Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Azcapotzalco

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

***“DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO A BASE DE
CARBONO/POLÍMERO/NANOPARTÍCULAS DE ORO, PARA LA DETECCIÓN DE
TARTRAZINA Y ROJO ALLURA”***

Tesis

**Que para obtener el grado de
Doctora en Ciencias e Ingeniería (Materiales)**

Presenta

M. en Q. Selene Irisais Rivera Hernández

Asesores:

Dra. Silvia Corona Avendaño

Dr. Gerardo Vázquez Huerta

“Es vértigo. Es estar en el filo de un acantilado, mirando hacia abajo, decidiendo si te atreves a precipitarte al vacío o das un paso atrás y regresas a la seguridad, a tu comfortable existencia sin sobresaltos.

Yo me arrojé hace ya tiempo. Salté sin más”

Alice Kellen

A mis abuelitas

Mercedes

Que tomo mi mano por primera vez para llevarme a la escuela.

Adela

Que a diario prende las estrellas que guían mi camino.

Con todo mi amor e infinito agradecimiento

Selene Irisaís

*Al ser más maravilloso que tuve la oportunidad
de conocer, a quién me enseñó de constancia,
disciplina, tenacidad y esfuerzo.*

*A mi Papá, que desde el cielo seguramente se
siente orgulloso de mis logros.*

Gracias por dejarme volar tan alto como quise.

Con mi infinito amor, mi amado Rafaelo.

Tí "químiquita"

Agradecimientos

A Dios, que me dio todo para lograr cada uno de mis sueños, que me colocó en el camino correcto y en el tiempo indicado, que me permitió conocer a personas maravillosas que creyeron en mí y me recordaron su infinito amor.

A mis padres, que siempre me han dado todo y más de lo que he requerido, que me cuidaron y guiaron, gracias por ser un ejemplo de que todo se puede lograr.

A mi mamita, por tu infinito amor y paciencia, sé que es difícil lidiar con alguien como yo y sin embargo, estás cada que lo necesito, diciendo que todo irá bien, y recordándome lo inteligente que soy. Gracias por las veces que fuiste a verme y me sentía en casa. Tu presencia siempre me hace bien. Te amo.

Papito, ya no estás en este plano, pero en mi corazón siempre te encuentras presente, gracias por todo lo que me diste, por ser un ejemplo y por enseñarme que en la vida debes plantearte metas y trabajar por ellas. Gracias por apoyar mi decisión, sé que no fue fácil porque siempre le he tenido miedo a todo, gracias por confiar, por haberme enseñado que siempre hay que pensar en opciones para resolver las dificultades que nos muestra la vida.

A mis hermanos, **Xio, Alan y Rafa**, porque cada uno de ustedes tiene una personalidad distinta que me nutre y me enseña, porque sé que van a lograr cada sueño, porque tienen todo para lograrlo, son fuertes, inteligentes, sensibles y tenaces. Los amo.

Phoebus, gracias por el ser el sol que ilumina mis días, incluso los más nublados, porque sin ti, hace mucho me hubiera rendido.

A mis **A**sesores

Abel Velásquez, solía decir en sus conciertos “Las palabras precisas de un maestro siempre han de determinar el camino de un alumno”. Y es tan cierto, sin su asesoría, consejos, motivación, nunca hubiera logrado todo esto. Gracias por aceptarme como su alumna, por guiarme en este trabajo, y ser un ejemplo. Gracias por todo, por las revisiones, por el apoyo en los seminarios, por los

congresos, por los cursos, por darme la oportunidad de enseñar lo que ustedes me han enseñado. Son extraordinarias personas.

Dra. Silvia, es un ser maravilloso, lleno de luz que contagia su alegría al mundo, es un regalo del cielo haber coincidido con usted. Agradezco infinitamente el momento en el que me la presentaron y con una sonrisa dijo que sí. Gracias porque cuando la fui a ver me recibió con esa calidez que me hacía sentir en casa. La admiro por ser tan inteligente y una gran persona, deja en mis lecciones maravillosas. Gracias por sus ideas, por buscar las estrategias para lograr esta tesis, por las clases, creo que he tomado electroquímica como 5 veces. La quiero y admiro muchísimo. Y gracias por recordarme lo mucho que valgo, porque a veces se me olvida. Gracias por todo.

Dr. Gerardo, gracias por aceptarme como alumna aun sin conocerme, es un gran asesor, que siempre está apoyándonos, que cuando no entendemos busca la forma de que todo nos quede más claro, que comparte su conocimiento y busca la forma de ayudarnos, gracias por todas las veces que me explicó lo que no comprendí, por subir al laboratorio a hacer los experimentos. Lo admiro y respeto Dr. Estoy muy agradecida con usted.

A los Doctores **Tere**, **Manuel** y **Mario**, porque además de ser grandes investigadores, y académicos son unas personas maravillosas, gracias por todo el apoyo recibido, por los conocimientos brindados, por la ayuda, por las pláticas y por todas las experiencias que han compartido. ¡Gracias! Son personas maravillosas que dejan huella en el corazón.

A los miembros del jurado, por aceptar revisar este trabajo, por sus observaciones y comentarios. Gracias Doctoras, Gaby, Dafne, Tere y Silvia y al Doctor Iván. Todo mi respeto para ustedes.

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, por ser mi casa de estudios durante estos años, porque es increíble pertenecer a esta institución, porque desde el primer día que vine me enamoré de este espacio y aprendí muchísimo en el período que pasé aquí.

Al **LIEIM**, porque es un laboratorio increíble en donde llegar día a día era una aventura, porque podrían no quedar los experimentos, pero siempre hubo en quién apoyarse.

Al mejor amigo que la vida, Dios o el destino me podría brindar **Miguel**, porque todo esto que veo aquí es el mejor amigo que puede existir, gracias por que en su ciudad nunca me sentí sola,

gracias por las idas al cine, librerías y a comer, gracias porque siempre has estado ahí. Por recordarme lo valiosa que soy y creer en mí cuando a veces yo no lo hago, por escucharme y estar ahí cada vez que siento que el mundo se me viene encima. *My smug friend*, eres lo mejor. Te quiero muchísimo y tu amistad es lo mejor que me pudo pasar. Ahora sí, ya me vas a poder decir Dra.

Dice Alice Kellen en “El día que dejó de nevar en Alaska”, “Si algo he aprendido, es que no importa tanto ganar o perder, sino que personas están a tu lado cuando ganas o pierdes” Y hoy, estás aquí conmigo cuando pensé que no iba a poder.

Selene e Itzi, mis pequeños saltamontes, las adoro como no tienen idea, ni la distancia ni el tiempo cambian la amistad verdadera. Siempre me han apoyado y se los agradezco. Gracias porque desde la primera tesis han estado conmigo. Las amo.

Iván, gracias por tantas risas y momentos maravillosos, gracias por brindarme tu amistad te quiero y admiro muchísimo Doctor. Eres el alma del LIEIM, cuando no estabas se sentía solo, pero llegabas y todo se iluminaba, gracias por los abrazos de 40 segundos que dice Ale que son los que sanan, por las comidas exquisitas de tu dieta fitness que consistía en salmón y dos tamales. Gracias por ser tan auténtico y transparente, por ser brillante y darnos ideas para ser mejores, gracias por cada enseñanza amigo. Te quiero mil.

Selene pequeña, gracias por estar, por enseñarme, por tu paciencia, risas, responsabilidad y compromiso, gracias por ser la mejor, la más inteligente y por soportarme, gracias por demostrar tus conocimientos, por dejarme enseñarte lo que sé. Te quiero mucho bebé.

Lupita, te quiero tanto, gracias por todo, por ser una excelente amiga, porque hemos pasado tantos momentos juntas, porque eres un pilar indispensable en mi vida. Familia Mon, Yu e Irmita, infinitas gracias por su apoyo, por sus consejos y tips. Los quiero.

Maye, gracias por siempre animarme y decirme pequeña, ¡échale ganas, todo irá bien! Has sido y serás un gran apoyo en mi vida, te quiero muchísimo mi mon favorito, gracias por quedarte.

Al fabuloso, único e incomparable Team Sensores como siempre nos dijimos entre nosotros, por su apoyo, compañía, amistad, risas, por todo lo que son, de cada uno de ustedes tengo algo muy presente y que les aprendí. Noemi, Yessi, Ale, Gio, Crys, Regino, Fanni y hermosa Michyta, admiro su inteligencia, alegría, disciplina, constancia, los quiero, respeto y admiro.

William, Ede, Lilia y Martha gracias por tantos momentos, por explicarme cosas que no entendía y por mantenerme motivada.

Al Dr. Giaan, que me llevó por el camino de la electroquímica, por sus consejos y por darme la oportunidad de conocer a maravillosas y brillantes personas cómo usted.

A ti pequeña Iris, como te dicen todos tus amigos, porque aprendiste muchas cosas, no sólo académicas, si no de la vida también, porque fuiste valiente, inteligente y llegaste más lejos de lo que pensaste, porque, aunque las cosas no fueron tan rápidas como esperabas nunca desististe, porque convertiste tus debilidades en oportunidades y enfrentaste tus miedos y te mostraste como eres. Porque aprendiste a hacer amigos, te quitaste prejuicios, porque recordaste y valoraste lo maravilloso que es ser Química en Alimentos, porque, aunque la Química Analítica siempre se te ha complicado, te aferraste a un sueño, porque comprendiste más sobre muchos tópicos que creíste que no podías, gracias, Iris por aprender, por soñar y no rendirte. Te admiro, te abrazo, te acepto y te amo.

A todos muchas gracias, los sueños, si se cumplen.

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio Interdisciplinario de Electroquímica e Ingeniería de Materiales (LIEIM), de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco (UAM-A).

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de estudios de Doctorado (286216).

	I.	Índice
	II.	Índice
I. Índice		9
II Índice de figuras		12
III Índice de tablas		17
IV Símbolos y abreviaturas		18
Resumen		21
Abstract		22
Capítulo 1. Generalidades		23
1.1 Introducción		26
1.2 Antecedentes generales		26
1.2.1 Colorantes		26
1.2.1.1 Colorantes azoicos		26
1.2.1.1 Tartrazina		27
1.2.1.2 Rojo Allura		28
1.2.2 Técnicas de cuantificación		30
1.3 Justificación		33
Capítulo 2. Objetivos		34
2.1 Objetivo general		34
2.2 Objetivos específicos		34
Capítulo 3. Estudio espectrofotométrico		35
3.1 Introducción		35
3.2 Metodología		35
3.2.1 Reactivos y soluciones		35
3.2.2 Experimental		35
3.3 Resultados		36
3.3.1 Estudio espectrofotométrico en función del tiempo de análisis		36
3.3.2 Cálculo de las constantes de acidez		38
3.4 Conclusiones		46
Capítulo 4. Estudio electroquímico del RA y Trz empleando un EPC		47
4.1 Introducción		47
4.2 Metodología		48
4.2.1 Reactivos y Soluciones		48
4.2.2 Experimental		48
4.3 Resultados y Discusión		49
4.3.1 Perfil electroquímico de los colorantes		49
4.3.1.1 Rojo Allura		49
Estudio de inversión de potencial (E_{λ}) para el RA		50
4.3.1.2 Tartrazina		51
4.3.2 Estudio de variación de la velocidad de barrido		52
4.3.3 Parámetros electroquímicos		56
4.4 Conclusiones		58

Capítulo 5. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando electrodos de Pasta de Carbono modificados con Polímero Conductor	59
5.1 Introducción	59
5.2 Metodología	60
5.2.1 Reactivos y soluciones	60
5.2.2 Experimental	60
5.3 Resultado y Discusión	61
5.3.1 Modificación del EPC-poli-5aFen	61
5.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando el EPC-poli-5aFen	65
5.3.2.1 Rojo Allura	65
5.3.2.2 Cuantificación	68
5.3.3 Tartrazina	69
5.3.3.4 Cuantificación	72
5.4 Conclusiones	73
Capítulo 6. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando Electrodos de pasta de carbono y Nanopartículas de oro	73
6.1 Introducción	73
6.2 Metodología	74
6.2.1 Reactivos y soluciones	74
6.2.2 Experimental	75
6.3 Resultados y Discusión	76
6.3.1 Caracterización de las AuNPs	76
6.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando un EPC/AuNPs	78
6.3.2.1 Rojo Allura	78
6.3.2.2 Tartrazina	83
6.4 Conclusiones	88
Capítulo 7. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando electrodos de pasta de carbono modificados con poli-5aFen-AuNPs	89
7.1 Introducción	89
7.2 Metodología	89
7.2.1 Reactivos y Soluciones	89
7.2.2 Experimental	89
7.3 Resultados y discusión	90
7.3.1 Modificación del EPC-poli-5aFen-AuNPs	90
7.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando el EPC/poli-5aFen+AuNPs	92
7.3.2.1 Rojo Allura	92
7.3.2.2 Tartrazina	95
7.4 Conclusiones	97
Capítulo 8. Electrodo de pasta de carbono-Nanotubos de carbono multipared tipo bambú	98
8.1 Introducción	98
8.2 Metodología	99
8.2.1 Reactivos y soluciones	99
8.2.2 Experimental	100
8.3 Resultado y discusión	100

8.3.1 Estudio electroquímico de los colorantes	100
8.3.1.1 Rojo Allura	100
8.3.2 Cuantificación	103
8.3.1.2 Tartrazina	104
8.3.2 Cuantificación	107
8.4 Conclusiones	108
Capítulo 9. Cuantificación de los colorantes	110
9.1 Introducción	110
9.2 Metodología	110
9.2.1 Reactivos y soluciones	110
9.2.2 Experimental	111
9.3 Resultados	111
9.3.1 Rojo Allura	111
9.3.2 Tartrazina	114
9.3.3 Determinación simultánea	117
9.4 Determinación de RA y Trz en muestras reales	120
9.5 Conclusiones	123
Capítulo 10. Conclusiones generales	124
Capítulo 11. Perspectivas	126
Capítulo 11 Referencias	128

II. Índice de figuras

Figura 1.1 Estructura química de la Tartrazina.	27
Figura 1.2. Estructura química del Rojo Allura.	29
Figura 3.1 a) Espectros de absorción para el sistema 4.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, para pH 0.33 (—), 6.25 (—), 12.71 (—), b) Tendencias de las absorbancias en λ_{496} nm en función del tiempo (120 minutos) para pH 0.30 (○), 6.0 (◇) y 12.0 (Δ)	37
Figura 3.2 a) Espectros de absorción para el sistema 4.0×10^{-5} M Trz/0.1 M NaCl, para pH 0.3 (—), 6.41 (—), 12.00 (—), b) Absorbancia en λ_{426} nm en función del tiempo (120 minutos) para pH 0.30 (○), 6.0 (◇) y 12.0 (Δ).	38
Figura 3.3 a) Espectros de absorción obtenidos para 4.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl en un intervalo de pH de 0.06 a 12.53. b) Absorbancia a λ_x donde $x = 496$ (—) y 288 (●●●) nm vs pH.	39
Figura 3.4. a) Espectros de absorción obtenidos para 4.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl en un intervalo de pH de 0.03 a 12.22. b) Absorbancia a λ_x en donde $x = 458$ (●●●), 390 (—) y 380 (---) nm vs pH.	40
Figura 3.5. Coeficientes de absorptividad molar en función a λ obtenidos con el programa SQUAD para: a) RA, b) Trz.	42
Figura 3.6. Comparación entre los espectros experimentales (○) y teóricos (—) a diferentes valores de pH para RA a) 0.5, b) 7.24 y c) 11.41.	44

Figura 3.7. Comparación entre los espectros experimentales (o) y teóricos (—) a diferentes valores de pH para Trz a) 0.6, b) 7.00 y c) 11.00.	44
Figura 3.8. Mecanismo de desprotonación para: a) RA y b) Trz, empleando las constantes de acidez calculadas por SQUAD y la información previamente reportada en la literatura.	45
Figura 3.9. Diagramas de zona de predominio obtenidos a partir de las constantes de acidez calculadas por SQUAD para a) RA y b) Trz.	46
Figura 4.1. Electrodo de pasta de carbono.	48
Figura 4.2 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0 x M RA, donde x= (—) 0 y (—) 1.0×10^{-3} . Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .	50
Figura 4.3 Mecanismo de oxidación para el RA [48].	50
Figura 4.4. Voltamperogramas cíclicos para para el sistema EPC/ 1.0×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0 a diferentes ventanas de potencial: (—) 0.0-0.73 V, (—) 0.83 V y (—) 0.88 V, velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .	51
Figura 4.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0, x M Trz, donde x= (—) 0 y (—) 1.0×10^{-3} . Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .	52
Figura 4.6 Mecanismo de oxidación para la Trz [48].	52
Figura 4.7 Voltamperogramas cíclico para los sistemas EPC/ a) 1×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, b) 1×10^{-3} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de barrido $0.01\text{-}0.14 \text{ V s}^{-1}$.	53
Figura 4.8 Ajuste lineal de la intensidad de pico anódico en función de: a) la raíz cuadrada de la velocidad de barrido para RA y b) la velocidad de barrido para Trz, obtenidas de los VC de la Figura 4.7.	55
Figura 4.9 Cociente $-i_{pc}/i_{pa}$ en función de la velocidad de barrido para a) RA y b) Trz obtenidos a partir de los voltamperogramas mostrados en la Figura 4.7. En el inserto de la Figura b se muestra una ampliación de la tendencia de este cociente.	55
Figura 4.10 Variación de $\ln i_{pa}$ en función de la diferencia de $E_{pa}-E^{\circ}$ construido a partir de la Figura 4.7.	57
Figura 4.11 Relación entre el potencial anódico E_{pa} en función del logaritmo natural de la velocidad de barrido construido a partir de la Figura 4.7a.	58
Figura 5.1. Estructura química de la 5-amino-1,10-fenantrolina.	59
Figura 5.2. Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC/ 0.5 M H_2SO_4 , 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 10 ciclos. Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} . Inserto: Ampliación de los picos III y IV.	61
Figura 5.3. Esquema general de la electropolimerización de la poli-5afen. Obtenido de síntesis y caracterización electroquímica de una membrana de poli(5afen) para el desarrollo de electrodos modificados útiles para la determinación de neurotransmisores en presencia de ácido ascórbico [86].	64
Figura 5.4 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5(aFen). Zona anódica (●●●), zona catódica (●●●).	65

Figura 5.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---), EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	66
Figura 5.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0x10 ⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH= 4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	67
Figura 5.6. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas a) EPC, b) EPC-poli-5aFen, 2.0x10 ⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs ⁻¹ .	68
Figura 5.7. Ajustes lineales obtenidos para los sistemas a) EPC, b) EPC-poli-5aFen, 2.0x10 ⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0, obtenidos a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 5.6.	68
Figura 5.8. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0 Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	69
Figura 5.9. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	70
Figura 5.10 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs ⁻¹ .	71
Figura 5.11 Ajuste lineales obtenidos para los sistemas a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0, obtenidos a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 5.10.	72
Figura 6.1 Fotografías de la solución de síntesis de las AuNPs a diferentes tiempos.	75
Figura 6.2 Espectro UV-Vis para la dispersión de AuNPs.	76
Figura 6.3 Micrografías STEM para las AuNPs.	77
Figura 6.4 Patrón de difracción para las AuNPs soportadas en Carbón Vulcán XC-72R®	77
Figura 6.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC/AuNPs/ 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	79
Figura 6.6. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (—) EPC, (---) EPC/AuNPs/1.0x10 ⁻³ M, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	80
Figura 6.7 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+ AuNPs, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	81
Figura 6.8 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	82
Figura 6.9 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC+AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de 0.01-0.1 V s ⁻¹ . b) Ajuste lineal obtenido al graficar i_{pa} vs $v^{1/2}$ a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).	83
Figura 6.10. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC/AuNPs, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	84
Figura 6.11. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (—) EPC, (---) EPC/AuNPs, 1.0x10 ⁻³ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	85

Figura 6.12 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+AuNPs/ 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	86
Figura 6.13 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+1 mM. AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s ⁻¹ .	87
Figura 6.14 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC+ 1 mL AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de 0.01-0.1 V s ⁻¹ . b) Ajuste lineal i_{pa} vs $v^{1/2}$ obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso b).	88
Figura 7.1. Voltamperogramas cíclicos (10 ciclos) para el sistema EPC, 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H ₂ SO ₄ + 1 mL AuNPs. Velocidad de barrido 0.1 V s ⁻¹ .	90
Figura 7.2. a) Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---)0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H ₂ SO ₄ y EPC-poli-5aFen-AuNPs (—), 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H ₂ SO ₄ +1 mL AuNPs, 10 ciclos. Velocidad de barrido 0.1 V s ⁻¹ .	91
Figura 7.3 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5aFen+AuNPs). Zona anódica (●●●) b) zona catódica (●●●).	92
Figura 7.4 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5aFen (●) y poli-5aFen+AuNps (▲) para a) zona anódica, b) zona catódica.	92
Figura 7.5 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	93
Figura 7.6 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas 2.0x10 ⁻⁵ M RA/0.1 M NaCl/EPC (---) y EPC/poli-5aFen+AuNPs (—). Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	94
Figura 7.7 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC-poli-5aFen+AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs ⁻¹ . b) Ajuste lineal obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).	95
Figura 7.8 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (----) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0x10 ⁻⁵ M, 0.1 M NaCl, pH=4.0.	95
Figura 7.9 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—), 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	96
Figura 7.10 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC-poli-5aFen+AuNPs, 2.0x10 ⁻⁵ M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs ⁻¹ . b) Ajuste lineal obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).	97
Figura 8.1. Micrografía TEM de la estructura de los NTCM-B. Fuente: Zhu. Z., Wang, J., Munir, A., Zhou, H. S. (2011).	99
Figura 8.2. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs ⁻¹ .	101

Figura 8.3. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .	102
Figura 8.4 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC/NTCM-B, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido $0.09-0.3 \text{ V s}^{-1}$. b) Ajuste lineal	103
Figura 8.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .	105
Figura 8.6 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .	106
Figura 8.7 a) Voltamperogramas cíclicos para EPC/NTCM-B, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de barrido $0.1-0.3 \text{ V s}^{-1}$. b) Ajuste lineal obtenido para EPC/NTCM-B, a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en el inciso b)	107
Figura 9.1 Familias de a) Espectros de absorción b) voltamperogramas diferenciales de pulso utilizando b) EPC y c) EPC/NTCM-B; a diferentes concentraciones. pH=4.0. Insertos: curvas de calibrado construidas a partir de a) Absorbancia, b) y c) intensidad de corriente, en función de la concentración del colorante.	112
Figura 9.2 Familias de a) Espectros de absorción b) voltamperogramas diferenciales de pulso utilizando b) EPC y c) EPC/NTCM-B; a diferentes concentraciones. pH=4.0. Insertos: curvas de calibrado construidas a partir de a) Absorbancia, b) y c) intensidad de corriente, en función de la concentración del colorante.	115
Figura 9.4. VDPs para el sistema 2×10^{-5} M RA y Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0 para (---) EPC y (—) EPC-NTCB.	118
Figura 9.5. Espectros de absorción para determinación simultánea 1.3×10^{-5} M Rojo Allura (—), Tartrazina (—). Solución binaria (—) 1.3×10^{-5} M RA y 2.0×10^{-5} M Trz.	118
Figura 9.6. VDPs para el sistema 6.0×10^{-6} M Trz, [2.0×10^{-6} - 1.2×10^{-5} M] RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Para a) EPC y b) EPC-NTCMB.	119
Figura 9.7. VDPs para el sistema 6.0×10^{-6} M RA, [2.0×10^{-6} - 1.2×10^{-5} M] trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Para a) EPC y b) EPC-NTCMB.	119
Figura 9.8 VDPs para los sistemas EPC a) Refresco sabor guaraná, b) gelatina sin azúcar sabor piña, c) Refresco sabor naranja. Electrolito soporte 0.1 M NaCl, pH=4.0.	122
Figura 9.9 Espectros de absorción Uv-Vis para a) Refresco sabor guaraná, b) gelatina sin azúcar sabor piña, c) Refresco sabor naranja. Electrolito soporte 0.1 M NaCl, pH=4.0.	

III. Índice de tablas

Tabla I.I. Características fisicoquímicas de la Tartrazina.	28
Tabla I.II. Características fisicoquímicas del Rojo Allura.	29
Tabla I.III a) Sensores electroquímicos reportados en la literatura para la determinación de Trz.	31
Tabla I.III b) Sensores electroquímicos reportados en la literatura para la determinación de RA.	32
Tabla III.I Constantes de acidez para los colorantes RA y Trz.	41
Tabla III.II Valores de coeficientes de absortividad molar (ϵ) para los colorantes RA y Trz obtenidos por espectrofotometría UV-Vis y el programa computacional SQUAD.	42
Tabla VII.I a Valores electroquímicos para el RA empleando diversos electrodos de trabajo	109
Tabla VII.I b Valores electroquímicos para la Trz empleando diversos electrodos de trabajo	109
Tabla IX.I Parámetros analíticos para el RA	113
Tabla IX.II Valores obtenidos para el recobro de RA	114
Tabla IX.IV Valores de % de recobro para la Trz	114
Tabla IX.I Parámetros analíticos para diferentes electrodos en muestras binarias	120
Tabla IX. Cantidades calculadas de colorantes empleando espectrofotometría UV-Vis y EPC.	123

IV Símbolos y abreviaturas

α	Coeficiente de transferencia de carga
A	Absorbancia
A	Amperes
A	Área electroactiva
CV	Carbón vítreo
CVul	Carbón Vulcan XC-72R
Q	carga acumulada
Cm	Centímetro
NaCl	Cloruro de sodio
ϵ	Coeficiente de absortividad molar
D	Coeficiente de difusión
CE	Comunidad Europea
C	Concentración

C_0	Concentración inicial
K_a	Constante de acidez
pK_a	Constante de acidez
F	Constante de Faraday
R	Constante de los gases
K_{ow}	Constante de partición octanol-agua
k^o	Constante de velocidad heterogénea
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
ρ	Densidad
DZP	Diagrama de zonas de predominio
$\emptyset$	Diámetro
ΔE_p	Diferencia de potencial
XDR	Difracción de rayos X
SDS	Dodecilsulfato de Sodio
EPC	Electrodo de pasta de carbono
ISE	Electrodo selectivo a iones
EQ	Electroquímico-Químico
FCC	Estructura cúbica centrada en la cara
FDA	Food and Drug Administration
F	FR/T
G	Gramos
IDR	Ingesta diaria recomendada
i_p	Intensidad de corriente
i_{pa}	Intensidad de pico anódico
i_{pc}	Intensidad de pico catódico
IL	Intervalo de linealidad
JCPDS	Joint Committe on Podwer Difrraction Standards
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
L	Litros
L	Longitud
λ	Longitud de onda
$M\Omega$	Mega Ohms
μA	microAmperes
μg	Microgramos

μM	Micromolar
STEM	Microscopia de trasmision de barrido
Mg	Miligramos
mL	mililitros
M	Molaridad
Nm	Nanómetro
NPs	Nanopartículas
AuNPs	Nanopartículas de oro
NTCM	Nanotubos de carbono multipared
NTCM-B	nanotubos de carbono multipared tipo bambú
NR	No reportado
NOM	Norma Oficial Mexicana
N	número de electrones transferidos
PANI	Polianilina
PEBD	Polietileno de baja densidad
Poli-5-aFen	Polímero 5-amino-10-fenantrolina
MIP	Polímero impreso molecularmente
PPy	Polipirrol
E_p	Potencial de pico
E^0	Potencial formal del par redox
RA	Rojo Allura
m'	$RT/(\alpha nF)$
M	$RT/[(1-\alpha)nF]$
S	Segundos
Γ	Superficie recubierta
SQUAD	Stability Quotients from Absorbance Data
Trz	Tartrazina
θ	Theta
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
V	Velocidad de barrido
VC	Voltamperometría cíclica
VDP	Voltamperometría Diferencial de pulsos
V	Volts

Resumen

En la presente tesis se realizó el estudio espectrofotométrico y electroquímico de los colorantes sintéticos azoicos Rojo Allura y Tartrazina, que son ampliamente utilizados en la industria alimentaria debido a que proporcionan una coloración brillante y uniforme, además de ser estables a diversos factores.

A partir del estudio espectrofotométrico se determinó la estabilidad al tiempo y al pH, al variar este parámetro en un intervalo donde abarcó la mayor parte de la escala; también se determinaron junto con el programa computacional SQUAD® las constantes de acidez, mismas que sirvieron para establecer las condiciones experimentales del estudio electroquímico.

El estudio electroquímico se realizó con un electrodo de pasta de carbono (EPC) empleando las técnicas de voltamperometría cíclica (VC) y voltamperometría diferencial de pulsos (VDP). Con el EPC y la VC se determinó el proceso de electroquímico de los colorantes una vez establecido este, se procedió a realizar las modificaciones del electrodo en donde se probaron diversos agentes como los polímeros conductores, las nanopartículas de oro y los nanotubos de carbono tipo bambú.

Una vez realizada la caracterización electroquímica se realizó la construcción de las curvas de calibrado, tanto con el método electroquímico como con el espectrofotométrico con la finalidad de contrastar los resultados.

Posteriormente se realizó la cuantificación en muestras reales, ya que estos colorantes están presentes en diversos alimentos que a diario solemos ingerir, si bien son aditivos generalmente reconocidos como seguros su inocuidad debe continuar estudiándose ya que en la actualidad, niños y personas hipersensibles han demostrado presentar alergias.

Abstract

In this work the spectrophotometric and electrochemical study of the azo dyes, Allura Red and Tartrazine was carried out. These dyes are thoroughly used in food industry because they provide a bright and uniform colouring, furthermore, to being stable to diverse factors.

From the spectrophotometric method, the stability to the time and pH was determinate, by modifying this value in a wide interval (almost all the pH scale). Also, using the SQUAD computational program, the acid constant values were calculated, the same were using to determine the experimental conditions of the electrochemical study.

The electrochemical experiments were carried out with a carbon paste electrode (CPE) as working electrode using cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry techniques. With the CPE and CV, the electrochemical process of the azo dyes was determinate, afterwards, the electrode modifications were carried out, where several agents were tested, as conductive polymers, gold nanoparticles and bamboo type multiwalled carbon nanotubes.

Since, the electrochemical characterization was carried out, the calibration curves were constructed, so long the electrochemical and spectrophotometric method, to contrast the results. Subsequently, the quantification in real samples was made it, because these azo colourings are presents in several foods, that we eat daily.

Although, Allura Red and Tartrazine are additives generally recognized as safe, their safety should continue studied because children and sensitive persons have shown allergies.

Capítulo 1. Generalidades

1.1 Introducción

Alimentarse es una necesidad básica, si no se ingieren los nutrientes adecuados el cuerpo se debilita y surgen diversos padecimientos, sin embargo, la mayoría de las veces, los alimentos no son elegidos con base en sus propiedades nutrimentales, se seleccionan aquellos que lucen más atractivos de acuerdo a la percepción originada por los cinco sentidos.

A través de los diversos aromas que despiden los alimentos, los sabores que se perciben por medio de las papilas gustativas, los sonidos que emiten cuando son mordidos o cortados, las texturas que se sienten, las formas, tamaños y colores que se observan, se decide si se acepta o rechaza el producto. Por ello, en la industria alimentaria es de suma importancia mantener en óptimas condiciones las características organolépticas de los productos, lo cual, se realiza a través de la aplicación de atmósferas modificadas, seguimiento de la maduración de frutas y hortalizas, adición de agentes conservadores, modificadores de textura, espesantes, agentes antimicrobianos, acidulantes y colorantes a diversos productos procesados [1].

Los colorantes son probablemente los aditivos empleados con mayor frecuencia, ya que el primer contacto del consumidor con el alimento es a través del sentido de la vista; un producto con la coloración adecuada es adquirido con mayor facilidad [2]. Los colorantes más utilizados son los de origen sintético debido a sus características, son estables a diversos factores, luz, temperatura y pH; además, económicamente su adición es más viable a comparación de los pigmentos de origen natural.

Dentro del grupo de los colorantes sintéticos destacan por su uso los de origen azoico, estos proporcionan una amplia gama de coloración al ser añadidos solos o en mezclas, se pueden obtener tonalidades azules, verdes, moradas, naranjas, rojas y amarillas, estos últimos dos tonos se consiguen con el empleo del Rojo Allura (RA) y con la Tartrazina (Trz). Puesto que son considerados aditivos de uso seguro, se adicionan a una amplia variedad de productos, principalmente, confitería, bollería, repostería, alimentos chatarra, aderezos, mermeladas, leches saborizadas, jugos y néctares, bebidas carbonatadas y alcohólicas preparadas, polvos para preparar gelatinas e incluso se permite su adición a ciertos productos de origen animal, como pasta de pescados o crustáceos[3].

Debido a que se encuentran en diversos alimentos y en cantidades considerables, en años recientes, su consumo ha sido vinculado como causante de alergias en personas hipersensibles y

como factor detonante en el desarrollo del trastorno de hiperactividad y déficit de atención en infantes de 0 a 3 años ^[4]; por estos motivos, la legislación alimentaria se ha tornado más estricta al momento de establecer, la ingesta diaria recomendada (IDR) y los límites máximos permisibles en los alimentos ^[5].

Para asegurar que los colorantes se adicionen en las cantidades establecidas por las instancias reguladoras, es necesario, contar con métodos analíticos que permitan su detección y cuantificación de forma precisa, sencilla y rápida; además es necesario conocer la mayor cantidad de información posible acerca de sus propiedades químicas.

Tanto la caracterización química como la cuantificación de los colorantes, se realiza generalmente a través del uso de métodos instrumentales. En la caracterización química se determinan variables como la estabilidad al tiempo de análisis, a la luz y al pH, este último factor es de suma importancia para determinar las especies que existen y predominan en el intervalo de la escala de pH, así se puede seleccionar el valor en donde se sitúa la especie de interés, ésto se realiza a través de la determinación de las constantes de acidez (pK_{as}). La determinación de este parámetro se puede realizar a través de: potenciometría, electroforesis capilar, métodos colorimétricos o espectrofotometría UV-Vis; en todos los casos es necesario el uso de métodos computacionales que permitan el tratamiento adecuado de los datos; sin embargo, muchos de ellos resultan complejos en su uso, por lo que es necesario considerar softwares que sean fáciles de manipular y cuyo tiempo de análisis de datos sea menor, uno de estos programas es SQUAD (Stability Quotients of Absorbance Data), el cual realiza un refinamiento de las constantes a través del uso del algoritmo de Gauss-Newton.

Por otro lado, para la cuantificación de los colorantes, en años recientes se han empleado métodos electroquímicos, ya que estos son sencillos de utilizar, la adquisición de datos es rápida, se pueden determinar parámetros cinéticos y termodinámicos de interés, además es posible emplear una amplia variedad de electrodos metálicos o de materiales carbonáceos; dentro de este grupo destacan por su uso los electrodos de pasta de carbono (EPC). Estos electrodos son fáciles de construir, la superficie se renueva con facilidad, la señal electroquímica es reproducible, alcanzan parámetros analíticos competitivos, además pueden ser fácilmente modificados con diversos materiales a través del uso de distintas metodologías ^[6], sin embargo, para asegurar que las mediciones son confiables es importante considerar la caracterización química de la molécula de interés.

Partiendo de lo descrito con anterioridad, en este trabajo de investigación se presenta el cálculo de las constantes de acidez de los colorantes RA y Trz y una vez calculados dichos parámetros se establecen condiciones para llevar a cabo la cuantificación de los mismos a través del desarrollo de un sensor electroquímico base carbono, modificando su superficie a través de distintos materiales.

Este trabajo se encuentra estructurado de la siguiente forma:

En el capítulo 1, se presentan los antecedentes generales: definición de los colorantes, importancia, propiedades fisicoquímicas, productos a los que se añaden, caracterización química, valores de constantes de acidez reportadas, técnicas de cuantificación empleadas; a través de esta descripción se procederá a establecer cuál es la importancia de obtener los valores de pK_a y el porqué es necesario el desarrollo de metodologías para su determinación.

En el capítulo 2 se describen los objetivos, general y específicos.

El capítulo 3 muestra la caracterización química utilizando espectrofotometría UV-Vis, se describe el espectro de absorción para cada uno de los colorantes, la estabilidad al tiempo de análisis y se calculan las constantes de acidez a través del programa computacional SQUAD y la información espectrofotométrica y se muestran los diagramas de distribución de especies que serán de útiles para establecer las condiciones experimentales.

En el capítulo 4 se muestra la caracterización electroquímica del RA y Trz empleando un EPC, con estos experimentos se establecen condiciones experimentales como las ventanas de barrido de potencial y las concentraciones de colorantes a utilizar. Se calculan también parámetros electroquímicos de interés como el coeficiente de difusión D , la constante de velocidad heterogénea k^o , el número de electrones transferidos n y el coeficiente de transferencia de carga α .

El capítulo 5 muestra el estudio electroquímico utilizando un EPC y las modificaciones realizadas a través de diversos agentes como son surfactantes, polímero, nanopartículas de oro (AuNPs), polímero/nanopartículas de oro y nanotubos de carbono multipared tipo bambú (NTCM-B).

En el capítulo 6 se muestra la cuantificación de los colorantes empleando el EPC con sus respectivas modificaciones y como método comparativo se utiliza con espectrofotometría UV-Vis. Se presentan los parámetros analíticos: sensibilidad, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC) e intervalo de linealidad (IL) para ambas metodologías. Además, se muestra la cuantificación en muestras reales.

1.2 Antecedentes generales

1.2.1 Colorantes

El color se define como la sensación provocada en la retina de un observador por las ondas luminosas ubicadas en un intervalo de longitud de onda (λ) = 380-760 nm. Es una propiedad intrínseca resultado de la interacción entre la luz incidente en la retina y un componente físico que depende de determinadas características de la luz, como el tono o matiz, saturación o pureza y la luminosidad o brillo [2,7-8]. Es considerado un criterio primario para tomar decisiones a la hora de la adquisición de diversos productos, la apariencia es empleada como marcador de calidad en la cadena de producción, almacenamiento y comercialización de los alimentos, sin embargo; a lo largo de este proceso la coloración natural de los productos sufre modificaciones o se destruye; debido a la exposición a la luz, aire, temperaturas extremas y humedad. Por ello, la industria alimentaria se ha visto en la necesidad de emplear aditivos, denominados colorantes, que mejoren la apariencia de los productos ofertados al consumidor [8-9].

La Food and Drug Administration (FDA), define a los colorantes alimentarios como aquellos pigmentos, colorantes o sustancias que cuando son adicionados o aplicados a los alimentos son capaces, por ellos mismos o través de reacciones con otras sustancias de impartir color [9].

Desde el punto de vista químico los colorantes son sistemas insaturados que presentan en su estructura un grupo cromóforo^[10], se clasifican por su origen en: naturales (antocianinas, flavonoides, clorofila, betalaínas, etc.), sintetizados por la industria química (idénticos a los naturales) y artificiales [1,10-11], siendo estos últimos los más utilizados por sus características como: bajo costo, estables a diversos factores, como la luz, temperatura, humedad y pH; mayor intensidad de color, las coloraciones se reproducen con facilidad, no confieren sabor y presentan menor probabilidad de interactuar con otros aditivos presentes en los alimentos^[12]; dentro de este grupo destacan por su uso los colorantes azoicos.

1.2.1.1 Colorantes azoicos

Los colorantes de origen azoico surgieron en el año 1870 y en la actualidad se adicionan a una gran variedad de productos. Reciben este nombre debido a que en su estructura química presentan uno o más dobles enlaces nitrógeno-nitrógeno (N=N) unidos típicamente a grupos

aromáticos, de acuerdo al número de grupos azo presentes pueden ser clasificados en *mono*, *di*, *tri*, *tetra*, y *poli azo* compuestos [13]. En su estructura química se encuentra al menos un grupo ácido formador de sal, el cual, confiere la solubilidad en medio acuoso, el más utilizado es el grupo sulfonato, sin embargo; el grupo carboxilo también ha sido empleado [14].

La síntesis de estos colorantes se realiza en dos pasos, el primero de ellos consiste en la obtención de un compuesto *di*-azo, el cual es producido mediante la reacción de una amina aromática vía formación de una nitrosamina y de un *di*-azo-hidróxido, posteriormente se realiza el acoplamiento *díazoico* con sistemas aromáticos reactivos [11,13]. La selección cuidadosa de los grupos sustituyentes y del número de grupos azo acoplados, da como resultado las tonalidades deseadas, por ejemplo, el color amarillo se obtiene al emplear arilida de ácido acetoacético y compuestos heterocíclicos, mientras que el color rojo se debe a la reacción de un compuesto *díazoico* obtenido de la anilina y un derivado del naftanol[11], dentro de estos colorantes los más representativos son la Tartrazina y el Rojo Allura.

1.2.1.2 Tartrazina

La Tartrazina (Trz), (sal trisódica 4,5-dihidro-5-oxo-1-(4-sulfofenil)-4-[(4-sulfofenil)azo]-1*H*-pirazol-3-carboxilato) conocida también Amarillo 5 FD&C o E102, pertenece al grupo de los pirazoles monoazoicos (Figura 1.1). Aunque la sal sódica es la única certificada por la FDA, en diversos países se permite también el uso de las sales de potasio y calcio, incluso se llega a emplear en forma de laca de aluminio [15-16].

Figura 1.1 Estructura química de la Tartrazina.

Su uso está permitido en Estados Unidos, Japón, Australia, algunos países de la Comunidad Europea (CE) y en México [1]. Se añade a bebidas, helados, polvos para preparar bebidas y gelatinas, dulces, raspados, especias, postres, salsas, productos horneados y lácteos, principalmente [17].

La Trz, es sintetizada vía acoplamiento diazoico del ácido 4-aminobencensulfónico (llamado también ácido fenilhidrazina-*p*-sulfónico o ácido 4-hidrazinobencensulfónico) con ácido dioxosuccínico o derivados del ácido oxaloacético; la laca de aluminio se obtiene al hacer reaccionar el colorante con óxido de aluminio en medio acuoso, cuando la laca se forma, el producto se filtra, enjuga y seca [17]. Los polvos resultantes de la síntesis presentan una coloración amarillo-naranja brillante, son inodoros, no presentan sensibilidad a la luz y al aire y son químicamente estables, en la Tabla I.I se muestran las características fisicoquímicas del colorante [18-19].

Tabla I.I. Características fisicoquímicas de la Tartrazina.

Nombre químico	Sal trisódica 4,5-dihidro-5-oxo-1-(4-sulfofenil)-4-[(4-sulfofenil) azo]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato
Fórmula molecular	C ₁₆ H ₉ N ₄ Na ₃ O ₉ S ₂
Peso molecular (g mol ⁻¹)	534.36
Ensayo	85% de materia colorante, 15% materia volátil
Número CAS	12225-21-7
Punto de fusión (°C)	>300.0
Solubilidad (25 °C)	< 20.0 g 100 mL ⁻¹ en agua 18.0 g 100mL ⁻¹ en glicerol 7.0 g 100 mL ⁻¹ en propilenglicol 0.8 mg mL ⁻¹ en etanol Soluble en ácido sulfúrico concentrado
Log K _{ow} ⁺	-10.17
pK _a	9.4

⁺K_{ow} Coeficiente de partición agua-octanol.

1.2.1.3 Rojo Allura

El Rojo Allura (RA) (sal disódica 6-hidroxi-5-[(2-metoxi-5-metil-4-sulfofenil) azo]-2-naftalensulfonato), fue desarrollado por primera vez por la compañía Allied Chemical Corporation con el nombre comercial de Rojo Allura AC [20], es conocido también como Rojo 40 FD&C o E129 (Figura 1.2), pertenece a la clasificación de los colorantes *monoazoicos*, en soluciones ácidas y neutras presenta una coloración rojo brillante, mientras que en soluciones básicas la tonalidad resultante es rojo oscuro [21].

Figura 1.2. Estructura química del Rojo Allura.

Su uso está permitido en Estados Unidos, Japón, Australia, algunos países pertenecientes a la CE y en México, se añade a productos de repostería, bollería, aderezos, bebidas carbonatadas, jugos y néctares principalmente; es adicionada en forma de sal sódica, aunque también pueden emplearse las sales de calcio y potasio o bien como laca de aluminio [1,21].

El RA se obtiene a partir del acoplamiento diazoico del ácido 5-amino-4-metoxi-2-toluensulfónico (ácido 4-amino-5-metoxi-2-metilbencensulfónico, ácido *p*-cresidina sulfónico o ácido *p*-CSA) con ácido 6-hidroxi-2-naftalen sulfónico (sal de Schaeffer), el compuesto resultante es purificado y aislado como sal sódica [21], se comercializa en forma de polvo o gránulos rojizos-marrón, es estable a la temperatura, humedad y luz, en la Tabla I.II se muestran sus características fisicoquímicas [20-22].

Tabla I.II. Características fisicoquímicas del Rojo Allura.

Nombre químico	Sal disódica 6-hidroxi-5-[(2-metoxi-5-metil-4-sulfofenil) azo]-2-naftalensulfonato
Fórmula molecular	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$
Peso molecular (g mol ⁻¹)	496.43
Ensayo	80% de materia colorante, 20% materia volátil
Número CAS	25964-17-6
Punto de fusión (°C)	>300.0
Solubilidad (25 °C)	Totalmente soluble en agua 3.0 g 100mL ⁻¹ en glicerol 1.5 g 100 mL ⁻¹ en propilenglicol 1.0 g 100mL ⁻¹ en etanol
Log K _{ow} ⁺	-0.55
pK _a	11.4

1.2.2 Técnicas de cuantificación

Por el uso extendido de la Trz y el RA es necesario contar con normativa que establezca: los productos a los que pueden ser adicionados sin ser considerados agentes adulterantes, la IDR y los límites máximos permisibles; además se deben establecer las metodologías que permitan la identificación y cuantificación de los colorantes.

Con la finalidad de evitar riesgos sanitarios, la FDA recomienda una ingesta máxima al día de 420 mg de RA y 200 mg de Trz ^[23,24], en el caso de la legislación mexicana, la NOM-038-SSA1-1993, establece las especificaciones de identidad y de pureza de los colorantes sintéticos empleados en alimentos y cosméticos ^[25], mientras que la NOM-218-SSA1-2011^[5], establece los límites máximos permisibles para bebidas, congelados, polvos, jarabes, concentrados y concentrados de manufactura, el cual es de 300 mg L⁻¹ para el RA y 100 mg L⁻¹ para la Trz.

Los métodos oficiales para la cuantificación se establecen de acuerdo a la normativa de cada país, la FDA, utiliza espectrofotometría UV-Vis, para la identificación de los colorantes se emplea una solución 16.4 µg mL⁻¹ de cada uno de ellos, a tres valores diferentes de pH= 1.0, 7.0, 13.0 y se miden las absorbancias máximas; la cuantificación se realiza por medio de una titulación, empleando como agente valorante TiCl₃, esta misma metodología es la establecida en la Normativa Mexicana ^[25] en donde para calcular el porcentaje total de color se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Color Total} = \frac{A \times B \times F \times D}{C} \times 100$$

En donde:

A= mL de TiCl₃ gastados en la titulación.

B=Normalidad de TiCl₃.

C= Cantidad de muestra en gramos.

D= Factor de dilución.

F= Factor de color

Colorante	Amortiguador	Peso molecular/ ml de TiCl ₃ , 0.1 N	g de colorante por g/color	ml de TiCl ₃
RA	Bitartrato ácido de sodio	496.4	0.01241	80.5
Trz	Bitartrato ácido de sodio	534.4	0.01336	74.9

Esta metodología presenta ciertas desventajas como el tiempo de análisis, la inestabilidad de la solución titulante, las condiciones experimentales, además de no considerar que el colorante, generalmente se presenta en mezcla con otros pigmentos y aditivos que pueden causar mediciones erróneas.

Para resolver este problema se han desarrollado diversas metodologías, destaca el uso de la espectrofotometría UV-Vis con el uso de métodos quimiométricos para la resolución de las señales [26-29], la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) empleando fase reversa, acoplada a espectroscopia de masas [30-35] y la electroforesis capilar [36-38].

Con el uso de estas técnicas se ha logrado la cuantificación de los colorantes, sin embargo; la mayoría de ellas requiere el uso de reactivos costosos para su uso, además de una preparación compleja de la muestra a analizar, por ello, recientemente se ha propuesto utilizar sensores electroquímicos debido a que son sencillos en su uso, se emplean una gran variedad de electrodos, su costo es menor comparado con otras técnicas, las señales electroquímicas obtenidas son reproducibles, se obtienen parámetros analíticos competitivos, en diversas ocasiones las muestras no requieren un pretratamiento especial y debido a que cada analito posee un potencial redox la posibilidad de interferencias se reduce [6,39]. Aprovechando estas ventajas, en la literatura se ha reportado el desarrollo de diferentes metodologías electroquímicas que permitan una cuantificación sencilla, simple y directa de los colorantes en muestras reales, en la Tabla I.IIIa se muestra un resumen de los trabajos representativos para la Trz, mientras que la Tabla I.IIIb corresponde a los del RA.

Tabla I.III a) Sensores electroquímicos reportados en la literatura para la determinación de Trz.

Tipo de electrodo	LD (μM)	LC (μM)	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{M}^{-1}$)	Intervalo lineal (μM)	Referencia
Electrodo de gota de mercurio	0.02	0.069	-13.56-0.015	NR	[41]
EPC modificado con AuNPs	0.002	NR	0.06 ± 7.94	0.05-1.6	[43]
Electrodo de gota de mercurio/Bromuro de cetilpiridinio.	0.006	NR	NR	0.013-0.601	[45]
Electrodo de oro modificado con quitosano/ nanopartículas de óxido de calcio/ NTCM	1.81	NR	9.4571 ± 15.43	2.01-20.14	[46]
Electrodo serigrafiado de carbón modificado con una película de antimonio.	0.3	NR	NR	1.0-5.0	[49]
Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM dispersados en 1,3-dioxolano.	0.22	NR	3.5	1.0-7.0	[50]

Electrodo de carbón vítreo modificado con polímero impreso molecularmente	8.0	NR	NR	5.0-20.0	[51]
Electrodo de carbón vítreo modificado con polialilamina	1.8	NR	NR	NR	[52]
EPC modificado con grafeno y TiO ₂ mesoporoso	0.08	NR	NR	0.02-1.12	[53]
EPC modificado con microfibras de alúmina	0.002	NR	NR	NR	[54]

NR No reportado

Tabla I.III b) Sensores electroquímicos reportados en la literatura para la determinación de RA.

Tipo de electrodo	LD (μM)	LC (μM)	Sensibilidad (μA/μM ⁻¹)	Intervalo lineal (μM)	Referencia
Electrodo de gota de mercurio	0.013	0.044	-27.13-0.023	NR	[41]
Carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono multipared	0.050	NR	0.06141±702	0.05-1.6	[42]
Electrodo de gota de mercurio.	NR	0.09	465	0.04-9.06	[44]
Electrodo de oro modificado con quitosano/ nanopartículas de óxido de zinc/NTCM	0.0008	NR	0.4947±.6721	0.001-0.02	[47]
Electrodo de pasta de carbono modificado con óxido de grafeno, cloruro de polidialilmetilamonio y nanopartículas de níquel	8.0	NR	0.8322±1.14742	0.05-10.00	[48]
Electrodo serigrafiado de carbón modificado con una película de antimonio.	0.3	NR	NR	1.0-5.0	[49]
Electrodo de CV modificado con polialilamina	1.4	NR	NR	NR	[52]
Electrodo de gota de mercurio	0.09	NR	NR	0-9.6	[55]
Electrodo de diamante dopado con boro	0.007	NR	NR	NR	[56]

NR No reportado

En las tablas presentadas con anterioridad se observa que diversos electrodos alcanzan límites de detección del orden 10^{-9} M, sin embargo, es importante señalar que en la mayoría de los alimentos los colorantes se encuentran a una concentración mayor.

A pesar de los resultados favorables, algunos de los sensores electroquímicos resultan complejos debido a que su modificación involucra una serie de pasos como la síntesis de los materiales, el método por el cual se realiza la modificación de la superficie del electrodo y el acondicionamiento del mismo; además algunos de ellos, resultan costosos, como es el caso del

electrodo de diamante dopado con boro^[56]; mientras que el manejo de electrodos de gota de mercurio, representa un riesgo para la salud debido a su toxicidad.

Es por ello la importancia de desarrollar sensores electroquímicos más sencillos en su construcción, empleando materiales asequibles cuya síntesis sea más simple, evitando el uso excesivo de reactivos, que conlleva a un costo menor del electrodo; para lograr esto, se han empleado electrodos carbonáceos como el carbón vítreo o los EPC, que presentan la ventaja de ser modificados fácilmente con polímeros conductores sintetizados *in situ* vía electroquímica, surfactantes o materiales nanoestructurados como AuNPs y nanotubos de carbono multipared tipo bambú NTCM-B. Algunos de estos materiales han sido empleados en el grupo de trabajo para la modificación de sensores para la determinación de neurotransmisores^[59-62] y fármacos^[63-65].

1.3 Justificación

En la actualidad la Trz y el RA son los colorantes más utilizados en la industria alimentaria, son añadidos prácticamente a la mayoría de productos industrializados que se ingieren diariamente; este consumo se ha asociado al desarrollo de alergias alimentarias en la población hipersensible y niños principalmente, además, en ocasiones se adicionan en exceso con la finalidad de ocultar defectos del producto lo que puede ser considerado como fraude alimentario; por ello, es indispensable contar con metodologías analíticas que permitan la cuantificación de forma sencilla, precisa y rápida, que no sean destructivas y en donde el tiempo de análisis y adquisición de datos sea menor. Una alternativa, por las ventajas que presentan es el uso de métodos electroquímicos.

En este trabajo se presenta el desarrollo de un sensor electroquímico a base de carbono para la determinación de Trz y RA, para establecer ciertas condiciones experimentales como la estabilidad al tiempo de análisis, el pH de trabajo y determinar la especie química de interés se empleó la espectrofotometría UV-Vis, técnica con la que también se comparan los resultados obtenidos con el sensor propuesto.

Capítulo 2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Desarrollar un sensor electroquímico base carbono/nanopartículas de oro/polímero conductor para la determinación de los colorantes alimentarios Rojo Allura y Tartrazina.

2.2 Objetivos específicos

- Obtener el espectro de absorción para cada uno de los colorantes e identificar los grupos funcionales.
- Determinar la estabilidad al tiempo de análisis utilizando espectrofotometría UV- Vis.
- Calcular constantes de acidez empleando el programa computacional SQUAD.
- Estudiar el proceso redox de los colorantes Tartrazina y Rojo Allura empleando EPC.
- Calcular parámetros electroquímicos: Constante de velocidad heterogénea, coeficiente de transferencia de carga y coeficiente de difusión.
- Modificar el electrodo de trabajo con diversos materiales como son: surfactantes, nanopartículas de oro, polímero conductor, nanotubos de carbono multipared tipo bambú.
- Calcular parámetros analíticos empleando la metodología electroquímica propuesta y espectrofotometría UV-Vis.
- Cuantificar vía electroquímica y espectrofotométrica muestras reales.

Capítulo 3. Estudio espectrofotométrico

3.1 Introducción

Uno de los factores más importantes a considerar es la influencia del pH sobre las moléculas de interés, esto para conocer las especies que predominan en todo el intervalo de pH y poder fijar condiciones experimentales adecuadas, el parámetro químico empleado para conocer ello, son las constantes de acidez (pK_a). En la literatura, han sido reportados algunos valores empleando metodologías como, electroforesis capilar [67], colorimetría [68], potenciometría [68] e incluso cálculos teóricos [68]; sin embargo, los resultados demuestran discrepancias entre el número de las constantes de acidez calculadas y sus valores, tal como se muestra en la Tabla III.I. Es por ello por lo que, en este trabajo, se realiza el cálculo de las constantes de acidez para posteriormente fijar condiciones experimentales, este cálculo se realiza a través de titulaciones espectrofotométricas y el programa computacional SQUAD [69], el cual ha sido utilizado ampliamente para el cálculo de estos valores, encontrando resultados favorables [70]. La espectrofotometría UV-Vis es empleada debido a que en la estructura química del RA y Trz se encuentra el grupo cromóforo azo ($-N=N-$) que absorbe de 400-430 nm para el amarillo y de 470-500 nm para el rojo, además de otros grupos funcionales que presentan señales de absorbancia en el intervalo de λ de 600-230 nm, estos grupos químicos pueden presentar susceptibilidad a diversos factores como el pH y tiempo, por ello, primero se analizan los cambios espectrales producidos por estas variables.

3.2 Metodología

3.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho=1.2 \text{ g mL}^{-1}$). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada 18.2 $\Omega\text{M.cm}$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución).

3.2.2 Experimental

Para la caracterización espectrofotométrica, la estabilidad al tiempo de análisis y el cálculo de las constantes de acidez se emplea un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 35 UV/Vis con el

software UV-WinLab. El pH de las soluciones se mide con un potenciómetro Seven-Multi Mettler Toledo (pendiente 98.1%, -58.03 mV/pH, desviación 0.4 mV). Una vez ajustado el pH las soluciones se colocan en celdas de cuarzo con un paso óptico de 1 cm y son burbujeadas con nitrógeno (1 mL min⁻¹). La fuerza iónica se fija con una solución 0.1 M NaCl.

3.3 Resultados y Discusión

3.3.1 Estudio espectrofotométrico en función del tiempo de análisis

Previo al cálculo de las constantes de acidez, se hace un estudio espectrofotométrico de cada molécula en función del tiempo, ya que, si el comportamiento espectral se ve afectado por este factor, se reflejará en los valores de pKa calculados.

En la Figura 3.1a se muestran los espectros de absorción para una solución 4.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl a tres valores diferentes de pH 0.33 (—), 6.25 (—) y 12.71 (—). Al observar los espectros de absorción obtenidos para los valores de pH 0.33 y 6.25 se observa la máxima absorbancia asociada al grupo azo en λ 496 nm, continuando con el barrido, se presentan señales de absorbancia en λ 408, 316, 268 y 236 nm, las bandas que se sitúan entre 600-300 nm se asocian a la transición de los electrones $\pi \rightarrow \pi^{*[70]}$; mientras que las señales entre 300-230 corresponden a la transición de los electrones π del anillo aromático presente en la estructura del RA. Cuando el pH se incrementa hasta 12.71, el espectro de absorción muestra un comportamiento diferente, ya que se registra una disminución considerable de la absorbancia medida para el grupo azo; además de un desplazamiento batocrómico (λ 498 $\rightarrow$ 510 nm) y un aumento de la absorbancia para las señales situadas en λ de 268 y 236 nm. Para cada pH se toman los espectros durante 120 minutos (ver ANEXO I) y se grafican las absorbancias medidas en λ 496 para cada uno (ver Figura 3.1b), en donde no se registran cambios en estas, por lo que el tiempo no es una variable que afecte al comportamiento espectral de esta molécula.

Figura 3.1 a) Espectros de absorción para el sistema 4.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, para pH 0.33 (—), 6.25 (—), 12.71 (—), **b)** Tendencias de las absorbancias en λ 496 nm en función del tiempo (120 minutos) para pH 0.30 (○), 6.0 (◇) y 12.0 (Δ)

Este mismo análisis se realiza para el sistema 4.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl (ver Figura 3.2a); se observa para los valores de pH 0.30 (—) y 6.41 (—) la máxima absorbancia asociada al grupo azo entre 434-426 nm, señal atribuida a la transición de los electrones $\pi \rightarrow \pi^*$ [70]; continuando con el barrido se observa una segunda banda correspondiente al anillo aromático y cuya absorbancia máxima se sitúa en λ 259 nm. Al igual que en el caso del RA, el efecto más significativo sucede al elevar el pH, en este caso, al tomar el espectro en un valor de pH 12.00 (—) ambas bandas presentan un decremento considerable; por otro lado, en λ 313 nm se observa un incremento de la absorbancia, señal que a valores de pH inferiores no se presenta. Nuevamente, se obtienen los espectros de absorción para cada pH durante 120 minutos y se grafica la absorbancia medida a una λ de 426 nm en función del tiempo, mostrado en la Figura 3.2b, de igual manera que en el caso del RA no se registran cambios en las absorbancias ni en el comportamiento espectral (los espectros en función del tiempo para ambos colorantes se presentan en el ANEXO I).

Figura 3.2 a) Espectros de absorción para el sistema 4.0×10^{-5} M Trz/0.1 M NaCl, para pH 0.3 (—), 6.41 (—), 12.00 (—), b) Absorbancia en λ 426 nm en función del tiempo (120 minutos) para pH 0.30 (○), 6.0 (◇) y 12.0 (△).

Este estudio demuestra que ambas moléculas son estables con el tiempo por lo que las constantes calculadas a partir de la titulación espectrofotométrica no se verán afectadas por este factor.

3.3.2 Cálculo de las constantes de acidez

Las constantes de acidez de los colorantes se calculan a partir de un estudio espectrofotométrico en donde son empleadas soluciones 4.0×10^{-5} M RA y Trz, 0.1 M NaCl, el pH es variado en intervalo de ≈ 0.0 -12.00, parámetro ajustado con soluciones concentradas de NaOH y HCl, para cada valor de pH medido se obtiene el espectro de absorción.

En la Figura 3.3a se muestra la familia de espectros de absorción para el RA obtenidos en un intervalo de pH 0.06-12.53, del valor de pH inicial y hasta 1.01 se presenta un efecto hipocrómico en todo el espectro de absorción, posterior a este valor, el espectro de absorción no cambia hasta alcanzar un pH 9.44, en donde se observa un decremento considerable de la banda asociada al grupo azo (λ 496 nm), además se aprecia el incremento de las señales situadas en λ 454, 353 y 272 nm; comportamiento que se observa hasta el pH final 12.53, los cambios en la absorbancia pueden ser asociados a la presencia de las diferentes especies involucradas en el equilibrio químico ácido-base.

Al graficar la absorbancia para dos valores de longitud de onda, λ_x , en donde x es 496 nm (—) y 288 nm (●●●) en función de pH (Figura 3.3b); se observan dos cambios de pendiente, el

primero entre pH 0.0-1.0 y un segundo alrededor de pH 10.50, estos puntos de inflexión son indicativos de los puntos isobásticos, por lo que se pueden asociar dos constantes de acidez para el RA.

Figura 3.3 a) Espectros de absorción obtenidos para 4.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl en un intervalo de pH de 0.06 a 12.53.
b) Absorbancia a λ_x donde $x = 496$ (—) y 288 (•••) nm vs pH.

En cuanto a la Trz, en la Figura 3.4a se muestran los espectros de absorción obtenidos en un intervalo de pH 0.03-12.22, del valor de pH inicial hasta 7.01 el comportamiento espectral no presenta cambios significativos, al alcanzar un valor de pH 8.08, ambas bandas presentan una disminución considerable en la absorbancia, además de un ligero desplazamiento batocrómico, comportamiento que se observa hasta el pH final, estos cambios en el espectro son atribuidos a las especies químicas involucradas en los equilibrios ácido-base, al observar dos cruces en los espectros de absorción, se infieren dos puntos isobásticos. Al graficar las absorbancias λ_x , en donde x toma los siguientes valores 458 (•••), 390 (—) y 380 (---) nm, en función del pH, se observan dos cambios en la pendiente, el primero entre los valores de pH 1.5 y 2.0 y el segundo alrededor de 9.0 (Figura 3.4b), por lo que al igual que el RA se estiman al menos dos constantes de acidez.

Figura 3.4. a) Espectros de absorción obtenidos para 4.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl en un intervalo de pH de 0.03 a 12.22.

b) Absorbancia a λ_x en donde $x = 458$ (●●●), 390 (—) y 380 (---) nm vs pH.

Con el método gráfico mostrado anteriormente se estiman dos valores de constantes de acidez para cada uno de los colorantes uno ácido y uno básico; otra herramienta teórica que determina los valores de pK_a asociados a los grupos funcionales con propiedades ácido-base presentes en la estructura molecular, es el software ACD/Labs^[71], que emplea las ecuaciones de Hammet para los grupos ionizables libres y las constantes de sustituyentes electrónicos (σ) para predecir valores de pK_a con mayor precisión; además, considera los efectos de resonancia, la hidratación covalente y los equilibrios tautoméricos. Este programa estima tres valores para el RA, mientras que para la Trz cinco, estos valores son reportados en la Tabla III.I, en donde es posible notar que el programa arroja valores tanto positivos como negativos, es importante señalar que estos últimos no son posibles de calcular empleado el estudio espectrofotométrico previamente presentado, sin embargo, los positivos son congruentes con los valores observados en el método gráfico mostrado en las Figuras 3.3b y 3.4b obtenidos de los estudios experimentales. Estos valores se utilizan para el cálculo de las constantes de acidez, ya que el programa computacional SQUAD^[69], además de alimentarlo con cada uno de los espectros experimentales obtenidos, el pH y de la concentración de las soluciones, requiere de un modelo químico que considera los equilibrios ácido-base de la molécula, ya que realiza una serie de iteraciones con los valores proporcionados^[69].

Con la metodología propuesta se obtuvieron dos valores de pK_a para cada colorante, lo que coincide con el método gráfico, para el RA se obtienen pK_{a1} 0.11 y pK_{a2} 10.71, mientras que para la Trz obtienen pK_{a1} 1.16 y pK_{a2} 8.69, estos valores se muestran en la Tabla III.I, junto con los reportados en la literatura.

Con ayuda de ACD/Labs y con la información reportada en la literatura se asocian los valores de las constantes de acidez con los grupos funcionales, para el caso del RA la constante de acidez situada en 10.71 se asocia al grupo *OH*, este valor coincide con el predicho por ACD/Labs y con el cálculo realizado por *Bevziuk et al*^[68] quienes utilizan espectrofotometría UV-Vis pero cuyo refinamiento de las constantes de acidez se efectúa con el programa SpectroCalc-H₅A, además hacen uso de la colorimetría, técnica que cuenta con mayor sensibilidad al emplear las coordenadas de color. Por otra parte, el *pK_a* calculado en 0.11 es asociado al grupo SO₃ (2) y presenta similitudes con el valor predicho por ACD/Labs y *Bevziuk et al*^[68].

En cuanto para la Trz, el *pK_a* situado en 1.16 es asociado al grupo carboxilo, este valor difiere por una unidad con el valor predicho por el software ACD/Labs, en cuanto a lo reportado en la literatura *Saleh et al*^[72] empleando espectrofotometría y haciendo uso de un método gráfico calcula el valor de la constante alrededor de 5.0; En cuanto al *pK_a* asociado con la desprotonación del grupo OH, este es similar al obtenido por otros autores, en este trabajo el valor se encuentra en 8.69.

Algunas de las discrepancias entre los valores obtenidos en este trabajo, los reportados en la literatura y los calculados por ACD/Labs, se deben a que con la metodología descrita aquí, no es posible calcular los valores negativos, sin embargo, emplear la espectrofotometría UV-Vis y SQUAD es más sencillo a comparación de los softwares y técnicas empleadas por otros autores, ya que no requiere tiempos largos de análisis, alto costo de los insumos, tratamiento de datos complejos o pasos adicionales en el análisis de datos, además las constantes son válidas para el intervalo de pH de 0.0-14.00 que se emplea en las titulaciones espectrofotométricas.

Tabla III.I Constantes de acidez para los colorantes RA y Trz.

Colorante	Técnica	S0 ₃ (1)	S0 ₃ (2)	-N=N-	OH		Referencia
Rojo Allura	Espectrofotometría UV-Vis		0.11±0.002		10.77±0.004		*Este trabajo
	ACD/Labs	-1.5	0.33		10.71		*Este trabajo
	Electroforesis capilar				11.45±0.14		[67]
	Espectrofotometría UV-Vis				11.35±0.01		[67]
	Colorimetría	-0.7±0.2	0.3±0.1	3.0±0.1	10.9±0.1		[68]
	Espectrofotometría UV-Vis			2.9±0.2	10.8±0.1		[68]
	Potenciometría			2.8±0.1			[68]
		S0 ₃ (1)	S0 ₃ (2)	-N=N-	R-COOH	OH	Referencia

Tartrazina	Espectrofotometría UV-Vis				1.16±0.013	8.69±0.002	*Este trabajo
	ACD/Labs	-4.63	-1.37	-1.19	2.88	6.7	*Este trabajo
	Electroforesis capilar					9.49±0.08	[68]
	Espectrofotometría UV-Vis					9.40±0.01	[68]
	Espectrofotometría UV-Vis				5.15±0.10	9.25±0.16	[72]

*Rojo Allura $\sigma=0.011$ $U=3.05$ *Tartrazina $\sigma=0.007$ $U=0.06$ σ =Desviación estándar U = Suma de cuadrados

Además de los valores de pK_a , SQUAD proporciona los coeficientes de absorptividad molar (ϵ) mostrados en la Figura 3.5a y b para el RA y Trz, respectivamente, junto con sus barras de error, este comportamiento permite concluir que existen tres especies involucradas en los equilibrios ácido-base para ambos colorantes y que además son estadísticamente diferentes entre sí ya que los errores son mínimos. En la Tabla III.II se muestran algunos de los valores de ϵ , es importante señalar que estos son reportados por primera vez para todo el intervalo de longitud de onda empleado.

Figura 3.5. Coeficientes de absorptividad molar en función a la λ obtenidos con el programa SQUAD para: a) RA, b) Trz.

Tabla III.II Valores de coeficientes de absorptividad molar (ϵ) para los colorantes RA y Trz obtenidos por espectrofotometría UV-Vis y el programa computacional SQUAD.

λ/nm	$\epsilon \times 10^3 / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$					
	H_2RA^-	HRA^{2-}	RA^{3-}	$\text{H}_2\text{Trz}^{2-}$	HTrz^{3-}	Trz^{4-}
230	19.67 $\pm$ 0.09	17.61 $\pm$ 0.05	22.04 $\pm$ 0.28	10.94 $\pm$ 0.04	10.53 $\pm$ 0.07	11.29 $\pm$ 0.38
240	18.24 $\pm$ 0.09	16.15 $\pm$ 0.05	20.32 $\pm$ 0.27	15.91 $\pm$ 0.04	14.21 $\pm$ 0.05	12.84 $\pm$ 0.05
250	18.40 $\pm$ 0.09	13.21 $\pm$ 0.05	15.59 $\pm$ 0.27	23.65 $\pm$ 0.04	21.52 $\pm$ 0.05	17.09 $\pm$ 0.04
260	18.13 $\pm$ 0.12	10.08 $\pm$ 0.06	11.04 $\pm$ 0.34	25.36 $\pm$ 0.04	24.76 $\pm$ 0.04	19.89 $\pm$ 0.03
270	13.64 $\pm$ 0.11	9.20 $\pm$ 0.06	9.97 $\pm$ 0.33	19.74 $\pm$ 0.04	25.76 $\pm$ 0.04	18.70 $\pm$ 0.03
280	13.12 $\pm$ 0.09	7.24 $\pm$ 0.05	7.47 $\pm$ 0.26	13.29 $\pm$ 0.04	26.76 $\pm$ 0.04	14.59 $\pm$ 0.03

290	12.66 ± 0.08	5.63 ± 0.05	5.61 ± 0.25	6.89 ± 0.04	27.76 ± 0.03	11.49 ± 0.03
300	10.85 ± 0.07	5.72 ± 0.04	6.14 ± 0.20	3.15 ± 0.04	28.76 ± 0.03	10.66 ± 0.03
310	7.95 ± 0.04	7.03 ± 0.02	8.30 ± 0.13	2.14 ± 0.04	29.76 ± 0.03	10.72 ± 0.02
320	6.34 ± 0.04	7.27 ± 0.02	8.73 ± 0.11	2.33 ± 0.04	30.76 ± 0.03	10.72 ± 0.02
330	6.37 ± 0.03	5.15 ± 0.02	5.92 ± 0.09	3.26 ± 0.04	31.76 ± 0.03	10.85 ± 0.02
340	6.88 ± 0.04	2.88 ± 0.02	3.04 ± 0.11	4.65 ± 0.04	32.76 ± 0.03	11.14 ± 0.02
350	6.77 ± 0.04	2.06 ± 0.02	2.09 ± 0.12	6.50 ± 0.04	33.76 ± 0.03	11.74 ± 0.02
370	4.60 ± 0.04	2.60 ± 0.02	2.82 ± 0.12	9.11 ± 0.04	34.76 ± 0.03	13.08 ± 0.02
380	3.77 ± 0.04	3.23 ± 0.02	3.63 ± 0.13	12.29 ± 0.04	35.76 ± 0.03	15.15 ± 0.02
390	3.66 ± 0.04	3.98 ± 0.02	4.58 ± 0.12	15.66 ± 0.04	36.76 ± 0.03	17.35 ± 0.02
400	4.23 ± 0.04	4.59 ± 0.01	5.37 ± 0.11	18.93 ± 0.04	37.76 ± 0.03	18.87 ± 0.02
410	5.31 ± 0.03	5.03 ± 0.01	5.99 ± 0.08	21.68 ± 0.04	38.76 ± 0.03	19.34 ± 0.02
420	6.64 ± 0.02	5.46 ± 0.01	6.64 ± 0.05	23.73 ± 0.04	39.76 ± 0.03	18.79 ± 0.02
430	7.92 ± 0.03	5.90 ± 0.02	7.23 ± 0.07	25.15 ± 0.04	40.76 ± 0.03	17.56 ± 0.02
440	8.87 ± 0.04	6.54 ± 0.02	8.06 ± 0.11	24.58 ± 0.04	41.76 ± 0.03	14.37 ± 0.02
450	9.35 ± 0.04	7.94 ± 0.02	9.83 ± 0.12	22.02 ± 0.04	42.76 ± 0.04	12.11 ± 0.03
460	9.34 ± 0.04	10.04 ± 0.02	12.52 ± 0.12	17.72 ± 0.04	43.76 ± 0.03	9.53 ± 0.03
470	9.01 ± 0.04	12.16 ± 0.02	15.39 ± 0.12	13.40 ± 0.04	44.76 ± 0.03	6.91 ± 0.03
490	8.52 ± 0.04	14.53 ± 0.03	19.25 ± 0.12	4.06 ± 0.04	45.76 ± 0.03	2.88 ± 0.02
500	8.53 ± 0.05	13.84 ± 0.04	18.80 ± 0.15	1.40 ± 0.04	46.76 ± 0.02	1.74 ± 0.02
510	8.38 ± 0.07	11.98 ± 0.05	16.74 ± 0.21	0.45 ± 0.04	47.76 ± 0.01	1.01 ± 0.01
520	7.99 ± 0.09	10.13 ± 0.05	14.53 ± 0.26	0.20 ± 0.04	48.76 ± 0.01	0.61 ± 0.01
530	7.29 ± 0.10	8.74 ± 0.05	12.81 ± 0.28	0.13 ± 0.04	49.76 ± 0.01	0.38 ± 0.01
540	6.09 ± 0.10	7.48 ± 0.05	11.10 ± 0.28	0.11 ± 0.04	50.76 ± 0.01	0.26 ± 0.01
550	4.68 ± 0.09	5.95 ± 0.04	8.84 ± 0.27	0.10 ± 0.04	51.76 ± 0.01	0.20 ± 0.01

Utilizando la ley de Lambert-Beer^[39], con las constantes de acidez calculadas y los coeficientes de absortividad molar es posible obtener los espectros teóricos (—) y compararlos con los obtenidos experimentalmente (o), en la Figura 3.6 se muestran los resultados obtenidos para el RA, mientras que la Figura 3.7 muestra los de la Trz, para ambos casos se seleccionan tres valores de pH; se observa que las constantes calculadas reproducen el comportamiento espectral obtenido experimentalmente, lo cual valida las constantes de acidez calculadas en este trabajo.

Figura 3.6. Comparación entre los espectros experimentales (o) y teóricos (—) a diferentes valores de pH para RA a) 0.5, b) 7.24 y c) 11.41.

Figura 3.7. Comparación entre los espectros experimentales (o) y teóricos (—) a diferentes valores de pH para Trz a) 0.6, b) 7.00 y c) 11.00.

Tomando en cuenta el mecanismo de desprotonación propuesto por *Bevziuk et al* [68] con las constantes de acidez calculadas en este trabajo se plantean los mecanismos de desprotonación para ambos colorantes. El mecanismo para el RA es mostrado en la Figura 3.8a, por debajo de pH 0.11 la especie que predomina es H_2RA^- , al incrementar el pH el sulfonato presente en la estructura química se desprotona para dar origen a la especie HRA^{2-} cuyo predominio prevalece hasta 10.71, posterior a este valor el grupo OH pierde el protón para dar paso a la formación de la especie RA^{3-} ; por otro lado para la Trz, Figura 3.8b, por debajo de 1.12 la especie con un predominio mayoritario es H_2Trz^{2-} , al incrementar el pH se lleva a cabo la desprotonación del grupo carboxilo y predomina la especie $HTrz^{3-}$ hasta 8.7 en donde el grupo OH pierde el protón para dar origen al predominio de la especie Trz^{4-} [68,72].

Figura 3.8. Mecanismo de desprotonación propuesto para: a) RA y b) Trz, empleando las constantes de acidez calculadas por SQUAD y la información previamente reportada en la literatura.

Con las constantes de acidez calculadas es posible construir los diagramas de zonas de predominio lineal (DZPL) mostrados en la Figura 3.9, estos diagramas resultan de gran utilidad para asegurar que en el pH de trabajo predomine la especie de interés y se obtenga la coloración deseada, generalmente, los alimentos se encuentran en un intervalo de 2.0-6.0, por lo que de acuerdo al DZPL las especies con mayor predominio son HRA^{2-} y H_2Trz^{2-} , a partir de esto, se fija que para estudios posteriores se empleará pH 4.0 ajustado con HCl.

Figura 3.9. Diagramas de zona de predominio lineal obtenidos a partir de las constantes de acidez calculadas por SQUAD para a) RA y b) Trz.

3.4 Conclusiones

En esta parte del trabajo de investigación se concluye que ambos colorantes presentan dos constantes de acidez con el predominio de tres especies a lo largo del intervalo de pH, siendo este el único factor que afecta el comportamiento espectral. Las constantes de acidez calculadas por SQUAD reproducen con precisión los espectros obtenidos experimentalmente, lo cual da validez a los valores obtenidos, estas constantes resultan aceptables ya que abarcan el intervalo de pH en donde son utilizados los colorantes en la industria alimentaria.

Con las constantes de acidez calculadas se trazan los DZPL, con los cuales se establece el pH de trabajo para los estudios electroquímicos, dado que en los alimentos se encuentran en un intervalo de 2.0-6.0 aproximadamente, el valor para estudios posteriores es fijado en 4.0.

Capítulo 4. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando un EPC

4.1 Introducción

Se ha demostrado que la Trz y el RA presentan actividad redox debido a los grupos sustituyentes que se encuentran sus estructuras químicas; la mayoría de los trabajos reportados en la literatura han hecho énfasis en la reducción del grupo azoico, para ello han empleado electrodos de gota de mercurio [41, 44-45, 55] y de carbón vítreo modificados con polímeros conductores [45], materiales nanoestructurados [49] o recubiertos con películas de antimonio [52]. Aunque el proceso de reducción es el más estudiado, en años recientes se determinó que estos colorantes también son susceptibles a la reacción de oxidación, por la presencia del grupo enol (-OH), generalmente a valores potenciales de oxidación mayores de 0.7 V, dentro de ello se encuentran: electrodos de oro [46-47], carbón vítreo [42,48,50-51], EPC [43, 53-54] y diamante dopado con boro [59]; modificados con diversos nanomateriales como NTCMB y NPs de diferente naturaleza (oro, quitosano, óxido de calcio, óxido de zinc y dióxido de titanio), además de óxido de grafeno y polímeros conductores. Estos electrodos presentan buenos resultados, sin embargo, algunas modificaciones requieren reactivos y procedimientos complejos, lo que conlleva a un aumento en el costo del electrodo y mayores tiempos de análisis; por esta razón se busca modificar los electrodos de una forma más sencilla, con materiales más simples en su síntesis y con un costo menor, pero con parámetros analíticos competitivos.

En este capítulo se realiza el estudio electroquímico del RA y Trz, utilizando un EPC sin modificación alguna, con la finalidad de determinar los procesos electroquímicos, así como el cálculo de parámetros electroquímicos de interés como el coeficiente de transferencia de carga (α), la constante de velocidad heterogénea (k^o) y el número de electrones transferidos (n).

4.2 Metodología

4.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho=1.2 \text{ g mL}^{-1}$). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^2$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución). Para la construcción del EPC se emplea polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho=0.85$).

4.2.2 Experimental

Los experimentos electroquímicos se realizan en un bipotenciostato DropSense μ STAT 400 empleando el software DropView y en un potenciostato/galvanostato Autolab 30 con el software NOVA 2.1. La celda electroquímica consta de un EPC ^[73-74], como electrodo de trabajo, un alambre de platino como contraelectrodo y un electrodo de Ag/AgCl_{3M NaCl} en un capilar de Luggin como electrodo de referencia.

El EPC (Figura 4.1) se construye al mezclar polvo de grafito y aceite mineral en una proporción 1:1, tal como indica la literatura ^[73-74], una vez lograda la consistencia de pasta se coloca en un soporte de polietileno de baja densidad (PEBD), cuya longitud es aproximadamente de 2.5 cm de longitud y se compacta para eliminar la presencia de burbujas de aire, en un extremo se coloca un dispositivo de cobre para hacer contacto eléctrico.

Figura 4.1. Electrodo de pasta de carbono.

4.3 Resultados y Discusión

4.3.1 Perfil electroquímico de los colorantes

El perfil electroquímico de los colorantes se determina al emplear voltamperometría cíclica (VC), la celda electroquímica se coloca en una solución 1.0×10^{-3} M de RA o Trz según sea el caso, como electrolito soporte se emplea 0.1 M NaCl y el pH es ajustado a 4.0; es importante mencionar que previo a los experimentos electroquímicos de los colorantes se obtuvo la señal del blanco para descartar la presencia de señales redox que pudieran causar interferencias.

4.3.1.1 Rojo Allura

En la Figura 4.2 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0, x M RA, donde $x = (-)$ 0 y $(-)$ 1.0×10^{-3} ; el barrido se realiza en sentido anódico empleando una ventana de potencial de 0.0-1.2 V; para el electrolito soporte $(-)$ no se encontraron señales redox, mientras que cuando en el sistema se encuentra presente el RA se observa en 0.86 V el pico de oxidación, I, asociado al grupo enol de la molécula (ver Figura 4.3), en la literatura se ha reportado que el mecanismo de oxidación involucra la transferencia de un electrón junto con la pérdida de un H^+ [48]; al invertir el sentido del barrido de potencial, se observa en 0.23 V un pico de catódico, II; debido a que entre el pico de oxidación y reducción se presenta una separación de picos, $\Delta E_p = 0.63$ V, el proceso electroquímico se considera no reversible [75]; en el voltamperograma cíclico también se aprecia que la corriente de pico catódico es menor que la generada en el pico anódico, al obtener el cociente de la intensidad de corriente de estos picos ($-ip_c/ip_a$), se obtiene un valor de 0.18, lo que indicaría la presencia de una reacción química acoplada, por lo que el mecanismo correspondería a uno Electroquímico–Químico (EQ). Para determinar la correspondencia de los picos anódico y catódico, es necesario realizar un estudio de inversión de potencial, conocido como E_{λ} .

Figura 4.2 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0 x M RA, donde $x = (—) 0$ y $(- -) 1.0 \times 10^{-3}$. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Figura 4.3 Mecanismo de oxidación para el RA ^[48].

Estudio de inversión de potencial (E_{λ}) para el RA

En la Figura 4.4 se muestra la familia de voltamperogramas cíclicos obtenidos para el sistema EPC/ 1.0×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, obtenidos al emplear diversas ventanas de barrido de potencial; en la ventana de 0.0-0.73 V (—) no se observan señales electroquímicas asociadas a procesos redox, al ampliar la ventana de barrido hasta un potencial de 0.83 V (—), se presenta un incremento significativo en la intensidad de corriente anódica, correspondiente al pico I y cuando el sentido del barrido es invertido, se aprecia una señal catódica, pico II, en 0.23 V; el siguiente barrido se realiza abriendo la ventana de potencial hasta 0.88 V (—) en donde, se observa el máximo de la intensidad de corriente anódica, al invertir el barrido de potencial, la corriente generada para el pico de reducción incrementa; al ir aumentando la ventana de potencial barrido en dirección anódica, se

observa el crecimiento del pico II; por ello, se concluye que el pico II corresponde a la reducción del producto generado en el pico de oxidación I.

Figura 4.4. Voltamperogramas cíclicos para para el sistema EPC/ 1.0×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0 a diferentes ventanas de potencial: (—) 0.0-0.73 V, (—) 0.83 V y (—) 0.88 V, velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

4.3.1.2 Tartrazina

En cuanto a la Trz, en la Figura 4.5 se muestran los voltamperogramas cíclicos para EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0 x M Trz, donde x= (—) 0 y (—) 1.0×10^{-3} , el barrido se realiza en sentido anódico a una velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} , en una ventana de potencial de 0.0 a 1.2 V, en el voltamperograma cíclico obtenido para 0.1 M NaCl (—) no se presentaron señales electroquímicas, mientras que, para el obtenido empleando una solución 1.0×10^{-3} M Trz (—), al realizar el barrido de potencial en sentido anódico se observa en 1.07 V la señal de oxidación (I) asociada al grupo enol presente en la estructura química del colorante, de igual manera que para el RA, la oxidación de la Trz involucra la transferencia de un electrón y un protón ^[48] (Figura 4.6); al invertir el sentido del barrido, en 0.47 V se presenta una pequeña señal catódica, II, al existir entre el pico anódico y catódico un $\Delta E_p = 0.6 \text{ V}$, el proceso electroquímico es no reversible; en el voltamperograma también se observa que el pico catódico presenta una mínima intensidad de corriente a comparación de la generada en la señal anódica, al calcular el cociente de la intensidad de corriente del pico catódico y anódico ($-ip_c/ip_a$), se obtiene un valor de 0.03, por lo que igual que en el RA existiría una reacción química acoplada.

Figura 4.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC/0.1 M NaCl, pH 4.0, x M Trz, donde x= (—) 0 y (—) 1.0×10^{-3} . Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Figura 4.6 Mecanismo de oxidación para la Trz ^[48].

Una vez identificados los procesos electroquímicos de ambos colorantes se pueden determinar parámetros electroquímicos de interés.

4.3.2 Estudio de variación de la velocidad de barrido

Una de las herramientas útiles para la determinación de parámetros electroquímicos es el estudio de variación de velocidad de barrido, a partir de él se puede establecer si el proceso de transferencia de masa es por medio de la difusión, adsorción o mixto; al realizar ajustes lineales y

empleando las ecuaciones adecuadas es posible estimar los valores del coeficiente de difusión (D), la constante de velocidad heterogénea (k^o), el coeficiente de transferencia de carga (α) y número de electrones (n).

En la Figura 4.7 son mostradas las familias de voltamperogramas cíclicos para los sistemas: EPC/ 0.1 M NaCl, pH=4.0 a) 1.0×10^{-3} M RA y b) 1.0×10^{-3} M Trz, a diferentes velocidades de barrido de potencial en un intervalo de 0.01 - 0.14 V s^{-1} , en ambos casos se observan las señales electroquímicas características de cada colorante en 0.86 y 1.07 V asociadas a la oxidación del RA y Trz, respectivamente y en 0.23 V la señal de reducción asociada para el RA; al incrementar la velocidad de barrido aumenta la intensidad de corriente generada tanto en la zona anódica como en la catódica, comportamiento esperado, también se observa un ligero desplazamiento a potenciales de oxidación mayores, comportamiento típico de los procesos electroquímicos no reversibles. A partir de la forma de los voltamperogramas se puede predecir cómo se encuentra regido el proceso de transferencia de masa, cuando los picos presentan una forma Gaussiana la transferencia de masa se regirá por la adsorción.

Figura 4.7 Voltamperogramas cíclico para los sistemas EPC/ a) 1×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, b) 1×10^{-3} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de barrido 0.01 - 0.14 V s^{-1} .

A partir de la información obtenida de los voltamperogramas cíclicos (Figura 4.7) es posible determinar el proceso de transferencia de masa, para ello se emplean dos ecuaciones, una para cuando el proceso está controlado por la difusión y otra para este es regido por la adsorción. En el caso del RA se gráfica, la intensidad de corriente anódica (i_{pa}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ^[75] (Ecuación 1), al realizar el ajuste lineal se obtiene la siguiente ecuación de la

recta $i_{pa} = 303.84 v^{1/2} - 10.038$ con un $R^2 = 0.9970$, por lo que el proceso de transferencia de masa se encuentra regido por la difusión.

$$i_p = (2.99 \times 10^5) n(\alpha n_a)^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad \text{Ecuación (1).}$$

En donde:

i_p = Intensidad de pico

n = número de electrones

α = Coeficiente de transferencia de carga

A = Área electroactiva del electrodo

C = Concentración

D = coeficiente de difusión

v = velocidad de barrido

En cuanto a la Trz, se grafica la máxima intensidad de corriente de pico anódico en función de la velocidad de barrido en el intervalo de 0.01-0.08 V s⁻¹ (Figura 4.8a), al realizar el ajuste lineal se obtiene la siguiente ecuación de la recta $i_{pa} = 1758.1v + 12.389$ con un $R^2 = 0.9915$, lo que indica que el proceso se rige mediante la adsorción (ecuación 2) [75].

$$i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A v}{4RT} \quad \text{Ecuación (2)}$$

En donde:

i_p = Intensidad de pico

n = número de electrones

A = Área electroactiva del electrodo

v = velocidad de barrido

Γ =Superficie recubierta

R = Constante de los gases ideales

T = Temperatura

Figura 4.8 Ajuste lineal de la intensidad de pico anódico en función de: a) la raíz cuadrada de la velocidad de barrido para RA y b) la velocidad de barrido para Trz, obtenidas de los VC de la Figura 4.7.

De los voltamperogramas cíclicos también se obtiene el cociente $-ip_c/ip_a$ en función de la velocidad de barrido, en la Figura 4.9 se muestran estos valores para el a) RA y b) Trz; en la primera Figura se observa que al variar la velocidad de barrido este cociente es de 0.1 se incrementa, hasta que a partir de $0.3 V s^{-1}$ mantiene constante en 0.2, para la Trz, este cociente inicia en 0.01 y aumenta conforme a la velocidad de barrido hasta tomar un valor máximo de 0.06 (en el inserto se muestra con mayor claridad esta tendencia), en ambos casos los valores de $-ip_c/ip_a$ son menores a 1, por lo que en ambos colorantes existiría la presencia de una reacción química-acoplada y presentan un mecanismo electroquímico-químico [75-77].

Figura 4.9 Cociente $-i_{pc}/i_{pa}$ en función de la velocidad de barrido para a) RA y b) Trz obtenidos a partir de los voltamperogramas mostrados en la Figura 4.7. En el inserto de la Figura b se muestra una ampliación de la tendencia de este cociente.

4.3.3 Parámetros electroquímicos

A partir de los voltamperogramas cíclicos obtenidos del estudio de variación de velocidad de barrido se determina que el proceso de transferencia de masa para el RA se rige mediante la difusión por ello es posible calcular algunos parámetros electroquímicos.

A partir de la ecuación 1 y con el valor de la pendiente se puede calcular el coeficiente de difusión, para ello, se asumen los siguientes valores: $\alpha=0.5$, $n=1$ (en la literatura se ha reportado que estos valores son utilizados colorantes azoicos [75,78]), $A=0.1414 \text{ cm}^2$ (empleando una molécula redox modelo, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ [79]) y $C= 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol cm}^{-3}$ RA, el valor obtenido es $D = 4.26 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; es importante mencionar que en la literatura no se han reportado este valor, sin embargo en algunos trabajos se ha calculado el coeficiente de difusión empleando voltamperometría cíclica, para la Trz el valor reportado toma los siguientes valores 3.92×10^{-5} [80], 4.82×10^{-6} [43], el coeficiente de difusión en este trabajo presenta el mismo orden de magnitud que los reportados para otro colorante azoico, por lo que el resultado es una aproximación es válida.

Una vez calculado D se pueden estimar los valores del coeficiente de transferencia de carga α y la k^o , para el cálculo de este parámetro, se hace uso de la siguiente ecuación (3) [81].

$$i_p = 0.227 F A C_0 k^o \exp[-\alpha f (E_p - E^o)] \quad \text{Ecuación (3).}$$

En donde:

i_p = Intensidad de corriente

F = Constante de Faraday

A = Área electroactiva del electrodo de trabajo

C_o = Concentración

k^o = Constante de velocidad heterogénea

α = Coeficiente de transferencia de carga

f = FR/T

E_p = Potencial de pico

E^o = Potencial formal del par redox

Para obtener el valor del coeficiente de transferencia de carga la ecuación 3 se linealiza para poder graficar el $\ln$ de la intensidad de pico anódico en función de la diferencia del potencial de este pico y el potencial formal del par redox (Figura 4.10); al realizar el ajuste lineal se obtiene la siguiente ecuación de la recta $\ln i_{pa} = 28.18 E_{pa} - E^{\circ} - 25.16$ con un $R^2 = 0.9965$, al emplear el valor de la pendiente, se obtiene $\alpha=0.64$, el cual es cercano al correspondiente a los procesos electroquímicos no reversibles.

Figura 4.10 Variación de $\ln i_{pa}$ en función de la diferencia de $E_{pa} - E^{\circ}$ construido a partir de la Figura 4.7.

Por último, para establecer si el proceso electroquímico del colorante corresponde a la *cuasirreversibilidad* o irreversibilidad se calcula la constante de velocidad heterogénea k° , empleando la ecuación 4 [82].

$$E_{pa} = E^{\circ} + m \left[0.78 + \ln \left(\frac{D^{1/2}}{k^{\circ}} \right) - 0.5 \ln m' \right] + 0.5 m' \ln v \quad \text{Ecuación (4)}$$

En donde:

E_{pa} = Potencial de pico anódico

E° = Potencial formal del par Redox

D = Coeficiente de difusión

k° = Constante de velocidad heterogénea

v = velocidad de barrido de potencial

$$m = \frac{RT}{[(1-\alpha)nF]}$$

$$m' = \frac{RT}{[\alpha nF]}$$

Para obtener el valor de k^o se grafica el potencial de pico anódico en función del logaritmo de la velocidad de barrido (Figura 4.11), al realizar el ajuste lineal se obtiene la siguiente ecuación de la recta: $E_{pa} = 28.18 \ln v + 0.8148$ con un $R^2 = 0.9985$, a partir del valor de la pendiente es posible calcular $k^o = 4.47 \times 10^{-7} \text{ cm s}^{-1}$, si $10^{-1} > k^o > 10^{-5}$ el proceso electroquímico es *cuasirreversible*, en este caso el valor de k^o corresponde a un proceso irreversible ^[81], en la literatura se ha reportado que el valor de k^o es para un proceso de tipo irreversible.

Figura 4.11 Relación entre el potencial anódico E_{pa} en función del logaritmo natural de la velocidad de barrido construido a partir de la Figura 4.7a.

4.4 Conclusiones

A partir de los voltamperogramas cíclicos se determina que ambos colorantes presentan una reacción química acoplada por lo que el mecanismo de oxidación es electroquímico-químico.

Para el RA se calcularon parámetros electroquímicos como el coeficiente de difusión, el cual presenta un valor similar al reportado en la literatura para el colorante azoico Tartrazina, al tener el mismo orden de magnitud. Por otra parte, el coeficiente de transferencia de carga y la constante de velocidad heterogénea, coinciden también con la información que existe para los procesos electroquímicos irreversibles.

Capítulo 5. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando Electroodos de Pasta de Carbono modificados con Polímero Conductor

5.1 Introducción

La modificación de los EPC se realiza de diferentes formas, una de ellas, es sobre la superficie de este, empleando materiales como los polímeros conductores, que son utilizados debido a su bajo costo, flexibilidad mecánica, alta estabilidad térmica y por sus propiedades eléctricas y electroquímicas [82].

Los polímeros conductores, son fácilmente oxidados o reducidos a través del uso de agentes transferentes de carga, que actúan como donadores o receptores de electrones, obteniendo como resultado radicales poli-(cationes) o poli-(aniones) dopados, los cuales, son utilizados como materiales conductores con propiedades semejantes a las de los metales. Los electrones son removidos o adicionados al sistema de electrones π , lo que provoca un paso de corriente a través de toda la cadena; el agente dopante, tiene un rol adicional ya que es el causante de la oxidación o reducción del polímero y actúa como un puente o conexión para la transferencia de carga entre las cadenas de los polímeros [83].

Los polímeros conductores más utilizados para la elaboración de sensores son, el poliacetileno, la polianilina (PANI), poliparafenileno, poliparafenilvinileno, polifluoreno, polizcarbazo, poliindol, polipirrol (Ppy) y el polímero obtenido de la 5-amino,1,10-fenantrolina (poli-5aFen) [83] (Figura 5.1).

Figura 5.1. Estructura química de la 5-amino-1,10-fenantrolina.

La poli-5aFen se ha utilizado para la elaboración de sensores capaces de detectar glucosa^[84] y peróxido de hidrógeno^[85], también se ha estudiado la influencia que tiene el pH sobre su crecimiento, y la polimerización empleando diversos sustratos^[83]; ya que una de las ventajas de este polímero es su facilidad para polimerizar en medio acuoso, puesto que la mayoría de polímeros conductores requieren de medios orgánicos para su crecimiento, además, puede ser electrosintetizada haciendo uso de técnicas potencioestáticas o potenciodinámicas^[83]; así que aprovechando las ventajas que ofrece este polímero, en este capítulo se describe la modificación del EPC con poli-5Faen (EPC-poli-5aFen) y el estudio electroquímico de los colorantes con el electrodo modificado.

5.2 Metodología

5.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho=1.2 \text{ g mL}^{-1}$), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich, 95-98 %), 5-amino-1,10-fenantrolina (Sigma-Aldrich, 97 %). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada $18.2 \text{ } \Omega\text{M.cm}^2$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución). Para la construcción del EPC se emplea polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho=0.85$).

5.2.2 Experimental

La modificación del EPC se efectúa vía potenciodinámica, para ello se coloca la celda electroquímica (EPC, Ag/AgCl ($\text{NaCl } 3\text{M}$) como electrodo de referencia y un contraelectrodo de platino) en una solución $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$, 0.05 mM 5-amino-1,10-fenantrolina, la voltamperometría cíclica se realiza durante 10 ciclos, barriendo en sentido anódico, en una ventana de potencial de $-0.3 - 1.2 \text{ V}$, en donde el potencial es invertido hasta -0.3 V , la velocidad de barrido utilizada es de 0.1 V s^{-1} . Una vez obtenidos los voltamperogramas cíclicos, se calcula la carga acumulada para la zona anódica y catódica, empleando el software Origin 8.6®.

Para el estudio electroquímico de los colorantes se obtienen los voltamperogramas cíclicos empleando el EPC-poli-5aFen y el EPC con la finalidad de comparar señales y observar los cambios presentes. Para la determinación del proceso de transferencia de masa, se realiza un estudio de variación de velocidad de barrido y posteriormente se realiza el ajuste lineal.

5.3 Resultados y Discusión

5.3.1 Modificación del EPC-poli-5aFen

En la Figura 5.2 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para la polimerización de 5-amino-1,10-fenantrolina después de haber aplicado 10 ciclos; al realizar el barrido en sentido anódico, se observa en un potencial de 0.81 V el pico I, el cual corresponde a la oxidación del monómero, continuando con el barrido, en 1.0 V se encuentra el pico II asociado a la incorporación del monómero a la red polimérica, cuando el sentido del barrido es invertido, en 0.34 V se muestra un pico catódico III, correspondiente a la reducción del polímero; al realizar un segundo ciclo, en 0.38 V se sitúa un pico IV asociado a la oxidación de la película polimérica. Al incrementar el número de ciclos, la intensidad de corriente generada para los picos III y IV aumenta (ver inserto), lo que es un indicativo del crecimiento de la membrana polimérica sobre la superficie del electrodo para así obtener el EPC-poli-5aFen.

Figura 5.2. Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC/ 0.5 M H₂SO₄, 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 10 ciclos. Velocidad de barrido 0.1 V s⁻¹. Inserto: Ampliación de los picos III y IV.

De acuerdo con lo reportado en la literatura ^[86], basándose en el crecimiento y modelos del proceso de nucleación, mecanismo de electropolimerización de la poli-5aFen consta de dos etapas.

En la primera etapa se describe la adsorción del monómero de la 5aFen sobre el electrodo de trabajo, para formar las fases electroquímicas (1); la segunda etapa corresponde a los estados de propagación de la cadena polimérica, a partir de la oxidación del monómero en la superficie del electrodo para formar un radical carbocatión (2), este autorreacciona con otro carbocatión (3) para la formación del dímero (3), reacción que sucede al mismo potencial que el monómero, siendo esta una etapa determinante en la rapidez de la polimerización, obteniendo como resultado un proceso irreversible; ya que la formación del dímero a partir de los carbocationes requiere la extracción de protones del carbono α del monómero, además de la presencia de un aceptor de protones, que puede ser el mismo disolvente. Las altas concentraciones de carbocationes en la vecindad del electrodo hacen que la formación de los oligómeros se efectúe con mayor rapidez; ya que estos, requieren menor energía que el monómero, posteriormente, el dímero formado se estabiliza (4).

El proceso de propagación se da durante la oxidación del dímero y otros oligómeros en valor de potencial de oxidación 1.08 V para la formación del carbocatión (5 y 6). Posteriormente, los oligómeros reaccionan entre ellos para formar otros oligómeros de mayor tamaño (7), estabilizándose así el oligómero que se encuentra en la solución (8), para alcanzar un número de unidades crítico que propicia la precipitación sobre la superficie del electrodo de trabajo (9).

El autor reporta también que el decaimiento del pico de oxidación situado en 0.88 V se debe a la incorporación directa de monómeros y oligómeros a la red polimérica (10).

La membrana polimérica presenta dos procesos redox, la carga de estos depende de las condiciones impuestas durante la electrosíntesis. En un potencial de oxidación inferior a 0.65 V se observa, la contribución de la especie absorbida en la superficie del electrodo, la 5aFen_I. Por otro lado, a valores mayores de 0.65 V se ve favorecido el crecimiento de la otra especie polimérica de la membrana, la 5aFen_{II}, especie que podría ser la que se incorpora directamente a partir del monómero, ya que presenta una velocidad de formación más rápida.

Es importante señalar que se requiere la formación de 5aFen_I para que la segunda especie pueda crecer.

A manera de resumen, el mecanismo de la poli 5aFen muestra la formación de dos especies, la 5aFen_{II} sobre la superficie del electrodo, que se propaga por la incorporación de carbocationes, dímeros y oligómeros, y la 5aFen_I que es incorporada directamente y anclada a la primera especie. En la Figura 5.3 se muestra el esquema general de la polimerización.

Figura 5.3. Esquema general de la electropolimerización de la poli-5afen. Obtenido de síntesis y caracterización electroquímica de una membrana de poli(5afen) para el desarrollo de electrodos modificados útiles para la determinación de neurotransmisores en presencia de ácido ascórbico [86].

Posteriormente, con el uso del software Origin 8.6®, se calcula la carga acumulada (Q) para cada una de las zonas (anódica y catódica), al integrar el área bajo la curva. En la Figura 5.4, se muestra el gráfico de Q en función del número de ciclos realizados, se observa que, al aumentar el número de ciclos, la carga incrementa, indicativo de que el polímero está siendo depositado sobre la superficie del electrodo de trabajo.

En los tres primeros ciclos, el incremento de la carga es mayor que en los ciclos subsecuentes, comportamiento que podría ser atribuido a lo que se explica en el mecanismo de polimerización, se necesita primero la formación de la especie $5aFen_I$, posteriormente disminuye la intensidad del pico de oxidación cercano a 0.8 V debido a la incorporación directa a la membrana polimérica de la especie $5aFen_{II}$.

Figura 5.4 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5(aFen). Zona anódica (●●●), zona catódica (●●●).

5.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando el EPC-poli-5aFen

5.3.2.1 Rojo Allura

En la Figura 5.5 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y el EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH 4.0, al realizar el barrido de potencial en sentido anódico empleando una ventana de 0.0-1.0 V a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Cuando se utiliza el EPC, no se observan señales electroquímicas, en la zonas anódica y catódica que pudieran causar interferencia con la señal electroquímica del colorante, por otra parte, al emplear el EPC-poli-5aFen y realizar el barrido en sentido anódico, se observa en 0.18 V un pico de oxidación, continuando con el barrido en 0.8 V se muestra una segunda señal anódica, ambas, son asociadas a la presencia de la película polimérica; al invertir el sentido del barrido, alrededor de 0.05 V se presenta un pico catódico, el cual es debido a la poli-5aFen. Las señales descritas anteriormente son indicativas de la modificación del EPC, así como también el incremento de la corriente capacitiva.

Figura 5.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---), EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs⁻¹.

La Figura 5.5 muestra los voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y el EPC-poli-5aFen (—), 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0, cuando se realiza el barrido de potencial en sentido anódico, en una ventana de 0.0-1.0 V, a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Cuando se emplea el EPC, se observa en 0.77 V el pico de oxidación asociado al grupo enol presente en la molécula de RA, al invertir el sentido del barrido, no se observan señales catódicas. Por otro lado, cuando se utiliza el EPC-poli-5aFen y se realiza el barrido bajo las mismas condiciones descritas con anterioridad, se encuentra el pico de oxidación ligeramente desplazado hacia un potencial menor, ya que ahora se sitúa en 0.76 V, este desplazamiento se debe a que la membrana polimérica cataliza la reacción redox del colorante, cuando se invierte el sentido del barrido, no se presentan señales de reducción. En ambos casos, el proceso electroquímico es no reversible. Al comparar ambas señales, se puede determinar que, si bien el desplazamiento no es significativo, el aumento en la intensidad de corriente, si lo es, ya que con el electrodo modificado se obtiene un incremento de 1.84 veces más de señal electroquímica, aumento que se traduce en una mayor sensibilidad hacia el colorante RA.

Figura 5.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH= 4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .

Cuando se ha identificado la señal de interés se realiza el estudio de variación de velocidad de barrido, en la Figura 5.6 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, los cuales se obtienen al variar la velocidad en un intervalo de 0.01 - 0.1 V s^{-1} . En los voltamperogramas, para ambos casos se observa el comportamiento esperado, un incremento en la intensidad de la corriente de pico anódico al aumentar la velocidad de barrido, así como un ligero desplazamiento a potenciales de oxidación más positivos, comportamiento propio de los procesos electroquímicos no reversibles.

A partir de los voltamperogramas cíclicos obtenidos se grafica la intensidad de corriente de pico anódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, como se observa en la Figura 5.7, en donde la ecuación de la recta toma los siguientes valores para, a) EPC: $i_{pa} = 7.1685v^{1/2} + 0.3971$ con un $R^2 = 0.9959$ y b) $i_{paEPC-poli-5aFen} = 17.543v^{1/2} - 0.1682$ con un $R^2 = 0.9993$; por lo que, para ambos electrodos, la transferencia de masa, se encuentra regida por la difusión. Al comparar los valores de las pendientes, se observa que este es mayor cuando se utiliza el electrodo modificado, lo que se traduce en una mayor sensibilidad.

Figura 5.6. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas a) EPC, b) EPC-poli-5aFen, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs⁻¹.

Figura 5.7. Ajustes lineales obtenidos para los sistemas a) EPC, b) EPC-poli-5aFen, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0, obtenidos a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 5.6.

5.3.2.2 Cuantificación

Posterior al estudio para determinar el perfil electroquímico se realiza la cuantificación por medio de la voltamperometría diferencial de pulso (VDP), en donde se varía la concentración del colorante y se mide la intensidad de la corriente anódica. Con la VDP, el pico de oxidación se sitúa en 0.61 V (Figura 5.8), al incrementar la concentración del colorante, no se observa una tendencia lineal, por lo que la cuantificación no es factible.

Figura 5.8. Familia de VDPs para el sistema EPC-poli-5aFen, 1.99×10^{-6} a 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0.

Por lo que es necesario buscar otra estrategia para poder cuantificar el RA en presencia de la fenantrolina.

5.3.3 Tartrazina

En cuanto a la Trz, en la Figura 5.9 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0, al realizar el barrido en sentido anódico en una ventana de barrido de potencial de 0.0-1.2 V a una velocidad de 0.05 V s^{-1} . Empleando el EPC, no se presentan procesos electroquímicos asociados al electrolito soporte en ninguna de las zonas, sin embargo, cuando se hace uso del EPC-poli-5aFen, se observa en 1.19 V, un pico anódico, cuando la dirección del barrido se invierte, en 1.02 se presenta un cruce, comportamiento que es con frecuencia observado al hacer uso de polímeros conductores debido a los núcleos que se forman en el crecimiento del polímero conductor, al continuar con el barrido, en 0.04 V se muestra un pico catódico, las señales descritas anteriormente se observan con mayor claridad en el inserto. Las diferencias entre los voltamperogramas obtenidos, indican que el EPC ha sido modificado.

Figura 5.9, Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0
Velocidad de barrido 0.05 Vs⁻¹.

En la Figura 5.10 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos con el EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—) para el sistema 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0, al realizar el barrido de potencial en sentido anódico, en una ventana de 0.0-1.2 V a una velocidad de barrido de 0.05 V s⁻¹. Empleando el EPC, se observa en 0.99 V, el pico de oxidación asociado al grupo enol, cuando se invierte el sentido del barrido, no se presentan señales de reducción. Por otro lado, cuando se realiza el barrido de potencial, utilizando el EPC-poli-5aFen, el pico de oxidación se encuentra en 0.89 V, este desplazamiento de 0.1 V hacia un valor de potencial menor se debe a la presencia de la película polimérica se encuentra catalizando la reacción redox de la Trz, se observa también un incremento de la intensidad de la corriente de pico anódico, ya que se alcanza 1.9 veces más de la señal de la Trz. En ambos casos al no presentarse señal catódica, el proceso electroquímico es no reversible.

Figura 5.10. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .

Posterior a la obtención del perfil electroquímico de la Trz con ambos electrodos, se realiza el estudio de variación de velocidad de barrido, en la Figura 5.11, son mostrados los voltamperogramas cíclicos obtenidos al variar la velocidad en un intervalo de 0.01 - 0.1 V s^{-1} , para a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, en donde se observa el comportamiento esperado, un incremento de la intensidad de corriente generada al aumentar la velocidad de barrido, además un desplazamiento a potenciales mayores, comportamiento típico de los procesos no reversibles.

Para la determinación del proceso de transferencia de masa se gráfica, para el caso del EPC, la intensidad de pico anódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (Figura 5.12 a) y se obtiene la ecuación de la recta $i_{paEPC} = 5.3233v^{1/2} + 0.5663$ con un $R^2 = 0.9938$; por lo que el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión, por otro lado para el EPC-poli-5aFen es graficado el logaritmo de la intensidad de corriente de pico anódico en función del logaritmo de la velocidad de barrido^[76] (Figura 5.12b), al realizar la regresión lineal se obtiene la ecuación de la recta, $\log i_{paEPC-poli-5aFen} = 0.64573 \log v + 1.3073$ con un $R^2 = 0.9993$, debido al valor de la pendiente, el proceso de transferencia de masa es mixto, es controlado mediante la difusión-adsorción, cuando el valor de la pendiente es igual a 1, el proceso se rige mediante la adsorción, cuando se acerca a 0.5 por la difusión y si los valores se encuentran intermedios, el proceso se tendrá componentes de ambos.

Figura 5.11 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs⁻¹.

Figura 5.12 Ajuste lineales obtenidos para los sistemas a) EPC y b) EPC-poli-5aFen, 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0, obtenidos a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 5.11.

5.3.4 Cuantificación

Se plantea la cuantificación con el EPC-poli-5aFen, empleando la VDP, para ello, se varío la concentración del colorante y se obtiene el gráfico correspondiente, sin embargo, no se pudo realizar la cuantificación debido al que, al ir adicionando el colorante, la intensidad de corriente no aumentó linealmente como se esperaba, sino que parecía que no tenia efecto el aumentar la concentración, esto podría atribuirse a la interacción entre la superficie del electrodo y la Trz, lo que hace no obtener el efecto esperado. (Figura 5.13).

Para poder realizar la cuantificación es necesario buscar una estrategia que no requiera la renovación de la superficie del electrodo.

Figura 5.8. Familia de VDPs para el sistema EPC-poli-5aFen, 1.99×10^{-6} 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0.

5.4 Conclusiones

La modificación del electrodo de pasta de carbono se realiza de manera sencilla, ya que la poli-5aFen tiene la capacidad de ser electrosintetizada *in situ*; con el electrodo modificado, se realiza el estudio electroquímico de los colorantes y se observa que se favorece el proceso electroquímico de los mismos, comportamiento que esperado al añadir un agente modificador de la superficie, con la película polimérica se obtiene un incremento de la intensidad de corriente, además, el proceso de transferencia de masa cambia de regirse por la difusión a ser mixto.

Capítulo 6. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando Electroodos de Pasta de Carbono y Nanopartículas de Oro

6.1 Introducción

Una de las mayores ventajas de los EPC es la facilidad con la cual su superficie es modificada, para ello, se han empleado diversos materiales, siendo la tendencia actual el uso de nanoestructuras como nanocristales, nanorods, nanolistones, nanofibras, nanotubos de carbono y las nanopartículas (NPs). Estas últimas han recibido atención debido a sus propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas,

magnéticas y catalíticas, además de aumentar el área electroactiva y acelerar el transporte de masa, también, se han utilizado como agentes inmovilizadores de enzimas en caso de los biosensores [83].

Las NPs pueden ser obtenidas de diversos materiales, sin embargo, para los sensores electroquímicos las empleadas con mayor frecuencia son las provenientes de óxidos metálicos y las metálicas, en esta clasificación destacan las AuNPs ya que presentan un costo menor a comparación de las NPs de Pd o Pt, su preparación resulta sencilla al emplear el método coloidal que consiste en añadir la sal precursora y un agente reductor^[57-58]; además, su adición como agente modificador puede efectuarse a través de diversas formas, pueden ser añadidas a la solución que contiene la molécula de interés, soportadas en materiales carbonáceos para la preparación de tintas catalíticas, inmovilizadas sobre la superficie con algún agente como el Nafion® o bien incorporarse a la pasta durante su preparación [84-85].

Aprovechando las ventajas de las AuNPs y su adición como agente modificador, en la literatura se ha reportado su empleo para la determinación de diversos analitos como la dopamina [59,84], bisfenol A^[85], triptófano^[86] y ácido fólico^[87]. También se ha reportado su uso para la determinación de Amarillo Ocaso y Trz^[43], en donde la incorporación de las AuNPs se realiza al mezclarlas con la pasta de carbono, dado los buenos resultados que se han obtenido al incorporar las AuNPs a los electrodos de trabajo, en este capítulo se presenta el estudio electroquímico de los colorantes haciendo uso de un EPC en presencia de este material nanoestructurado.

6.2 Metodología

6.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, ≥85%), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, ≥80%), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho=1.2 \text{ g mL}^{-1}$), $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, ≥99.9%, trazas de metal), citrato de sodio trisódico dihidratado (Sigma-Aldrich, ≥99.0%), Carbón Vulcán XC-72R® (negro de carbono de alta conductividad en polvo, Ø 50 nm, Cabot). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada $18.2 \text{ }\Omega\text{M.cm}^2$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución). Para la construcción del EPC se emplea polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho=0.85$).

6.2.2 Experimental

La síntesis de las AuNPs se realiza tomando una alícuota de 2.5 mL de una solución 0.01 M $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, la cual se diluye en 200 mL de agua desionizada, esta dispersión se lleva a calentamiento, una vez alcanzado el punto de ebullición, se adicionan 3.8 mL de una solución 0.1 M de citrato trisódico, el cual, funge como agente reductor de los iones Au^{3+} a Au^0 . La formación de las NPs se observa conforme pasa el tiempo (Figura 6.1); al tiempo cero, la dispersión presenta una coloración amarillo pálido y al incrementar el tiempo de síntesis se obtienen diferentes tonalidades de rosa hasta llegar a una coloración rojo rubí, en este momento, la dispersión se retira del calentamiento y es enfriada para asegurar que las AuNPs tengan un tamaño promedio de 20 nm. Posteriormente, la dispersión se lleva a refrigeración para evitar la formación de aglomerados.

Las AuNPs son soportadas en un material carbonáceo, una vez que las AuNPs se encuentran a temperatura ambiente, se añaden 40 mg de Carbón Vulcán XC-72R® y se mantienen a agitación constante durante tres días, transcurrido este tiempo, la suspensión se filtra al vacío empleando papel Whatman 6F/F de 47 mm, una vez terminado el filtrado, las nanopartículas soportadas son lavadas con agua desionizada, posteriormente se retiran del papel cuidadosamente con ayuda de una espátula de acero inoxidable y se colocan en un vaso de precipitados de 10 mL para su secado a temperatura ambiente, finalmente, son pulverizadas.

Figura 6.1 Fotografías de la solución de síntesis de las AuNPs a diferentes tiempos.

6.3 Resultados y Discusión

6.3.1 Caracterización de las AuNps

Las AuNPs sintetizadas se caracterizan a través de espectrofotometría UV-Vis y microscopia de transmisión de barrido (STEM). En la Figura 6.2 se muestra espectro de absorción, el cual se obtuvo al colocar 3.5 mL de la dispersión de AuNPs en la celda de cuarzo y realizar un barrido de longitud de onda de 600 a 450 nm a una velocidad de 960 nm s^{-1} . Se observa en λ 525 nm la máxima absorbancia, la cual está relacionada con el plasmón de resonancia, en este valor de longitud de onda se estima que el tamaño aproximado de las AuNPs es de 20 nm ^[88].

Figura 6.2 Espectro UV-Vis para la dispersión de AuNPs.

El tamaño promedio y forma de las AuNPs se observa con microscopia de transmisión de barrido (STEM, por sus siglas en inglés), para la obtención de la imagen se colocan en rejillas de cobre 15 μL de la dispersión de AuNPs. En la Figura 6.3 se muestran las micrografías, en donde, se distingue que las AuNPs sintetizadas presentan una forma predominantemente esférica con un tamaño promedio de $22.85 \pm 2.98 \text{ nm}$.

Figura 6.3 Micrografías STEM para las AuNPs.

Por otra parte, las AuNPs soportadas en Carbón Vulcán XC-72R® se caracterizan por medio de difracción de Rayos X (XDR), en la Figura 6.4 se muestra el patrón de difracción obtenido, se observan picos situados en $2\theta = 38.16^\circ$, 44.47° , 64.97° , 77.84° , 81.83° que son correspondientes a los planos (111), (222), (220), (311) y (222) de una estructura cúbica centrada en la cara (FCC), tanto los planos como los ángulos donde se produce la difracción corresponden a los reportados en la tarjeta 04-0784 de la JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards), el pico situado en $2\theta = 25.12^\circ$ corresponde al Carbón Vulcan XC-72R® (JCPDS, No. 74-2330).

Figura 6.4 Patrón de difracción para las AuNPs soportadas en Carbón Vulcán XC-72R®

6.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando un EPC/AuNPs

El estudio electroquímico se realiza empleando una celda típica de tres electrodos, un contraelectrodo de platino, un electrodo de referencia Ag/AgCl (3M NaCl) en un capilar Luggin, el electrodo de trabajo es un EPC modificado con una tinta catalítica (EPC/AuNPs) preparada de la siguiente forma, en un vial se colocan 3 mg de las AuNPs soportadas en el Carbón Vulcán XC-72R®, se adicionan 200 μL de agua desionizada y 20 μL de una solución 5% v/v de Nafion; el vial se lleva a baño de ultrasonido durante 15 minutos para lograr la dispersión homogénea de las partículas contenidas, transcurrido el tiempo, se toma una alícuota de 12 μL , la cual es depositada cuidadosamente sobre la superficie del EPC, posteriormente se lleva a secado a 60°C durante 5 minutos.

Con los electrodos modificados se realizan los experimentos electroquímicos al obtener los voltamperogramas cíclicos debe reflejarse la modificación con un aumento de la corriente capacitiva generada.

6.3.2.1 Rojo Allura

La Figura 6.5 muestra los voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC y (—) EPC/AuNPs (soportadas en carbón Vulcán), para 0.1 M NaCl, pH 4.0, el barrido se realiza en sentido anódico a una velocidad de barrido de 0.05 V s⁻¹. Al comparar los voltamperogramas cíclicos se observa una mayor corriente capacitiva al emplear el EPC/AuNPs, comportamiento esperado al realizar una modificación. En los voltamperogramas no se observan señales electroquímicas que pudieran interferir con la señal propia del RA.

Figura 6.5. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC/AuNPs/ 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s⁻¹.

Posteriormente, bajo las condiciones descritas anteriormente, son obtenidos los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 6.6 para los sistemas (—) EPC y (---) EPC/AuNPs/ 1.0x10⁻³ M RA, 0.1 M NaCl, pH 4.0. El barrido se realiza en sentido anódico empleando el EPC, se observa en 0.89V la señal asociada al grupo enol, al invertir el sentido del barrido, en 0.23V se presenta la señal de reducción, sin embargo, dado $\Delta E_p = 0.66$ V por lo que el proceso es no reversible; por otra parte, al realizar el barrido de potencial en sentido anódico, utilizando el EPC/AuNPs soportadas en carbón Vulcán XC-72 R, se observa una señal en 0.79 V, sin embargo, debido a la corriente capacitiva, no se encuentra definida, cuando el sentido del barrido es invertido no se aprecian señales catódicas.

Al comparar ambos voltamperogramas se puede observar, que con el EPC sin modificar las señales electroquímicas se encuentran totalmente definidas a diferencia de cuando es empleado el EPC/AuNPs soportadas en carbón Vulcán XC-72R, en donde no se aprecian las señales, lo que podría ser atribuido a la corriente capacitiva.

Figura 6.6. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (—) EPC, (---) EPC/AuNPs/ 1.0×10^{-3} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Cuando un electrodo es modificado se espera mejorar la señal electroquímica de interés, sin embargo, en este caso debido a la corriente capacitiva, no se aprecian las señales electroquímicas de interés, la corriente capacitiva puede ser asociada al material de soporte o al Nafion, por ello, es necesario buscar una estrategia que permita adicionar las AuNPs al sistema de estudio.

Una alternativa es colocar una alícuota de la suspensión de las AuNPs, en la solución que contiene el colorante (EPC+AuNPs). En la Figura 6.7 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC y (—) EPC+AuNPs, 0.1 M NaCl, pH 4.0, el barrido se realiza en sentido anódico en una ventana de potencial de 0.0-1.0 V, a una velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} . En ambos casos no se observan señales anódicas ni catódicas.

Al comparar los voltamperogramas cíclicos se observa un ligero aumento en la corriente capacitiva generada, cuando las AuNPs se encuentran adicionadas a la solución, por lo que podría existir una interacción entre estas y la superficie del EPC, es importante mencionar que en esta ventana de potencial no se observa el proceso redox del oro proveniente de las AuNPs.

Figura 6.7 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+ AuNPs, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s⁻¹.

Posteriormente, se obtienen los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 6.8 para los sistemas (---) EPC y (—) EPC+ AuNPs 2.0x10⁻⁵ M RA ,0.1 M NaCl, pH 4.0, al realizar el barrido en sentido anódico a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Empleando el EPC se encuentra el potencial de oxidación en 0.77 V y al invertir el sentido no se observan señales catódicas, cuando el barrido de potencial se efectúa utilizando el EPC+AuNPs el potencial de oxidación se encuentra en 0.79 V y al invertir el sentido del barrido, no se aprecian señales catódicas. Al comparar ambos voltamperogramas se observa que utilizando el EPC+AuNPs la señal de oxidación presenta un incremento de 1.69 veces, por lo que la presencia del material nanoestructurado favorece el proceso electroquímico del colorante.

Figura 6.8 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+AuNPs, 2.0×10^{-5} M, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Para determinar el proceso de transferencia de masa se realiza un estudio de velocidad de barrido variando este parámetro en un intervalo de 0.01 – 0.1 V s^{-1} , para ello se emplea una solución 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH 4.0. En la Figura 6.9a, se muestran los voltamperogramas cíclicos para el EPC+AuNPs; en donde se observa el comportamiento esperado, ya que, al aumentar la velocidad de barrido, incrementa la señal obtenida; también se presenta un desplazamiento a potenciales mayores, característica propia de los procesos electroquímicos irreversibles. Cuando se grafica la intensidad de corriente anódica en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (Figura 6.9b) se obtiene la siguiente ecuación de la recta, $i_{paEPC+AuNPs} = 14.995v^{1/2} - 0.1933$ con un $R^2 = 0.9911$, dados los valores de las ecuaciones de la recta, la transferencia de masa, es regida mediante la difusión.

Figura 6.9 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC+AuNPs, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de 0.01-0.1 V s^{-1} . b) Ajuste lineal obtenido al graficar i_{pa} vs $\nu^{1/2}$ a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).

6.3.2.2 Tartrazina

Por otra parte, para la Tartrazina, la tinta catalítica se coloca sobre la superficie del EPC y se realiza la voltamperometría cíclica, en la Figura 6.10 se muestran los voltamperogramas obtenidos para los sistemas (---) EPC y (—) EPC/AuNPs, 0.1 M NaCl, pH 4.0, el barrido se realiza en sentido anódico a una velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} .

Al realizar el barrido en sentido anódico empleando el EPC, no se observan señales electroquímicas, este comportamiento también se presenta al utilizar el electrodo modificado con la tinta catalítica; al comparar ambos voltamperogramas es notorio como el EPC/AuNPs presenta mayor corriente capacitiva, efecto que se atribuye a la presencia del material de soporte y de las nanoestructuras de oro presentes.

Figura 6.10. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC/AuNPs, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s⁻¹.

Cuando al sistema se le añade el colorante se obtienen los voltamperogramas cíclicos mostrados en la Figura 6.11 para, (—) EPC y (---) EPC/AuNPs/ 1.0x10⁻³ M Trz, 0.1 M NaCl, pH 4.0; el barrido se realiza en sentido anódico y se observa al emplear el EPC, el pico de oxidación asociado al grupo enol en 1.07 V; cuando el sentido del barrido es invertido, en 0.47 V se aprecia una señal de reducción, debido a la separación de los picos $\Delta E_p = 0.6$ V, el proceso electroquímico es irreversible. Por otro lado, al efectuar el barrido en sentido anódico con el electrodo modificado EPC/AuNPs soportadas en carbón Vulcán XC-72R, se presenta en 1.01 V la señal anódica, la cual no se encuentra totalmente definida, al invertir el sentido del barrido no se encuentran señales de reducción. La modificación del electrodo favorece la oxidación del grupo enol, desplazando la señal a un potencial menor, sin embargo; dada la presencia de la corriente capacitiva, el pico no se define, por lo que se debe idear otra estrategia para la incorporación de las AuNPs al sistema de estudio.

Figura 6.11. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (—) EPC, (---) EPC/AuNPs, 1.0×10^{-3} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Una alternativa para observar la interacción de las AuNPs con el sistema de estudio es la adición de 1 mL de la dispersión al electrolito soporte y posteriormente a una solución que contiene el colorante. En la Figura 6.12 son mostrados los voltamperogramas cíclicos obtenidos al realizar esta estrategia para (---) EPC y (—) EPC + 1 mL AuNPs, 0.1 M NaCl, pH 4.0, se emplea una ventana de barrido de potencial de 0.0-1.2 V, barriendo en sentido anódico a 0.05 V s^{-1} . Al utilizar el EPC, no se observan señales electroquímicas; al hacer uso del EPC con las AuNPs en solución se observa en 1.16 V un pico anódico, el cual se atribuye a la oxidación del oro es importante considerar la presencia de esta señal ya que se encuentra en un potencial cercano al valor del potencial de oxidación de la Trz; al invertir el sentido del barrido no se presentan señales de reducción.

Figura 6.12 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+AuNPs/ 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s⁻¹.

Posteriormente, al sistema se le adiciona el colorante en una concentración 2.0×10^{-5} M y se realiza el barrido de potencial en sentido anódico para obtener los voltamperogramas mostrados en la Figura 6.13, para EPC (---) y EPC+ 1 mL AuNPs (—); al utilizar el EPC se encuentra que el potencial de oxidación se sitúa en 0.99 V, al invertir el sentido del barrido no se encuentran señales de reducción, cuando se emplea el EPC en la solución que contiene las AuNPs y se realiza el barrido de potencial se encuentra la señal asociada a la oxidación en 0.92 V; cuando el sentido del barrido es invertido no se presentan señales de reducción; en ambos casos, el proceso es no reversible. Al comparar ambos voltamperogramas se observa, que cuando las AuNPs se encuentran en solución el proceso de oxidación se ve favorecido al recorrerse 0.07 V hacia un potencial menor, comportamiento que puede atribuirse a las propiedades catalíticas que presentan las AuNPs, en cuanto a la intensidad de corriente al utilizar el electrodo modificado se alcanza 1.33 veces más.

Figura 6.13 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas (---) EPC, (—) EPC+1 mM. AuNPs, 2.0×10^{-5} M, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

Para determinar el proceso de transferencia de masa, se realiza un estudio de velocidad de barrido, en la Figura 6.14a se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos al variar este parámetro en un intervalo de velocidades de $0.01\text{-}0.1 \text{ V s}^{-1}$, se observa el comportamiento típico de los procesos no reversibles, el desplazamiento del pico de oxidación a potenciales mayores conforme aumenta la velocidad del barrido. Al realizar el ajuste lineal mostrado en la Figura 5.14 b se obtiene la siguiente ecuación de la recta $i_{paEPC+AuNPs} = 9.268v^{1/2} + 0.4266$ con un $R^2 = 0.9938$ por lo que el proceso de transferencia de masa es difusional.

Figura 6.14 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC+ 1 mL AuNPs, 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de 0.01-0.1 V s⁻¹. b) Ajuste lineal i_{pa} vs $\nu^{1/2}$ obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso b).

6.4 Conclusiones

Al añadir las AuNPs a las soluciones, se mostró un desplazamiento del pico de oxidación de la Tartrazina lo cual podría deberse a una interacción entre el colorante y el material nanoestructurado, en cuanto al RA, no se observa favorecido el proceso electroquímico. En ambos casos se presenta un aumento de la intensidad de la corriente generada, por lo que el electrodo es más sensible hacia el analito de interés. Sin embargo; es de suma importancia idear una estrategia que permita la incorporación de las AuNPs al EPC, una alternativa es a través del uso de los polímeros conductores, ya que estos pueden ser dopados con diversos agentes como las nanopartículas.

Capítulo 7. Estudio electroquímico de RA y Trz empleando Electroodos de Pasta de Carbono modificados con poli-5aFen-AuNPs

7.1 Introducción

En capítulos anteriores se ha descrito la influencia de las AuNPs y la poli-5aFen en el comportamiento electroquímico de los colorantes, por lo que en este capítulo se modifica la superficie del EPC con ambos agentes, ya que las AuNPs pueden ser incorporadas a la red polimérica mientras esta es sintetizada electroquímicamente vía potenciodinámica.

7.2 Metodología

7.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho = 1.2 \text{ g mL}^{-1}$), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich, 95-98 %), 5-amino-1,10-fenantrolina (Sigma-Aldrich, 97 %). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada $18.2 \text{ }\Omega\text{M}\cdot\text{cm}^2$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución). Para la construcción del EPC se emplea polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho = 0.85$).

7.2.2 Experimental

La modificación del EPC se efectúa vía potenciodinámica, realizando el barrido de potencial en sentido anódico en una ventana de -0.3-1.2 V, barriendo a 0.1 V s^{-1} , durante 10 ciclos. La celda electroquímica se sumerge en una solución 0.5 M H_2SO_4 con 0.05 mM 5-amino-1,10-fenantrolina y se adiciona 1 mL de la suspensión de las AuNPs (EPC-poli-5aFen). Una vez obtenidos los voltamperogramas cíclicos, se calcula la carga acumulada para la zona anódica y catódica, empleando el software Origin 8.6®.

Posteriormente se obtienen los voltamperogramas cíclicos para cada uno de los colorantes empleando el EPC y el EPC-poli-5aFen con la finalidad de comparar ambas señales y determinar como la modificación influye en el proceso electroquímico del colorante. También se realiza un estudio de variación de velocidad de barrido para determinar el proceso de transferencia de masa.

7.3 Resultados y Discusión

7.3.1 Modificación del EPC-poli-5aFen-AuNPs

En la Figura 7.1 se muestra el voltamperograma cíclico para la polimerización de la poli-5aFen en presencia de las AuNPs, a la solución que contiene el monómero precursor, se le adiciona 1 mL de la suspensión de AuNPs. Al realizar el primer barrido en sentido anódico, se observa en 0.81 V el pico de oxidación I, el cual, corresponde a la oxidación del monómero, en 1.0 V se presenta un pico anódico II asociado a la incorporación del monómero a la red polimérica, cuando se invierte el sentido del barrido se observa en 0.49 V un pico catódico III, el cual no se presenta en ausencia de las AuNPs, por lo que podría ser indicativo de que el material nanoestructurado se encuentra presente en la película polimérica, continuando con el barrido, en 0.34 V se presenta el pico de reducción IV, que corresponde a la reducción del polímero. Al realizar el barrido de potencial para el segundo ciclo, en 0.38 V se encuentra un pico anódico V, que se asocia a la oxidación del polímero, el resto del voltamperograma permanece con las señales descritas para el primer ciclo. En los ciclos subsiguientes, se observa el incremento de la intensidad de corriente generada para los picos III y V (ver inserto), lo que indica que la película polimérica se encuentra modificando la superficie del electrodo, por lo que se obtiene el EPC-poli5aFen-AuNPs.

Figura 7.1. Voltamperogramas cíclicos (10 ciclos) para el sistema EPC, 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H_2SO_4 + 1 mL AuNPs. Velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} .

Una forma de inferir que las AuNPs se encuentran en la membrana polimérica es realizar la comparación del último ciclo de las polimerizaciones, en la Figura 7.2 se muestra una ampliación de el último ciclo de los voltamperogramas obtenidos en ausencia de las AuNPs (---) y cuando estas se han adicionado a la solución con el monómero precursor (—). Al comparar ambos voltamperogramas, se observa que cuando las AuNPs han sido añadidas en 0.42 V se presenta el pico catódico III, que podría asociarse a la reducción del oro presente en las NPs, ya que cuando el material no es añadido, esta señal no se presenta. Se observa también, que, en ausencia del material nanoestructurado, la intensidad de corriente de pico anódico es 1.69 veces mayor. A partir de las diferencias entre los voltamperogramas se puede establecer que el electrodo está siendo modificado con el polímero en presencia de las AuNPs; sin embargo, la incorporación de estas parece no favorecer el proceso electroquímico al existir una disminución de la corriente.

Figura 7.2. a) Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H₂SO₄ y EPC-poli-5aFen-AuNPs (—), 0.05 mM 5-amino-1,10-Fenantrolina, 0.5 M H₂SO₄ + 1 mL AuNPs, 10 ciclos. Velocidad de barrido 0.1 V s⁻¹.

Posteriormente, con el uso del software Origin 8.6®, se calcula la carga acumulada (Q) para cada una de las zonas, al integrar el área bajo la curva. En la Figura 7.3, se muestra el gráfico de Q en función del número de ciclos realizados, al ir aumentando el número de ciclos, la carga incrementa, señal de que el polímero está siendo electrosintetizado sobre el EPC, la carga acumulada se compara con la obtenida utilizando el electrodo en ausencia de las AuNPs para observar la influencia de las AuNPs sobre el polímero conductor (Figura 7.4). Se observa que cuando el polímero se electrosintetiza en presencia de las AuNPs la carga es menor, por lo que adicionar este material no favorece el aumento de la corriente.

Figura 7.3 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5aFen+AuNPs). Zona anódica (●●●) b) zona catódica (●●●).

Figura 7.4 Carga acumulada en función del número de ciclos de la polimerización de la poli-5aFen (●) y poli-5aFen+AuNPs (▲) para a) zona anódica, b) zona catódica.

7.3.2 Estudio electroquímico de los colorantes empleando el EPC/poli-5aFen+ AuNPs

7.3.2.1 Rojo Allura

En la Figura 7.5 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para el sistema 0.1 M NaCl, pH=4.0, obtenidos con los electrodos de trabajo EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—) al realizar el barrido de potencial en una ventana de 0.0-1.2 V a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. En la Figura

se observa que en ambos casos, no se presentan señales redox que pudieran interferir en el proceso electroquímico del colorante; comparando ambas señales se observa que al emplear el EPC-poli-5aFen+AuNPs (—) la corriente capacitiva es mayor EPC (---), indicativo de que la modificación se realiza.

Figura 7.5 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs⁻¹.

Por otro lado, en la Figura 7.5 son mostrados los voltamperogramas cíclicos para el sistema 2.0x10⁻⁵ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0 al utilizar el EPC (---) y el EPC-poli-5aFen+AuNPs (—), al realizar el barrido de potencial en sentido anódico en una ventana de potencial de 0.0-1.0 V a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Empleando el EPC se observa en 0.77 V el pico anódico asociado a la oxidación del grupo enol, cuando la dirección del barrido se invierte no se presentan señales de reducción. Al realizar el barrido haciendo uso del EPC-poli-Fen+AuNPs, el pico anódico se desplaza hacia un potencial más positivo al situarse ahora en 0.79 V, cuando se invierte el sentido del barrido no son observados procesos catódicos. Comparando ambos voltamperogramas se observa un aumento de 0.76 veces de la corriente, por lo que se espera que el electrodo presente una mayor afinidad al colorante.

Figura 7.6 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas 2.0×10^{-5} M RA/0.1 M NaCl/EPC (---) y EPC/poli-5aFen+AuNPs (—). Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .

Posterior a la obtención del estudio electroquímico del RA, se realiza un estudio de variación de velocidad de barrido, para ello, se emplea un intervalo de $0.01\text{-}0.1 \text{ V s}^{-1}$, en la Figura 7.7a se muestran los voltamperogramas obtenidos con el EPC-poli-5aFen. Se observa un incremento de la intensidad de corriente generada al aumentar la velocidad de barrido, además se presenta un ligero desplazamiento a potenciales de oxidación más positivos, que es un comportamiento típico de los procesos no reversibles. Para determinar el proceso de transferencia de masa se grafica la intensidad de pico anódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (ver Figura 7.7), al realizar la regresión lineal se obtiene la siguiente ecuación de la recta $i_{pa\text{EPC-poli-5aFen+AuNPs}} = 10.62 v^{1/2} + 0.2052$ con un $R^2 = 0.9950$; dados los valores obtenidos, el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión.

Figura 7.7 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC-poli-5aFen+AuNPs, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs⁻¹. b) Ajuste lineal obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).

7.3.2.2 Tartrazina

Para la Trz, en la Figura 7.8 se muestran los voltamperogramas cíclicos para el sistema 0.1 M NaCl, pH=4.0, utilizando los electrodos EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—) en una ventana de barrido de potencial de 0.0-1.2 V, barriendo en sentido anódico a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Se observa, con ambos electrodos que el electrolito soporte no presenta señales electroquímicas que pudiesen interferir con el proceso electroquímico de la Trz. Al comparar los voltamperogramas se observa un incremento de la corriente capacitiva al emplear el electrodo modificado.

Figura 7.8 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen (—), 2.0×10^{-5} M, 0.1 M NaCl, pH=4.0.

En la Figura 7.9 son mostrados los voltamperogramas cíclicos para el sistema 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0, al utilizar los electrodos EPC (---) y EPC-poli-a5Fen+AuNPs (—), en una ventana de barrido de potencial de 0.0-1.2 V, al realizar el barrido en sentido anódico a una velocidad de 0.05 V s^{-1} . Empleando el EPC, el pico anódico se sitúa en 0.99 V, cuando se invierte el sentido del barrido no se observan procesos de reducción. Por otro lado, cuando se hace uso del EPC-poli-5aFen, el pico de oxidación del grupo enol, se presenta en 0.9 V, es decir, el proceso electroquímico se ve favorecido, además se observa un ligero incremento de la intensidad de la corriente, por lo que se espera que el electrodo presente una mayor sensibilidad hacia la Trz. Para los dos electrodos, el proceso electroquímico es no reversible.

Figura 7.9 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC-poli-5aFen+AuNPs (—), 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 V s^{-1} .

En la Figura 7.10 a se muestran los voltamperogramas cíclicos para EPC-poli-5aFen obtenidos al realizar un estudio de variación de velocidad de barrido en un intervalo de 0.01 - 0.1 V s^{-1} en una ventana de 0.0 - 1.2 V ; se observa que la intensidad de corriente de pico anódico aumenta en función de la velocidad de barrido, además de presentarse un ligero desplazamiento a potenciales mayores, lo que es típico de los sistemas no reversibles. A partir de estos voltamperogramas cíclicos se obtiene la intensidad de pico anódico, la cual se grafica en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (Figura 7.10b), al realizar el ajuste lineal, es obtenida la siguiente ecuación de la

recta $i_{paEPC/poli-5aFen+AuNPs} = 9.4347 v^{1/2} - 0.1079$ con un $R^2 = 0.9998$; debido a estos valores, se establece que el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión.

Figura 7.10 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC-poli-5aFen+AuNPs, 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.01-0.1 Vs⁻¹. b) Ajuste lineal obtenido a partir de los voltamperogramas mostrados en el inciso a).

7.4 Conclusiones

La incorporación de las AuNPs al polímero conductor se logra al adicionar una alícuota de la dispersión a la solución que contiene el monómero precursor, con el electrodo modificado se observa un aumento de la corriente generada además de verse favorecido el proceso electroquímico de los colorantes. En ambos casos el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión.

Capítulo 8. Electrodo de pasta de carbono-Nanotubos de carbono multipared tipo bambú

8.1 Introducción

Los EPC son modificados con una gran variedad de materiales nanoestructurados, en capítulos anteriores se menciona a las nanopartículas metálicas, pero también se ha demostrado que pueden ser añadidos materiales carbonáceos como las nanofibras o nanotubos de carbono (NTC).

Los NTC, pueden definirse como estructuras de grafeno enrolladas para crear cilindros nanométricos; dependiendo del número de láminas, los NTC son clasificados como nanotubos de carbono de pared sencilla (NTCPS) o nanotubos de carbono multipared (NTCM) [94].

Los NTCM son estructuras complejas, se encuentran constituidos por multicapas de grafeno enrolladas en cilindros concéntricos; son sintetizados a través de diversos métodos, siendo el más común la deposición de vapor. Presentan una pureza del 35-90%, una longitud aproximada de 10 μm , un diámetro de 0.7 nm, y una resistividad de $1.8\text{-}6.1 \times 10^{-5} \Omega\text{m}$. Son químicamente estables, mecánicamente resistentes y tienen una alta conductividad, por ello en años recientes se han incorporado a los sensores electroquímicos, ya que han demostrado una cinética rápida en la interfaz del electrodo [94-95]. Su uso en sensores ha sido para la determinación de glucosa, etanol, sorbitol, ácido ascórbico, etc. [94-95].

Los NTCM pueden adoptar forma de silla, *zig-zag* o quirales, aunque también se pueden obtener nanoestructuras especiales como nanotubos en forma de hélice, nanocables amorfos de carbono, nanotubos en forma de cuentas, grupos esféricos y nanotubos cuya morfología se asemeja a un bambú [96-98]; estos últimos son llamados comúnmente nanotubos de carbono multipared tipo bambú (NTCM-B).

Los NTCM-B se constituyen por compartimientos segmentados cuya curvatura se dirige hacia la punta del tubo, la distancia entre cada uno de los segmentos es aproximadamente de 15-20 nm, con un espesor en la pared de 7-10 nm y un diámetro de 20-25 nm [98], es importante mencionar que existen variaciones en el tamaño de acuerdo con el método por el cual fueron sintetizados. En la Figura 8.1, la cual, es una micrografía de transmisión de electrones (TEM) obtenida por Zhu *et al* [99].

Figura 8.1. Micrografía TEM de la estructura de los NTCM-B. Fuente: Zhu. Z., Wang, J., Munir, A., Zhou, H. S. (2011).

Estos materiales se han empleado en el desarrollo de biosensores principalmente, debido a que poseen una actividad química más alta comparada con otras estructuras, presentan afinidad hacia las biomoléculas, ya que por la forma del nanotubo se puede inmovilizar a las enzimas sobre superficie del electrodo de trabajo ^[97]; los NTCM-B exhiben propiedades electroquímicas como la transferencia rápida de electrones, debido a los sitios borde que se encuentran a lo largo del tubo y a los grupos funcionales como el $-OH$ que se sitúan entre cada segmento ^[98].

En este capítulo, se presenta el estudio electroquímico de los colorantes RA y Trz, utilizando un EPC modificado con NTCM-B (EPC/NTCM-B), esperando que la incorporación de este material mejore la señal electroquímica, con la finalidad de hacer un comparativo se muestran los resultados al emplear el EPC sin modificación.

8.2 Metodología

8.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho=1.2 \text{ g mL}^{-1}$). Las soluciones se preparan utilizando agua desionizada $18.2 \text{ } \Omega\text{M}\cdot\text{cm}^2$ (Milli-Q) previo a los experimentos electroquímicos las soluciones son burbujeadas con nitrógeno. El EPC se construye empleando polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho=0.85$), la superficie se modifica con NTCM-B (NanoLab 95%, $\varnothing 30 \text{ nm}$, $l=1.5 \text{ } \mu\text{m}$).

8.2.2 Experimental

Los experimentos electroquímicos se realizan en un bipotenciostato DropSense μ STAT 400 empleando el software DropView y en un potenciostato/galvanostato Autolab 30 con el software NOVA 2.1. La celda electroquímica consiste en un alambre de platino como contraelectrodo, un electrodo de Ag/AgCl 3M NaCl en un capilar de Luggin como electrodo de referencia y como electrodos de trabajo EPC y EPC/NTCM-B.

El EPC se modifica depositando sobre la superficie del electrodo 20 μ L de una dispersión de NTCM-B y se lleva a secado a la estufa durante 5 minutos a 40°C, una vez seco, el electrodo es enjuagado con agua desionizada. La dispersión es preparada pesando 0.001 g de material nanoestructurado y añadiendo 1mL de agua desionizada, posteriormente se coloca en el baño de ultrasonido durante 5 minutos.

8.3 Resultados y Discusión

8.3.1 Estudio electroquímico de los colorantes

La celda electroquímica (EPC y EPC/NTCM-B) se coloca en una solución 2.0×10^{-5} M de RA o Trz, según sea el caso, como electrolito soporte se emplea 0.1 M NaCl, el pH de las soluciones se ajusta a 4.0. La voltamperometría cíclica se realiza barriendo en sentido anódico, para cada uno de los colorantes se utiliza una ventana de potencial de barrido específica, misma que se emplea para obtener la señal de la solución blanco.

8.3.1.1 Rojo Allura

En la Figura 8.2 se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos para la solución blanco, 0.1 M NaCl, pH=4.0, empleando los electrodos EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), obtenidos al realizar el barrido en sentido anódico en una ventana de barrido de potencial de 0.0-1.0 V a una velocidad de 0.05 V s^{-1} , con ambos electrodos se observa que el electrolito soporte no presenta señales electroquímicas que pudieran interferir con la señal propia del RA; comparando ambos voltamperogramas se muestra un incremento en la corriente capacitiva cuando se utiliza el EPC/NTCM-B, indicativo de que el electrodo está siendo modificado.

Figura 8.2. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs⁻¹.

En la Figura 8.3 son mostrados los voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0, al realizar el barrido de potencial en sentido anódico en una ventana de 0.0-1.0 V a una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Al utilizar el EPC, se observa en 0.77 V, el pico anódico asociado a la oxidación del grupo enol, cuando se invierte la dirección del barrido, no se muestran señales de reducción. Cuando se hace uso del EPC/NTCM-B, el pico anódico se sitúa en 0.70 V, por lo que el proceso electroquímico se ve favorecido, al invertir el sentido del barrido, no se presentan señales de reducción; por lo que con ambos electrodos el proceso electroquímico, es no reversible. Comparando ambos voltamperogramas se observa que con el EPC/NTCM-B se presenta un incremento en la intensidad de la corriente generada de 1.83 veces, esto puede ser atribuido a la afinidad que presenta la molécula con el material carbonáceo, ya que, al tener grupos funcionales presentes a lo largo de la estructura, se mejora el proceso electroquímico.

Figura 8.3. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .

En la Figura 8.4a son mostrados los voltamperogramas cíclicos obtenidos al variar la velocidad en un intervalo de $0.09\text{--}0.3 \text{ V s}^{-1}$, para EPC/NTCM-B, 2.0×10^{-5} M, 0.1 M NaCl, pH=4.0, se observa que la intensidad de corriente de pico anódico aumenta en función de la velocidad de barrido, además se observa el desplazamiento típico a potenciales ligeramente mayores, presente en los procesos electroquímicos no reversibles.

Para determinar el proceso de transferencia de masa se grafica la intensidad de corriente de pico anódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (Figura 8.4b), al realizar el ajuste lineal, se obtiene la siguiente ecuación de la recta b) $i_{paEPC/NTCMB} = 10.2250v^{1/2} + 0.5337$ con un $R^2 = 0.9933$, dados los valores de la ecuación, se establece que el proceso de transferencia de masa es regido por la difusión, con los valores de la pendiente se observa que el electrodo modificado presenta una mayor sensibilidad.

Figura 8.4 a) Voltamperogramas cíclicos para el sistema EPC/NTCM-B, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de Velocidad de barrido 0.09-0.3 V s⁻¹. b) Ajuste lineal

8.3.2 Cuantificación

Una vez realizado el estudio para determinar el proceso de transferencia de masa, se procede a la cuantificación con el EPC-NTCM-B, para ello, se emplea la técnica de VDP, en la Figura 8.5, se muestra la Familia de VDPs, al variar la concentración del RA, en el inserto, se muestra la curva de calibrado obtenida al graficar la máxima intensidad de pico anódico en función de la concentración. Posteriormente se calculan los parámetros analíticos, los cuales se muestran en la Tabla VIII.I.

Figura 5.8. Familia de VDPs para el sistema EPC-NTCM-B a diferentes concentraciones de RA, pH=4.0.

Tabla VIII.I Parámetros analíticos obtenidos para el EPC-NTCM-B

Electrodo	Sensibilidad $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	R^2	LD (μM)	LQ (μM)	IL (μM)	Referencia
EPC-NTCM-B/RA	0.1121 ± 0.0014	0.9971	0.6335 ± 0.0775	2.7111 ± 0.4720	$2.711-14.77$	Este trabajo

Con los parámetros obtenidos es posible determinar a los colorantes en las concentraciones que suelen presentarse en los alimentos, por lo que para continuar con el estudio se plantea una prueba de recobro, para ello, se miden tres concentraciones del colorante por triplicado, sin embargo, para esta prueba se obtuvieron valores por arriba del 100 %, encontrando hasta 136 % más de la cantidad esperada, por lo que una determinación en muestras reales, podría acarrear un error muy grande y es importante que las determinaciones sean precisas.

8.3.1.2 Tartrazina

En la Figura 8.6 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los sistemas 0.1 M NaCl, pH=4.0, EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), al realizar el barrido en sentido anódico en una ventana de barrido potencial de 0.0-1.1 V a una velocidad de 0.05 V s^{-1} . Para ambos casos, no se presentan señales electroquímicas en el electrolito soporte. Comparando ambos voltamperogramas, se observa que al utilizar el EPC/NTCM-B, se presenta un incremento de la corriente capacitiva, señal de que el EPC se ha modificado.

Figura 8.6. Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 0.1 M NaCl, pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs⁻¹.

En la Figura 876 se muestran los voltamperogramas cíclicos para los electrodos de trabajo EPC (---) y EPC/NTCM-B (—) en el sistema 2.0×10^{-5} M, 0.1 M NaCl, pH=4.0, al realizar el barrido en sentido anódico V, una velocidad de 0.05 V s⁻¹. Cuando se emplea el EPC el pico anódico se sitúa en 0.99 V, cuando la dirección del barrido se invierte, no se presentan señales catódicas. Por otro lado, cuando se emplea el EPC/NTCM-B, el pico anódico se presenta en un potencial de 0.92 V, al invertir el sentido barrido, no se observan señales de reducción, por lo que en ambos casos el proceso electroquímico es no reversible. Comparando ambos voltamperogramas, se observa que con el EPC/NTCM-B se alcanza 5.34 veces mayor intensidad de corriente.

Figura 8.7 Voltamperogramas cíclicos para los sistemas EPC (---) y EPC/NTCM-B (—), 2.0×10^{-5} M Trz, 0.1 M pH=4.0. Velocidad de barrido 0.05 Vs^{-1} .

El aumento en la corriente generada, así como el desplazamiento del potencial se atribuye a la estructura de los NTCM-B, debido a los grupos funcionales que se encuentran en los extremos de la estructura del material carbonáceo.

En la Figura 8.8a se muestran los voltamperogramas cíclicos obtenidos con el EPC/NTCM-B, al realizar el estudio de variación de velocidad de barrido, en un intervalo de $0.1\text{-}0.3 \text{ V s}^{-1}$, al emplear una ventana de barrido de potencial de $0.0\text{-}1.1 \text{ V}$; al incrementar la velocidad de barrido la intensidad de corriente generada aumenta, comportamiento esperado, al igual que el ligero desplazamiento hacia potenciales de oxidación mayores. A partir de la corriente generada y de la velocidad de barrido se determina el proceso de transferencia de masa, para ello, se grafica la intensidad de corriente de pico anódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (Figura 8.8b), al realizar el ajuste lineal se obtiene la siguiente ecuación de la recta $i_{pa} = 39.929v^{1/2} - 1.1249$ con un $R^2 = 0.9997$, dados estos valores, se establece que el proceso de transferencia de masa es regido mediante la difusión.

Figura 8.8 a) Voltamperogramas cíclicos para EPC/NTCM-B, 2.0×10^{-5} M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Intervalo de velocidad de barrido 0.1-0.3 V s^{-1} . b) Ajuste lineal obtenido para EPC/NTCM-B, a partir de los voltamperogramas cíclicos mostrados en el inciso b)

Para ambos colorantes se obtiene una mayor sensibilidad al utilizar el EPC/NTCM-B, comportamiento que puede asociarse a las capas de grafeno de los NTCM-B, además, de los grupos funcionales que pueden encontrarse en la estructura de estos, como son quinonas, carboxilos, lactonas y fenoles, estos grupos, al contener oxígeno, presentan mayor reactividad electroquímica [97]. La ventaja de emplear este tipo de NT radica, principalmente en que los grupos funcionales se forman durante la síntesis de estos, no es necesario funcionalizarlos con técnicas electroquímicas, por calentamiento o por inmersión en sustancias ácidas.

8.3.2 Cuantificación

Posterior a la obtención del perfil electroquímico, se realiza el estudio de variación de concentración para poder realizar la cuantificación, en las Figuras 8.8 a y b se muestran las familias de VDPs, para dos intervalos de concentración, uno para concentraciones más bajas [0.3646-1.3806 μM] y otro para un intervalo más amplio que abarca de 1.0-10 μM , al graficar la intensidad de corriente anódica en función de la concentración (i_{pa} vs [Trz]), se obtienen las curvas de calibrado, a partir de las cuales se obtienen los parámetros analíticos mostrados en la Tabla VIII.II, en donde se observa que el sensor puede detectar concentraciones más bajas en las que los colorantes se suelen encontrar en los alimentos.

Figura 8.8. Familia de VDPs para el sistema EPC-NTCM-B a diferentes concentraciones de Trz, pH=4.0.

Tabla VIII.II Parámetros analíticos obtenidos para el EPC-NTCM-B

Electrodo	Sensibilidad $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	R^2	LD (μM)	LQ (μM)	IL (μM)	Referencia
EPC-NTCM-B/Trz	0.7783 ± 0.0193	0.9926	0.1822 ± 0.0131 1	0.3646 ± 0.0370	0.3646 - 1.3806	Este trabajo
EPC-NTCM-B/Trz	0.1892 ± 0.0071	0.9843	1.3441 ± 0.4538	4.4804 ± 2.7618	4.4804 - 10.88	Este trabajo

A pesar de que el sensor muestra parámetros analíticos que permiten llevar la cuantificación, es indispensable realizar pruebas de recobros para asegurar que las mediciones sean precisas y no existan errores significativos, por lo que se realiza una prueba de recobro en donde se realizan tres mediciones a diferentes concentraciones por triplicado y se comparan con el valor obtenido en la curva de calibrado, esperando un valor cercano al 100%, sin embargo, en este caso, en los recobros, arrojaron valores por arriba del 110% por lo que la medición sería errónea, lo cual podría atribuirse a la modificación del electrodo, a la interacción, entre el colorante y los nanotubos de carbono tipo bambú; dado que no es viable la modificación entre medición, puesto que ampliaría el tiempo de análisis además del costo, por lo que se requiere plantear alguna estrategia para poder realizar la modificación.

8.4 Conclusiones

La incorporación de los NTCM-B a la superficie del electrodo se realiza de manera sencilla al añadirlos a través de goteo, evitando así, el gasto excesivo de reactivo. Con la modificación se

aumenta la corriente generada y se observa también un efecto en el comportamiento electroquímico de los colorantes, ya que la señal de oxidación se desplaza hacia un valor menor, también se observa un incremento significativo de la corriente para los dos aditivos, siendo más evidente para la Trz. A partir del estudio de velocidad de barrido se determina que en ambos casos el proceso de transferencia de masa se rige por la difusión.

En capítulos anteriores se ha presentado la respuesta de los colorantes al realizar el estudio electroquímico con el EPC y EPC modificado con diversos agentes como son AuNPS, poli-5aFen, poli-5aFen-AuNPs y NTCM-B. Al realizar el estudio electroquímico con cada uno de los electrodos, se ha determinado el potencial de oxidación para el RA y Trz así como también, el proceso de transferencia de masa, los valores tanto de los potenciales como las ecuaciones de la recta se muestran en la Tabla VII.III a para el RA y b para la Trz.

Tabla VII.III a Valores electroquímicos para el RA empleando diversos electrodos de trabajo

Electrodo	Potencial de oxidación (V)	Ecuación de la recta	Proceso de transferencia de masa
EPC	0.77	$7.1685v^{1/2}+0.3571$	Difusión
EPC+AuNPs	0.76	$14.995v^{1/2}-0.1933$	Difusión
EPC-poli-5aFen	0.78	$17.543v^{1/2}-0.1682$	Difusión
EPC-poli-5aFen-AuNPs	0.79	$10.62v^{1/2}+0.2052$	Difusión
EPC/NTCM-B	0.70	$10.225 v^{1/2}+0.2052$	Difusión

Tabla VII.III b Valores electroquímicos para la Trz empleando diversos electrodos de trabajo

Electrodo	Potencial de oxidación (V)	Ecuación de la recta	Proceso de transferencia de masa
EPC	0.99	$5.3233v^{1/2}+0.5663$	Difusión
EPC+AuNPs	0.90	$9.268v^{1/2}+0.4226$	Difusión
EPC-poli-5aFen	0.90	$0.6473\log v-0.1682$	Mixto
EPC-poli-5aFen-AuNPs	0.89	$9.4347v^{1/2}-0.1079$	Difusión
EPC/NTCM-B	0.92	$39.929 v^{1/2}-1.1249$	Difusión

Capítulo 9. Cuantificación de los colorantes

9.1 Introducción

La Trz y el RA se encuentran en una gran variedad de alimentos, la normativa de cada país establece la cantidad que puede ser añadida a cada producto, por ello, es de suma importancia contar con métodos analíticos que permitan la cuantificación de forma precisa, sencilla y rápida. En la literatura se han descrito diversas metodologías para poder determinar a los colorantes, en donde destacan, la valoración a través de TiCl_3 [5], HPLC, electroforesis capilar, espectrofotometría UV-Vis y los métodos electroquímicos. Sin embargo, las técnicas presentan algunas desventajas, siendo una de las principales, el hecho de que los colorantes, en muestras reales, se encuentran en mezclas binarias o multicomponentes, por ello, para la resolución de las señales, se hace uso de métodos quimiométricos, que conllevan tiempos largos de análisis, además el pretratamiento de las muestras requiere, en diversas ocasiones reactivos costosos. Por ello, es indispensable, el desarrollo de metodologías que permitan simplificar la detección.

En este capítulo, se presenta la cuantificación de los colorantes empleando, espectrofotometría UV-Vis y voltamperometría diferencial de pulso (VDP) empleando como electrodo de trabajo el EPC, con algunas de las modificaciones descritas en capítulos anteriores. Una vez obtenidas las curvas de calibrado realizadas con soluciones sintéticas, se realiza la cuantificación en muestras reales.

9.2 Metodología

9.2.1 Reactivos y Soluciones

Tartrazina (Sigma-Aldrich, $\geq 85\%$), Rojo Allura (Sigma-Aldrich, $\geq 80\%$), NaCl (Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34-37%, $\rho = 1.2 \text{ g mL}^{-1}$), bebida carbonatada sabor guaraná, 600 mL (Senzao®), polvo para preparar gelatina light sabor piña 25 g (Jelly®), bebida carbonatada sabor naranja, 600 mL (Mirinda®). Todas las soluciones se preparan utilizando agua desionizada 18.2 $\Omega\text{M.cm}$ (Milli-Q) y son burbujeadas con nitrógeno (1 minuto por mililitro de solución). Para la construcción del EPC se emplea polvo de grafito (Alfa Aesar, 99.9995%) y aceite mineral (Fluka $\rho = 0.85$).

9.2.2 Experimental

A partir de las constantes de acidez calculadas, se establecen las condiciones experimentales para realizar la cuantificación de los colorantes. Para el método espectrofotométrico se emplea, un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 35 UV/Vis con el software UV-WinLab. El pH de las soluciones se mide con un potenciómetro Seven-Multi Mettler Toledo (pendiente 98.1%, -58.03 mV/pH, desviación 0.4 mV). Una vez ajustado el pH las soluciones se colocan en celdas de cuarzo con un paso óptico de 1 cm y son burbujeadas con nitrógeno (1 mL min^{-1}). La fuerza iónica se fija con una solución 0.1 M NaCl.

Los experimentos electroquímicos se realizan en un bipotenciostato DropSense μ STAT 400 empleando el software DropView y en un potenciostato/galvanostato Autolab 30 con el software NOVA 2.1. La celda electroquímica consiste en un alambre de platino como contraelectrodo, un electrodo de Ag/AgCl 3M NaCl en un capilar de Luggin como electrodo de referencia y como electrodo de trabajo el EPC.

Para la cuantificación de los colorantes se varía la concentración de los colorantes y se obtiene el espectro de absorción o el voltamperogramas diferencial de pulso correspondiente, posteriormente, se construye la curva de calibrado. Los recobros se realizan al realizar las mediciones por triplicado eligiendo tres concentraciones del intervalo de linealidad. Las muestras reales se preparan de la siguiente manera, las bebidas son descarbonatadas al colocarlas en baño de ultrasonido (Branson Ultrasonics) durante 5 minutos para eliminar el CO_2 disuelto; por otra parte, el polvo para preparar gelatina es disuelto en 0.1 M NaCl a una temperatura de 60°C , en ambos casos el pH es ajustado a 4.0.

9.3 Resultados

9.3.1 Rojo Allura

En la Figura 9.1 se muestra el estudio de variación de concentración para el RA empleando a) espectrofotometría UV-Vis, b) EPC y c) EPC/NTCM-B. En todos los casos se observa como al ir incrementando la concentración del colorante en el sistema la señal generada aumenta. Para el blanco, 0.1 M NaCl, pH=4.0, no se presentan señales que pudieran interferir con el colorante.

Para el estudio de variación de concentración utilizando espectrofotometría UV-Vis (Figura 9.1 a) se emplea una velocidad de barrido de 960 nm s^{-1} , en un intervalo de longitud de onda $\lambda=600\text{-}220 \text{ nm}$, variando la concentración del colorante en un intervalo de $[0.0\text{-}20.0] \mu\text{M}$. La curva de calibrado mostrada en el inserto, es construida al graficar la absorbancia en $\lambda=496 \text{ nm}$ en función de la concentración y a partir de ella, se calculan los parámetros analíticos, LD, LQ, IL y sensibilidad de acuerdo con lo establecido por la IUPAC ^[100], los cuales son mostrados en la Tabla IX.I.

Por otra parte, empleando la voltamperometría diferencial de pulso (VDP), se obtienen los voltamperogramas mostrados en 9.1 b) EPC y c) EPC/NTCM-B, para la construcción de las curvas de calibrado (ver inserto) se grafica la intensidad de corriente del pico de oxidación correspondiente al grupo enol, en función de la concentración del RA; para el EPC y la espectrofotometría UV-Vis, se emplea un intervalo de $[4.0\text{-}20.0] \mu\text{M}$; mientras que para el EPC/NTCM-B se hace uso de $[1.0\text{-}16.0] \mu\text{M}$. Al realizar la regresión lineal y de acuerdo con los criterios de la IUPAC ^[100] se calculan los parámetros analíticos mostrados en la Tabla IX.I; en la misma; se muestran parámetros obtenidos con algunos de los electrodos de trabajo reportados en la literatura y otras técnicas de cuantificación.

Figura 9.1 Familias de a) Espectros de absorción b) voltamperogramas diferenciales de pulso utilizando b) EPC y c) EPC/NTCM-B; a diferentes concentraciones. pH=4.0. Insertos: curvas de calibrado construidas a partir de a) Absorbancia, b) y c) intensidad de corriente, en función de la concentración del colorante.

Tabla IX.I Parámetros analíticos para el RA

Método	Sensibilidad $\mu\text{A}/\mu\text{M}^{-1}$	R^2	LD (μM)	LQ (μM)	IL (μM)	Referencia
EPC*	0.0755 $\pm$ 0.02	0.9979	0.82 $\pm$ 0.13	2.74 $\pm$ 0.39	1.0-20.0	Este trabajo
EPC/NTCM-B*	0.1122	0.9982	0.61 $\pm$ 0.03	2.03 $\pm$ 0.03	2.03-16.0	Este trabajo
Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM	06141 $\pm$ NR	0.991	0.05 $\pm$ NR	NR	0.10-1.21	42
Electrodo de carbón vítreo modificado con grafeno y nanopartículas de níquel	0.0823 $\pm$ NR	0.9993	0.008	NR	0.05-10.0	48
Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM y líquidos iónicos	904.85 $\pm$ NR	NR	0.0005 $\pm$ NR	NR	0.008-0.5	51
UV-Vis	0.02 $\pm$ 0.001 Absorbancia/ μM^{-1}	0.9999	0.18 $\pm$ 0.002	0.61 $\pm$ 0.0001	1.0-20.0	Este trabajo
UV-Vis (Preconcentración por micelas)	600 $\pm$ NR Absorbancia/ μM^{-1}	0.9993	0.15 $\pm$ NR	NR	0.0406-2.8	29
Electroforesis capilar de zona	NR	NR	2.82 $\pm$ NR	9.99 $\pm$ NR	6.09-190	36

Un parámetro analítico a considerar para dar validez a los métodos propuestos para realizar la cuantificación, es el cálculo del porcentaje de recobro, para ello, se miden tres concentraciones por triplicado, que se encuentren dentro del intervalo lineal y se compara con las mediciones realizadas en la curva de calibrado, de acuerdo con lo establecido por la IUPAC^[100], si el porcentaje se encuentra dentro de un intervalo de 90-100%, se considera que las mediciones son de confianza, en el caso del RA, en la Tabla IX.II son mostrados los valores obtenidos al utilizar en EPC y espectrofotometría UV-Vis.

Tabla IX.II Valores obtenidos para el recobro de RA

Método	[μM RA] Curva de calibrado	[μM RA] Encontrada	% de Recobro
Espectrofotometría UV-Vis	5	4.98	99.79
	10	9.97	99.70
	20	9.88	98.89
EPC	5	5.16	103.67
	10	10.61	106.21
	20	18.49	94.35

Al analizar los resultados podemos concluir que los porcentajes de recobro se encuentran dentro de los parámetros de confianza por lo que los métodos empleados para la cuantificación del RA son confiables.

Una vez realizadas estas mediciones se lleva a cabo el procedimiento para la Tartrazina.

9.3.2 Tartrazina

En la Figura 9.2 son mostrados los estudios de variación de concentración para la Trz, haciendo uso de a) espectrofotometría UV-Vis, b) EPC y c) EPC/NTCM-B. Para todos los casos, se observa un aumento de la señal (absorbancia o intensidad de corriente) al aumentar la concentración del colorante en el sistema. Para la solución blanco, 0.1 M NaCl, pH=4.0, no se presentan señales que puedan causar interferencias con la señal propia de la Trz.

En el estudio de variación de concentración empleando espectrofotometría UV-Vis (Figura 9.2 a), se utiliza una velocidad de barrido de 960 nm s^{-1} , en un intervalo de longitud de onda $\lambda=600\text{-}220 \text{ nm}$, variando la concentración del colorante en un intervalo de $[1.0\text{-}20.0] \mu\text{M}$. En el inserto se muestra la curva de calibrado construida al graficar la absorbancia en $\lambda=426 \text{ nm}$ en función de la concentración, a partir de ésta, son calculados los parámetros analíticos, mostrados en la Tabla IX. II.

Al emplear la VDP se obtienen los voltamperogramas mostrados en la Figura 9.2 para b) EPC y c) EPC/NTCM-B, d) EPC/NTCM-B las curvas de calibrado (ver insertos) son construidas al graficar la intensidad de corriente del pico anódico en función de la concentración de la Trz, para la

espectrofotometría UV-Vis se emplea un intervalo de concentración de $[1.0-20.0] \mu\text{M}$; por otro lado para el EPC el intervalo donde se comporta con linealidad es $[1.0-6.0] \mu\text{M}$, mientras que al hacer uso del EPC/NTCM.B, se presentan dos intervalos de concentración, el primero de $[0.1-1] \mu\text{M}$ y el segundo de $[1.0-11] \mu\text{M}$, los intervalos de linealidad son más cortos cuando se utiliza el método electroquímico, lo cual, podría ser asociado a la afinidad que presenta la molécula de Trz hacia las superficies carbonáceas, lo que hace que los sitios activos vayan siendo saturados y por lo tanto, la cuantificación se realice en un intervalo menor. A partir de las curvas de calibrado, se calculan los parámetros analíticos siguiendo los lineamientos establecidos por la IUPAC^[100], los cuales se muestran en la Tabla IX.III, en la misma, se presentan los parámetros obtenidos con otras metodologías reportadas en la literatura.

Figura 9.2 Familias de a) Espectros de absorción b) voltamperogramas diferenciales de pulso utilizando b) EPC y c) EPC/NTCM-B; a diferentes concentraciones. pH=4.0. Insertos: curvas de calibrado construidas a partir de a) Absorbancia, b) y c) intensidad de corriente, en función de la concentración del colorante.

Tabla IX.III Parámetros analíticos obtenidos para Trz

Método	Sensibilidad $\mu\text{A}/\mu\text{M}^{-1}$	R^2	LD (μM)	LQ (μM)	IL (μM)	Referencia
EPC*	0.192 ± 0.037	0.9813	0.85 ± 0.21	2.86 ± 0.23	2.86-5.96	Este trabajo
EPC/NTCM-B ^{*1}	0.8479 ± 0.07	0.9913	0.07 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.24-0.80	Este trabajo
EPC/NTCM-B ^{*2}	0.1967 ± 0.015	0.989	1.09 ± 0.10	3.64 ± 0.10	3.64-10.86	Este trabajo
Electrodo de pasta de carbono modificado con microfibras de alumina	$5.85 \pm \text{NR}$	0.999	$0.002 \pm \text{NR}$	NR	0.005-0.014	54
Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM y óxido de grafeno	$48.41 \pm \text{NR}$	NR	$0.03 \pm \text{NR}$	NR	0.05-10.0	51
EPC modificado con AuNPs	$0.06 \pm \text{NR}$	0.9987	$0.02 \pm \text{NR}$	NR	0.05-1.6	43
Electrodo de carbón vítreo modificado con líquidos iónicos, NTCM y PtAuNPs	$0.72 \pm \text{NR}$	0.9932	$0.008 \pm \text{NR}$	N R	0.5-5.0	46
UV-Vis	0.02 ± 0.0009 Absorbancia/ μM^{-1}	0.9999	0.11 ± 0.0001	0.61 ± 0.0001	1.0-20.0	Este trabajo
Electroforesis capilar de zona	NR	NR	$2.61 \pm \text{NR}$	$8.86 \pm \text{NR}$	6.09-190	36

Para la Trz también se realiza el estudio de porcentaje de recobro de acuerdo con la metodología descrita para el RA, en la Tabla IX.IV se muestran los resultados obtenidos con el EPC y

espectrofotometría UV-Vis. Al encontrarse dentro del parámetro establecido por la IUAPC, 90-100%, se determina que las mediciones son confiables.

Tabla IX.IV Valores de % de recobro para la Trz

Método	% de Recobro
Espectrofotometría UV-Vis	92.56
	94.64
	94.47
EPC	100.66
	103.29
	98.72

9.3.3 Determinación simultánea

Una vez realizadas las determinaciones de cada colorante en soluciones independientes, se lleva a cabo el estudio colocando ambos colorantes en la misma solución para determinar si se pueden determinar de manera simultánea, para ello, se coloca en una solución 0.1 M NaCl una concentración 6.0 μM de cada uno de los colorantes y se ajusta el pH a 4.0. Para el estudio electroquímico, se emplean los electrodos de trabajo EPC y EPC-NTCB y se realiza la voltamperometría diferencial de pulsos en las condiciones descritas en capítulos anteriores. En la Figura 9.4 se muestran los VDP obtenidos, en donde se observa claramente la separación de las señales. La línea punteada corresponde al EPC, mientras que la línea continua es asignada al EPC-NTCB, en ambos casos, se observa la definición de ambas señales ya que existe una diferencia entre ambos picos de oxidación $\Delta E_p = 0.22 \text{ V}$, es posible notar, que cuando el electrodo es modificado con los nanotubos de carbono tipo bambú la intensidad de corriente se incrementa, lo que puede traducirse en una mejor sensibilidad del electrodo.

Figura 9.4. VDPs para el sistema 2×10^{-5} M RA y Trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0 para (---) EPC y (—) EPC-NTCB.

Por otro lado, cuando se coloca una solución binaria 1.35×10^{-5} M RA y Trz y se realiza la medición vía espectrofotométrica (Figura 9.5) observamos que no se diferencian las bandas asociadas a cada colorante, si no que existe un solapamiento atribuido a la cercanía de las bandas del RA y Trz, además, en la banda situada alrededor de λ 250 nm, se muestra un incremento de la absorbancia debido a la ley de las aditividades. Por esta razón, no se puede determinar de manera sencilla, la concentración de los colorantes en una mezcla.

Figura 9.5. Espectros de absorción para determinación simultánea 1.3×10^{-5} M Rojo Allura (—), Tartrazina (—). Solución binaria (—) 1.3×10^{-5} M RA y 2.0×10^{-5} M Trz.

Derivado de la situación anterior, se determina que los métodos electroquímicos son una opción viable para poder llevar a cabo la cuantificación, para ello, se realiza el estudio de variación de concentración, se fija la concentración de uno de los colorantes [6×10^{-6} M] y se varía la del otro. en la Figura 9.6, se observan los resultados cuando se fija la Trz y se varía el RA para a) EPC y b) EPC-NTCMB. Por otro lado, en la Figura 9.7 se muestra el resultado cuando se fija el RA y la concentración de la Trz se varía para a) EPC y b) EPC-NTCMB.

Podemos observar que al variar la concentración de uno de los colorantes este va incrementando, mientras que el otro sufre cambios mínimos, por lo que se pueden construir las curvas de calibrado (insertos) para determinar los parámetros analíticos, en la Tabla IX.I se muestran los obtenidos y se compara con lo reportado en la literatura.

Figura 9.6. VDPs para el sistema 6.0×10^{-6} M Trz, $[2.0 \times 10^{-6}-1.2 \times 10^{-5}]$ M RA, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Para a) EPC y b) EPC-NTCMB.

Figura 9.7. VDPs para el sistema 6.0×10^{-6} M RA, $[2.0 \times 10^{-6}-1.2 \times 10^{-5}]$ M trz, 0.1 M NaCl, pH=4.0. Para a) EPC y b) EPC-NTCMB.

Tabla IX.I Parámetros analíticos para diferentes electrodos en muestras binarias

Electrodo	Sensibilidad $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	R^2	LD (μM)	LQ (μM)	IL (μM)	Referencia
EPC/RA	0.0789 ± 0.0025	0.9905	1.00 ± 0.049	3.36 ± 1.00	3.36-11.85	Este trabajo
EPC/Trz	0.1612 ± 0.005	0.9929	0.65 ± 0.09	2.16 ± 0.59	2.16-7.78	Este trabajo
EPC-NTCMB/RA	0.0947 ± 0.0021	0.9953	0.70 ± 0.08	2.34 ± 0.53	2.34-11.85	Este trabajo
EPC-NTCMB/Trz	0.0505 ± 0.0011	0.9945	0.88 ± 0.10	2.94 ± 0.61	2.94-14.77	Este trabajo
*Trz	NR	NR	$0.0009\pm\text{NR}$	NR	0.009-0.084	102
**Ra	NR	NR	$0.0001\pm\text{NR}$	NR	0.060-0.02	102

*Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM, líquidos iónicos y grafeno para Trz.

**Electrodo de carbón vítreo modificado con NTCM, líquidos iónicos y grafeno para RA.

Al comparar los resultados, se observa que los electrodos previamente reportados en la literatura alcanzan límites de detección más bajos a comparación del presentado en este trabajo, sin embargo, emplean modificaciones más complejas que llevan consigo un aumento en el costo del electrodo, además, cuando se utilizan diversos materiales, el renovar la superficie también implica un tratamiento extra.

Con los electrodos propuestos en este trabajo es posible determinar a los colorantes en cantidades en las que se suelen adicionar a los alimentos, por lo que se lleva a cabo la cuantificación en muestras reales, utilizando solo el EPC.

9.4 Determinación de RA y Trz en muestras reales

Se seleccionaron muestras que en su etiqueta declararan el contenido de RA, Trz y una mezcla de ambos, se buscó también que las muestras no emplearan un pretratamiento exhaustivo, los alimentos seleccionados fueron bebidas carbonatadas sabor guaraná (RA), y naranja (mezcla RA y Trz) y polvo para preparar gelatina sin azúcar sabor piña (Trz). Para el caso de las bebidas se descarbonataron previamente, colocándolas en el baño de ultrasonido, mientras que el polvo de gelatina se disolvió en el electrolito soporte calentado a 60 °C para tener una muestra líquida.

Una vez que se prepararon las muestras, se tomó una alícuota de 2 mL y se llevó a aforo a 10 mL utilizando el electrolito soporte, ajustando el pH=4.0, posteriormente se realizó la medición primero voltamperométrica y posteriormente espectrofotométrica para contrastar los resultados. Es importante señalar que, aunque se declara el colorante, la concentración no es reportada

En la Figura 9.8 se observan los VDPs obtenidos para a) bebida carbonatada sabor guaraná (Senazo®) b) gelatina sin azúcar sabor piña (Jello®) y c) bebida carbonatada sabor naranja (Mirinda®), en cada uno de ellos se muestra la señal característica de oxidación del colorante, incluso en la muestra, la señal de cada colorante se distingue, en este último VDP, se observa un desplazamiento del pico de oxidación de la Trz hacia un valor más positivo, ya que la máxima intensidad de pico anódico se observa en 1.01 V, el desplazamiento puede ser atribuido a la matriz del alimento, ya que una bebida carbonatada presenta diversos aditivos que si bien no presentan actividad redox pueden influir en el desplazamiento.

Para contrastar los resultados se realiza la medición espectrofotométrica, en la Figura 9.9 se muestran los espectros de absorción obtenidos para a) bebida carbonatada sabor guaraná (Senazo®) b) gelatina sin azúcar sabor piña (Jello®) y c) bebida carbonatada sabor naranja (Mirinda®), en el caso de las dos primeras muestras, la banda asociada al grupo azo, se distingue para cada uno de los colorantes, sin embargo, cuando se realiza la medición de la muestra binaria, se observa el solapamiento de las bandas, por lo que en muestras que contengan más de dos colorantes no es posible el uso de este método.

Con las curvas de calibrado realizadas previamente se cuantifica la cantidad de colorante que contiene cada muestra, en la Tabla IX se muestran las cantidades encontradas para cada muestra con cada una de las técnicas.

Las cantidades de colorante en cada muestra son valores aceptables, la bebida carbonatada sabor naranja es la que presentó una mayor cantidad quizá para lograr la coloración adecuada, sin embargo, ninguno sobrepasa la cantidad permitida por la legislación mexicana, por lo que en poblaciones normales pueden ser consumidos con seguridad.

La muestra con colorante amarillo 5, fue la más complicada de conseguir, ya que cada vez, se está empleando menos este aditivo debido a los efectos que se han presentado en personas hipersensibles y se ha buscado su sustitución paulatina por carotenos, annato e incluso la curcumina.

Figura 9.8 VDPs para los sistemas EPC a) Refresco sabor guaraná, b) gelatina sin azúcar sabor piña, c) Refresco sabor naranja. Electrolito soporte 0.1 M NaCl, pH=4.0.

Figura 9.9 Espectros de absorción Uv-Vis para a) Refresco sabor guaraná, b) gelatina sin azúcar sabor piña, c) Refresco sabor naranja. Electrolito soporte 0.1 M NaCl, pH=4.0.

Tabla IX. Cantidades calculadas de colorantes empleando espectrofotometría UV-Vis y EPC.

Método	Rojo Allura Senzao® / mg L ⁻¹	Tartrazina Jello® / mg L ⁻¹	Determinación simultánea / mg L ⁻¹
Espectrofotometría UV-Vis	7.10 ± 0.1	2.32 ± 0.01	—
DPV empleando EPC	6.71 ± 0.2	3.0 ± 0.21	(4.65 ± 0.07) RA and (2.57 ± 0.08) Trz

Para comprobar que no existen diferencias significativas entre el método electroquímico (BCPE) y el método espectrofotométrico, se realiza una prueba estadística t (Student), para ello primero se comprueba si las varianzas obtenidas por ambos métodos son iguales estadísticamente, para lo cual se realiza la prueba con el estadístico F (Fisher) “ver ecuación 1”, en donde s_1^2 corresponde a la varianza obtenida por el método electroquímico y s_2^2 la correspondiente al método espectrofotométrico procurando así que F sea ≥ 142 , considerando el número de réplicas realizadas los grados de libertad n-1 es igual 2. El valor obtenido para la muestra de Senzao® es $F_{cal}=5.28$ y para la muestra Jello® $F_{calc}= 1.31$, comparando estos valores con la F_{crit} obtenida de tablas ($F_{crit}=19$) se comprueba que no existe diferencia significativa entre las varianzas de ambos métodos, con este resultado se puede realizar la prueba t de varianzas semejantes, en donde para la muestra de Senzao® $t_{cal}= 1.66$, y para la muestra Jello® $t_{cal}=2.42$ mientras que el valor obtenido en tablas es $t_{crit}=4.30$, dado que t_{cal} para ambas muestras es menor q t_{crit} , se concluye que no hay diferencias significativas entre ambos métodos

9.5 Conclusiones

Con los resultados obtenidos, podemos establecer que el uso de los sensores electroquímicos es una alternativa viable para la determinación de los colorantes, ya que es un método fácil, rápido y robusto.

El EPC brinda mejores resultados, sin embargo, el método de modificación del electrodo debe ser optimizado para poder aplicarlo a muestras reales.

Para poder realizar una comparación más completa podrían emplearse otras técnicas como el HPLC o contar con la información de la cantidad de aditivo presente, sin embargo, en México no es obligatorio declarar los miligramos de los colorantes.

Capítulo 10. Conclusiones generales

Los colorantes de origen azoico son de suma importancia en la industria alimentaria, son adicionados con la finalidad de recrear una coloración atractiva para el consumidor, sin embargo, deben añadirse en la cantidad adecuada y los consumidores debemos concientizarnos sobre la cantidad de aditivos que diariamente ingerimos para evitar problemas de salud.

La Trz y el RA, son quizá los colorantes más empleados debido a sus características, la estabilidad a la luz, las coloraciones brillantes y su estabilidad al pH. Frecuentemente, en la literatura, principalmente de tablas de aditivos, sólo se reporta un valor de pK_a , sin embargo existen más valores, como se presentó en este trabajo, es importante señalar que en ningún valor de pH se observa un cambio de coloración. El conocer los valores de las constantes de acidez, nos permite elegir las condiciones óptimas de experimentación, además de conocer el valor adecuado en donde los aditivos pueden adicionarse.

Con el programa computacional SQUAD, se calcularon los valores de estas constantes, esta metodología a diferencia de otras propuestas resulta más sencilla en cuanto a la metodología y tratamiento de los datos.

La espectrofotometría UV-Vis sirve como una técnica para cuantificar a los colorantes siempre y cuando se encuentren en soluciones independientes, puesto que en mezclas más complejas suelen presentarse solapamientos de la señal, con esa técnica se contrastan los resultados obtenidos por el método electroquímico.

En cuanto al método electroquímico, se planteó el uso de un EPC modificado con diversos materiales como nanopartículas de oro, nanotubos de carbono multipared tipo bambú y polímeros conductores, en algunos casos se logró la modificación y en otros es necesario plantear una estrategia que permita que los materiales se adhieran de manera adecuada o lograr una mezcla que pueda aumentar la sensibilidad y distinguir la señal, ya que en varios experimentos, la corriente capacitiva no permitió distinguir las señales de los colorantes, en otros casos, la modificación no presentó mejoras con respecto al uso del electrodo sin modificar.

Para lograr una modificación adecuada se podrían emplear métodos de optimización considerando diversos factores, la concentración del grafito, del aceite mineral y del material a emplear, también buscar aquellos métodos que permitan que el material se adhiera adecuadamente.

El estudio espectrofotométrico, ayudó a seleccionar el pH de trabajo, sin embargo, se podría considerar también un método de optimización para seleccionar variables como pH y parámetros electroquímicos.

Con el EPC, se determinó el proceso de electroquímico de los colorantes, de acuerdo con la estructura química de los colorantes se puede presentar una reducción del grupo azo o la oxidación del *enol*, en este caso se sigue la oxidación, la cual es un proceso electroquímico irreversible, a partir de estos estudios se observa que algunos electrodos muestran un incremento en la corriente capacitiva lo que impide observar la señal de los colorantes.

Se observó que los electrodos, EPC y EPC-NTCMB, son los electrodos que muestran mejores características, una definición de la señal de oxidación de cada colorante, en mezclas binarias también se observa la separación de las señales, lo que permite realizar cuantificación en muestras reales.

Con el EPC y EPC-NTCMB se realizan las curvas de calibrado que sirven posteriormente para determinar los parámetros analíticos, si bien, otros electrodos que han sido reportados alcanzan límites de detección y cuantificación menores, los obtenidos en este trabajo son suficientes para determinar la cantidad de colorantes en los alimentos. Y además se contrasta con los resultados obtenidos por espectrofotometría UV-Vis

El cuantificar a los colorantes azoicos por medio de métodos electroquímicos es una estrategia viable que nos permite saber cuál es la cantidad de Rojo Allura y Trz en los alimentos, es una metodología en donde la construcción del electrodo es sencilla, la superficie se renueva con facilidad y la muestra no requiere un tratamiento exhaustivo.

Capítulo 11 Perspectivas

Los colorantes RA y Trz son de los colorantes más utilizados en la industria alimentaria, por tal motivo es indispensable contar con métodos analíticos que permitan su cuantificación de manera sencilla, rápida y a un costo menor que otras técnicas instrumentales.

En este trabajo se planteó el desarrollo de un sensor electroquímico a base de Carbono/Polímero/Nanopartículas de Oro para la detección de Tartrazina y Rojo Allura, para ello se emplearon electrodos de carbón vítreo como primera opción, sin embargo, al realizar las modificaciones con las AuNPs soportadas en carbón Vulcán XC-72R se observó que la corriente capacitiva, generó corriente capacitiva que hizo que las señales del colorante no se detectaran, por lo que se requieren estrategias para mejorar la cantidad de material carbonáceo se coloca sobre la superficie del electrodo y que se puedan apreciar las señales electroquímicas.

Sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo se probó el crecimiento del polímero conductor, el cual en primera instancia fue el polipirrol, sin embargo, en el grupo de investigación se realizó una investigación para la determinación de acetaminofén y por impedancia se demostró que presenta sitios borde que dificultaban la adhesión de la película, por lo que el Ppy, podría probarse en un futuro en una superficie diferente como en un EPC, en donde se podría realizar una optimización puntual para obtener parámetros analíticos adecuados.

Con base a los resultados obtenidos, se probó el EPC, sobre el cual se creció una película de poli-5aFen, sin embargo, la cuantificación no fue posible, para poder realizarla, se podría realizar una optimización por métodos quimiométricos para la determinación de los parámetros adecuados de la técnica, incluso podría probarse la Voltamperometría de onda cuadrada y realizar un análisis de pH para encontrar el mejor valor.

También, se trató de lograr la inclusión de la AuNPs sobre la película de poli-5aFen, sin embargo, al realizar la VDP no se logró lo esperado, en este caso se debe plantear también una estrategia que permita determinar los parámetros adecuados para lograr la inclusión sobre la superficie modificada y elegir una técnica adecuada.

Con los NTCM-B, se logró una mejora en los parámetros analíticos, los cuales podrían mejorarse empleando una optimización por ejemplo, por simplex modificado o box Behnken también al realizar un estudio variando el pH. En el caso de la modificación de NTCM-B, se debe buscar una

estrategia, con la que se logre mayor adherencia del material para que al ir adicionando y agitando, no pueda desprenderse. También se debe realizar un análisis para determinar cuál es la razón de que los recobros den valores por arriba de lo esperado.

El sensor que obtuvo los mejores resultados es el EPC, sin embargo, es necesario realizar un estudio de interferentes para poder emplearlo en una mayor cantidad de muestras de alimentos, ya que estos suelen ser complejos y contener diversos aditivos en su composición.

También se sugiere comparar con técnicas como HPLC o la técnica oficial que marca la normativa, cual es la titulación.

La oxidación de los colorantes puede continuarse estudiando, se pueden probar diferentes materiales, técnicas, electrolitos y muestras, que permitan obtener la mayor cantidad de información posible.

Capítulo 12 Referencias

- [1] Badui, D. S. (2006). Química de los Alimentos. 4ª Ed. Pearson, Estado de México, México. pp: 536.
- [2] Sancho, J. Bota, E., de Castro J.J. (1999). Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos. 1ª Ed. Edicions Universitat de Barcelona. Barcelona, España. pp: 51.
- [3] MacDougall, B. D. (2000). Colour in Food. Improving quality. CRC. Press. Taylor & Francis Group. Estados Unidos de América: pp 146.
- [4] Guía para padres y Educadores. (2012). Superar el trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad sin Medicación. 1ª Ed. La Asociación para Niños y Jóvenes. pp 42.
- [5] Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011. Productos y servicios. Bebidas Saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones. Métodos de prueba.
- [6] Alegret. S., Del Valle, Manel., Merkoçi, A. (2004). Sensores electroquímicos. (Materials). 1ª Ed. Universitat Autònoma de Barcelona. España.
- [7] Bello, G. J. (2000). Ciencia Bromatológica. Principios Generales de los Alimentos. 1ª Ed. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid, España. 179.
- [8] Wu, D., Sun, D. W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control- A review. *Trends in Food Science & Technology*. 29(1):5-20.
- [9] International Food Information Council (IFIC) and U. S Food and Drug Administration (FDA). (2010) Food and Ingredients & Colors. 2-4.
- [10] Colorants Alimentaires Société Chimique de France. (2017).
- [11] König, J. (2015). Colour Additives for Foods and Beverages. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. (3).
- [12] Astiasarán, A. I., Lasheras, D. B., Ariño, P. A. H., Martínez, H. J. A. (2003). Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria. Ediciones Díaz de Santos S. A. Madrid, España: pp 136.
- [13] Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers. (2002). The Safety Review of the Use of Certain Azo-Dyes in Cosmetic Products.

- [14] Contento-Salcedo, A. M. (1997). Nuevos Métodos Fotométricos y Cromatográficos para la Determinación de Colorantes Rojos en Alimentos. Colección Tesis Doctorales. No 49. Universidad de Castilla-La Mancha. *Tesis Doctoral*.
- [15] Shils, M., Shike, M., Ross A. C., Caballero, B., Cousin, R. J. (2005). Modern Nutrition in Health and Disease. 10^a. Lippincot-Raven. pp1812.
- [16] Commission of the European Communities. (2008). Laying Down Specific Purity Criteria Concerning Colours for use in Foodstuff. Commission Directive
- [17] Barrows, J. N., Wallin, H. (2016). Tartrazine. Chemical and Technical Assesment (CTA) Food and Agriculture Organization of the United Nations. 82nd JEFCA.
- [18] Colour Index (1971). *Society of Dyers and Colourists*. Colour Index, 3a Ed. Vol. 2, pp 2775.
- [19] Zhao L. (2013). Analysis of Food Additives in Beverages Using Syringe Filter Filtration and HPLC. Application Note. Food Testing and Agriculture.
- [20] Allura Red. Monographs. Food Chemical CODEX (2010). The United States Pharmacopeial Convention. 7^a Ed. Estados Unidos de América. pp: 32.
- [21] Barrows, J. N., Wallin, H. (2016). Allura Red. Chemical and Technical Assesment (CTA) Food and Agriculture Organization of the United Nations. 82nd JEFCA.
- [22] Compendium of Food Additives Specifications. (1992). Food and Nutrition Paper. 52/1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vol. 2. Roma. pp 35.
- [23] Tartazine (2018). International Association of Color Manufacture.
- [24] Allure Red (2018). International Association of Color Manufacture.
- [25] Norma Oficial Mexicana NOM-038-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Colorantes Orgánicos Sintéticos. Especificaciones Sanitarias Generales.
- [26] Dinc, E., Bayman, E., Kanbur, M., Onur. F. (2002). Spectrophotometric Multicomponent Determination of Sunset Yellow, Tartrazine and Allura Red in Soft Drink Powder by Double Divisor-Ratio Spectra Derivative, Inverse Least-Squares and Principal Component Regression Methods. *Talanta*, 58 (3):579-594.

- [27] López de Alba, P. L., López-Martínez, L., Cerdà, V., De León-Rodríguez, L. M. (2001). Simultaneous Determination of Tartrazine, Sunset Yellow and Allura Red in Commercial Soft Drinks by Multivariate Spectral Analysis. *Química Analítica*. 20:63-72.
- [28] Zalacain, A., Ordoudi, S. A., I. Blazquez., Díaz-Plaza, E. M., Carmona., Tsimidou., Alonso, G. L. (2005). Screening Method for the Detection of Artificial Colours in Saffron *Food Additives and Contaminants*. 22(7):607-615.
- [29] Solayk, M., Unsal, Y. E., Tuzen, M. (2011). Spectrophotometric Determination of Trace Levels of Allura Red in Water Samples After Separation and preconcentration. *Food and Chemical Toxicology*. 45 (5):1183-1187.
- [30] Yoshioka, N., Ichihashi, K. (2008). Determination of 40 Synthetic Food Colors in Drinks and Candies by High Performance Liquid Chromatography Using a Short Column with Photodiode Array Detection. *Talanta*. 74(5):1408-1413.
- [31] Al-Degs, Y. S. (2009). Determination of Three dyes in Commercial Soft Drinks using HPLC and Liquid Chromatography. *Analytical Methods*. 117(3):485-490.
- [32] Ming-Ren, F., Kan-Jung, C. (2002). Determination of Sulphonated Azo Dyes in Food by Ion-Pair Liquid Chromatography with Photodiode Array and Electrospray Mass Spectroscopy Detection. *Talanta*. 56(4):663-673.
- [33] Bonan, S., Fedrizzi, G., Menotta, S., Elisabetta, C. (2013). Simultaneous Determination of Synthetic Dyes in Foodstuffs and Beverages by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode-Array Detector. *Dyes and Pigments*. 99(1):36-40.
- [34] Miniotti, K. S., Sakellariou, C. F., Thomaidis, N. S. (2007). Determination of 13 Synthetic Food Colorants in Water Soluble Foods by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode Array Detector. *Analytica Chimica Acta*. 583(1):103-110.
- [35] Feng, F., Zhao, Y., Yong, W., Sun, L., Jiang, G., Chu, X. (2011). Highly Sensitive and Accurate Screening of 40 Dyes in Soft Drinks by Liquid Chromatography –Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 879(20):1813-1818.
- [36] Pérez-Urquiza, M., Beltrán, J. L. (2000). Determination of Dyes in Foodstuffs by Capillary Zone Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 898(2):271-275.

- [37] His-Ya, H., Ying-Chieh, S., Yun-Chieh, C. (2002). Determining Eight Colorants in Milk Beverages by Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*.959 (1-2):317-325.
- [38] Ishikawa, F., Oishi, M., Kimura, K., Yasui, K., Saito, K. (2004). Determination of Synthetic Dyes in Food by Capillary Electrophoresis. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*. 45(3):145-150.
- [39] Skoog, A. D., West, M. D., Holler, J. (2001). Fundamentos de Química Analítica, Volumen II. 2ª reimpresión. Editorial REVERTÉ. Barcelona, España. pp 472.
- [40] Abu, S. H. M., Abu, G. N., Saadeh, M., S., El, H. H. (2013). Development of Novel Potentiometric Sensors for Determination of Tartrazine Dye Concentration in Foodstuff Products. *Food Chemistry*. 138 (1):126-132.
- [41] López-de-Alba, P. L., López-Martínez, L., De-León-Rodríguez, L. M. (2002). Simultaneous Determination of Synthetic Dyes Tartrazine, Allure Red and Sunset Yellow by Differential Pulse Polarography and Partial Least Squares. A Multivariate Calibration Method. *Electroanalysis*. 14(3):197-205.
- [42] Zhang, Y., Zhang, X., Lu, X., Yang, J., Wu, K. (2010). Multi-wall Carbon nanotube Film-based Electrochemical Sensor for Rapid Detection of Ponceau 4R and Allura Red. *Food Chemistry*. 122(3):909-913.
- [43] Medhi, G., S., Behpour, M., Golestaneh, M. (2012). Simultaneous Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in Soft Drinks Using Gold Nanoparticles Carbon Paste Electrode. *Food Chemistry*. 132(1):637-641.
- [44] Chanlon, S., Joly-Pottuz, L., Chatelut, M., Vittori, O., Cretier, J. L. (2005). Determination of Carmoisine, Allura Red, and Ponceau 4R in Sweets and Soft Drinks by Differential Pulse Polarography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18(6):503-515.
- [45] Gómez, M., Arancibia, V., Rojas, C., Nagles, E. (2012). Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Tartrazine and Sunset Yellow in Gelatins and Soft Drink Powder in the Presence of Cetylpyridinium Bromide. *International Journal of Electrochemical Science*. 7:7493-7502.

- [46] Kobun, R., Siddiquee, S., Shaarani, S. M. D. (2016). Sensitive Determination of Tartrazine (E102) Based on Chitosan/Nanoparticles/MWCNTs Modified Gold Electrode in Food and Beverage Products. *Transactions on Science and Technology*. 3(1-2):176-180.
- [47] Kobun, R., Siddiquee, S., Shaarani, S. M. D. (2015). Rapid Detection of Allura Red (E129) Based on Chitosan/Nanoparticles/MWCNTs Modified Gold Electrode in Food Products. *Transactions on Science and Technology*. 2(1):56-54.
- [48] Lanlan Y., Mengxing, S., Xiu, Y., Lingbo, Q. (2016). Detection of Allura Red Based on the Composite of poly (diallyldimethylammonium chloride) Functionalized Graphene and Nickel Nanoparticles Modified Electrode. *Sensor and Actuators B: Chemical*. 225 :(398-404).
- [49] Rodríguez, J. A., Juárez, M. G., Galán-Vidal, C. A., Miranda, J. M., Barrado, E. (2015). Determination of Allura Red and Tartrazine in Food Samples by Sequential Injection Analysis Combined with Voltammetric Detection at Antimony Film Electrode. *Electroanalysis*. 27:2329-2334.
- [50] Sierra-Rosales, P., Toledo-Neira, C., Squella, J. A. (2017). Electrochemical Determination of Food Colorants in Soft Drinks Using MWCNT-modified CGEs. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 240:1257-1264.
- [51] Lijuan, Z., Baizhao, Z., Faqiong, Z. (2014). Electrochemical Determination of Tartrazine Using a Molecularly Imprinted Polymer-Multiwalled Carbon Nanotubes- Ionic Liquid Supported Pt Nanoparticles Composite Film Coated Electrode. *Electrochimica Acta*. 146:611-617.
- [52] S. Silva, M. L., Q. García M. B., Lima, C. F. L. J., Barrado, E. (2007). Voltammetric Determination of Food Colorants Using a Polyallylamine Modified Tubular Electrode in a Multicommutated Flow System. *Talanta*. 282-288.
- [53] Tian, G., Junyong S., Wen, M., Li, S., Yuxia, Z. (2013). Electrochemical Sensor Based on Graphene and Mesoporous TiO₂ for the Simultaneous Determination of Trace Colourants in Food. *Food Chemistry*. 141:3731-3737.
- [54] Yuanyuan, Z., Lintong, H., Xin, L., Bifeng, L., Kangbing, W. (2015). Highly-Sensitive and Rapid Detection of Ponceau 4R and Tartrazine in Drinks Using Alumina Microfibers-Based Electrochemical Sensor. *Food Chemistry*. 166(352-357).

- [55] Combeau, S., Chatelut, M., Vittori, O. (2002). Identification and Simultaneous Determination of Azorubin, Allura Red and Ponceau 4R by Differential Pulse Polarography: Application to Soft Drinks. *Talanta*. 56:115-122.
- [56] Deroco, P. B., Medeiros, R. A., Rocha-Filho, R. C., Fatibello-Filho, O. (2018). Selective and Simultaneous Determination of Indigo Carmine and Allura Red in Candy Samples at the Nano-Concentration Range by Flow Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric Detection. *Food Chemistry*. 247:66-72.
- [57] Vázquez-Huerta, G., Palomar-Pardavé, M. E., Romero-Romo, M. A., Montes de Oca-Yemha, M. G., Garfías-García, E., Aldana-González, J. I. (2016). Effect of Core Composition in $Au_xCu_y@Pt/C$ for the Methanol Oxidation Reaction. *Electrocatalysis*. 7(2):174-183.
- [58] Vázquez-Huerta, G., Ramos-Sánchez, G., Rodríguez-Castellanos, A., Meza-Calderón, D., Antaño-López, R., Solorza-Feria, O. (2010). Electrochemical Analysis of the Kinetics and Mechanism of the Oxygen Reduction Reaction on Au Nanoparticles. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 654 (1):35-40.
- [59] Aldana-González, J., Palomar-Pardavé, M., Corona-Avendaño, S., Montes de Oca, M. G., Ramírez-Silva, M. T., Romero-Romo, M. (2013). Gold Nanoparticles Modified-ITO Electrode for the Selective Electrochemical Quantification of Dopamine in the Presence of Uric and Ascorbic Acid. 706: 69-75.
- [60] Corona-Avendaño, S., Alarcón-Ángeles, G., Ramírez-Silva, M. T., Rosquete-Piña, G., Romero-Romo, M., Palomar-Pardavé, M. (2007). On the Electrochemistry of Dopamine in Aqueous Solution. Part I: The Role of [SDS] on the Voltammetric Behavior of Dopamine on a Carbon Paste Electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 609(1):17-26.
- [61] Colín-Orozco, E., Ramírez-Silva, M. T., Corona-Avendaño, S., Romero-Romo, M., Palomar-Pardavé, M. (2012). Electrochemical Quantification of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid and Uric Using a Simple Carbon Paste Electrode Modified with SDS Micelles at pH 7. *Electrochimica Acta*. 85:307-313.
- [62] Corona-Avendaño, S., Ramírez-Silva, M. T., Romero-Romo, M., Rojas-Hernández, Palomar-Pardavé, M. (2013). Influence of the $HClO_4$ Concentration on the β -CD Electropolymerization Over a

Carbon Paste Electrode and on Dopamine's Electrochemical Response. *Electrochimica Acta*. 89(1):854-860.

[63] Jiménez-Saucedo, Selene. (2016). Caracterización Electroquímica del Paracetamol en Electroodos Modificados con Polipirrol. Proyecto Terminal. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México.

[64] Guzmán-Hernández, D. S., Ramírez-Silva, Palomar-Pardavé, M., Corona-Avendaño, S., Galano, A., Rojas-Hernández, A., Romero-Romo, M. (2012). Electrochemical Characterization of Tenoxicam Using a Bare Carbon Paste Electrode under Stagnant and Forced Convection Conditions. *Electrochimica Acta*. 59(1):150-155.

[65] Rivera-Hernández, S. I., Álvarez-Romero, G. A., Corona-Avendaño, S., Páez-Hernández, M. E., Galán-Vidal, C. A., Romero-Romo, M. (2016). Voltammetric Determination of Ibuprofen Using a Carbon Paste-Multiwalled Carbon Nanotube composite Electrode. *Instrumentation Science & Technology*. 44(5): 483-494.

[66] Campbell-Platt, G. (2018). Food Science and Technology. 2a Ed. Wiley Blackwell. Oxford, U.K. pp 52.

[67]Pérez-Urquiza M., Beltrán J. L. Determination of the dissociation constants of sulfonated azo dyes by capillary zone electrophoresis and spectrophotometry methods. *Journal of Chromatography*. 917(2001). 331-336.

[68]Bevziuk, K., Chebotarev, A., Snigur, D., Bazel, Yaroslav, Fizer, M., Sidey V. (2017). Spectrophotometric and theoretical studies of the protonation of Allura Red AC and Ponceu 4R. *Journal of Molecular Structure*. 1444:216-224.

[69] Legget D. J. (1985). Computational Methods for the Determination of Formation. Modern Inorganic Chemistry.

[70]Alarcón-Ángeles, G., Corona-Avendaño. S., Rojas-Hernández, A., Romero-Romo, M. A., Ramírez-Silva. (2005). Evaluation of the Acidity Constants of the 4-hidroxy-5-salicyldeneamino-2-7naphthalene disulfonic acid (Azomethine-H) using UV-vis Spectrophotometry. *Spectrochimica Acta Part A*, 61:313-319.

- [71] ACD/Labs Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, On, Canada, www.acdlabs.com, 2018.
- [72] Saleh, M. M. S., Hashem, E. Y., Al-Salahi, N. O. A. (2016). Oxidation and Complexation-Based Spectrophotometric Methods for Sensitive Determination of Tartrazine E102 in Some Commercial Food Samples. *Computational Chemistry*. 4:51-64.
- [73] Ramírez, M. T., Palomar, M. E., González, I., Rojas-Hernández, A. (1995). Carbon Paste Electrodes with Electrolytic Binder: Influence of the Preparation Method. *Electroanalysis*. 7 (2): 184-188.
- [74] Martínez, R., Ramírez, M. T., González, I. (1998). Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response. *Electroanalysis*. 10: 332-336.
- [75] Wang, J. (2006). Analytical Electrochemistry. 3ª Ed. WILEY-VCH. New Jersey. pp 166.
- [76] Gosser, D.K., *Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms*1993: Wiley-VCH.
- [77] Bard, A.J. and L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*2000: Wiley.
- [78] Sierra-Rosales, P., Toledo-Neira C., Squella, J.A. (2017). Electrochemical determination of food colorants in soft drinks using MWCNT-modified GCEs. *Sensors and Actuators*. (240): 1257-1264.
- [79] Zafra-Roldan, A., Corona-Avendaño, S., Ramírez-Silva, M. T., Palomar-Pardavé, M. E. Romero-Romo, M. A. (2016). Efecto de la β -ciclodextrina en el comportamiento electroquímico del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.
- [80] Xiaoliang, Y., Yongling, D., Daban, L., Chumming, W. (2013). Fabrication of β -cyclodextrin-coated-poly (diallyldimethylammoniumchloride)-Functionalized Graphene Composite Film Modified Galssy Carbon-Rotating Disk Electrode and its Application for Simultaneous Electrochemical Determination Colorants of Sunset Yellow and Tartrazine. *Analytica Chimica Acta*. 779: (22-34).
- [81] K. Aoki, K. Akimoto, K. Tokuda, H. Matsuda, J. Osteryoung, J. Electroanal. Chem. 171 (1984) 219.
- [82] Pletcher, D. (1998) Procesos electródicos. Editorial Club Universitario.
- [83] Valderrama, J. O. (2003). Información Tecnológica. 14 (1): 120.

- [84] Xue, C., Han, Q., Wang, Y., Wu, J., Wen, T., Wang, R., Hong, J., Zhou, X., Jiang, H. (2013). Amperometric Detection of Dopamine in Human Serum by Electrochemical Sensor Based on Gold Nanoparticles Doped Molecularly Imprinted Polymers. *Biosensors and Bioelectronics*. 49:199-203.
- [85] Xiuli, N., Wu, Y., Wang, G., Jie, R., Hao, G., Jinzhang, G. (2013). A Novel Electrochemical Sensor of Bisphenol A Based on Stacked Graphene Nanofibers/Gold nanoparticles Composite Modified Glassy Carbon Electrode. *Electrochimica Acta*. 98 (30): 167-175.
- [86] Liu, X., Luo, L., Ding, Y., Ye, D. (2011). Poly-glutamic Acid Modified Carbon Nanotube-Doped Carbon Paste Electrode for Sensitive Detection of L-tryptophan. *Bioelectrochemistry*. 82(1):38-45.
- [87] Arvand, M., Dehsaraei, M. (2013). A Simple and Efficient Electrochemical Sensor for Folic Acid Determination in Human Blood Plasma Based on Gold Nanoparticles-Modified Carbon Paste Electrode. *Material Science and Engineering:C*. 33(6):3474-3480.
- [88] Martínez, J. C., Chequer, N. A., González, J. L., Cordova T. (2012). Alternative Metodology for Gold Nanoparticles Diameter Characterization Using PCA Technique and UV-VIS Spectrophotometry. *Nanoscience and Nanotechnology*. 2 (6): 184-189.
- [89] Hesketh P. J., Misra, D. (2012). Conducting Polymers and Their Applications. *Interface*. 21 (3-4). 61-62.
- [90] Faridbod, F., Norouzi, P., Dinavard, R., Reza, G. M. (2008). Developments in the Field of Conducting and Non-conducting Polymer Based Potentiometric Membrane Sensors for Ions Over the Past Decade. 8 (4):2331-2412.
- [91] Cobos-Murcia, J. A., Galicia, A., Rojas-Hernández, Ramírez-Silva, M. T., Álvarez-Bustamante, R., Romero-Romo, M., Rosquete-Piña, G., Palomar-Pardavé, M. (2005). Electrochemical Polymerization of 5-amino-1,10-phenontraline at Different Substrate: Experimental and Theorical Study. *Polymer*. 46:9053-9056.
- [92] Lozano, M. L., Rodríguez, M. C., Herrasti, P., Galicia, L., Rivas, G. A. (2009). Amperometric Response of Hydrogen Peroxide at CarbonNanotubes Paste Electrodes Modified with an ElectrogeneratedPoly(Fe(III)-5-amino-phenantroline). Analytical Applications for Glucose Biosensing. *Electroanalysis*. 22 (1):128-134.
- [93] Lozano, L. C., Galicia, M., Rodríguez, L., Cecilia, M., Rivas, A. Gustavo. (2009). Quantification of Hydrogen Peroxide using Poly Fe (III)-5-amino 1, 10 Phenanthroline. *ECS Transactions*. 20. 41-48.

- [94] Zhang, Q. (2012). Carbon Nanotubes and Their Applications. Pan Stanford Publishing. USA.
- [95] Zhang, Q. (2012). Carbon Nanotubes and Their Applications. Pan Stanford Publishing. USA.
- [96] Jacob, C. B., Peairs, M. J., Ventom, B. J. (2010). Review: Carbon Nanotubes Based Electrochemical Sensors for Biomolecules. *Analytica Chimica Acta*. 662:105-122.
- [97] Zaporotskova, I. V., Boroznina, N. P., Parkhomenko, Y. N. Kozhitov, L. V. (2016). Carbon Nanotubes: Sensor Properties. A review. *Modern Electronic Materials*. 2:95-105.
- [98] Zhang, X.X., Li, Z. Q., Wen, G. H., Fung, K. K, Che, J., Li, Y. (2001). Microstructure and Growth of Bamboo-Shaped Carbon Nanotubes. *Chemical Physical Letters*. 333:509-514.
- [99] Zhu. Z., Wang, J., Munir, A., Zhou, H. S. (2011). Direct Electrochemistry and Electrocatalysis of Horseradish Peroxidase immobilized on Bamboo Shaped Carbon Nanotubes/Chitosan Matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 385: 91-94.
- [100] Thompson, M. Ellison, S. R. L., Wood, R. (2002). Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 74, 835-855

Simultaneous Electrochemical Quantification of Foodstuff Dyes Allura Red and Tartrazine Using a Bare Carbon Paste Electrode

S. I. Rivera-Hernández,¹ S. Corona-Avendaño,^{1,z} G. Vázquez-Huerta,¹ M. Palomar-Pardavé,¹ M. Romero-Romo,¹ and M. T. Ramírez-Silva^{2,z}

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Colonia Reynosa-Tamaulipas, C.P. 02200, Ciudad de México

²Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica, Iztapalapa, Vicentina 09340, Ciudad de México

A bare carbon paste electrode, BCPE, was used to determine simultaneously the foodstuff dyes Allura Red (AR) and Tartrazine (Trz) in aqueous media, achieving the following analytical parameters: for AR sensitivity of $(0.126 \pm 0.002) \mu\text{A} (\text{mg l}^{-1})^{-1}$ with a limit of detection (LOD) of $(0.14 \pm 0.004) \text{ mg l}^{-1}$ and a Trz sensitivity of $(0.392 \pm 0.024) \mu\text{A} (\text{mg l}^{-1})^{-1}$ with a LOD of $(0.310 \pm 0.034) \text{ mg l}^{-1}$. Additionally, the individual and simultaneous quantifications of AR and Trz in real samples, were performed through the electrochemical method proposed in this work. In the case of individual dyes quantification, the results were like those found using UV-vis spectrophotometry, however, contrary to the electrochemical method proposed in this work, the spectrophotometric method cannot be used for the simultaneous quantifications due to the dyes absorbance overlap. Furthermore, the BCPE is a robust electrode that, contrary to other modified CPE reported for this purpose, can be reused for multiple quantifications by simple mechanical polishing of its electroactive surface, beside its excellent reproducibility, accuracy, and lifetime. Usually the dyes are found in concentrations of mg l^{-1} in foodstuffs, which makes this electrode suitable for use in foods and non-alcoholic beverages.

© 2021 The Electrochemical Society ("ECS"). Published on behalf of ECS by IOP Publishing Limited. [DOI: [10.1149/1945-7111/abff64](https://doi.org/10.1149/1945-7111/abff64)]

Manuscript submitted January 22, 2021; revised manuscript received April 13, 2021. Published May 26, 2021.

It has been common to improve food natural coloring through additives like synthetic dyes, which are usually classed into five groups: anthraquinone derivatives, aryl trimethanes, xanthenes, indigo and azodyes, the latter being most usually used given a few salient features like: they are stable in the face of diverse factors like: light, pH, and temperature. Besides, brilliant colors can be obtained, like the blue, orange, red and yellow. The chemical structure of azo dyes comprises an azo, ($-\text{N}=\text{N}-$) group, that imparts coloration. The two azodyes mostly used in food industry are Allura Red (AR) (E129), see inset in Fig. 1a, and Tartrazine (Trz) (E102), see inset in Fig. 1b,^{1,2} that give red and yellow color to foodstuffs, respectively.

Since these dyes are commonly used as additives for human consumption, it is very important to quantify them reliably, which is also central to food production, because of the wide variety of consumable foodstuffs like: dressings, confectionery, bakery, and beverages. The U.S. Food and Drug Administration, FDA, has established (U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition 2003) that the AR can only be added to foodstuffs from 25 up to 500 mg kg^{-1} . For Trz in soups, in supplementary and nourishing formulas a maximum of 50 mg kg^{-1} is allowed; further, in smoky fishes, fish and crustacean pastes, and canned food, the maximum permissible limit is 200 mg kg^{-1} ; whereas for alcoholic and non-alcoholic beverages it is 200 mg l^{-1} and 100 mg l^{-1} , respectively.^{3,4}

The AR and TRZ are considered additives *generally recognized as safe* (GRAS), however, they must be subjected to diverse tests to ensure their innocuousness because, as stated elsewhere, the Trz causes allergies, promotes symptoms alike asthma and children hyperactivity. In some countries, foodstuffs that may be consumed by children must bear the following warning printed in the label, "this may have an adverse effect on activity and attention of children."⁵

Colorings are seldom added in excess, aiming to disguise or plainly hide foodstuff defects or deterioration,⁶ in any event, relying on robust, statistically designed analytic methods befits reliable quantification of such additives. Comparatively speaking, volumetric analyses⁷ have been used for quantification purposes, but they exhibit several shortcomings like instability of the titrant, the actual setting up of the experimental conditions and color change

interference during titration end point. Among the desirable precise instrumental methods to carry out dye's quantification, the following are worthy of mention: capillary zone electrophoresis^{8,9} and high-performance liquid chromatography.¹⁰⁻¹³ However, in terms of ranking choices, these techniques are time-consuming, apart that involve high overheads and setting up costs, use expensive consumables and ancillary equipment. Other method like UV-vis spectrophotometry,^{14,15} that deals with multicomponent mixtures, requires chemometric methods to discriminate the outcome signals, increasing error probability and data analysis time.

On consideration of the dyes redox activity displayed, electrochemical methods using diverse working electrodes have been proposed to facilitate quantification. The azodyes colorings gave out oxidation-reduction signals that are associated with the azo and enol groups, respectively. Given the importance accrued to date by AR and Trz, authoritative research reports state that when using electrochemical sensors, these undergo many more surface modifications, by means of a growing diversity of materials, either individually or in combination, namely: nanomaterials as nanoparticles, core-shell nanoparticles, nanofibers, decorated materials, and support materials like carbon black or ionic liquids.

The quantification of azodyes has been attained through reduction of the azo group aided by composite electrodes that have been prepared, for instance, by mixing microcrystalline graphite with polystyrene and dichloroethane,¹⁶ antimony film-modified glassy carbon electrodes¹⁷ or with WS_2 and diamond nanoparticles.¹⁸ The reduction process has been used frequently to determine this sort of dyes, where the mechanism consists of the reduction of the azo group into hydrazo species.¹⁷

In order to determine these dyes, the electrochemical oxidation signal has been also used as basic input in systems having the following: multiwalled carbon nanotubes MWCNTs-modified glassy carbon electrodes,^{18,19} graphene plus nickel nanoparticles-modifying poly diallyldimethylammonium chloride (PDDA-Gr-Ni/GCE),²⁰ and TiO_2 ,^{21,22} nanostructured materials-modified gold electrodes,²³ boron-doped diamond electrodes (BDD),²⁴ Furthermore, the carbon paste electrodes (CPE) modified with nanoparticles^{21,23,24} or microfibers can also be mentioned.²⁵

The NiFe_2O_4 -rGO/ionic liquid-modified carbon paste electrode has been used to determine Sunset Yellow, in presence of AR and Trz,²⁶ while a carbon Vulcan with ionic liquids-modified glassy carbon electrode has been used to determine the AR.²⁷

^zE-mail: sylvia_cav@yahoo.com.mx; mtrs218@xanum.uam.mx

Figure 1. DPVs recorded in the systems: (a) CPE/7.33 mg l⁻¹ AR, 0.1 M NaCl, and (b) CPE/7.89 mg l⁻¹ Trz, 0.1 M NaCl both at pH = 4.0. The potential scan starts at 0.2 V in the positive direction at 0.02 V s⁻¹. The broken line is the DPV of the CPE/0.1 M NaCl (pH 4.0) (blank).

Scheme 1. Proposed mechanisms for the electrochemical oxidation of (a) AR and (b) Trz.

Despite that the electrodes referred to in the literature display competitive analytic parameters, some of them turn out to be expensive because of the materials used to build the sensing system.

Even when the reactants usually used represent a meaningful overhead compounding fabrication costs, the main cost factor has to do with prolonged preparation time. To the extent that these

Figure 2. DPV recorded in the systems: BCPE/9.73 mg l⁻¹ AR, 6.83 mg l⁻¹ Trz, 0.1 M NaCl (pH 4.0).

Figure 3. DPVs recordings in the system BCPE/0.1 M NaCl (pH 4.0) with different concentrations of a) AR within the (0.5–3.5) mg l⁻¹ range or b) Trz (0.53–2.60) mg l⁻¹.

modified electrodes are solely used for a limited number of times (short operational lifetimes) because their surfaces become fouled up, consequently, costing is determinant.

Therefore, this work presents the quantification of AR and Trz using an unmodified CPE (BCPE), because it displays the following relevant advantages compared with other modified electrodes: simple technical construction, easily renewable working surface and lower fabrication costs.

Experimental

Reactants and solutions.—Allura Red (Sigma-Aldrich, dye content ≥80%), Tartrazine (Sigma-Aldrich, dye content ≥85%), NaCl

Figure 4. Calibration plots for (a) AR and (b) Trz obtained from the respective DPVs in Fig. 3.

(Sigma-Aldrich, 99%), NaOH (Fluka, 98.4%), HCl (Fluka, 34%–37%, $\rho = 1.2 \text{ g ml}^{-1}$). All solutions were freshly prepared with deionized water $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ (Milli-Q). For analysis of real samples carbonated beverages were used, namely: guarana soft drink, (Senzao®) (AR and caramel colour class IV), orange soft drink (Mirinda®) and pineapple flavour jelly powder, (Jello®) (Trz and sunset yellow). The stock solution of the dyes was prepared at a $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ concentration. Subsequently, it was stored in a cold place avoiding the incidence of ambient light.

Electrochemical measurements.—The electrochemical experiments were carried out with the aid of AUTOLAB 30 potentiostat/galvanostat fitted with the software NOVA 2.1, using a three-electrode typical electrochemical glass cell ($v = 50 \text{ ml}$), where: BCPE served as working electrode, built from graphite powder (Alfa Aesar, 99.9995%) and mineral oil (Fluka $\rho = 0.85$) in the 1:1 ratio. Both are mixed until attaining a workable paste to fill out a plastic tube to 2.5 cm length. A copper thick wire contact is placed in one of the ends; further details can be found elsewhere.²⁸ The resulting area of the electrode thus prepared was 0.1414 cm^2 . Prior to each experiment the surface of the electrode was renewed through a simple, fine abrading process. The renewal of the surface was carried out on sheets of commercial bond paper (with a 99% whiteness whose weight was 75 g m^{-2}). This procedure was done prior to the construction of each calibration curve, while for the recovery analysis, it was performed for each of the measurements. A Pt wire as counter electrode while Ag/AgCl 3 M NaCl served as reference in a Luggin capillary. 0.1 M NaCl aqueous solution, at pH 4.0 set with HCl, was employed as supporting electrolyte. These conditions were selected because the electrochemical method requires an inert supporting electrolyte and the pH set to 4.0 since most of the foods, where the colorants are added, exhibit pH values within the 2.0 to 5.0 range. For the differential pulse voltammetry (DPV) the following parameters were used, namely: 0.02 V s^{-1} scan rate, 0.005 V potential step, 0.025 V pulse amplitude, 0.05 s pulse time, and 0.25 s

Table I. Comparison of the analytical performances reported for different carbon-based modified electrodes towards the electrochemical quantification of Ar (A), Trz (B) and Ar/Trz (C) with the corresponding of a bare working electrode (this work). D shows a comparison of the analytical parameters reported towards the spectrophotometric quantification of Ar or Trz in the literature with those found in this work.

Electrode	LOD/mg l ⁻¹	LOQ/mg l ⁻¹	Sensitivity/ μ A mg l ⁻¹	Linear Range/mg l ⁻¹	References
A. Analytic parameters obtained for the dye AR with different working electrodes.					
BCPE	0.140 $\pm$ 0.0044	0.50 $\pm$ 0.02	0.126 $\pm$ 0.002	0.50–3.45	This work
a)	0.024 $\pm$ NR	NR	0.3048 $\pm$ NR	0.05–0.600	34
b)	0.003 $\pm$ NR	NR	0.4085 $\pm$ NR	0.0248–4.96	20
c)	0.00024 $\pm$ NR	NR	449.18 $\pm$ NR	0.0039–0.2482	35
d)	0.0248 $\pm$ NR	NR	0.0375 $\pm$ NR	0.15–2.48	36
e)	0.00045 $\pm$ NR	NR	0.1891 $\pm$ NR	0.0197–0.4512	27
f)	0.006 $\pm$ NR	NR	—	0.5–4.46	19
B. Analytic parameters obtained for the dye Trz with different working electrodes.					
BCPE	0.3105 $\pm$ 0.0348	1.0350 $\pm$ 0.0348	0.392 $\pm$ 0.024	1.03–2.65	This work
g)	0.0011 $\pm$ NR	NR	3.12 $\times 10^{-6}$ $\pm$ NR	0.002–0.074	25
h)	0.016 $\pm$ NR	NR	25.86 $\pm$ NR	0.026–5.34	35
i)	0.001 $\pm$ NR	NR	0.032 $\pm$ NR	0.026–0.8549	37
j)	0.004 $\pm$ NR	NR	0.3847 $\pm$ NR	0.016–2.67	38
k)	2.40 $\pm$ NR	8.01 $\pm$ NR	0.465 $\pm$ NR	NR	18
C. Analytic parameters obtained for the dyes AR/Trz with different working electrodes.					
CPE/AR	0.50 $\pm$ 0.05	1.66 $\pm$ 0.35	0.159 $\pm$ 0.005	1.7–6.0	This work
CPE/Trz	0.34 $\pm$ 0.04	1.15 $\pm$ 0.23	0.3018 $\pm$ 0.0139	1.15–4.15	This work
l)	0.0005 $\pm$ NR	NR	NR	0.005–0.45	35
m)	0.0005 $\pm$ NR	NR	NR	0.003–0.01	35
D. Analytic parameters obtained for the dyes AR/Trz with spectrophotometric methods.					
n)	0.007 $\pm$ NR	NR	6.0 $\times 10^{-7}$	0.020–1.38	39
o)	1.39 $\pm$ NR	4.95 $\pm$ NR	NR	3.02–94.31	8
p)	1.39 $\pm$ NR	4.75 $\pm$ NR	NR	3.26–101.9	8
q)	0.040 $\pm$ 0.001	0.14 $\pm$ 0.01	0.060 $\pm$ 0.001	0.43–8.55	This work
r)	0.060 $\pm$ 0.001	0.20 $\pm$ 0.01	0.050 $\pm$ 0.001	0.53–1.05	This work

a) Multiwalled carbon nanotubes film-modified glassy carbon electrode. b) Composite of poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene and nickel nanoparticles-modified electrode. c) Multi-walled carbon nanotubes in ionic-liquid graphene oxide composites modified glassy carbon electrode. d) Glassy Carbon modified electrode TiO₂/electro-reduced graphene oxide nanohybrids (TiO₂/ErGO). e) Glassy Carbon modified electrode with ion liquid and carbon black. f) MWCNT-modified electrode. g) Alumina microfibers/CPE. h) Multi-walled carbon nanotubes in ionic-liquid graphene oxide composites modified glassy carbon electrode. i) CPE modified with gold nanoparticles. j) Imprinted polymer—multiwalled carbon nanotubes - ionic liquid supported Pt nanoparticles composite film coated glassy carbon electrode. k) Glassy carbon electrode modified with diamond nanoparticles and WS₂. l) Multi-walled carbon nanotubes in ionic-liquid graphene oxide composites modified glassy carbon electrode/Trz. n) Spectrophotometric determination of AR using mixed micelle to pre-concentrate it. o) Capillary zone electrophoresis AR using a photodiode-array detector. p) Capillary zone electrophoresis using a photodiode-array detector. q) UV–vis spectrophotometry determination of AR. r) UV–vis spectrophotometry determination of Trz. NR Not reported.

pulse interval. These parameters were chosen based on our previous experience; however, they could be further optimized using the simplex method, for instance. The pH was set after taking into consideration the *pK_a* values determined previously by means of UV–vis spectrophotometry. Also, the majority of the foodstuffs exhibit pH values within the 2.0 and 5.0 range.

Spectrophotometric measurements.—For this study a Perkin Elmer Lambda 35 spectrophotometer, the software WinLab and 1 cm rectangular quartz 10 mm path length were used.

Quantification of the dyes.—The dyes concentration was varied in the 0.5–10.0 mg l⁻¹ range; for each concentration, a differential pulse voltammograms (DPVs) and UV–vis spectra were obtained to build the calibration plot and estimate the analytic parameters, namely: limit of detection, LOD, limit of quantification, LOQ, sensitivity and linearity range, LR, in agreement with that established by IUPAC.²⁹

Recoveries and analysis of real samples.—Triplicate electrochemical measurements were performed to determine three different concentrations, namely: 2.5, 5.0 and 10.0 mg l⁻¹ of which their characteristic signals (i.e., current or absorbance) were compared with those obtained from the respective calibration plot. The percent recoveries were estimated in agreement with IUPAC.³⁰ The recovery ($R = C_{\text{obs}}/C_{\text{ref}}$) is the ratio of the observed concentration, C_{obs} , (or amount) obtained by the application of an analytical procedure to a

material containing analyte at a reference level, C_{ref} . In this work C_{ref} was defined by a spike addition.

The samples of commercial beverages (Senzao® and Mirinda®) were decarbonated by sonication for 5 min (Branson Ultrasonics 2510) at 25 °C, subsequently, a 1 ml aliquot was taken and the volume gauged to 10 ml with the supporting electrolyte. The jelly powder (4 g) was dissolved in 20 ml of the supporting electrolyte and heated to 60 °C. To proceed with the evaluation, aliquots of these samples were placed in the electrochemical (10 ml) and spectrophotometric (5 ml) cells.

Results and Discussion

Figure 1 shows DPV recordings obtained during the electrochemical oxidation of AR (Fig. 1a) and Trz (Fig. 1b). Well-resolved current peaks were formed at 0.61 and 0.84 V, respectively. These signals are linked to the oxidation of the OH group on aromatic system that is common to both chemical structures (oxidation of the colorings does not affect their color). It has been proposed for both AR²⁰ and Trz³¹ that, by electrochemical oxidation, the single bond in the OH group becomes a double bond coupled with the loss of a proton and an electron, however, one electron oxidation would result in a free radical. Therefore, in this work, as commonly occurs for a phenolic compound, a two-electron oxidation that results in quinoid compound is assumed, see Scheme 1. The 230 mV potential difference, between both peaks enables carrying out these foodstuff dyes quantification even if both are present in the same solution, as observed in Fig. 2.

Figure 5. DPVs recorded in the systems: (a) BCPE / (1.0–7.0/mg l⁻¹) AR, 5.80 mg l⁻¹ Trz and (b) (0.53–4.15) mg l⁻¹ Trz, 10.0 mg l⁻¹ AR (pH 4) at the same conditions stated in Fig. 1 caption.

AR and Trz individual quantification.—Figure 3 shows DPVs recorded in the systems BCPE/0.1 M NaCl (pH 4.0) with different concentrations of AR (Fig. 3a) and Trz (Fig. 3b). Slight shifts of the potential of the oxidation peaks of tartrazine and allura red, towards more positive values, can be noted from these DPV with increasing concentration. This behaviour is commonly observed during electrochemical quantification of dyes namely: Sunset Yellow and Tartrazine, using a graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite,³² and Metanil Yellow and Fast Green, using a glassy carbon electrode modified with calixarene and gold nanoparticles.³³ This can be connected with electrode passivation at higher counteractions.

From these DPVs the corresponding calibration plots were constructed plotting the current maxima (i_p), previously subtracting the current due to the blank, as a function of the dyes concentration (see Fig. 4), the following expressions result from subsequent linear fitting: $i_p(\mu\text{A}) = (0.126 \pm 0.002)\left(\frac{\mu\text{A}}{\text{mg L}^{-1}}\right)\text{AR}(\text{mg L}^{-1}) + (0.040 \pm 0.005)(\mu\text{A})$, $R^2 = 0.9978$ and $i_p(\mu\text{A}) = (0.3925 \pm 0.024)\left(\frac{\mu\text{A}}{\text{mg L}^{-1}}\right)\text{Trz}(\text{mg L}^{-1}) + (0.0096 \pm 0.0426)(\mu\text{A})$, $R^2 = 0.9887$ with which the analytic parameters were estimated, see Tables 1a and 1b, in agreement with IUPAC;²⁹ then, it follows to compare the present outcome with those from other authors that used varied working electrodes for the individual (see Table 1a (AR) and 1b (Trz)) or simultaneous quantification (see Table 1c), including those using different methods (see Table 1d). Regarding the detection and quantification limits, these were found within the linearity range in spite that they were also larger in comparison with other electrodes,

Figure 6. Calibration plots for (a) AR and (b) Trz, obtained from the respective DPVs in Fig. 5.

though they were sufficient to carry out quantification in samples containing the dyes, as these are usually added in large quantities.

AR and Trz simultaneous quantification.—Figure 5 shows the effect of the concentration variations of AR, Fig. 5a, and Trz, Fig. 5b on the respective current peaks. These DPVs were recorded keeping constant the concentration of one of the dyes set (3.0 mg l⁻¹) while varying the other in the 0.5–7.0 mg l⁻¹ range; each figure shows that the peaks remain separate. The calibration plots come from the DPVs obtained as showed in Fig. 6; the linear fitting gave the following straight line equations a) $i_p(\mu\text{A}) = (0.1591 \pm 0.0051)\left(\frac{\mu\text{A}}{\text{mg L}^{-1}}\right)\text{AR}(\text{mg L}^{-1}) + (0.1851 \pm 0.0195)(\mu\text{A})$, $R^2 = 0.9906$ b) $i_p(\mu\text{A}) = (0.3018 \pm 0.0103)\left(\frac{\mu\text{A}}{\text{mg L}^{-1}}\right)\text{Trz}(\text{mg L}^{-1}) + (0.0833 \pm 0.0273)(\mu\text{A})$, $R^2 = 0.9929$, the analytic parameters were estimated in agreement with IUPAC²⁹ and are reported in Table 1c. The difference between the analytical parameters of the individual and simultaneous quantifications of these dyes can be attributed to small overlaps of the signals corresponding to these dyes, especially those exerted by Trz on the AR. The recovery values were 99.8% for AR and 99.2% for Trz. IUPAC (considers reliable measurements those that attain recoveries within the 90%–100% range.³⁰

Reproducibility, repeatability and operational lifetime.—For the repeatability, the relative standard deviation of ten replicate measurements with one BCPE was 1.2% and 1.4% towards AR and Trz (both at 3 mg l⁻¹) quantification, respectively. To evaluate the reproducibility of the BCPE, 10 different electrodes were constructed, following the methodology given elsewhere²⁸ and tested for AR and Trz (both at 3 mg l⁻¹) quantification. The results showed that the standard deviations were 1.6% and 1.8% for AR and Trz,

Figure 7. DPVs recorded in real samples using the bare BCPE: (a) Carbonated beverage guarana flavor, Senzao® (AR) after the dilution of the original sample in the supporting electrolyte, see the experimental section and (b) Solution of the jelly powder Jello® pineapple flavor (Trz) in the supporting electrolyte, see the experimental section. Potential scan rate 0.02 V s^{-1} .

Table II. Estimated dyes quantities, in different real samples, using UV–vis spectrophotometry and the BCPE.

Method	AR in Senzao®/mg l ⁻¹	Trz in Jello®/mg l ⁻¹	Simultaneous AR and TRZ determination in Mirinda®/mg l ⁻¹
UV–vis spectrophotometry	$7.10 \pm 0.1^{\text{b}}$	$2.32 \pm 0.01^{\text{c}}$	—
DPV using a BCPE	$6.71 \pm 0.2^{\text{b}}$	$3.0 \pm 0.21^{\text{c}}$	$(4.65 \pm 0.07) \text{ AR and } (2.57 \pm 0.08) \text{ Trz}^{\text{a}}$

a) From these values and taking into account the dilution factor, the concentrations of Ar and Trz in the original sample are: (23.2 ± 3.6) and $(12.9 \pm 2.3) \text{ mg l}^{-1}$, respectively. b) From these values and taking into account the dilution factor, the concentrations of Ar in the original sample are: (35.5 ± 1.0) and $(33.55 \pm 2.72) \text{ mg l}^{-1}$ estimated from the spectrophotometry and electrochemical method, respectively. c) From these values and taking into account the volume of the sample, the concentrations of Trz in the original sample were: (11.60 ± 0.2) and $(15.0 \pm 1.1) \text{ mg kg}^{-1}$ estimated from the spectrophotometry and electrochemical methods, respectively.

respectively. The operational lifetime was evaluated by continued quantifications during 10 months (the electrodes were stored at room temperature) and the measurements lie within the 95%–98% of the initial values. Before carrying out these electrochemical quantifications, the electroactive surfaces of the BCPE were mechanically polished using the BASi PK-4 polishing kit,⁴⁰ however, as mentioned in the experimental section, wiping the BCPE with commercial bond or weighing paper would be sufficient. It is important to mention that this simple procedure cannot be used with a modified CPE, then seriously limiting its operational lifetime due to fouling of its surfaces.

AR and Trz quantification in real samples.—Figure 7 shows DPVs obtained from the real samples used, which in their labels

stated only that the dyes were present, but not the concentrations: a) carbonated beverage guarana flavor (Senzao®) (AR) and b) jelly powder (Jello®) pineapple flavor (Trz), the corresponding oxidation signals for each of the dyes. The current maxima and the linear fitting expressions served to estimate the coloring concentration in each of the samples, giving the following results: 6.71 mg l^{-1} for the AR, for the Trz the quantified amount was 3.0 mg l^{-1} , which were close, see Table II, to those found by means of UV–vis spectrophotometry. To verify that there were no significant differences between the results obtained by electrochemical method and the spectrophotometric one, a statistical *t* (Student) test was performed.⁴¹ Previously, it was checked whether the variances obtained by both methods were statistically identical, for which the *F* (Fisher) statistical test was performed. The latter defines the

Figure 8. Spectrophotometric quantification of AR and Trz. Experimental UV-vis spectra recorded in aqueous solutions of 0.1 M NaCl (pH = 4) added with different concentrations of the dyes: (a) AR and (b) Trz, alone with the respective calibration plot. The analytical parameters obtained from these plots are reported in Table 1d (c) Comparison of UV-vis spectra recorded in three different 0.1 M NaCl aqueous solution (pH 4) containing: 6.0 mg L⁻¹ AR (red plot), 6.0 mg L⁻¹ Trz (yellow plot) and 6.0 mg L⁻¹ AR + 6.0 mg L⁻¹ Trz (black plot).

experimental F as ($F_{\text{exp}} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$) where S_1^2 corresponds to the variance obtained by the electrochemical method and S_2^2 to the spectrophotometric one. The value obtained for the Senzao® sample was $F_{\text{exp}} = 5.28$ and for the Jello® sample $F_{\text{exp}} = 1.31$, comparing these values with the F_{critical} one, obtained from Tables ($F_{\text{critical}} = 19$, for a probability of 0.05, one tail and 2 degrees of freedom),⁴¹ since F_{exp} , in both cases is lower than F_{critical} , it was verified that there were no significant differences between the variances of both methods. With these results the t test of similar variances can be performed. For the

Senzao® sample $t_{\text{exp}} = 1.66$, and for the Jello® sample $t_{\text{exp}} = 2.42$ while the value obtained in tables⁴¹ for $t_{\text{critical}} = 4.30$, given that t_{exp} for both samples is lower than t_{critical} , it was concluded that there were no significant differences between both methods. These results establish the quantification viability of dyes in real samples using a BCPE.

Based on the previous results a real sample was used to analyze a carbonated orange flavored beverage (Mirinda®), see Fig. 9, the label of which only stated the presence of both dyes without specifying the amount; the results revealed that the oxidation peaks shifted to

Figure 9. DPV recorded in the system: CPE/real sample, orange flavour carbonated beverage (Mirinda®) after dissolving 1 ml of the original sample in 10 ml of the supporting electrolyte, as indicated in experimental section.

greater potential values, due to presence of the additives in the sample. The quantification gave the following concentrations: 4.65 and 2.57 mg L⁻¹, (23.2 ± 3.6) and (12.9 ± 2.3) mg L⁻¹ in the original sample, see Table II, for AR and Trz respectively, which fall within the Mexican standard range.⁷ It is important to mention that UV–vis spectrophotometry cannot be used for the simultaneous quantification of AR and Trz due to the dyes absorbance overlap, see Fig. 8c.

In this work an interference study of other dyes was not considered because the real samples analyzed solely contained the ones studied in this work, however, it is important to mention that other components of the real samples did not interfere. In carbonated beverages, additives such as sodium benzoate, which does not have electrochemical activity, are usually found, as well as microcrystalline cellulose that is used to improve the texture of beverages. In this sort of samples some sweeteners can be found, such as sucralose, fructose or glucose; the latter has an oxidation potential of 0.2 V when a gold nanotube sensor was used.⁴² It is also common, for carbonated beverages, to be added with ascorbic acid, of which the oxidation potential is located at about 0.41 V, when using a vitreous carbon electrode modified with poly (acid Chrome).⁴³ Also foods are usually fortified with ascorbic acid, whose maximum anodic peak intensity is located at 0.49 V, when using a CPE.⁴⁴ The latter may cause interference with the AR, since the oxidation peak is wide and could overlap with the dye signal,⁴⁴ however, it would not interfere with Trz.

Conclusions

Quantification of the dyes AR and Trz is plainly feasible using a bare carbon paste electrode, either separately or simultaneously, because of the potential difference between the respective oxidation peaks. From the analytic parameters estimated it is possible to determine the dyes studied in real samples. Moreover, this rather simple electrode is a robust one, contrary to other modified electrodes reported for this purpose, it can be reused for multiple quantifications by simple mechanical polishing of its electroactive surface. Above all, the designed electrode offers adequate reproducibility, repeatability, and an outstanding operational lifetime.

Acknowledgments

SIRH (286216) thanks CONACYT for the studentship given to pursue her postgraduate studies. MTRS also thanks CONACYT for support through project 237327. SCA, GVH, MRR, MPP, MTRS thank the SNI for the distinction of their membership and the stipend granted.

ORCID

S. Corona-Avedaño <https://orcid.org/0000-0002-9517-0613>
G. Vázquez-Huerta <https://orcid.org/0000-0003-1040-2954>
M. Palomar-Pardavé <https://orcid.org/0000-0002-2944-3599>

M. Romero-Romo <https://orcid.org/0000-0002-5783-5776>
M. T. Ramírez-Silva <https://orcid.org/0000-0003-1370-1466>

References

1. J. Smith and L. Hong-Shum, "Colourings." *Food Additives Data Book* (Wiley-Blackwell, United States of America) 2nd ed., 186, 126 (2003).
2. S. Badui, "Dergal. aditivos." *Química de Alimentos* (Pearson Educación, México) 4th ed., 536 (2006).
3. U. S Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, U. S. Department of Health and Human Services (2018), (Accessed 20 July 2018), (<https://fda.gov/media/73584/download>).
4. NORMA Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, "Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba." *Diario Oficial de la Federación*. (2012), (<http://dof.gob.mx/normasOficiales/4643/salud/salud.htm>).
5. M. A. Ahmed, A. S. Al-Khalifa, D. AL-Nouri, and M. F. Serag El-din, "Dietary intake of artificial food color additives containing food products by school-going children." *Saudi J. Biol. Sci.*, **28**, 27 (2021).
6. A. Branan, *Synthetic Food Colorants*. In *Food Additives* (Marcel Dekker Inc., New York) 2nd ed., pp 500 (2001).
7. Norma Oficial Mexicana NOM-038-SSA1-1993, (1994), Bienes y Servicios. Colorantes Orgánicos Sintéticos. Especificaciones Sanitarias Generales. *Diario Oficial de la Federación* (<http://colpos.mx/bancodenormas/noficiales/NOM-038-SSA1-1993.PDF>).
8. M. Pérez-Urquiza and J. L. Beltrán, "Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis." *J. Chromatogr. A*, **898**, 271 (2000).
9. F. Ishikawa, M. Oishi, K. Kimura, A. Yasui, and K. Saito, "Determination of synthetic food dyes in food by capillary electrophoresis." *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **45**, 150 (2004).
10. F. Ming-Ren and C. Kan-Jung, "Determination of sulphonated azo dyes in food by ion-pair liquid Chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection." *Talanta*, **56**, 663 (2002).
11. N. Yoshiokak and K. Ichihashi, "Determination of 40 Synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection." *Talanta*, **74**, 1408 (2008).
12. Y. S. Al-Degs, "Determination of three dyes in commercial soft drinks using hla/go and liquid chromatography." *Food Chem.*, **117**, 485 (2009).
13. S. Bonan, G. Fedrizzi, C. G. Menotta, and E. Caprai, "Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector." *Dyes Pigments*, **99**, 36 (2013).
14. P. L. López-de-Alba, K. Wróbel-Kaczmarczyk, K. Wróbel, L. López-Martínez, and H. J. Amador, "Spectrophotometric determination of Allura Red (R40) in soft drink powders using the universal calibration matrix for partial least squares multivariate method." *Anal. Chim. Acta*, **330**, 19 (1996).
15. E. Dinc, E. Baydan, M. Kanbur, and F. Onur, "Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods." *Talanta*, **58**, 579 (2002).
16. O. I. Lipskikh, E. I. Korotkova, J. Barek, V. Vyskocil, M. Saquib, and E. P. Khristunova, "Simultaneous voltammetric determination of Brilliant Blue FCF and Tartrazine for food quality control." *Talanta*, **218**, 121136 (2018).
17. J. A. Rodríguez, M. G. Juárez, C. A. Galán-Vidal, J. M. Miranda, and E. Barrado, "Determination of allura red and tartrazine in food samples by sequential injection analysis combined with voltammetric detection at antimony film electrode." *Electroanalysis*, **27**, 2329 (2015).
18. E. Blanco, L. Arias, L. Vázquez, M. del Pozo, L. Sánchez, M. D. Petit Domínguez, and E. Casero, "Sensor based on diamond nanoparticles and WS2 for ponceau 4R and tartrazine determination: Influence of green solvents employed for WS2 exfoliation." *Flat Chem*, **23**, 100185 (2020).
19. P. Sierra-Rosales, C. Toledo-Neira, P. Ortuza-Salazar, and J. A. Squella, "MWCNT-modified electrode for voltammetric determination of allura red and brilliant blue FCF in isotonic sports drinks." *Electroanalysis*, **31**, 883 (2019).
20. Y. Lanlan, S. Mengxing, Y. Xiu, and Q. Lingbo, "Detection of allura red based on the composite of poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene and nickel nanoparticles modified electrode." *Sensors Actuators B*, **225**, 398 (2016).
21. Q. He, J. Liu, X. Liu, G. Li, P. Deng, J. Liang, and D. Chen, "Sensitive and selective detection of tartrazine based on TiO₂-electrochemically reduced graphene oxide composite-modified electrodes." *Sensors*, **18**, 1911 (2018).
22. T. Gan, J. Sun, W. Meng, L. Song, and Y. Zhang, "Electrochemical sensor based on graphene and mesoporous TiO₂ for the simultaneous determination of trace colourants in food." *Food Chem.*, **141**, 3731 (2013).
23. R. Kobun, S. Siddique, and S. M. D. Shaarani, "Rapid detection of allura red (E129) based on chitosan/nanoparticles/MWCNTs modified gold electrode in food products." *Trans. Sci. and Technol.*, **3**, 72 (2016).
24. P. B. Deroco, R. A. Medeiros, R. C. Rocha-Filho, and O. Fatibello-Filho, "Selective and simultaneous determination of indigo carmine and allura red in candy samples at the nano-concentration range by flow injection analysis with multiple pulse amperometric detection." *Food Chem.*, **247**, 66 (2018).
25. Y. Zhang, L. Hu, X. Liu, B. Liu, and K. Wu, "Highly-sensitive and rapid detection of ponceau 4R and tartrazine in drinks using alumina microfibers-based electrochemical sensor." *Food Chem.*, **166**, 352 (2015).
26. R. Darabai and M. Shabani-Nooshabadi, "NiFe₂O₄-rGO/ionic liquid modified carbon paste electrode: An amplified electrochemical sensitive sensor for

- determination of Sunset Yellow in the presence of Tartrazine and Allura Red." *Food Chem.*, **339**, 127841 (2021).
27. T. Almeida-Silva, A. Wong, and O. Fatibello-Filho, "Electrochemical sensor based on ionic liquid and carbon black for voltammetric determination of Allura red colorant at nanomolar levels in soft drink powders." *Talanta*, **1**, 120588 (2020).
28. M. T. Ramírez, M. E. Palomar, I. González, and A. Rojas-Hernández, "Carbon paste electrodes with electrolytic binder: Influence of the preparation method." *Electroanalysis*, **7**, 184 (1995).
29. M. Thompson, S. L. R. Ellison, and R. Wood, "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report)." *Pure Appl. Chem.*, **74**, 835 (2002).
30. M. Thompson, S. L. R. Ellison, A. Fajgelj, P. Willets, and R. Wood, "Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement." *Pure Appl. Chem.*, **71**, 337 (1999).
31. J. G. Manjunatha, "A novel voltammetric method for the enhanced detection of the food additive tartrazine using an electrochemical sensor." *Heliyon*, **11**, e00986 (2018).
32. X. Qiu, L. Lu, J. Leng, Y. Yu, W. Wang, M. Jiang, and L. Bai, "An enhanced electrochemical platform based on graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for sensitive determination of Sunset Yellow and Tartrazine." *Food Chem.*, **190**, 889 (2016).
33. A. Shah, "A novel electrochemical nanosensor for the simultaneous sensing of two toxic food dyes." *ACS Omega*, **5**, 6187 (2020).
34. Y. Zhang, X. Zhang, X. Lu, J. Yang, and K. Wu, "Multi-wall carbon nanotube film-based PAG electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau 4R and Allura Red." *Food Chem.*, **122**, 909 (2010).
35. M. Wang and J. Zhao, "A facile method used for simultaneous determination of ponceau 4r, allura red and tartrazine in alcoholic beverages." *J. Electrochem. Soc.*, **162**, H321 (2015).
36. G. Li, J. Wu, H. Jin, Y. Xia, J. Liu, Q. He, and D. Chen, "Titania/electro-reduced graphene oxide nanohybrid as an efficient electrochemical sensor for the determination of allura red." *Nanomaterials*, **10**, 307 (2020).
37. S. M. Ghoreishi, M. Behpour, and M. Golestaneh, "Simultaneous determination of Sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode." *Food Chem.*, **132**, 637 (2012).
38. L. Zhao, B. Zeng, and F. Zhao, "Electrochemical determination of tartrazine using a molecularly imprinted polymer—multiwalled carbon nanotubes - ionic liquid supported Pt nanoparticles composite film coated electrode." *Electrochim. Acta*, **146**, 611 (2014).
39. N. Pourreza, S. Rastegarzadeh, and A. Larki, "Determination of Allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles." *Food Chem.*, **126**, 1465 (2011).
40. A. W. Bott, "Practical problems in voltammetry 4: preparation of working electrodes." *Current Separations*, **16**, 79 (1997).
41. J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (Prentice Hall, United Kingdom) 6th ed. (2010).
42. Z. Yi-Ge, S. Yang, Q. Qing-Yun, and X. Xing-Hua, "Gold nanoparticles integrated in a nanotube array for electrochemical detection of glucose." *Electrochem. Commun.*, **11**, 216 (2010).
43. R. Zhang, J. Gen-Di, D. Chen, and H. Xiao-Ya, "Simultaneous electrochemical determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid using poly (acid chrome blue K) modified glassy carbon electrode." *Sens. Actuators B Chem.*, **138**, 174 (2009).
44. E. Colín-Orozco, S. Corona-Avendaño, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, and M. Palomar-Pardavé, "On the electrochemical oxidation of dopamine, ascorbic acid and uric acid onto a bare carbon paste electrode from a 0.1 M NaCl aqueous solution at pH 7." *Int. J. Electrochem. Sci.*, **7**, 6097 (2012), <http://www.electrochemsci.org/papers/vol7/7076097.pdf>.