo de goteo; los demás símbolos tiene el significado habitual. La ecuación anterior se corrigió posteriormente por efectos de difusión esférica. Koucky encontró la siguiente relación (2.4.1.2):

$$i_d = 607nm^{2/3}t^{1/6}D^{1/2}C_0^o \left[ 1 + 39 \left( \frac{D^{1/2}t^{1/6}}{m^{1/3}} \right) \right] \quad (2.4.1.2)$$

### 2.4.2. Condiciones de medida.

El estudio polarográfico consistió en la obtención de curvas intensidad-potencial de las siguientes disoluciones de ES:

- libre de oxígeno.
- en presencia de oxígeno a saturación (Anexo A).
- con oxígeno a saturación y diferentes concentraciones de catalasa ([Enz]=0, 2, 4, 6, 14, 18 y 22nM aproximadamente).
- La concentración de oxígeno 0.206mM se determinó mediante electrodo selectivo de oxígeno (Clark) en condiciones convectivas.

### 2.4.3. Comportamiento de ES+O<sub>2</sub>.

En la figura 2.4.1.1.b se presenta el dominio de electroactividad (DE) y un polarograma típico de la disolución de buffer de fosfatos (ES) con oxígeno a saturación.

De los resultados obtenidos se observó:

El DE no presentó reacciones electroquímicas que pudieran interferir.

Los dos ondas de reducción de oxígeno, presentan E<sub>1/2</sub> de -100 y -1100, los cuales corresponden al paso de O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O.<sup>57</sup> Los valores de corriente límite de difusión (i<sub>d</sub>) en ambas es similar y aproximadamente de 2μA.

De la primera etapa de reducción de oxígeno, experimental, se calculó el valor de coeficiente de difusión para oxígeno; 8.88·10<sup>-6</sup>cm<sup>2</sup>/s (ec. 2.4.1.1); mientras que el valor del coeficiente de difusión, realizando la iteración de la ecuación de Ilkovic corregida (ec. 2.4.1.2), fue de 7.13·10<sup>-6</sup>cm<sup>2</sup>/s. La iteración se llevó a cabo en una calculadora HP modelo FX100 que contiene un programa especial diseñado por esta casa comercial. El coeficiente de difusión para O<sub>2</sub> en una disolución acuosa que contiene NaOH 0.1M, determinado por VL y que se reporta en la literatura es de: 2.28·10<sup>-6</sup>cm<sup>2</sup>/s. Como se observa hay una diferencia considerable entre los valores obtenidos experimentalmente con el reportado de la literatura, debida probablemente a la diferencia viscosidad entre la disolución de NaOH y de buffer de fosfatos.

### 2.4.4 Comportamiento de ES+O<sub>2</sub>+Enz.

La tabla 2.4.4.1 presenta los valores de corriente límite de difusión del oxígeno; en función de la concentración de catalasa en solución.

Del comportamiento polarográfico en ES+O<sub>2</sub>+Enz se pueden destacar los siguientes puntos:

- En la primera reducción la (i<sub>d</sub>) se incrementa con [Enz], los incrementos no son directamente proporcionales con [Enz].

- Un efecto contrario produce en la segunda reducción la catalasa, este efecto se muestra en la segunda columna de la tabla 2.4.4.1.
- Si se realiza la suma de las corrientes, se nota una pequeña disminución desde la primera adición y casi permanece constante (tabla 2.4.4.1, tercera columna).

[E]	i <sub>d</sub> O <sub>2</sub>	i <sub>d</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Suma
mM	μA	μA	μA
0	8.8	6.7	13.5
2	7.2	3.8	11
6	7.7	2.8	10.5
14	8.3	2.7	11
18	8.4	2.5	10.9
22	8.7	1.9	10.6

Tabla 2.4.4.1 Valores de corriente límite de difusión para las reducciones de oxígeno en presencia de catalasa a diferentes concentraciones. La suma de ambas corrientes se representa en la cuarta columna. La concentración de oxígeno en todos los experimentos es constante e igual a 0.206 mM.

El proceso de dismutación es el siguiente:



La reacción (1) es electroquímica; y la (2), química. Es interesante mencionar que el oxígeno se reduce en el electrodo, a peróxido; y se regenera por la reacción química (2) a una gran velocidad. Este oxígeno se reduce simultáneamente con el oxígeno que difunde desde la capa de Nernst, provocando un "exceso" de oxígeno en la interfase. En la segunda reducción, a potenciales más negativos, el peróxido en la interfase disminuye ya que la enzima reacciona con él, provocando un "defecto" de peróxido. En el anexo B.5 se encuentran las ecuaciones que muestran lo mencionado anteriormente.

Para un fenómeno catalítico de dismutación, los cambios de  $i_{O_2}$  y de  $i_{H_2O_2}$  con  $[Enz]$  son característicos. Para el cambio global su comportamiento no es tan evidente.

De los resultados por CC y tensometría, la posible explicación a este fenómeno es la siguiente:

- adsorción del oxígeno en la interfase sección 2.2.4 (Tabla 2.2.4.1).
- adsorción de enzima sección 2.2.5 (figura 2.2.5.1)
- efecto catalítico de dismutación en la reducción de oxígeno (figura 2.2.6.1.a), por acción de la catalasa. Adsorción en la interfase Hg/disolución de  $ES+O_2+Enz$ . (figura 2.2.6.1.b). Sección 2.2.6.
- de la sección 2.3.4, figura 2.3.4.1, fenómeno de adsorción-desorción de enzima y modificación de la corriente de pico del oxígeno.

A partir de todo lo citado anteriormente, se puede concluir que existe una competencia entre las adsorciones de las especies  $O_2$ ,  $HPO_4^{2-}$  y enzima; esta competencia se pone de manifiesto en los resultados obtenidos. La reducción de oxígeno requiere una adsorción previa de éste en la interfase. Al agregar enzima, la cantidad de oxígeno adsorbido disminuye de manera importante, ya que es desplazado parcialmente por moléculas de enzima. Como la cantidad de oxígeno adsorbido decrece, los valores de corriente total son menores, a pesar de que existe la reacción química acoplada.

De lo anterior se puede establecer que no es fácil determinar una constante de velocidad de dismutación para la catalasa. A pesar de ello el autor cree en la posibilidad de calcular un valor de constante de velocidad "condicional" para la enzima.

### 2.4.5 Cálculo de la constante de dismutación "condicional"

Para encontrar la constante de velocidad de dismutación condicional; se aplicaron algunas

relaciones propuestas en diferentes publicaciones previas; y que se tomaron como base, por tener condiciones similares, en este trabajo.

#### 2.4.5.1 Método de Koutecky (1)

Koutecky<sup>53</sup> establece una ecuación que involucra la relación de corriente límite de difusión en presencia y ausencia de catálisis  $i_k$  e  $i_d$  respectivamente; toma en cuenta el transporte de masa por convección y el crecimiento de la gota de mercurio. La función completa depende de varios parámetros y presenta un comportamiento asintótico, sin embargo, si la relación se encuentra entre el intervalo  $1 < (i_k/i_d) < 4$ , la función es directamente proporcional a la concentración de enzima:

$$F = \left( \frac{i_k}{i_d} \right) = k[Enz]t \quad (2.4.5.1)$$

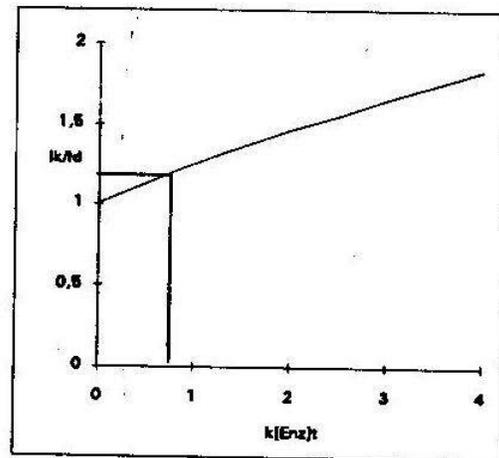


Fig 2.4.5.1.2 Función propuesta por Koutecky para la evaluación de constante catalítica.  $F = (i_k/i_d) = k[Enz]t$ .

donde  $k$  es la constante de dismutación;  $t$ , tiempo de goteo y  $[Enz]$ , concentración de enzima. Las limitaciones de este modelo son: considera la regeneración total del reactivo e ignora los efectos de adsorción (En el Anexo B.5 se dan los

## 4.2 Bibliografía

44. Rigo, A.; Rolão, G. *Anal. Biochem.* **81** 175 (1977)
45. Rigo, A.; Vigiño, P.; Argese, E.; Terenzi, M.; Rolão, G. *J. Biol. Chem.* **254** 1759 (1979)
46. Marklund, S. *J. Biol. Chem.* **251** 7504 (1976)
47. Bolkou, D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **36** 898 (1968)
48. Orme-Johnson, W. & Beinert, H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **36** 905 (1968)
49. Orleman, E. & Kern, D. *J. Am. Chem. Soc.* **75** 3058 (1953)
50. Plombeck, J. *"Electroanalytical Chemistry"* John Wiley & Sons N. Y. 1982.
51. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *"Electrochemical Methods"* John Wiley & Sons N. Y. 1980.
52. Weissberger, A.; Rossiter, W. *"Physical Methods of Chemistry"* Parte IIIA. *Electrochemical Methods*. John Wiley & Sons. N.Y. 1971.
53. Galus, Z. *"Fundamentals of Electrochemical Analysis"*. Ellis Horwood Limited, England 1976.
54. MacDonald *"Transient Techniques in Electrochemistry"*. Plenum, Press, New York, 1977.
55. Saveant, J. M.; & Vianello, E. M. *Electrochim. Acta* **10**, 1905 (1965)
56. Mastragostino, M.; Nadjó, L.; Saveant, J. *Electrochim. Acta* **13**, 721 (1968)
57. Saveant, J. M.; & Vianello, E. M. *Electrochim. Acta* **12**, 629 (1967)
58. Kermiche-Aouanouk, M.; Doguenel, M. *Electrochim. Acta* **10**, 723 (1965)
59. Mastragostino, M.; Saveant, J. M. *Electrochim. Acta* **13**, 751 (1968)
60. Saveant, J. M.; Andrieux, P.; Nadjó, L. *J. Electroanal. Chem.* **41** 137 (1973)
61. Nicholson, R. S.; Omhstead, M. L. *Anal. Chem.* **41** 863 (1969)
62. Nadjó, L.; Saveant, J. M. *Electroanal. Chem. & Interf. Chem.* **48** 113 (1973)
63. Saveant, J. M.; & Vianello, E. M. *Electrochim. Acta* **8**, 905 (1963)
64. Nicholson, R. S.; Shain, I. *Anal. Chem.* **36** 706 (1964).
65. Nicholson, R. S.; *Anal. Chem.* **37** 1351 (1964).
66. Surinder, K. & Gen, S. *J. Electroanal. Chem.* **91** 71 (1978).
67. Whiting, L. F. & Carr, P. W. *J. Electroanal. Chem.* **81** 1 (1977).
68. Amatore, C. & Saveant, J. M. *J. Electroanal. Chem.* **85** 27 (1977).
69. Amatore, C. & Saveant, J. M. *J. Electroanal. Chem.* **86** 227 (1978).
70. Polcyn, D. S.; Shain, I. *Anal. Chem.* **38** 376 (1966).
71. Wopschall, R. & Shain, I. *Anal. Chem.* **39** 1514 (1967).
72. Frumkin, A. & Darnaskin, B. *J. Electroanal. Chem.* **3** 36 (1962)
73. Parsons, R. & Zobel, F. *J. Electroanal. Chem.* **9** 333 (1965)
74. Costa, J. M. *"Fundamentos de Electroquímica. Cinética Electroquímica y sus Aplicaciones"*. Alhambra. España 1981.
75. Delahay, P. *"Double Layer and Electrode Kinetics"*. Interscience Publishers 1965.
76. Guidelli, L.; Cozzi, D. *J. Electroanal. Chem.* **14** 245 (1967)
77. Pence, D. T.; Booman, G. L. *Anal. Chem.* **38** 1112 (1966).
78. Booman, G. L.; Pence, D. T. *Anal. Chem.* **37** 1366 (1965)
79. Johnson, C. A.; Barnartt, S. *J. Electrochem. Soc.* **39** 1256 (1967).
80. Johnson, C. A.; Barnartt, S. *J. Phys. Chem.* **71** 1637 (1967).
81. Guidelli, R.; Cozzi, D. *J. Electroanal. Chem.* **13** 35 (1967).
82. Guidelli, R. *J. Phys. Chem.* **72** 3535 (1968).
83. Miller, S. I. *J. Am. Chem. Soc.* **74** 4130 (1952).