ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL

CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROELECTRODOS NANOPOROSOS DE ORO PARA LA DETERMINACIÓN DE As (III) UTILIZANDO VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA (ASV) CON APLICACIÓN EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE

INGENIERO AMBIENTAL

DARÍO XAVIER ORELLANA JARAMILLO

dario.orellana@epn.edu.ec

DIRECTOR: Dr. PATRICIO JAVIER ESPINOZA MONTERO

patricio.espinoza@epn.edu.ec

CODIRECTORA: MSc. MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL

maria.aldas@epn.edu.ec

Quito, julio 2016

DECLARACIÓN

Yo, Darío Xavier Orellana Jaramillo, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

ORELLANA JARAMILLO DARÍO XAVIER

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Darío Xavier Orellana Jaramillo, bajo nuestra supervisión.

Dr. Patricio J. Espinoza Montero	MsC. María Belén Aldás
DIRECTOR DEL PROYECTO	CODIRECTORA DEL PROYECTO

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, quienes con infinito amor, sabiduría y paciencia me han acompañado a lo largo de este camino.

A toda mi familia, que fueron, son y serán un apoyo incondicional.

Al Dr. Patricio Espinoza, quien me dio la oportunidad de desarrollar este trabajo y me brindó la confianza para llevarlo a cabo.

Al Dr. Mauro Bertotti y a todo el equipo del LSEME de la universidad de Sao Paulo, que me brindaron su amistad, apertura y colaboración para desarrollar mi proyecto.

DEDICATORIA

A mis padres, con todo el amor del mundo.

CONTENIDO

DECLARACIÓN II

CERTIFICACIÓN III

AGRADECIMIENTOS IV

DEDICATORIA V

CONTENIDO VI

INDICE DE TABLAS XI

INDICE DE FIGURAS XII

INDICE DE IMÁGENES XIV

RESUMEN XV

ABSTRACT XVI

PRESENTACIÓN XVII

CAPITULO 1 1

1. ASPECTOS GENERALES 1

1.1 ALCANCE 1

1.2 OBJETIVOS 2

1.2.1 OBJETIVO GENERAL 2

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 2

1.3 JUSTIFICACIÓN 3

1.4 HIPÓTESIS 4

CAPITULO 2 5

2. MARCO TEÓRICO 5

2.1 ARSÉNICO 5

2.1.1 OCURRENCIA Y FUENTES 5

2.1.1.1 AIRE 6

2.1.1.2 SUELO 7
2.1.1.3 AGUA 8
2.1.1.4 BIOTA 9
2.1.2 TRANSPORTE DE ARSÉNICO AL AGUA 10
2.1.3 NORMATIVA 12
2.1.4 TOXICIDAD 13
2.1.5 EFECTOS SOBRE EL ORGANISMO HUMANO 14
2.1.6 MÉTODOS DE DETECCIÓN 16
2.1.6.1 Métodos espectrométricos 17
2.1.6.2 Absorción atómica 17
2.1.6.3 Absorción atómica con horno de grafito 18
2.1.6.4 Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado 18
2.2 ELECTROQUÍMICA 18
2.2.1 ECUACIONES FUNDAMENTALES 19
2.2.2 CELDA ELECTROQUÍMICA 20
2.2.3 ELECTROLITO SOPORTE 22
2.2.3.1 Constante de tiempo de la celda 22
2.2.4 CINÉTICA DE TRANSFERENCIA DE MASA 22
2.2.4.1 Doble capa eléctrica 24
2.2.5 CURVA I/E 26
2.2.6 ELECTRODOS 27
2.2.6.1 Electrodo de referencia 27
2.2.6.2 Macroelectrodos 28
2.2.6.3 Ultra microelectrodos UMEs 29

2.2.7 NANOPOROS DE ORO 30
2.2.8 EXPERIMENTOS ELECTROQUÍMICOS 30
2.2.9 TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS 31
2.2.9.1 Voltametría cíclica 32
2.2.9.1.1 Par redox 34
2.2.9.2 Voltametría de onda cuadrada 35
2.2.9.3 Voltametría de redisolución 37
2.3 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD 40
CAPITULO 3 41
3. METODOLOGÍA 41
3.1 INSTRUMENTAL Y REACTIVOS 41
3.2 ANÁLISIS ANALÍTICO 41
3.2.1 FABRICACIÓN DEL ELECTRODO DE REFERENCIA (ER) 41
3.2.2 FABRICACIÓN DEL ELECTRODO DE TRABAJO 43
3.2.3 FABRICACIÓN DE LOS NANOPOROS DE ORO 45
3.2.4 ELECTROLITO BASE 46
3.2.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS ELECTRODOS 47
3.2.5.1 CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA 47
3.2.5.1.1 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO 47
3.2.5.1.2 DETERMINACIÓN DEL ÁREA SUPERFICIAL ELECTROQUÍMICA 49
3.2.5.1.3 FACTOR DE RUGOSIDAD 49
3.2.5.2 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO 50
3.3 RESULTADOS 50
3.3.1 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD 50

3.3.2 LIMITE DE DETECCIÓN 51

3.3.3 INTERFERENTES 51

3.3.4 ANÁLISIS DE MUESTRA REAL MEDIANTE ADICIÓN DE ESTÁNDARES 52

CAPÍTULO 4 53

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES 53

4.1 CARACTERIZACIÓN 53

4.1.1 CARACTERIZACIÓN DEL MICROELECTRODO DE ORO 53

4.1.2 CARACTERIZACIÓN DEL MICROELECTRODO NPGF 55

4.1.2.1 Cálculo del área superficial electroquímica (ECSA) y factor de rugosidad ……...57

4.1.3 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) 58

4.2 ELECTROLITO SOPORTE 60

4.2.1 ENSAYO EN SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE FOSFATO (PBS)……..60

4.2.2 ENSAYO EN ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCl) 62

4.3 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO 64

4.3.2 EFECTO DEL TIEMPO DE PRECONCENTRACIÓN DE As(III) SOBRE EL ELECTRODO NPGF 65

4.3.1 EFECTO DEL POTENCIAL DE PRECONCENTRACIÓN DE As(III) SOBRE EL ELECTRODO NPGF 65

4.4 FIGURAS DE MÉRITO 66

4.5 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD 67

4.6 INTERFERENTES 68

4.7 ENSAYO EN MUESTRA REAL 70

CAPÍTULO 5 72
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 72
5.1 CONCLUSIONES..... 72
5.2 RECOMENDACIONES 73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74
ANEXO N° 1..... 79
EJEMPLO DE CÁLCULO DEL RADIO DEL MICROELECTRODO DE ORO .. 79
ANEXO N° 2..... 81
EJEMPLO DE CÁLCULO DE LA ECSA Y EL RF 81
ANEXO N° 3..... 83
EJEMPLO DE CÁLCULO DEL LIMITE DE DETECCIÓN LOD 83

INDICE DE TABLAS

TABLA 2.1 CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO EN LOS MINERALES MÁS COMUNES 7

TABLA 2.2 PROCESOS DE LIBERACIÓN Y MOVILIZACIÓN DE ARSÉNICO11

TABLA 2.3 EFECTOS DEL ARSÉNICO SOBRE EL ORGANISMO 15

TABLA 2.4 ECUACIONES FUNDAMENTALES EN ELECTROQUÍMICA..... 19

TABLA 2.5 VENTAJAS Y APLICACIONES DE LOS UMES 29

TABLA 2.6 EXPERIMENTOS ELECTROQUÍMICOS..... 30

TABLA 4.1 DIÁMETRO Y ÁREA DEL MICROELECTRODO DE ORO..... 55

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1 CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL ARSÉNICO..... 6

FIGURA 2.2 FORMAS QUÍMICAS DE ARSÉNICO EN FUNCIÓN DEL pH Y Eh9

FIGURA 2.3 COMPUESTOS COMUNES DE ARSÉNICO..... 14

FIGURA 2.4 CELDA ELECTROQUÍMICA..... 21

FIGURA 2.5 MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE MASA 23

FIGURA 2.6 DOBLE CAPA ELÉCTRICA Y PLANO DE HELMHOLTZ..... 24

FIGURA 2.7 PLANO DE HELMHOLTZ 25

FIGURA 2.8 REPRESENTACIÓN DEL FENÓMENO DE DIFUSIÓN 26

FIGURA 2.9 VOLTAMOGRAMAS DE ELECTRODOS IDEALES 27

FIGURA 2.10 VOLTAMETRÍA CÍCLICA 33

FIGURA 2.11 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO..... 34

FIGURA 2.12 VOLTAMETRÍA DE ONDA CUADRADA 36

FIGURA 2.13 VOLTAMOGRAMA DE ONDA CUADRADA..... 36

FIGURA 2.14 VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN 39

FIGURA 3.1 ESQUEMA DE FABRICACIÓN DEL MICROELECTRODO DE ORO 45

FIGURA 4.1 VOLTAMOGRAMA DE FERRICIANURO SOBRE UN UME 54

FIGURA 4.2 VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS..... 54

FIGURA 4.3 VOLTAMOGRAMA DE FORMACIÓN DE NPGF..... 56

FIGURA 4.4 VARIACIÓN DEL TIEMPO DE FABRICACIÓN DE NPGF 57

FIGURA 4.5 COMPARACIÓN DE VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS SOBRE MICROELECTRODO DE ORO Y ELECTROD NPGF 58

FIGURA 4.6 ENSAYOS EN PBS 61

FIGURA 4.7 ENSAYOS EN ÁCIDO CLORHÍDRICO HCL 62

FIGURA 4.8 COMPORTAMIENTO DEL ELECTRODO NPGF EN HCL + AS(III) USANDO SWASV 64

FIGURA 4.9 EFECTO DEL POTENCIAL DE PRECONCENTRACIÓN 66

FIGURA 4.10 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA AS(III) 67

FIGURA 4.11 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD 68

FIGURA 4.12 COMPORTAMIENTO DEL MICROELECTRODO DE ORO Y EL ELECTRODO NPGF EN UNA MUESTRA CON ARSÉNICO Y COBRE 69

FIGURA 4.13 CALIBRACIÓN DE ARSÉNICO EN PRESENCIA DE COBRE.. 70

FIGURA 4.14 CALIBRACIÓN DE MUESTRA REAL 71

INDICE DE IMÁGENES

IMAGEN 4.1 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL MICROELECTRODO DE ORO 59

IMAGEN 4.2 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL ELECTRODO NPGF 60

RESUMEN

Se construyó un microelectrodo de oro y se modificó su superficie con un filme nanoporoso mediante una sencilla técnica electroquímica de anodización, seguida de una reducción de la superficie oxidada. Se utilizó el microelectrodo nanoporoso de oro como un efectivo sensor para la determinación de arsénico (III) en una solución electrolítica de HCl 1 mol L^{-1} usando la técnica de voltametría de redisolución anódica en combinación con la voltametría de onda cuadrada (SWASV). Se llevaron a cabo caracterizaciones, tanto electroquímicas, usando voltametría cíclica y el método de adsorción de hidrógeno de la solución, y mediante microscopía electrónica de barrido, para determinar la formación de nanoporos en la superficie del microelectrodo y el cálculo del área superficial electroquímica y el factor de rugosidad mejorados en el electrodo nanoporoso respecto del microelectrodo de oro. La SWASV registrada con el microelectrodo nanoporoso en soluciones que contenían As(III) demostraron un comportamiento lineal en el rango de concentración entre 2 y 30 µg L^{-1}, con un coeficiente de regresión lineal R^2 = 0.9991, en un tiempo de preconcentración de 120 s. El límite de detección obtenido fue de 0.318 µg L^{-1}. También se examinaron la repetibilidad y reproducibilidad del método y se calcularon valores de 3.2% y 8.9%, respectivamente. Se comprobó que no existe afectación por el principal ion interferente en análisis de arsénico, el cobre (II), lo que demuestra que el sensor desarrollado muestra una excelente propiedad anti interferente. Por último se llevó a cabo el análisis de una muestra de agua de llave, el cual arrojó como resultado una concentración de arsénico de 4 µg L^{-1}, concentración que está dentro del límite máximo recomendado.

ABSTRACT

A gold microelectrode was fabricated and its surface was modified with nanoporous gold structures via a electrochemical approach of anodization followed by electrochemical reduction method. The fabricated nanoporous gold microelectrode was used as a sensor probe for the determination of As(III) in 1.0 mol L^{-1} HCl solution using anodic stripping voltammetry joined to square wave voltammetry technique (SWASV). Field emission scanning electron microscopy and electorchemical analysis, by using cyclic voltammetry and hydrogen adsorption from solution, were used to characterize the surface morphology and assess the electrochemical surface area and the roughness factor of the nanoporous gold electrode. SWASV recorded with the nanoporous electrode in As(III) solutions indicated linear behaviour in the concentration range of and 2-30 µg L^{-1}, with a regression coefficient of 0.9991 at a deposition time of 120 s. The limit of detection (LOD) was found to be 0.318 µg L^{-1}. Repeatability and reproducibility were also examined and values were determined as 3.2 % and 8.9 %, respectively. Negligible interference from major interfering copper ion was noticed, revealing the excellent anti-interference property of the proposed sensing platform. Finally, a tap water simple was analized and noticed a concentration of 4 µg L^{-1}, which is under the recommended máximum limit.

PRESENTACIÓN

La estructura del presente proyecto es la siguiente:

El primer capítulo muestra el alcance, los objetivos, la justificación y la hipótesis del proyecto.

El segundo capítulo presenta las características del arsénico, su toxicidad y los efectos que causa sobre el organismo, la normativa y los métodos de detección que existen actualmente. Se muestra el fundamento teórico sobre electroquímica y las técnicas a usarse.

El tercer capítulo comprende el diseño experimental del proyecto, donde se describe los equipos y reactivos usados así como también los procesos de construcción y caracterización de los electrodos y la formación electroquímica de nanoporos de oro.

El cuarto capítulo presenta la optimización del método y los resultados obtenidos en la investigación y su discusión.

Finalmente el quinto capítulo muestra las conclusiones obtenidas y las recomendaciones sobre el proceso experimental.

CAPITULO 1

ASPECTOS GENERALES

1.1 ALCANCE

El arsénico en sus diferentes especies y principalmente el ion arsenito (As(III)) representa una amenaza a la salud de la población humana. Su determinación y análisis se vuelve necesaria, debido a que los altos niveles de este elemento pueden afectar el agua, el suelo y los sedimentos, como también, aunque en menor cantidad, los alimentos ingeridos; y es imprescindible para el desarrollo de nuevas y mejores tecnologías, tanto para su determinación como para su especiación, con el fin de mitigar los problemas de salud pública relacionados con este semimetal (Armienta et al., 2008).

Existe una gran variedad y cantidad de métodos para la cuantificación de arsénico, entre los cuales se pueden encontrar métodos espectrofotométricos (UV – Vis), absorción atómica, la cual conlleva generación de hidruros; absorción atómica con horno de grafito, espectroscopía de emisión – plasma inductivo de argón, espectroscopía de masas con plasma inductivamente acoplado, fluorescencia atómica, técnicas acopladas tales como cromatografía líquida y de gases, entre otros. Estos métodos implican por lo general un alto costo, ya sea por instrumentación y reactivos, equipos pesados, lo cual limita y hasta imposibilita la detección en campo; procesos de preparación de muestra complicados, entre otros inconvenientes (Liu y Huang, 2014). En este aspecto, las técnicas electroquímicas, y entre éstas la voltametría de redisolución anódica, que puede ser considerada la técnica más sensible para análisis en campo (Palchetti et al., 1999), representan una gran ventaja sobre las anteriores.

Debido a las ventajas que representan sobre los electrodos convencionales, los microelectrodos son usados en varios análisis electroquímicos, tanto para determinación como especiación de analitos (Stulik et al., 2000). Los nanoporos de

oro por su parte, permiten análisis más sensibles y presentan mejoras frente a los microelectrodos para determinación de analitos por redisolución (Seker et al., 2009). Los límites de detección ascienden hasta las partículas por billón (μg L^{-1} o nmol L^{-1}). La regulación internacional de concentración de arsénico total en el agua de consumo humano establece un máximo recomendado de 10 μg L^{-1}, por lo que este método se muestra efectivo para su análisis y determinación.

Este proyecto propone el desarrollo de un método para la determinación de As(III) en aguas de consumo humano, mediante la aplicación de la voltametría de redisolución anódica en combinación con la voltametría de onda cuadrada, utilizando electrodos nanoporosos de oro fabricados mediante una técnica rápida y sencilla.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Construir y caracterizar microelectrodos nanoporosos de oro para la determinación de As (III) en aguas de consumo humano utilizando voltametría de redisolución anódica (ASV, por sus siglas en inglés).

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Optimizar las técnicas electroquímicas que se van a emplear para la determinación de As (III), mediante estudios preliminares utilizando microelectrodos de oro con ensayos conocidos.

- Construir electroquímicamente y caracterizar microelectrodos nanoporosos de Au a partir de microelectrodos de oro, para la determinación de As (III) mediante ASV.

- Proponer y desarrollar una metodología de especiación electroquímica de As (III) mediante voltametría de redisolución anódica (ASV, por sus siglas en inglés), usando un electrodo nanoporoso de oro.

- Evaluar la aplicabilidad de la técnica desarrollada mediante ensayos estandarizados, para la determinación de As (III) en aguas de consumo humano (potable).

1.3 JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de metodologías que permitan cuantificar analitos como el arsénico en muestras reales e in situ en la actualidad es un reto. Sin embargo, el objetivo de este proyecto es lograr que esto sea posible con la ayuda de microelectrodos nanoporosos de oro y técnicas electroquímicas sensibles, como la voltametría de redisolución anódica (Bundschuh et al., 2012).

Los métodos electroquímicos como la voltametría de redisolución anódica, han sido desarrollados para la detección de metales pesados en concentraciones muy bajas, del orden de los μg L^{-1}, para la detección y especiación de arsénico.

La voltametría de redisolución anódica es una metodología de bajo costo de operación y mantenimiento y de gran sensibilidad. Es una técnica muy fácil y rápida de realizar, incluso se puede hacer mediciones directamente en campo debido a que el equipamiento puede ser portable (EPA, 2004).

Los microelectrodos de oro presentan una gran sensibilidad en ensayos previos, por lo que se han tomado en consideración para desarrollar la metodología (Liu y Huang, 2014). Existen reportes preliminares de la determinación de As utilizando electrodos de oro, electrodos de plata, electrodos de gota colgante de mercurio y electrodos de platino, de lo que se ha concluido que con el electrodo de oro se obtienen los mejores resultados (Xuan Dai et al., 2004).

Los electrodos nanoporosos de oro representan una mejora frente a los de oro policristalino, debido a su gran área superficial electroquímica (ECSA por sus siglas en inglés) (Sukeri et al., 2015), lo cual permite mayor sensibilidad y límite de detección (< μg L^{-1}) en análisis electroquímicos.

Este proyecto será un avance significativo el área de la química ambiental y desarrollo de nuevas tecnologías, teniendo en cuenta que en el país no existe la facilidad para la detección de arsénico en agua de forma barata y directa (Bundschuh et al., 2012).

1.4 HIPÓTESIS

Los microelectrodos nanoporosos de Au construidos electroquímicamente son capaces de cuantificar concentraciones a nivel trazas de As(III) de manera reproducible.

CAPITULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 ARSÉNICO

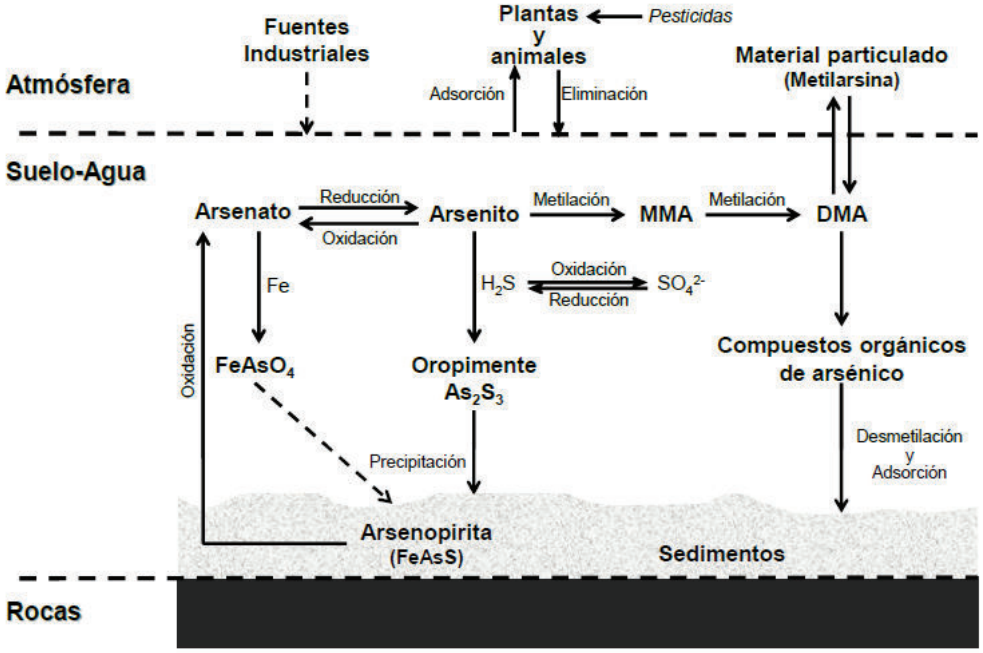
El arsénico (As) es un semimetal ubicado en el grupo VA en la tabla periódica, familia del nitrógeno, con números de oxidación -3, 0 (As(0)), 3 (As(III)) y 5 (As(V)). En el medio ambiente se encuentra tanto de formas inorgánicas como orgánicas. Es un elemento ubicuo, de los 20 de mayor abundancia en la corteza terrestre, 14 en el agua de mar y 12 en el cuerpo humano (Mandal y Suzuki, 2002) y aunque está presente en el organismo humano, no se ha determinado que sea un elemento esencial (OMS, 2006).

2.1.1 OCURRENCIA Y FUENTES

Los niveles de arsénico en el ambiente varían debido a su dinámica. Puede sorberse o desorberse de partículas y puede cambiar su estado de oxidación al reaccionar con oxígeno del aire, agua y suelo o por acción de microorganismos (Armienta et al., 2008).

En la naturaleza se origina principalmente de emisiones volcánicas y representa un tercio del total presente, mientras que sus fuentes antropogénicas pueden ser la minería, fundición de metales y el uso de pesticidas (IARC, 2012). En el ambiente se encuentra tanto en el agua, suelo, aire y en organismos vivos, originado tanto en fuentes naturales como antrópicas. Su presencia en el aire es despreciable, excepto en zonas específicas donde se trabaja con este elemento (Mandal y Suzuki, 2002). La ocurrencia de los distintos tipos de compuestos arsenicales en el ambiente se produce en gran parte por el ciclo natural de este elemento, esquematizado en la Figura 2.1.

FIGURA 2.1 CICLO BIOGEOQUÍMICO DEL ARSÉNICO



FUENTE: Roy y Saha (2002)

2.1.1.1 AIRE

La ocurrencia de arsénico en el aire viene dada predominantemente por sus iones arsenito y arseniato y en menor medida por As orgánico (OMS, 2001). El arsénico es emitido a la atmósfera por fuentes naturales (un tercio del total) como volcanes, volatilización a baja temperatura, exudado de la vegetación y polvo del viento. Por otro lado, las principales fuentes antropogénicas son la minería, la fundición de metales, quema de combustibles y el uso de pesticidas basados en arsénico (IARC, 2012). La concentraciones promedio de arsénico en el aire son: entre 0.007 a 1.9 ng m^{-3} para áreas remotas, 1 a 28 ng m^{-3} para áreas rurales, y en áreas urbanas de 2 a 2320 ng m^{-3}, pudiendo aumentar considerablemente (>1000 ng m^{-3}) en zonas cercanas a industrias específicas (OMS, 2001). Generalmente el organismo humano asimila entre el 30 y el 85%, dependiendo de la proporción relativa entre vapor y material particulado (Mandal y Suzuki, 2002).

2.1.1.2 SUELO

En el suelo su presencia se debe principalmente al material parental del cual deriva, pero a lo largo del siglo XX el uso de pesticidas en la agricultura contribuyó a la dispersión del elemento. El contenido medio de arsénico en el suelo oscila entre 5 y 10 mg kg^{-1} (Armienta et al., 2008). La presencia elevada de As en suelos puede deberse a niveles naturales asociados con substratos geológicos, y antropogénicamente, a contaminantes como pesticidas o actividades de minería (OMS, 2001), la fracción adsorbida del elemento está relacionada al pH y al potencial de reducción (Eh) del medio (Mandal y Suzuki, 2002). En los sedimentos se pueden encontrar concentraciones tan altas como 3000 mg kg^{-1} (IARC, 2012).

Existen aproximadamente 200 formas minerales de arsénico. En la Tabla 2.1, se muestra la concentración de arsénico en los minerales más comunes. De éstos, la arsenopirita es la más forma más representativa, debido a que la pirita se encuentra en ambientes hidrotermales, sedimentos, ríos, lagos, fondos marinos y acuíferos. Cuando varían las condiciones del medio, se oxida y libera el arsénico contenido (Armienta et al., 2008).

TABLA 2.1 CONCENTRACIÓN DE ARSÉNICO EN LOS MINERALES MÁS COMUNES

MINERAL	As (mg kg^{-1})	MINERAL	As (mg kg^{-1})
Sulfuros		**Silicatos**	
• Pirita	100 – 77000	• Cuarzo	0.4 – 1.3
• Pirrotina	5 – 100	• Feldespato	< 0.1 – 2.1
• Galena	5 – 10000	• Biotita	1.4
• Esfalerita	5 – 17000	• Anfibol	1.1 – 2.3
• Calcopirita	10 – 5000	**Carbonatos**	
Óxidos		• Calcita	1 – 8
• Hematites	Hasta 160	• Dolomita	< 3
• Óxidos de Fe	Hasta 2000	• Siderita	< 3
• Oxihidróxido de Fe(III)	Hasta 76000	**Sulfatos**	
• Magnetita	2.7 – 41	• Yeso/anhidrita	< 1.6
Fosfatos		• Barita	< 1 – 12
• Apatita	< 1-1.000	• Jarosita	34 – 1000

FUENTE: Armienta et al. (2008)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.1.1.3 AGUA

El agua es el medio más importante por el que se asimila este semimetal, debido a que es el medio de ingesta directa del ser humano (OMS, 2011). Existen tres factores principales que regulan la presencia de arsénico en aguas naturales: la fuente primaria de arsénico (aire y suelo), los procesos de movilización y retención en la interacción fase sólida – líquida y el transporte de arsénico en el agua. Se debe enfatizar que las concentraciones elevadas de arsénico natural en aguas no están localizadas, sino que afectan a grandes áreas alrededor del mundo (Armienta et al., 2008).

En el agua de mar existe tanto As orgánico como inorgánico. Inorgánicamente el As(V) y As(III) se encuentran en relación 10:1 debido a la reducción biológica, aunque la ocurrencia teórica de As(V) sobre As(III) es mucho mayor (Hung et al., 2004). En el agua dulce, la relación As(V) y As(III) es similar al agua de mar. En ambientes acuáticos en general, las especies de As(0) y As(-III) son extremadamente raras (Mandal y Suzuki, 2002). El As(V) predomina en estos medio debido a las condiciones oxidantes de los cuerpos de agua; sin embargo, en aguas subterráneas donde predominan condiciones reductoras (< 200 mV) se puede encontrar altas concentraciones de arsenito (OMS, 2001). Normalmente la concentración de As total en el agua es de 1 a 2 μg L^{-1}. En cuerpos de agua cercanos o de origen volcánico es posible encontrar concentraciones de As(III) muy altas, de entre 500 μg L^{-1} hasta 25 mg L^{-1} (OMS, 2006). Los niveles de As en aguas subterráneas se encuentran entre 1 y 2 μg L^{-1}, aunque en zonas de roca volcánica o depósitos de minerales de azufre, puede alcanzar valores de 3400 μg L^{-1}, y en sitios de actividad minera llegar a los 48 mg L^{-1} (OMS, 2001). Como muestra la Figura 2.2, las formas químicas en las que se encuentra, tanto en el suelo como en el agua, el estado de oxidación y su movilidad, dependen igualmente del pH (potencial hidrógeno) como del Eh (potencial de reducción) del medio (Armienta et al., 2009).

FIGURA 2.2 FORMAS QUÍMICAS DE ARSÉNICO EN FUNCIÓN DEL pH y Eh

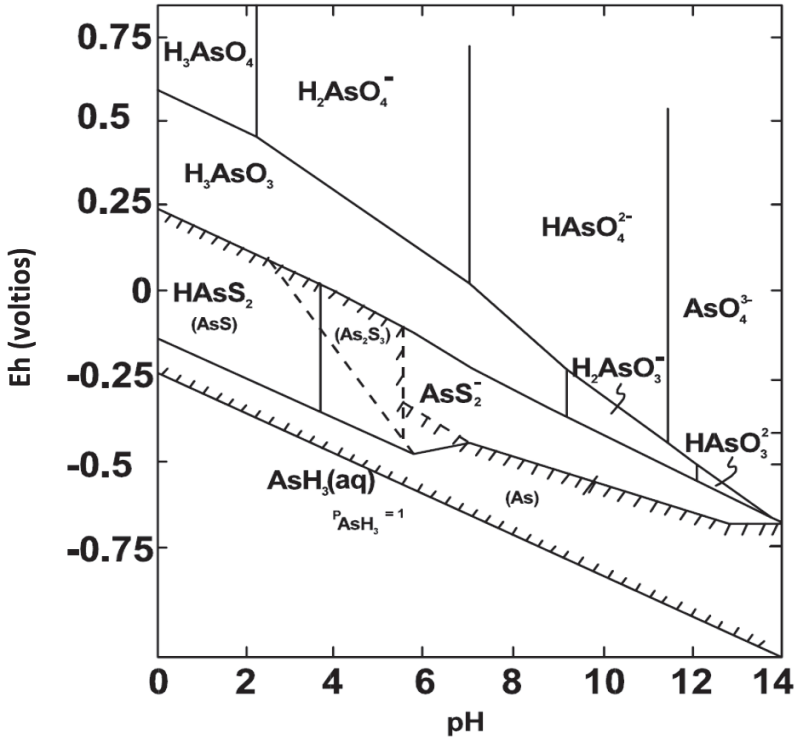


Diagrama Eh – pH de As a 25º C y 1 atm. Entre paréntesis, especies em estado sólido.

FUENTE: Armienta et al. (2008)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.1.1.4 BIOTA

En organismos acuáticos se puede encontrar arsénico en sus formas orgánicas, principalmente como arsenobetaína, la cual no es peligrosa para el ser humano y se elimina fácilmente mediante la orina (OMS, 2001). En estos medios el As no se biomagnifica (Roy y Saha, 2002) pero si puede bioacumularse (Mandal y Suzuki, 2002). En las plantas terrestres puede encontrarse arsénico, pero no existe el riesgo de que éste ingrese a sistemas animales por consumo, ya que si contuviere concentraciones peligrosas, el daño lo sufriría directamente la planta (Mandal y Suzuki, 2002). En los animales, incluido el ser humano, la incorporación de As puede darse por vías respiratoria, dermal o ingesta oral, siendo las dos primeras prácticamente despreciables excepto en casos particulares (ATSDR, 2007). La asimilación de As por vía oral puede ser tanto por alimentos como por agua

contaminados. La ingesta media diaria de As total en comida para adultos es 16.7 a 129 ug/kg (OMS, 2006). La mayor parte de As ingerido por el ser humano se da mediante agua potable contaminada y del total ingerido el 25% corresponde a fuentes inorgánicas (IARC, 2012).

2.1.2 TRANSPORTE DE ARSÉNICO AL AGUA

La presencia de elevados niveles de As en agua está directamente relacionada con su liberación desde la fase sólida, con fenómenos de transporte y de transferencia a otros medios y a procesos de dilución por mezcla. Debido a la relativamente amplia movilidad del As, existen varias maneras en las que éste se transporta entre distintos medios. Tanto el As(III) y As(V) son móviles, pero éste último lo es en mayor medida. El arsénico subsiste en un amplio rango de pH y condiciones redox (Eh). La movilización depende directamente de procesos como meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas y procesos antrópicos. La concentración de As viene controlada por una compleja interacción sólido – líquido (termodinámicamente, las formas gaseosas no están favorecidas en condiciones naturales), principalmente en soluciones sólidas, aguas intersticiales y subterráneas. Sin embargo, es válido también para depósitos abiertos de agua puesto que se moviliza fácilmente a pH neutro (Armienta et al., 2008).

Entre los procesos interfaciales entre el agua subterránea y los sedimentos, se distinguen factores que van a afectar la química y movilidad del arsénico: 1) procesos químicos como disolución reductiva de óxidos y oxihidróxidos de hierro, reducción de sulfato y la precipitación de pirita; 2) transformaciones biológicas; y 3) los procesos físico-químicos como la adsorción – desorción y el intercambio iónico. Los procesos geoquímicos de interacción agua – fase sólida que controlan la movilización de As en el agua son las reacciones de sorción – desorción y las reacciones de precipitación – disolución de la fase sólida. Las reacciones de sorción – desorción se describen mediante isotermas que relacionan la concentración de un determinado componente en solución con su concentración en la superficie de la partícula. Las reacciones redox pueden controlar indirectamente la adsorción –

desorción de As por sus efectos sobre la especiación. La diferencia en la velocidad de transporte en un acuífero para As(III) y As (V) se explica por la estrecha relación entre el transporte de solutos, el grado de adsorción y la naturaleza de las isotermas de adsorción para estas especies arsenicales. En la literatura, estudios experimentales de adsorción de As informan valores de coeficiente de partición (Kd) para distintos tipos de *óxidos y arcillas*. Los valores informados, generalmente a pH 7, varían dentro de un amplio rango de 21 a 2.100.000 µg kg^{-1} (Armienta et al., 2008). Los principales mecanismos geoquímicos de liberación y movilización de arsénico a las aguas se describen en la Tabla 2.2.

TABLA 2.2 PROCESOS DE LIBERACIÓN Y MOVILIZACIÓN DE ARSÉNICO

PROCESO	DESCRIPCIÒN
Oxidación de sulfuros	Tiene lugar cuando el medio se halla en condiciones oxidantes. El Fe disuelto tiende a precipitar como sulfato de Fe y óxidos y oxihidróxidos de Fe, con readsorción y coprecipitación de As
Disolución de minerales	Los óxidos y oxihidróxidos de Fe y Mn se disuelven en condiciones fuertemente ácidas. El As presente en ellos, tanto adsorbido como coprecipitado, será movilizado durante la disolución. Característico en el drenaje ácido de minas
Desorción a pH elevado bajo condiciones oxidantes	Bajo las condiciones aerobias y de pH variable, el As está fuertemente adsorbido a óxidos minerales. La marcada naturaleza no lineal de la isoterma de adsorción para As(V) determina que la cantidad de As adsorbido sea relativamente elevada aun cuando las concentraciones de As disuelto sean bajas.
Desorción y disolución de As relacionadas con cambios a condiciones reductoras	La causa más común de este fenómeno es la acumulación y enterramiento de sedimentos, donde la cantidad de materia orgánica determinará la rapidez con que se alcanzarán las condiciones reductoras. Estas condiciones son mantenidas cuando la entrada de oxígeno al sistema es baja
Desorción por reducción de superficie específica en la fase sólida	Este mecanismo tiene incidencia especialmente en el caso de óxidos e hidróxidos de Fe. Al evolucionar y transformarse en fases de mayor cristalinidad, las partículas y agregados aumentan su tamaño, reduciendo su superficie específica, y por tanto, los sitios de intercambio donde se halla el As adsorbido
Desorción por reducción en la carga de superficie de la fase sólida	Los cambios de carga neta de superficie en los óxidos de Fe pueden traer aparejadas modificaciones en la adsorción del As. Estos fenómenos incluyen cambios estructurales en los óxidos de Fe, que tienen lugar al pasar de condiciones oxidantes a condiciones reductoras que pueden producir cambios netos en la carga de superficie

FUENTE: Armienta (2008)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

Se tiene en cuenta también el efecto de deposición atmosférica que incide sobre todo el ciclo hidrológico. El As ingresa a la atmósfera por procesos de erosión, emisiones volcánicas, incendios forestales, procesos de volatilización a baja temperatura desde el suelo, aerosoles marinos y procesos antrópicos. Luego, retorna al suelo y a la hidrósfera mediante deposición seca y húmeda (Armienta et al., 2008).

2.1.3 NORMATIVA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS)(OMS, 2006), además de entidades relacionadas con el medio ambiente como la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) (EPA, 2009) y la comisión de la Unión Europea (EU, por sus siglas en inglés) (EU, 1999), la máxima concentración de As en el agua potable debe ser inferior a 10 μg L^{-1}, habiéndose reducido a este valor en 1993, desde 50 μg L^{-1} en 1963 y 200 μg L^{-1} en 1958 (Antonova y Zakharova, 2016; OMS, 2006). Según la Agencia Internacional para estudios sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), teniendo en cuenta la curva dosis respuesta entre el As y el cáncer de vejiga y pulmón y su papel como disruptor endócrino, el Límite Máximo Permitido (LMP) de As total debería disminuir a 0.5 μg L^{-1} (Salaun et al., 2007).

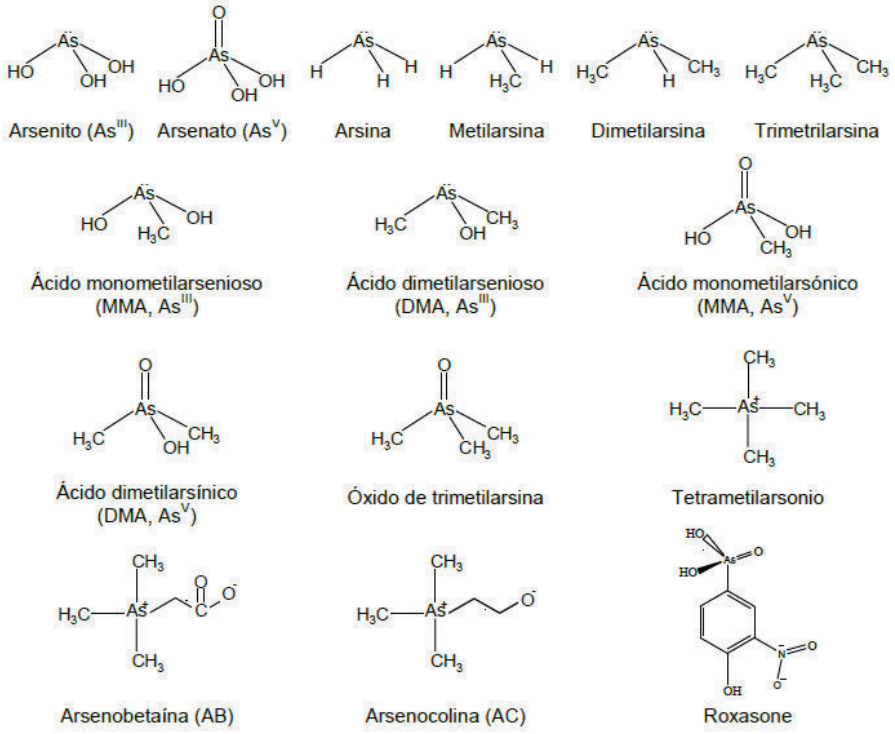
En el Ecuador, el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA) establece los límites máximos de As total dependiendo del criterio de calidad por usos del agua, siendo 50 μg L^{-1} para el agua de consumo humano, 100 μg L^{-1} para el agua de uso agrícola y descargas al alcantarillado público, 200 μg L^{-1} para el agua de uso pecuario, y asciende hasta 500 μg L^{-1} en las descargas a cuerpos de agua salada (Ecuador, 2003). Además, el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), en la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE 1108) sobre el agua potable y sus requisitos, establece la concentración máxima de As en 10 μg L^{-1} (INEN, 2011).

2.1.4 TOXICIDAD

La Agencia Internacional para Estudios sobre el Cáncer (IARC), que evalúa elementos cuyos datos indican que existe evidencia de la capacidad para inducir cáncer en humanos o animales, ubica al As en el Grupo I: el agente es cancerígeno para humanos (IARC, 2006, 2016).

Está definido que el As inorgánico es más tóxico que el orgánico (Salaun et al., 2007) y el As(III) 100 veces más que el As(V) (Mardegan et al., 2012). Las formas arsenicales ingresan al cuerpo humano tanto en su forma orgánica como inorgánica, principalmente mediante el consumo de comida y agua y en menor proporción vía respiratoria o dermal; cabe enfatizar que el As elemental es rápidamente eliminado (OMS, 2011). El cuerpo humano elimina fácilmente el As orgánico así como formas de As inorgánico, pero el As(V) con mayor dificultad que el As(III), todos éstos a través de riñones e hígado mediante la orina (OMS, 2001). En el hígado y los riñones se suceden reacciones de metilación donde actúan enzimas de metil transferencia, que convierten el As(V) en monometil arsénico (MMA) y dimetil arsénico (DMA), formas teóricamente más inofensivas, pero este proceso puede ser inhibido por una exposición altamente aguda. Entonces la toxicidad del As y sus compuestos se define, de mayor a menor: Arsinas> As(III) > óxido de MMA(III) > DMA(V) > MMA(V) > As(V); aunque se demostró mediante un estudio reciente que el MMA(III) es más citotóxico sobre células humanas hepáticas comparado con el As(III) y As(V). Además el As(V) puede reemplazar el fósforo en el ADN, pudiendo inhibir sus mecanismos de reparación (Mandal y Suzuki, 2002). El metabolismo y disposición del As en el cuerpo humano dependerá de su estado de oxidación, particularmente cuando ingresa en dosis muy altas; son importante dos condiciones: 1) las reacciones de oxidación y reducción (redox) entre el As(V) y As(III) en el plasma, y 2) las reacciones consecutivas de metilación. También se conoce que el As es eliminado de la sangre rápidamente (Begerow et al., 2002). En la Figura 2.3 se observan las estructuras de los compuestos de arsénico más comunes a los que está expuesto el ser humano.

FIGURA 2.3 COMPUESTOS COMUNES DE ARSÉNICO



FUENTE: Henke (2009)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.1.5 EFECTOS SOBRE EL ORGANISMO HUMANO

Cuando ingresan en el organismo humano cantidades mayores de un xenobiótico a las que este puede asimilar y desechar, pueden producirse efectos adversos o bioacumulación. En organismos como peces, el As ingerido se metaboliza y bioacumula en forma de arsenobetaína, la cual se mencionó es prácticamente inocua sobre la salud tanto de estos animales como de las personas cuando se lo consume (Armienta et al., 2009). En el hombre, grandes cantidades de As en sus formas tóxicas pueden producir una variedad de padecimientos, dependiendo de la dosis y el tipo de exposición (IARC, 2012).

Los distintos tipos de intoxicación en el ser humano pueden ser: aguda: generalmente una sola exposición en 24 horas; sub aguda: repetidas exposiciones en un lapso de hasta un mes; sub crónica: exposiciones repetitivas entre uno y tres

meses; y crónica: más de tres meses de exposiciones repetidas (Hernández et al., 2011).

Según el tipo de toxicidad, la vía de asimilación y el órgano u órganos blanco, los efectos tóxicos del As pueden ser: respiratorios, pulmonares, cardiovasculares, gastrointestinales, hematológicos, hepáticos, renales, dermales, neurológicos, de desarrollo, reproductivos, inmunológicos, genotóxicos, mutagénicos, carcinogénicos, bioquímicos y diabetes mellitus (Mandal y Suzuki, 2002).

La combinación de estos parámetros de intoxicación definen directamente los efectos probables sobre el organismo humano, como se muestra en la Tabla 2.3.

TABLA 2.3 EFECTOS DEL ARSÉNICO SOBRE EL ORGANISMO

CONCENTRACIÓN	EFECTO
0 – 10 μg L^{-1}	Sin efectos
10 – 200 μg L^{-1}	Concentración tolerable, con bajo riesgo de cáncer en la piel
200 – 300 μg L^{-1}	Posibles lesiones en piel Se incrementa el riesgo de contraer cáncer en la piel después de un largo periodo de exposición
300 – 600 μg L^{-1}	Posibles efectos adversos en personas sensibles; la exposición durante un corto periodo no tiene efectos Lesiones en la piel que incluyen hiperpigmentación después de un largo periodo
600 – 1000 μg L^{-1}	Aparecen síntomas de envenenamiento crónico como lesiones en piel e hiperpigmentación después de un largo periodo de exposición
1000 – 10000 μg L^{-1}	Puede provocar cáncer y muerte
> 10000 μg L^{-1}	Muerte por envenenamiento agudo

FUENTE: CNA (2009)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

Entre los síntomas por intoxicación aguda, desde los 30 a 60 minutos luego de la exposición, se describe dolor abdominal, vómito, dolor muscular y debilidad e irritación de la piel (OMS, 2001). Con la exposición prolongada se puede observar la conocida hiperqueratosis palmo plantar, que es el oscurecimiento de la piel y

aparecimiento de callos o verrugas en las palmas de piel y manos, asociados con alteraciones en los vasos sanguíneos; líneas de Mee en las uñas y deterioro progresivo en respuestas motoras y sensoriales (ATSDR, 2007). Los efectos más graves se observan por intoxicación crónica. Entre estos destacan lesiones dermales como hiper e hipopigmentación, neuropatía periférica, y los distintos tipos de cáncer; también efectos en el desarrollo, enfermedades cardiovasculares, neurotoxicidad y diabetes (OMS, 2011). Las lesiones dermales son el síntoma más común que ocurre debido a periodos de exposición prolongados de años, principalmente por ingesta de agua contaminada con concentraciones mayores a 50 µg L^{-1} (OMS, 2001).

En cuanto a su papel como agente cancerígeno, se puede analizar desde el punto de vista de la vía de exposición y separando la población de estudio en dos grupos: aquellos expuestos vía inhalación y aquellos vía ingestión de agua contaminada (OMS, 2001). Los primeros casos estudiados de cáncer asociados con compuestos de As son de tipo laboral – industrial, donde el As se asimilaba vía respiratoria y dermal, observándose casos de cáncer de pulmón, piel e incluso hígado. Nuevamente se enfatiza que la principal vía de exposición es por el consumo de agua contaminada. En estos casos los tipos de cáncer relacionado son de riñón, vejiga y piel, además de casos de cáncer pulmonar y de hígado; también cáncer de próstata y naso faríngeo en casos relacionados a la urbanización en conjunción con el consumo de agua de pozos (OMS, 2001).

2.1.6 MÉTODOS DE DETECCIÓN

Existe una amplia variedad de metodologías para la detección y especiación de As, tanto en aguas como en múltiples tipos de muestras. Todos estos métodos alcanzan un límite de detección adecuado acorde al nivel recomendado de 10 µg L^{-1}. Lo que diferencia a cada uno de estos es el tipo de instrumentación que requieren, el costo, la preparación y cantidad de muestra y el nivel de preparación que deben tener quienes los lleven a cabo (Armienta et al., 2009; Hung et al., 2004).

Existen también varias técnicas acopladas que permiten una óptima detección de As en diferentes tipos de muestras. Todas éstas son metodologías convencionalmente aceptadas en laboratorios, pero una de sus desventajas más grandes es la dificultad o imposibilidad de realizar análisis en campo, con lo cual las técnicas electroquímicas, en los escenarios planteados en este documento, representan una ventaja sobremanera respecto de éstas (EPA, 2004).

2.1.6.1 Métodos espectrométricos

Estos métodos se basan en la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Específicamente el UV-Vis (ultra violeta – visible), utiliza longitudes de onda entre 100 y 800 nm y se basa en las transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y moleculares. Además arroja datos sobre la existencia de cromóforos, que son átomos o moléculas capaces de absorber la radiación, y/o conjugación en la molécula y el infrarrojo, en la deformación de los enlaces químicos, dando datos sobre grupos funcionales. Los métodos colorimétricos para la detección de As generan arsina (H_3As) en una parte de su proceso. La arsina es un gas altamente tóxico. El límite de detección (LOD) de este método es de 5 $\mu g\ L^{-1}$ (Armienta et al., 2009). Cabe destacar que la normativa ecuatoriana, según el INEN en la NTE 0980, ésta es la metodología aprobada para análisis de As en el país (INEN, 1998).

2.1.6.2 Absorción atómica

La determinación de As por el método de absorción atómica – generación de hidruros – espectrometría de absorción atómica con inyección de flujo (FIAS, por sus siglas en inglés), se basa en tres aspectos. La absorción atómica mide la cantidad de luz absorbida por los átomos del analito, es decir, es un método espectrométrico. De igual manera existe generación de hidruros (arsina) para la determinación del analito. Estos hidruros se forman solo con elementos específicos, entre ellos el As. La FIAS permite el análisis de una menor cantidad de muestra, disminuye la producción de residuos y arsina y posibilita la automatización de la

técnica. Esta metodología permite alcanzar LOD de 0.1 µg L^{-1} (Armienta et al., 2009).

2.1.6.3 Absorción atómica con horno de grafito

En la absorción atómica con horno de grafito (GFAAS, por sus siglas en inglés), se convierte los elementos presentes en una muestra en átomos o iones elementales en estado gaseoso por medio de un proceso llamado atomización. Este método usa energía electrotérmica en horno de grafito, lo que va a permitir la absorción de luz por parte de este elemento. Este método permite un LOD de 1 µg L^{-1} (Armienta et al., 2009).

2.1.6.4 Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado

La espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP – MS, por sus siglas en inglés) es una técnica de análisis elemental e isotópico, usada como técnica estándar en varios tipos de análisis. Este método es ideal para determinar, entre otros metales pesados, al arsénico. Un ICP – MS consta fundamentalmente de cinco partes: introducción de muestras, generación de iones (plasma), interfase de acondicionamiento, discriminador de iones y un detector. En el análisis de As, esta técnica puede alcanzar límites de detección entre 0 – 5000 µg L^{-1} (Armienta et al., 2009).

2.2 ELECTROQUÍMICA

Se define a la electroquímica como la rama de la química relacionada con la interrelación de los efectos eléctricos y químicos. En estos sistemas se analizan los sistemas y factores que interfieren en el transporte de carga entre dos fases, generalmente electrolito – electrodo (Bard y Faulkner, 2001). En una reacción de reducción – oxidación (redox) existe un transporte de electrones entre dos semirreacciones, una que se reduce y otra que se oxida; la corriente eléctrica que

genera este sistema permite el estudio de las características de la reacción. Principales características de una reacción redox electroquímica:

- Son reacciones en sistemas heterogéneos
- Están fuera del equilibrio: las concentraciones de las especies varían con el tiempo cerca de la interfase
- Son unidireccionales
- Son compartamentalizadas (Baeza y García, 2011)

2.2.1 ECUACIONES FUNDAMENTALES

En el estudio de la electroquímica es importante tener las herramientas matemáticas para predecir cómo se comportará un sistema determinado. La Ecuación 2.1 describe la reacción fundamental para el estudio de la electroquímica, donde *O* y *R* representan la especie oxidada y reducida respectivamente, y *n* el número de electrones (e^-). En la Tabla 2.4 se muestran las ecuaciones fundamentales en electroquímica.

$$O + ne^- \rightleftarrows R \qquad (\mathbf{2.1})$$

TABLA 2.4 ECUACIONES FUNDAMENTALES EN ELECTROQUÍMICA

ECUACIÓN Y FÓRMULA	TÉRMINOS	FUNCIÓN
DE NERNST $E = E° - \frac{RT}{nF} ln \frac{\mathcal{A}_B^b}{\mathcal{A}_A^a}$	*E*: Potencial de la celda (V) *E°*: Potencial estándar (V) *R*: 8.314472 J/(K mol) *T*: Temperatura (°K) *n*: Número de electrones de la semireacción *F*: 96485.34 (C/mol)	Representa la fuerza impulsora de una reacción en condiciones estándar Da el E de una celda cuando la actividad de los reactivos no es la unidad. Comúnmente se asume que la actividad es igual a la concentración de la especie

	$\mathcal{A}$: Actividad de la especie (mol/L)	
LEY DE FARADAY $Q = nFN$	*Q*: Carga (C) *N*: Cantidad de producto (mol)	Correlaciona la carga total Q que pasa a través de una celda con la cantidad de producto N
CONSTANTE DE EQUILIBRIO $K = 10^{nE°/0.05919}$ $K = e^{-\Delta G/RT}$	*K*: Constante de equilibrio *ΔG*: Variación de energía libre (Δ = nFE)	Representa la relación entre las actividades de las especies involucradas en la reacción cuando esta está en equilibrio, es decir E=0
CORRIENTE LÍMITE DE TRANSFERENCIA DE MASA $i = nFAmC$	*i*: Corriente (A) *A*: Área del electrodo (cm^2) *m*: Coeficiente de transferencia de masa (cm/s) *C*: Concentración de las especies convertidas en el electrodo (mol L^{-1})	
DE COTTRELL $i(t) = \frac{nFAD_o^{1/2}C_o^*}{\pi^{1/2}t^{1/2}}$	*i(t):* variación de corriente respecto al tiempo D_o: Coeficiente de difusión (cm^2/s) C_o*: Concentración (mol/cm^3) *t*: tiempo (s)	Predice la variación de corriente en función del tiempo cuando se aplica un pulso de potencial bajo condiciones de sobre potenciales altos La corriente es limitada por la difusión, por ende la solución no debe estar agitada
CORRIENTE DE PICO RANDLES – SEVCIK $i_p = (2.69x10^5)n^{3/2}AD_o^{1/2}C_o^*v^{1/2}$	i_p: Corriente de pico *v*: Velocidad de barrido (V/s)	Válida para sistemas de macro electrodos
MICROELECTRODO DE DISCO $i = 4nFDCr$	*r*: Radio del electrodo	Generalmente usada en los microelectrodos convencionales Deducida en función de la ecuación de Corriente límite de transferencia de masa

FUENTE: Ciobanu et al. (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

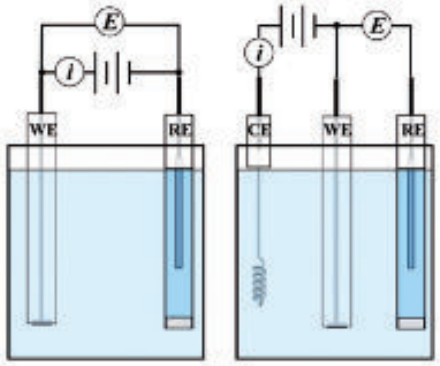
2.2.2 CELDA ELECTROQUÍMICA

Un electrodo se define como un conductor, generalmente metálico, en contacto con una parte no metálica en un circuito. En este contexto, una celda electroquímica se define como dos electrodos separados por al menos una fase electrolítica (Baeza y García, 2011). Las celdas electroquímicas se dividen en dos sub grupos: celdas galvánicas, donde las reacciones redox son espontáneas y generan una corriente eléctrica; y celdas electrolíticas, donde un potencial mayor a su potencial de circuito

abierto (OCP, por sus siglas en inglés) es requerido para iniciar las reacciones (Chen, 2007).

En una celda electroquímica electrolítica en la que se trabaja con pulsos o barridos de potencial, se usa por lo general un arreglo de tres electrodos, como se muestra en la Figura 2.4 y es diferente al arreglo doble de cátodo y ánodo de la celda galvánica, debido a que las reacciones que se generan pueden alterar la composición de uno de los electrodos, afectando las lecturas y resultados.

FIGURA 2.4 CELDA ELECTROQUÍMICA



Celdas electroquímicas con arreglo de dos electrodos (izquierda) y tres electrodos (derecha)

FUENTE: Ciobanu et al. (2007)

- Electrodo de trabajo (ET o WE): Generalmente el cátodo, es donde ocurre la reacción de interés (Chen, 2007).

- Contra electrodo (CE): Donde se da la reacción complementaria. Debe poseer un área mayor al ET, proporciona un sumidero de corriente para derivar el exceso de corriente lejos del ER (Chen, 2007).

- Electrodo de referencia (ER o RE): Generalmente el ánodo, posee una composición definida y constante, por lo que tiene un potencial fijo con el cual se monitorea el ET (Chen, 2007).

2.2.3 ELECTROLITO SOPORTE

Los fenómenos o reacciones electrolíticas ocurren en un medio, usualmente un solvente, que contiene iones disueltos que pueden movilizarse y pueden conducir la corriente eléctrica. Esta solución minimiza el efecto de la migración de los iones electroactivos (Bard y Faulkner, 2001). Este electrolito debe tener una baja reactividad, que debe ser compatible con los electrodos de oxidación y reducción y con las especies reactivas que se crean en éstos. También debe procurarse que su concentración sea por lo menos 100 veces mayor al analito que se analiza. Otra característica a tomar en cuenta del electrolito soporte es su resistividad, caracterizada por la facilidad de la corriente eléctrica a transportarse por la fase iónica disuelta, la cual se ve también afectada por la geometría y tamaño del electrodo (Creager, 2007).

2.2.3.1 Constante de tiempo de la celda

La constante de tiempo de la celda es el tiempo que le toma cargarse o descargarse a la doble capa eléctrica en un electrodo de trabajo idealmente polarizable; en una celda simple se considera el producto de la resistencia de la solución y la capacitancia de la doble capa. La constante de tiempo está en el orden de los microsegundos (Creager, 2007).

2.2.4 CINÉTICA DE TRANSFERENCIA DE MASA

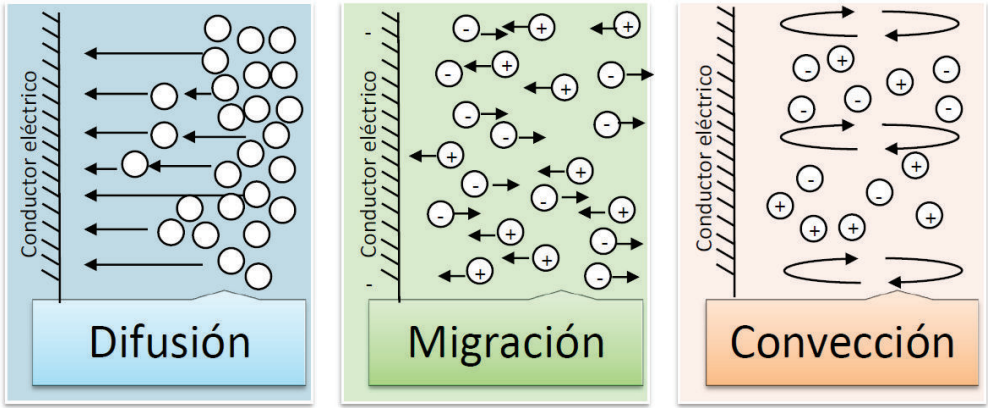
En una celda electroquímica el analito de interés está uniformemente distribuido en el electrolito solvente. Al ser un sistema dinámico a nivel atómico, no existe un equilibrio constante de este analito en toda la celda, esto puede darse de tres formas, las cuales se muestran en la Figura 2.5:

- Convección: El transporte de materia se realiza por medios físicos, al agitar una disolución, al agitar o vibrar el electrodo de trabajo (Baeza y García, 2011).

- Migración: Las especies con carga eléctrica son transportadas a través de un campo eléctrico, el cual se forma al imponer una diferencia de potencial (Baeza y García, 2011).

- Difusión: Es el más importante de los tres. Es el movimiento espontáneo debido a un gradiente de concentración, la materia fluye de una región encentrada a otra de menor concentración para finalizar en un estado homogéneo (Baeza y García, 2011).

FIGURA 2.5 MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE MASA



FUENTE: Baeza y García (2011)

Estos fenómenos se expresan de forma matemática y son variables que influyen en los resultados de los ensayos en las celdas. Un experimento ideal es en donde éstos no influyan o lo hagan de forma mínima. Para minimizar el efecto de la convección se puede trabajar en una celda, ya sea sin agitación y lo más estacionaria posible, o con una agitación controlada y constante. En el fenómeno de la migración lo más adecuado es usar un electrolito (solvente – electrolito) para así homogenizar eléctricamente la celda (Baeza y García, 2011).

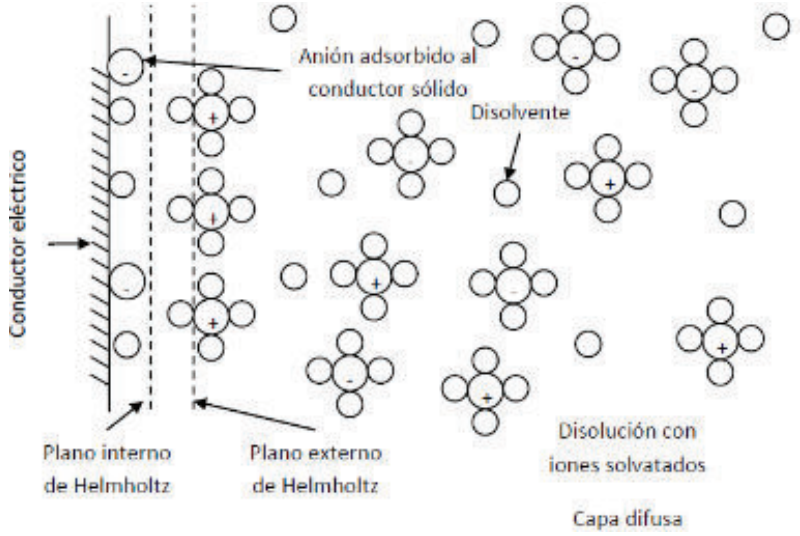
Finalmente, el más difícil de controlar es la difusión. Al darse las reacciones redox en la superficie de los electrodos, se reduce a un volumen mínimo, con lo que se genera un gradiente a una distancia del orden de los micrómetros, esto produce una capa de difusión. La capa de difusión se comporta de manera distinta en macro

y micro electrodos. En el caso de los macro electrodos se puede reducir su efecto mediante la agitación de la celda; para los microelectrodos por otro lado, la capa de difusión no afecta de sobremanera, lo cual los hace más atractivos en su funcionamiento (Forster y Keyes, 2007).

2.2.4.1 Doble capa eléctrica

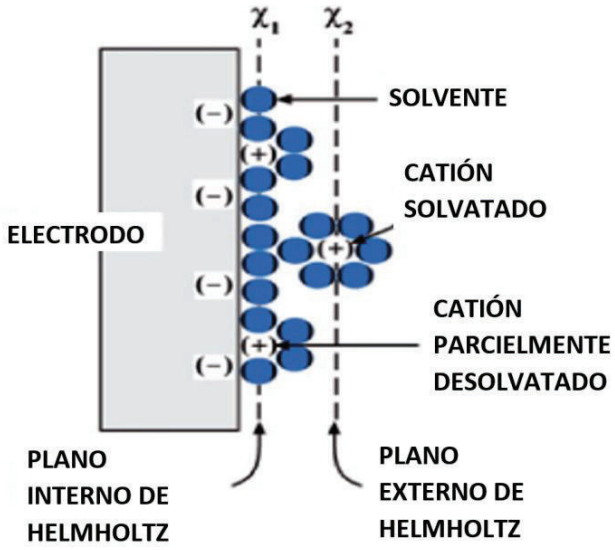
La doble capa eléctrica se da como consecuencia de la aplicación de un potencial sobre los electrodos donde éstos se polarizan. Los iones con la misma carga que la polarizada en el electrodo son atraídos a este, mientras que los de carga opuesta, repelidos. Esta interfase se comporta como un capacitor. En las Figuras 2.6 y 2.7 se muestra de una manera esquematizada la doble capa eléctrica. En estas se observa los límites interno y externo del plano de Helmholtz que es donde se produce la resistencia al paso de cargas hacia y desde el electrodo (Bard y Faulkner, 2001).

FIGURA 2.6 DOBLE CAPA ELÉCTRICA Y PLANO DE HELMHOLTZ



FUENTE: Baeza y García (2011); Bard y Faulkner (2001)

FIGURA 2.7 PLANO DE HELMHOLTZ

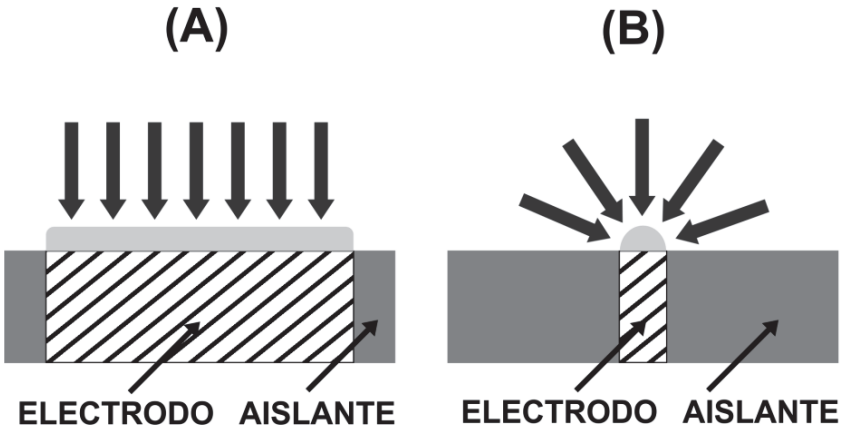


FUENTE: Creager (2007)

Una vez polarizado el electrodo y superando el sobrepotencial de la semireacción, denominado sobrevoltaje (overpotential, en inglés), en los electrodos se da paso a las reacciones redox. En éstas, la especie de interés se oxida o reduce, convirtiéndose en una especie diferente; esta reacción se da en la superficie próxima del electrodo. Cuando la especie reacciona ya no interactúa con la superficie metálica, entonces, nuevas moléculas o átomos del analito no transformado se acercan a la superficie y la especie transformada se aleja. Este gradiente tiene una tasa específica, el cual es el coeficiente de difusión (D_o) y depende del analito en cuestión y del electrolito donde se lleve a cabo el ensayo. La velocidad en que se *reabastece* el analito no transformado hacia la superficie del electrodo puede determinar la eficiencia del proceso. La capa de difusión establece una de las grandes diferencias entre macro y micro electrodos, como se observa en la Figura 2.8. Teniendo en cuenta que su grosor está en el orden de los pocos micrómetros, al compararla con el diámetro de un macroelectrodo (>25 µm) se observa que la relación del tamaño de éste con la capa es muy grande, lo que da paso a que la difusión sea un fenómeno tipo planar, es decir en dirección perpendicular a la superficie, lo cual resta efectividad a la difusión del analito debido a que la velocidad del proceso redox es mayor a la que el analito no transformado atraviesa la capa de difusión para reaccionar, y al mismo tiempo el analito que ha reaccionado sale al medio para dar paso al primero. Por otro lado en los

microelectrodos (<25 μm), tanto la capa como la superficie tienen similar magnitud, haciendo que la capa de difusión se entienda como un fenómeno esférico, es decir que es eficaz en todas las direcciones respecto de la superficie del electrodo. Tanto la tasa de reacción como la de reabastecimiento del analito en las proximidades del electrodo son similares, haciendo a la difusión en estos electrodos muy eficiente.

FIGURA 2.8 REPRESENTACIÓN DEL FENÓMENO DE DIFUSIÓN



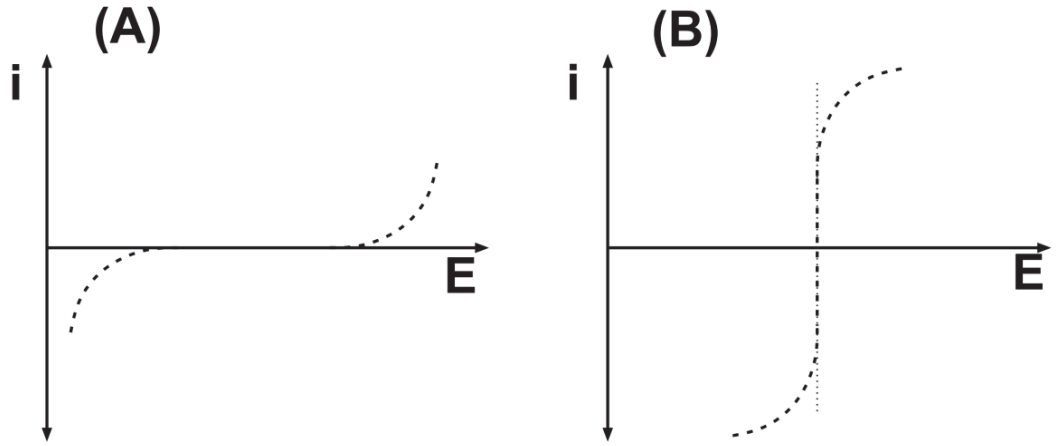
Representación del fenómeno de difusión A) planar, en el caso de un macroelectrodo, y B) semiesférica, para el caso de un microelectrodo

FUENTE: Forster y Keyes (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.5 CURVA I/E

En los experimentos voltamétricos donde se determina una corriente como función de la aplicación de un potencial, el gráfico obtenido se denomina voltamograma. El comportamiento de un ET viene representado por un voltamograma donde se aprecia un cambio considerable en el potencial, debido al paso de una corriente infinitesimal. Por otro lado, el ER se representa en un voltamograma donde el potencial no varía con el paso de una corriente (Baeza y García, 2011). Ambos pueden ser representados mediante voltamogramas como se muestra en la Figura 2.9.

FIGURA 2.9 VOLTAMOGRAMAS DE ELECTRODOS IDEALES



Comportamiento de (A) un electrodo ideal polarizado, ET; y (B) un electrodo ideal no polarizado, ER

FUENTE: Baeza y García (2011); Bard y Faulkner (2001)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.6 ELECTRODOS

Un electrodo representa a un conductor o semiconductor en una celda electroquímica. También se define como la fase conductora donde ocurre la trasferencia de electrones. El electrodo puede ser un ánodo o un cátodo (Ciobanu et al., 2007).

En este documento se denomina macroelectrodo a un electrodo, por lo general de disco, cuyo diámetro es superior a los 25 μm. Se añade el prefijo *macro* para diferenciarlo de los microelectrodos, cuyo diámetro es menor que 25 μm (Stulik et al., 2000), dejando el genérico *electrodo* para referirse a cualquier tipo de estos dos.

2.2.6.1 Electrodo de referencia

Se debe procurar que el ER sea un electrodo ideal no polarizado, pues su potencial no debe variar a pesar de que fluya corriente a través de él. Las reacciones deben ser reversibles, para permitir calcular el potencial a partir de la ecuación de Nernst (Tabla 2.4) y debe ser capaz de recuperar su potencial después del estrés generado

por la corriente. Los componentes básicos del ER son: el material del cuerpo, generalmente plástico o vidrio; el sellamiento superior, que va a afectar el desempeño del ER en varias formas; la unión, que separa la solución interna que rellena el ER del electrolito externo y que puede ser de cerámica, polietileno o teflón, vidrio, celulosa, entre otras. El componente activo del ER, que define la línea base de potencial del electrodo (Smith y Stevenson, 2007).

2.2.6.2 Macroelectrodos

Un material sólido que se use como electrodo electroquímico debe poseer: conductividad eléctrica, estabilidad electroquímica bajo un amplio rango de condiciones, una rápida transferencia de electrones bajo una amplia variedad de sistemas redox y propiedades químicas, eléctricas y micro estructurales reproducibles. Existe además un proceso electroquímico conocido como pretratamiento que sirve para *activar* los electrodos, el cual incluye un condicionamiento de la morfología de la superficie, microestructura y química, como una vía de obtener bajas corrientes de fondo y rápidas cinéticas de reacción (Swain, 2007). Estos electrodos son comúnmente usados como electrodos de trabajo debido a las características mencionadas.

Se pueden agrupar a los electrodos en tres grupos:

- Electrodos de Carbono: Carbono vítreo, fibras de carbono, nanotubos de carbono, filmes de diamante, entre otros (Swain, 2007).

- Electrodos Metálicos: Oro y platino policristalino y monocristalino, entre otros (Ag, Hg, Cu, etc.) (Swain, 2007).

- Electrodos Semiconductores: Óxido de indio – estaño (ITO, por sus siglas en inglés), entre otros (Swain, 2007).

2.2.6.3 Ultra microelectrodos UMEs

A medida que la superficie de un electrodo se hace más pequeña, su comportamiento pasa a ser el de un electrodo con dimensiones infinitas debido a los cambios en el comportamiento de la transferencia de masa y esto debido a que el diámetro del electrodo pasa a ser menor que el espesor de la capa de difusión. Por esto, los ultra microelectrodos, o simplemente microelectrodos, obtienen notable mejoras tales como la disminución de la caída óhmica de potencial, rápido alcance de la señal de estado estable y el incremento de la corriente debido a la eficaz transferencia de masa (Stulik et al., 2000). El espesor de la capa de difusión depende del tiempo. A tiempos suficientemente cortos cualquier electrodo se puede comportar como uno de dimensiones infinitas. Entonces existe una relación directa entre el diámetro del electrodo y el tiempo de análisis para que sea considerado operacionalmente microelectrodo. Esto da paso también a que con los UMEs se puedan realizar análisis con velocidades muy altas (> 1 V s^{-1}) (Stulik et al., 2000). En la Tabla 2.5 se resumen las ventajas y aplicaciones de los microelectrodos:

TABLA 2.5 VENTAJAS Y APLICACIONES DE LOS UMEs

VENTAJAS	APLICACIONES
• Se obtiene rápidamente un estado estable para un proceso faradaico • Existe una mejorada relación corriente faradaica – corriente de carga, debido al área • Disminuye la caída óhmica de potencial • Puede aplicarse una alta velocidad de lectura debido a que se suprime la corriente de carga • Mejora la disminución de la señal de ruido cuando se ensaya en muestras estables (sin agitación) • Debido a su tamaño, se pueden realizar medidas con muy poco volumen de muestra (microlitros)	• Estudio de los mecanismos y la cinética de reacciones electroquímicas • Análisis electroquímico a nivel de trazas • Detección analítica • Reacciones electroquímicas en sustancias con resistividades muy altas • Mediciones *in vivo* de sistemas biológicos • Detección en líquidos que fluyen • Microscopía electroquímica de barrido (SECM, por sus siglas en inglés)

FUENTE: Forster y Keyes (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.7 NANOPOROS DE ORO

Los filmes nanoporosos de oro (NPGF, por sus siglas en inglés) representan grandes avances en su aplicación en catálisis y como sensores (Sukeri et al., 2015). Entre sus ventajas están su área superficial, entre unas pocas hasta decenas de veces mayores a los electrodos convencionales, dependiendo del método de fabricación (Seker et al., 2009), lo cual representa un mejor transporte de electrones, bajas caídas de resistencia óhmica, fabricación simple y bajo costo y buena tolerancia a las fallas. La gran relación área – volumen de los nanoporos de oro es la característica principal que promueve su aplicación como sensor, ya que ésta implica una alta actividad catalítica, conductividad eléctrica y propiedades mecánicas (Jiang et al., 2015; Yang, Chen, et al., 2016).

2.2.8 EXPERIMENTOS ELECTROQUÍMICOS

En la Tabla 2.6 se resumen los distintos experimentos que se llevan a cabo en ensayos electroquímicos.

TABLA 2.6 EXPERIMENTOS ELECTROQUÍMICOS

<table>
<tr><td rowspan="4">Potencial Controlado</td><td rowspan="3">Pulso de Potencial</td><td>Amperometría</td><td colspan="2">Cronoamperometría

Doble potencial</td></tr>
<tr><td colspan="3">Cronoculombimetría</td></tr>
<tr><td colspan="3">Voltametría de muestra de corriente

Voltametría de diferencia de pulso (DPV, por sus siglas en inglés)

Voltametría de onda cuadrada (SWV, por sus siglas en inglés)</td></tr>
<tr><td>Barrido de Potencial</td><td>Voltametría</td><td>Estacionarias</td><td>Voltametría de barrido lineal (LSV, por sus siglas en inglés)</td></tr>
</table>

<table>
<tr><td rowspan="6"></td><td rowspan="6"></td><td rowspan="6"></td><td></td><td>Voltametría cíclica</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Hidrodinámicas</td><td>Solución agitada/celda de flujo</td></tr>
<tr><td>Electrodo de disco rotatorio</td></tr>
<tr><td>Electrodo de anillo rotatorio</td></tr>
<tr><td colspan="2">Voltametría de Redisolución</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Potencial Constante</td><td rowspan="2">Electrólisis a granel</td><td colspan="2">Solución agitada</td></tr>
<tr><td colspan="2">Electrólisis de flujo</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Corriente Controlada</td><td colspan="2" rowspan="3">Cronopotenciometría</td><td colspan="2">Corriente constante</td></tr>
<tr><td colspan="2">Corriente de incremento lineal</td></tr>
<tr><td colspan="2">Corriente revertida</td></tr>
<tr><td colspan="2">Culombimetría</td><td colspan="2">Cíclica</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td colspan="2">Valoración culombimétrica</td></tr>
<tr><td></td><td colspan="4">Electrólisis</td></tr>
</table>

FUENTE: Ciobanu et al. (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.9 TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS

Se observa en la tabla resumen anterior que las técnicas electroquímicas se dividen en dos grandes grupos: aquellas donde se controla la corriente y se observa una respuesta del potencial y aquellas donde se controla el potencial del ET, caso de este trabajo, y se obtiene una medida de corriente cuyo gráfico, i – E (intensidad de corriente en función del potencial) se denomina voltamograma.

Dentro de las técnicas amperométricas también se puede observar una división clara, en las que se mantiene un potencial constante, cronoamperometría; y en las que el potencial se varía gradualmente, dando éstas un gran número de técnicas más específicas denominadas técnicas voltamétricas (Bard y Faulkner, 2001).

El análisis químico por voltametría se basa en la interpretación de las curvas intensidad de corriente – potencial (i – E) que resultan de la reducción u oxidación eléctrica de los analitos en solución (Armienta et al., 2009). En general, las técnicas voltamétricas se usan en la determinación cuantitativa de compuestos orgánicos e inorgánicos, medición de cinética y velocidad de reacciones, determinación de procesos de adsorción, de transferencia de electrones y mecanismos de reacción, de propiedades termodinámicas de especies solvatadas; estudios fundamentales de procesos redox y determinación de complejación y valores de coordinación también son efectuados con esta técnica (Bertrand, 1998).

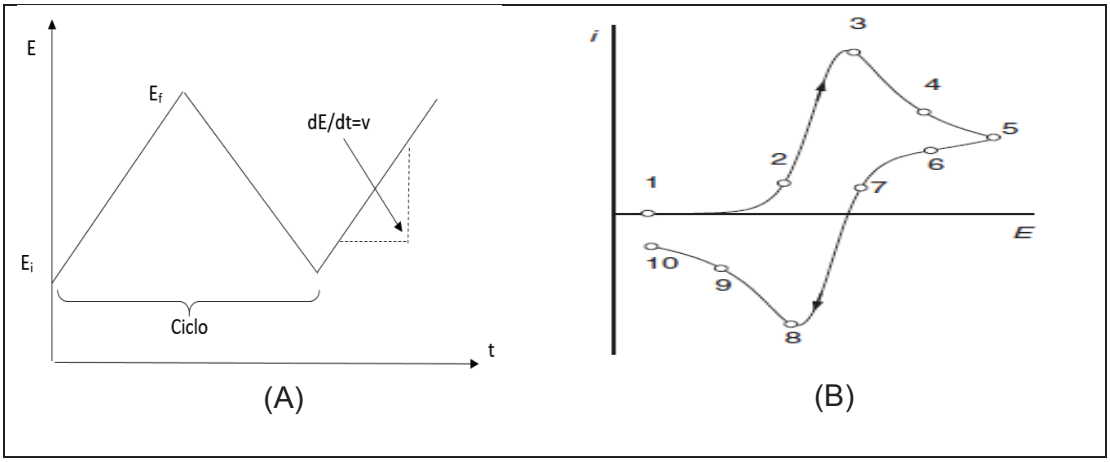
2.2.9.1 Voltametría cíclica

Es la técnica mayormente empleada para estudiar mecanismos de reacción debido a que arroja información rápida sobre el comportamiento de las especies redox. Esta técnica se basa en la variación de potencial sobre un electrodo de trabajo en direcciones tanto hacia adelante y hacia atrás, lo cual resulta un perfil de triángulo isósceles en el gráfico de E – t, como se ve en la Figura 2.10 A. En este método se mantiene una velocidad de barrido constante en un número n de ciclos, sobre un electrodo estacionario, estático y sin agitación en la celda. Al graficar la respuesta de corriente en función del potencial, se obtiene un gráfico i – E, que se denomina voltamograma cíclico, Figura 2.10 B. (Baeza y García, 2011; Bard y Faulkner, 2001; Denuault et al., 2007).

El perfil del voltamograma cíclico, con la clásica *forma de pato* (Figura 2.10 B), se debe a la evolución del perfil de concentración resultante del barrido de potencial y la difusión planar. Se parte de la premisa de una especie O, reducible, y una especie R, oxidable (Ecuación 2.1), esto es un par redox. Primero, la especie R se consume

en el electrodo y se observa una corriente de oxidación (1 – 7), mientras que en el proceso posterior (7 – 10), la especie se reduce y se observa su perfil respectivo (Bard y Faulkner, 2001).

FIGURA 2.10 VOLTAMETRÍA CÍCLICA



Señal de la aplicación de (A) potencial en función del tiempo, y (B) la respuesta de corriente en función del potencial aplicado (voltamograma)

FUENTE: Denuault et al. (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

Para este caso en el que prima una difusión planar, clásica en macroelectrodos, la intensidad de pico de corriente medida se rige por la Ecuación 2.3, de Randles – Servcik para una temperatura de 25° C en función de la Ecuación 2.2, dadas en la Tabla 2.4.

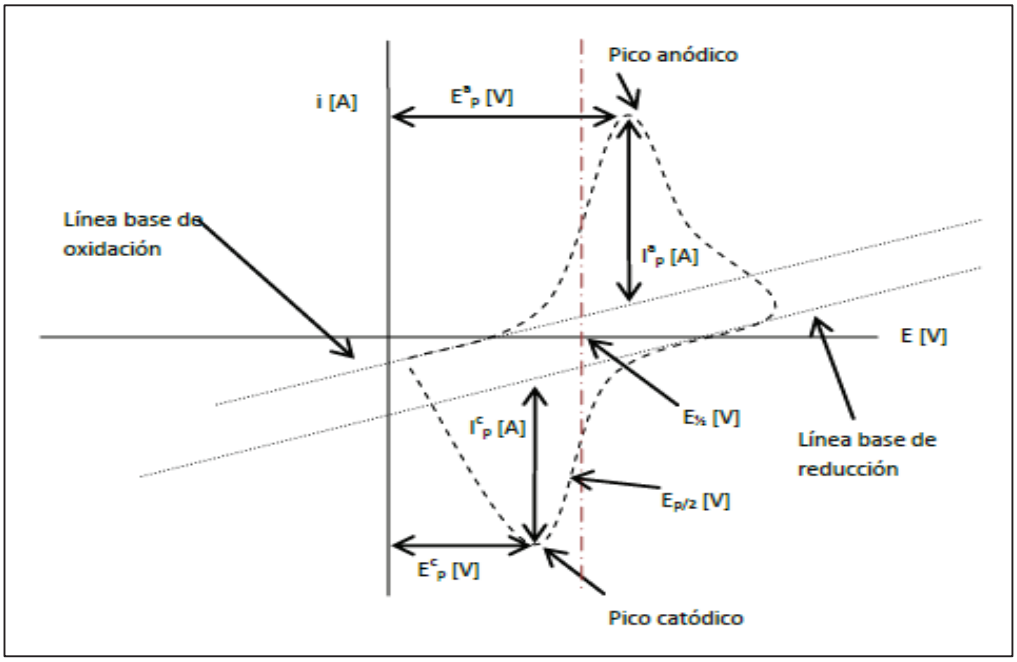
$$i_p = 0.4463 \frac{n^{\frac{3}{2}} F^{\frac{3}{2}}}{R^{\frac{1}{2}} T^{\frac{1}{2}}} A D_o^{\frac{1}{2}} C_o^* v^{\frac{1}{2}} \qquad (\mathbf{2.2})$$

$$i_p = (2.69x10^5) n^{\frac{3}{2}} A D_o^{\frac{1}{2}} C_o^* v^{\frac{1}{2}} \ (solución\ para\ 25°C) \qquad (\mathbf{2.3})$$

En la Figura 2.11 se observa los aspectos principales de un voltamograma cíclico clásico, en una reacción redox reversible. Los más importantes son los potenciales y picos tanto catódico y anódico de reducción y oxidación, respectivamente. Éstos se miden a partir de la línea base de oxidación o reducción, de forma que la altura del pico, que es perpendicular al eje del potencial, cortado por esta línea base,

representa la intensidad del pico en unidades de corriente (amperios) o área en unidades de carga (coulombs) (Bard y Faulkner, 2001).

FIGURA 2.11 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO



E^c_p: Potencial de pico catódico
E^a_p: Potencial de pico anódico
I^c_p: Intensidad de corriente de pico catódico
I^a_p: Intensidad de corriente de pico catódico

FUENTE: Baeza y García (2011)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.9.1.1 Par redox

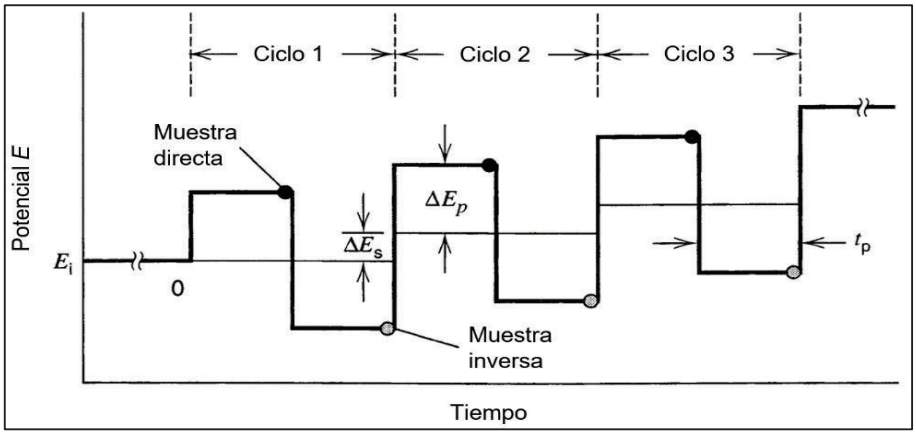
Un par redox es un compuesto donde existe una especie que se oxida, mientras otra por una reacción conjugada, se reduce. El par hexacianoferrato (II)/(III) de potasio es conocido por su óptimo comportamiento tanto químico como electroquímico, por lo que es frecuentemente usado como sistema modelo en experimentos electroquímicos (Van Benschoten et al., 1983).

La voltametría cíclica realizada en una solución que contiene un par redox da información sobre: el potencial de reducción estándar (E°); el número de electrones transferidos en la reacción (n); el coeficiente de difusión (D); la reversibilidad electroquímica; los efectos de la variación de la concentración y la velocidad de barrido; y las dimensiones del electrodo (Evans et al., 1983). Estos parámetros se operan con base en las ecuaciones mostradas en la Tabla 2.4; de Randles – Sevcik para macroelectrodos (Ecuación 2.3), o la ecuación de corriente límite de transferencia de masa, para microelectrodos, siendo la última la que se va a aplicar en este trabajo.

2.2.9.2 Voltametría de onda cuadrada

Dentro de las técnicas amperométricas que combinan barrido y pulsos, la voltametría de onda cuadrada (SWV, por sus siglas en inglés), por sobre la voltametría de barrido lineal, es la técnica más usada en combinación con la ASV (SWASV) (Liu y Huang, 2014). Esta técnica combina la supresión de la señal de fondo y la sensibilidad de la voltametría de diferencia de pulsos, el valor diagnóstico de la voltametría de pulso normal y la capacidad de discriminar productos directamente de la forma de la voltametría de pulso inversa. La SWV se caracteriza por una altura de pulso, ΔE_P, medida respecto del correspondiente escalón de la escalera y un ancho de pulso, t_P. La escalera se desplaza por ΔE_S al comienzo de cada ciclo; así, la velocidad de barrido $v = \Delta E_S/2t_P$, como se puede observar en la Figura 2.12. La lectura comienza a un potencial inicial E_i, el cual se puede aplicar en cualquier tiempo para inicializar el sistema (Bard y Faulkner, 2001; Bertrand, 1998; Denuault et al., 2007).

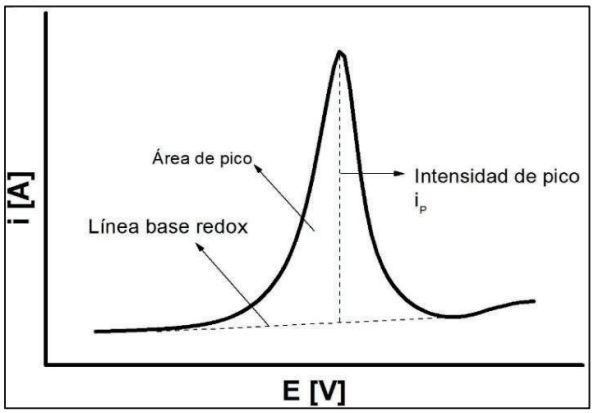
FIGURA 2.12 VOLTAMETRÍA DE ONDA CUADRADA



FUENTE: Bard y Faulkner (2001)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

La Figura 2.13, muestra el voltamograma clásico obtenido al aplicar la voltametría de onda cuadrada. De éste se pueden usar 2 parámetros principales: la intensidad o altura de pico y el área de pico, ambos medidos a partir de la línea base de oxidación o reducción. De manera similar a la voltametría cíclica, esta curva se debe a la respuesta del paso de electrones desde el electrodo hacia la solución, generalmente después de un proceso de preconcentración. Tanto la altura y el área de pico como su forma (más o menos definido), el potencial al cual se obtiene, la línea base redox, entre otros, vienen determinados por los parámetros ya mencionados de la SWV.

FIGURA 2.13 VOLTAMOGRAMA DE ONDA CUADRADA



FUENTE: Denuault et al. (2007)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.2.9.3 Voltametría de redisolución

Es un método analítico que usa un paso de preelectrólisis en masa para preconcentrar o depositar una substancia de una solución sobre la superficie de un electrodo. Luego de esto, la sustancia es redisuelta desde el electrodo usando alguna técnica específica (SWV, LSV, DPV, etc.) (Bard y Faulkner, 2001). Es una técnica usada para la determinación cuantitativa y la especiación de ciertos metales y complejos metálicos. Su principal aplicación es el análisis de iones metálicos y su paso de preelectrólisis permite la detección en soluciones muy diluidas (10^{-10} hasta 10^{-12} mol L^{-1}), siendo la más sensible en comparación con otras técnicas electroquímicas (Bertrand, 1998). La cantidad de analito se calcula en función de la carga del pico de redisolución, su altura o su área. Estableciendo correctamente los parámetros de la deposición y manteniéndolos constantes y usando adición estándar o calibración, esta cantidad se puede relacionar con la concentración de dicho analito. Además, la preparación de la muestra es muy sencilla y tiene una excelente selectividad (Denuault et al., 2007).

Existen tres variaciones de los análisis de redisolución:

- Voltametría de redisolución catódica: Se trabaja generalmente con un electrodo de gota colgante de mercurio (HDME, por sus siglas en inglés). Se usa para determinar substancias que forman sales insolubles con el ion de mercurio. Con este se han determinado aniones inorgánicos como haluros, seleniuros y sulfuros y oxianiones; además de compuestos orgánicos (Bertrand, 1998).

- Voltametría de redisolución anódica: Es la técnica más usada para determinación de trazas de varios elementos metálicos y semimetálicos. Además del bajo límite de detección (10^{-10} hasta 10^{-12} mol L^{-1}), se adiciona la habilidad para determinar simultáneamente 4 a 6 metales diferentes al mismo tiempo (Bertrand, 1998).

- Voltametría de redisolución adsortiva: Este método se diferencia de los anteriores en que el paso de preconcentración del analito se completa mediante

adsorción en la superficie del electrodo o por reacciones específicas sobre electrodos modificados químicamente, independientemente de la aplicación de potencial (Bertrand, 1998).

Dentro de las técnicas de redisolución se trabaja con un electrodo de gota colgante de mercurio, específicamente por voltametría de redisolución catódica, debido a la ventana de potencial del mercurio que trabaja con potenciales más negativos. Cuando se detecta As con HDME mediante CSV, es necesaria la presencia de Se(IV) o Cu(II). Con el cobre se forma un compuesto intermetálico (As_xCu_y) sobre la superficie de mercurio en el paso de preelectrólisis. También en el paso de redisolución en dirección catódica se forma arsina. La ASV se usa por sobre la CSV debido a que prescinde del uso de Se(IV) o Cu(II), evita le generación de arsina (Liu y Huang, 2014), evita un posible doble pico entre el As y el Cu que pueda quedar libre y la formación de los compuestos intermetálicos y no usa el HDME que resulta tóxico y precisa cuidados en la manipulación; además el oro y el platino se desenvuelven en ventanas de potencial más bien positivas, las adecuadas para los potenciales redox previamente identificados.

Como se observa en la Figura 2.14, el proceso de redisolución implica cuatro etapas:

- Limpieza: En la que se polariza el ET en función de la técnica a usarse, positivamente para ASV y negativamente para CSV. Esto para asegurarse que todo el analito esté en su estado basal previo a la deposición.

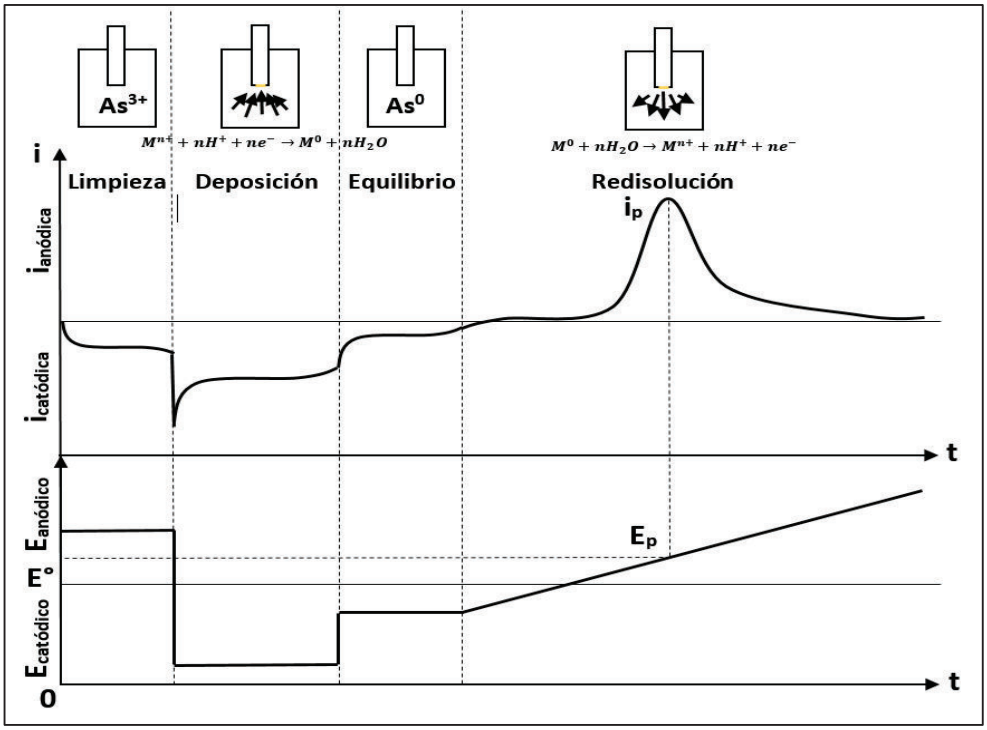
- Preconcentración o deposición: Donde se polariza al ET con un potencial específico que reduzca, en la ASV, u oxide, cuando la CSV, el analito de interés; por un tiempo determinado (tiempo de deposición) suficiente para que toda la muestra cerca del electrodo reaccione. Su duración es de aproximadamente 30 a 300 segundos, dependiendo de varios factores.

- Equilibrio: Generalmente se usa con un potencial más leve al usado en la preconcentración con el fin de que posibles interferentes de hidrógeno u oxígeno (dependiendo del método) formados en el paso previo, sean eliminados del ET.

- Redisolución: Es el barrido de potencial inverso aplicado en el ET con la finalidad de reoxidar (ASV) o reducir (CSV) el analito preconcentrado, se aplica un barrido positivo o negativo, respectivamente. Es el paso donde se registra el voltamograma con el pico respectivo de redisolución.

Debido a que actualmente los UMEs permiten análisis mucho más sensibles, suprimen el ruido de fondo y pueden preconcentrar el analito a potenciales más bajos, el primero y tercer pasos pueden reducirse a unos cuantos segundos (Stulik et al., 2000).

FIGURA 2.14 VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN



FUENTE: Baeza y García (2011)
ELABORADO POR: ORELLANA D.

2.3 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Se define a la repetibilidad como la más pequeña variación dada en los resultados de una medición, es una medida de variabilidad en los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo (horas). La reproducibilidad por otro lado implica un plazo de tiempo mayor (días), o la mayor variación en los resultados como una medida de la variabilidad en los resultados entre equipos, herramientas o laboratorios. La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para permanecer inalterado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método; proporciona una indicación de la fiabilidad del método durante su uso normal (Magnusson y Oenemark, 2014).

CAPITULO 3

METODOLOGÍA

3.1 INSTRUMENTAL Y REACTIVOS

Los ácidos usados en los ensayos, tanto el H_2SO_4 como el HCl, fueron preparados a partir de la dilución ácidos Merck (H_2SO_4 de 98% de pureza y HCl fumante de 60%) sin previa purificación y almacenados adecuadamente en frascos de vidrio. La solución estándar de As(III) de concentración 10 mmol L^{-1} (750 mg L^{-1}) fue preparada con base en arsenito de sodio ($NaAsO_2$) Merck, esta se almacenó en un frasco de vidrio protegido de la incidencia de luz solar para evitar la fotooxidación. A partir de sulfato de cobre (II) ($CuSO_4$) se preparó una solución madre de Cu(II) de concentración 360 mg L^{-1} para el análisis de interferente. Las soluciones ácidas fueron renovadas mensualmente mientras que la solución madre de As(III) se renovó cada dos meses. La solución de PBS usada fue previamente preparada en el laboratorio. Se usó agua ultrapura (Milli-Q-water 18 MΩ cm) para preparar todas las soluciones.

El equipamiento utilizado fue un potenciostato modelo PGSTAT30 de la marca AUTOLAB, controlado mediante computador con el software NOVA 10.1. El microscopio electrónico de barrido usado fue un JEOL JSM – 7401F con un cañón de emisión de campo, una tensión de aceleración de 30 kv a 0.1 kV, resolución de 1 nm (15 kV) : 1.5 nm (1 kV) y una magnificación máxima de x1000000.

3.2 ANÁLISIS ANALÍTICO

3.2.1 FABRICACIÓN DEL ELECTRODO DE REFERENCIA (ER)

El ER usado de manera más regular es el de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) debido a su simplicidad, diseño barato y componentes no tóxicos (Smith y Stevenson,

2007). También se toma en cuenta que los posibles electrolitos base que se van a usar (búfer de fosfato y HCl) no contienen especies que puedan reaccionar con los componentes del ER. El potencial estándar del electrodo Ag/AgCl es $E^{\circ}_{Ag/AgCl}$ = 0.222 V vs. NHE (25°C).

Materiales:

- Alambre de plata
- Solución saturada de cloruro de potasio [KCl] > 3.5 mol L^{-1}
- Membrana semipermeable
- Punta plástica de pipeta
- Parafilm
- Voltímetro

Fabricación

1. Se dispuso de una celda electroquímica, con el alambre de plata como ET, un ER Ag/AgCl y un electrodo auxiliar.
2. Se realizó una cronoamperometría a 0.4 V por 15 minutos. En este proceso se pudo observar un burbujeo en el CE, debido a la producción de gas hidrógeno; y el cable de plata, previamente de color gris, se volvió de un color oscuro, negro o sepia, indicando la formación de AgCl sobre su superficie.
3. Se tomó la punta plástica y se selló la parte inferior con la membrana semipermeable.

4. Se colocó el alambre de plata con el AgCl formado dentro de la punta, asegurándose de dejar una parte sobresaliente como contacto eléctrico, en la cual no existe formación de AgCl.

5. Se llenó la punta con solución KCl_{sat}.

6. Se selló la parte superior de la punta con parafilm, comprobando que no quede ninguna burbuja y que sobresalga el cable para el contacto eléctrico.

7. Se comprobó el funcionamiento del ER, comparándolo con otro ER igual y del cual se tenga constancia de su buen funcionamiento. Se sumergen ambos en una celda con KCl_{sat}; usando un voltímetro de alta impedancia, se conecta al ER estándar al terminal negativo del voltímetro (negro), y el electrodo fabricado al terminal positivo (rojo). La lectura observada debe ser el potencial estándar conocido del ER, en este caso de 0.22 V.

8. El almacenaje del ER de Ag/AgCl debe realizarse en una solución igual a la solución interna del electrodo, en este caso, KCl_{sat}.

3.2.2 FABRICACIÓN DEL ELECTRODO DE TRABAJO

Existen varios estudios en la literatura sobre detección de As(III) mediante técnicas voltamétricas, específicamente la ASV, y se reporta al oro como el material más adecuado para trabajar en la detección de arsénico (Xuan Dai et al., 2004; Forsberg et al., 1975; Gibbon-Walsh et al., 2010; Liu y Huang, 2014; Mardegan et al., 2012; Salaun et al., 2007; Zakharova et al., 2015), por sobre el platino y el carbón vítreo, debido a su mayor sobre voltaje de hidrógeno por lo cual no interfiere en la deposición.

Materiales

- Alambre de oro Ø=25 µm, marca ALFA AESAR de 99.95% de pureza; aprox. 2 cm de largo

- Alambre de Ni – Cu, longitud 5 cm mayor que las pipetas
- Pipetas Pasteur
- Pasta de plata
- Cinta aislante teflón (politetrafluoretileno)
- Papel lija N° 2000
- Alúmina 0.3 y 0.05 µm
- Mechero bunsen

Fabricación

1. Primero se lavaron los materiales. Las pipetas Pasteur se enjuagaron con agua y acetona. Los alambres de oro se limpiaron primero con solución piraña (1 volumen de H_2O_2 y 3 volúmenes de H_2SO_4), luego se enjuagaron 3 a 4 veces con agua y posteriormente 3 a 4 veces con acetona. Se dejó secar en la estufa por 30 minutos.

2. Una vez secos, se unieron los alambres de oro a los de Ni – Cr. Usando la pasta de plata conductora se sobrepuso 5 mm de cada extremo de los alambres y se los dejó secar bajo una lámpara de calor de luz roja.

3. Ya listos, se introdujo el alambre por el extremo del oro por la parte superior de la pipeta, a fin de que el alambre de oro sobresalga unos milímetros por la punta de la misma.

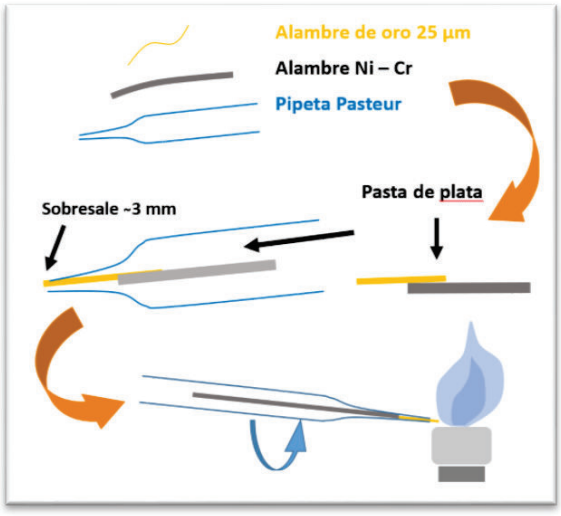
4. Se aseguró la parte de Ni – Cu restante enrollándolo a la parte superior de la pipeta, dejando 1 cm como contacto eléctrico, y se aísla la entrada usando cinta teflón.

5. Para sellar la punta, se la acercó a la flama del mechero en su parte más caliente y se giró constantemente el electrodo sobre su eje axial, a fin de fundir uniformemente el vidrio alrededor del oro.

6. Para obtener la superficie de oro como microelectrodo de disco, se pulió el electrodo sobre el papel de lija, realizando el movimiento en forma de lemniscata, hasta que se observó al microscopio una superficie uniforme: el microdisco plano de oro rodeado de vidrio como material aislante.

7. Finalmente se pulió el microelectrodo con alumina 0.3 y 0.05 µm disuelta en alcohol, una luego de la otra, y se ultrasonicó en agua destilada para eliminar los residuos.

FIGURA 3.1 ESQUEMA DE FABRICACIÓN DEL MICROELECTRODO DE ORO



FUENTE: ORELLANA D.

3.2.3 FABRICACIÓN DE LOS NANOPOROS DE ORO

Se han desarrollado varios estudios sobre detección de As con microelectrodos de oro. Sin embargo los electrodos sólidos de oro presentan algunas desventajas: la necesidad de pulirlos, activarlos o regenerarlos cada cierto tiempo para evitar la posible oxidación de la superficie y sus *efectos de memoria*. Además, el As

elemental no es eléctricamente conductivo y una vez depositado sobre la superficie, pasiva su capacidad de asimilar especies electroactivas, incluido el mismo As. Esto se puede superar al usar electrodos con filmes de oro (Jiang et al., 2015). La fabricación electroquímica de nanoporos del presente trabajo se basa en el método desarrollado por Sukeri et al. (2015), al cual se modifica debido al tamaño del electrodo usado.

Materiales

- Microelectrodo de oro
- Potenciostato

Procedimiento

Con el microelectrodo previamente pulido y comprobado su funcionamiento, se dispuso una celda de tres electrodos con electrolito H_2SO_4 0.5 mol L^{-1}. En el software del potenciostato se configuró una voltametría cíclica entre 0 y 2 V, a una velocidad de barrido de 0.02 V s^{-1}. El proceso es una anodización. El electrodo se polariza positivamente hasta llevar a cabo un proceso de oxidación de la superficie metálica. Cuando en el software se muestra el potencial de 2 V en el barrido inicial, se pausó la CV por un tiempo determinado en el cual se observa un burbujeo en el electrodo de trabajo, debido a la producción de gas O_2. Finalmente, se reanudó la CV y se deja completar el barrido de vuelta.

3.2.4 ELECTROLITO BASE

Más del 40% de estudios sobre arsénico con ASV trabajan sobre medios ácidos, específicamente el ácido clorhídrico HCl a diferente pH, y aproximadamente un 5% con medios neutros, usando principalmente solución amortiguadora de fosfato (PBS, por sus siglas en inglés) (Li et al., 2012).

Para la determinación del electrolito más adecuado se efectuaron ensayos similares. Primero, una voltametría cíclica conteniendo un alta concentración de arsénico, para determinar los potenciales en los cuales se da su la reducción y la oxidación. En segundo lugar, tomando como referencia el potencial donde se obtiene la oxidación de As(0) a As(III), se efectuaron análisis de SWASV con el fin de detectar concentraciones pequeñas de As y verificar su comportamiento lineal de respuesta en función de la concertación analizada. Además se toma en cuenta la forma del pico obtenido. Finalmente se realiza un ensayo de repetibilidad con el fin de observar la fiabilidad de la técnica y en el medio.

3.2.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS ELECTRODOS

3.2.5.1 CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA

3.2.5.1.1 VOLTAMOGRAMA CÍCLICO

Para determinar el comportamiento electroquímico de un electrodo se usa una especie con comportamiento redox. La más conocida, por su alta solubilidad y poca toxicidad es el para ferri/ferrocianuro ($Fe(CN)_6^{3-/4-}$) (Fischer et al., 2004; Granger et al., 2000; Sur et al., 2012). En este caso se usa solamente el ferricianuro, obtenido a partir del hexacianoferrato(III) de potasio ($K_3Fe(CN)_6$). Se realizan voltametrías cíclicas, con concentraciones conocidas, generalmente en el orden de los milimoles (mM), disuelto en una solución KCl 0.1 mol L^{-1}.

La Ecuación 3.1, describe la función intensidad de pico del voltamograma cíclico obtenido sobre un microelectrodo, donde: i_p: intensidad de pico de corriente (A); n: número de eléctrones transmitidos en la reacción (2 para este caso); F: cte de Faraday (96485.3329 C mol^{-1}); D: coeficiente de difusión (0.76 x10^{-5} cm^2 s^{-1} para ferricianuro) (Baur, 2007); C: concentración del analito (mol cm^{-3}) y, r: radio (cm).

$$i_p = 4nFDCr \qquad (\mathbf{3.1})$$

Debido a que existen parámetros constantes en la ecuación, la caracterización se lleva a cabo variando las concentraciones de $Fe(CN)_6^{3-}$**.**

Adicionalmente, la corriente de pico generada sobre un microelectrodo al variar la velocidad de barrido permanece constante debido a la eficacia del proceso difusional sobre este tipo de electrodos. Sin embargo, existe una velocidad límite definida por la relación de la Ecuación 3.2 (Bard y Faulkner, 2001), sobre la cual el comportamiento del microelectrodo tiende a ser el de un macroelectrodo, es decir que la difusión deja de ser tan efectiva, lo cual se refleja en la modificación del voltamograma, de una forma sigmoidal a la forma clásica.

$$v \ll \frac{RTD}{nFr^2} \qquad (\mathbf{3.2})$$

Donde *v*: velocidad de barrido; *R*: cte. de los gases ideales (8.314 J mol^{-1} K^{-1}); *T*: temperatura absoluta (298 K).

Por otra parte, el voltamograma cíclico realizado con un electrodo de oro en un medio ácido presenta características particulares. Específicamente en HCl y HNO_3, usando un electrodo de referencia Ag/AgCl, se puede observar dos picos: un pico achatado de oxidación aproximadamente a 1.2 V y un pico de reducción más definido a 0.9 V. La ventana de trabajo del oro en estos medios se da obtiene -0.2 y 1.7 V antes de observarse la evolución de hidrógeno y oxígeno, respectivamente.

En el proceso de la formación electroquímica de nanoporos, el voltamograma cíclico se ve modificado por dos características: un pico de oxidación sobre el potencial de 2 V; y un pico mayor de reducción en el potencial 0.3 V, el cual indica la reducción de los óxidos formados en la anodización del electrodo a 2 V y la formación exitosa de los nanoporos.

3.2.5.1.2 DETERMINACIÓN DEL ÁREA SUPERFICIAL ELECTROQUÍMICA

Para la determinación del área superficial electroquímica (ECSA, por sus siglas en inglés) se aplicó el método de *adsorción de hidrógeno de la solución* por parte del electrodo metálico para la determinación de su área, el cual implica que existe una región o potencial observado en un voltamograma cíclico donde se aprecia claramente la reacción de evolución de hidrógeno (Trasatti y Petrii, 1991). Para el caso de un electrodo de oro, en los medios de ácido sulfúrico y nítrico, esta región se aprecia a aproximadamente 0.9 V respecto del ER de plata/cloruro de plata.

Este método relaciona la densidad de carga observada por el electrodo, la cual se obtiene al dividir el área del pico de adsorción de hidrógeno entre la velocidad de barrido aplicada en la voltametría cíclica. Esta carga se divide entre una carga referencial correspondiente al material del electrodo. Para el caso del oro policristalino es 390 μC cm^2, la cual parte de una correspondencia entre el número de Avogadro y la concentración de oxígeno atómico en la superficie (Trasatti y Petrii, 1991).

La Ecuación 3.4 que determina el ECSA del electrodo relaciona la carga del electrodo (*Q*) con la carga referencial mencionada. Para determinar *Q*, se aplica la Ecuación 3.3, el *área del pico* de evolución de hidrógeno de voltamograma cíclico del electrodo se obtiene mediante el programa Origin 8.1, y *v* representa la velocidad a la que se llevó a cabo la voltametría.

$$Carga\ (Q) = \frac{\text{Área de pico}}{v} \qquad (\mathbf{3.3})$$

$$ECSA = \frac{Q}{390\mu C\ cm^{-2}} \qquad (\mathbf{3.4})$$

3.2.5.1.3 FACTOR DE RUGOSIDAD

El factor de rugosidad (Rf, por sus siglas en inglés) determina la relación entre el ECSA y el área geométrica del electrodo, como muestra la Ecuación 3.5. Mientras

más grande sea el Rf, se concluye que existe una mejor actividad electroquímica por parte del electrodo, lo que lo hace más eficiente (Sukeri et al., 2015).

$$Rf = \frac{ECSA}{Área\ geométrica} \qquad (\mathbf{3.5})$$

3.2.5.2 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Se puede determinar la diferencia entre un electrodo de oro policristalino y un nanoporoso mediante la observación microscópica de su superficie (Sukeri et al., 2015). Usando la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) se aprecia la formación de los nanoporos en la superficie cristalina de oro, y a través de la escala se aproxima el diámetro nominal del poro formado.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Con la finalidad de determinar la robustez del electrodo usado, se realizan pruebas de repetibilidad y reproducibilidad. La repetibilidad se obtiene al evaluar 10 mediciones diferentes del analito con una concentración conocida, con un lapso de 60 minutos entre cada medida. Para la reproducibilidad se realizan mediciones diarias, tratando de mantener los mismos parámetros y a una misma hora. Se hacen tantas como sea posible hasta observar una variación importante de la medida tomada. Cada parámetro se evalúa mediante la desviación estándar relativa (DER), la cual debe ser menor al 10% (Magnusson y Oenemark, 2014). Se aprecian datos confiables si la reproducibilidad es mayor a la repetibilidad, dentro de este rango.

La DER se obtiene en función de la Ecuación 3.6, donde *DE* es la desviación estándar de los datos medidos, y $\overline{x}$ el promedio de los mismos.

$$DER = \frac{DE}{\bar{x}} x100\% \qquad (\mathbf{3.6})$$

3.3.2 LIMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección se determina utilizando la Ecuación 3.7 (Magnusson y Oenemark, 2014), donde *DE* es la desviación estándar del blanco y la pendiente se toma de la curva de calibración respectiva.

$$LOD = \frac{3\ DE}{pendiente} \qquad (\mathbf{3.7})$$

3.3.3 INTERFERENTES

Existen varios iones metálicos que pueden afectar la señal de detección de As(III), entre ellos están el Pb(II), Hg(II), Cd(II) y Cu(II). El más notable es el cobre, debido a la proximidad de potenciales anódicos de redisolución entre ambos metales (X. Dai y Compton, 2006; Xuan Dai et al., 2004; Li et al., 2012; Ndlovu et al., 2014; Salaun et al., 2007; Yang, Chen, et al., 2016; Yang, Guo, et al., 2016).

El potencial de redisolución del Cu es ligeramente más positivo que el del As, lo que promueve la formación de compuestos intermetálicos entre estos dos elementos y puede dar una señal errónea en el voltamograma, sean dos picos superpuestos o un pico poco definido con un *hombro* en su lado derecho. Se van a realizar dos ensayos para determinar el comportamiento del microelectrodo NPGF en la detección de As(III) a nivel de trazas en presencia de concentraciones similares de Cu(II).

Primero se realiza la detección de ambos analitos tanto sobre el microelectrodo de oro y el NPGF, para determinar si existen diferencias, tanto de intensidad de la señal como la superposición o separación de los picos. Finalmente se analiza la detección de una concentración fija de uno de los analitos mientras se aumenta

gradualmente la concentración del otro. Esto se hace tanto para el arsénico como para el cobre.

3.3.4 ANÁLISIS DE MUESTRA REAL MEDIANTE ADICIÓN DE ESTÁNDARES

La adición de estándares consiste en la adición de alícuotas (volumen o concentraciones) conocidos del analito sobre una solución estándar, por ejemplo el electrolito soporte sobre el cual se está trabajando. Este método disminuye el efecto matriz, el cual puede afectar la medida de la señal analítica (Sánchez, 2015).

Para la determinación del resultado, este método ofrece distintas formas de tratar los datos obtenidos. Uno de los métodos se basa en el análisis del gráfico de calibración obtenido en función de una respuesta a la adición del estándar sobre una única alícuota de estándar a la que se le añade progresivamente el analito. Comprobando la linealidad del gráfico, se tiene que la respuesta analítica obtenida se encuentra en función del estándar añadido, como se muestra en la Ecuación 3.8:

$$Señal\ analítica = a * alícuota + b \qquad (\mathbf{3.8})$$

Donde *a* y *b* representan respectivamente la pendiente y el intercepto del gráfico. En una muestra que no contenga previamente el analito de interés, el intercepto debe ser cero. Si una muestra contiene inicialmente el analito, el intercepto va a ser positivo y diferente de cero. Dado el caso, igualando el dato de la señal analítica a cero se obtiene la magnitud x del analito presente en la muestra inicialmente, resultando como un dato en el eje negativo de la alícuota añadida.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERIZACIÓN

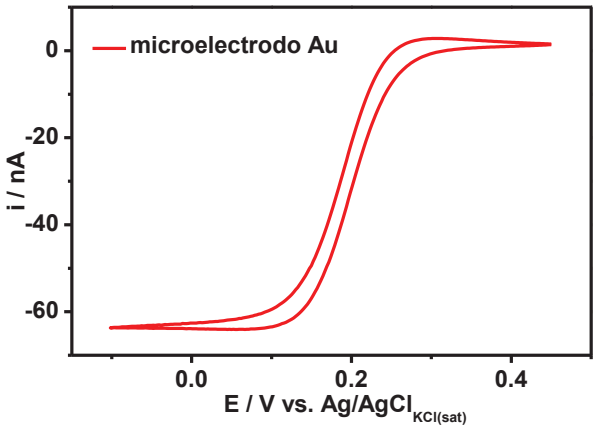
4.1.1 CARACTERIZACIÓN DEL MICROELECTRODO DE ORO

Primero se llevó a cabo la CV en ferricianuro con una concentración de 20 mmol L^{-1} disuelto en KCl 0.1 mol L^{-1}, en una ventana suficientemente amplia para observar lo *picos* de reducción y de reoxidación; esta ventana puede limitarse inicialmente entre ± 1.5 V. A partir de los puntos donde las corrientes se vuelven constantes, se limita la ventana 200 mV a cada lado. El voltamograma obtenido a una velocidad de barrido de 0.05 V s^{-1} tiene una forma sigmoidal, como se observa en la Figura 4.1 y no la clásica forma de pato que se obtiene con los macroelectrodos; esto debido a la eficiencia del proceso de difusión semiesférica en la doble capa eléctrica ya explicado.

La voltametría cíclica muestra que a medida que el potencial se desplaza hacia voltajes negativos, el Fe(III) originalmente presente en la solución, es reducido a Fe(II), y la reacción contraria ocurre cuando el potencial vuelve al inicial más positivo. La velocidad de ensayo recomendada fue 100 mV s^{-1}.

Se aumentó la concentración de ferricianuro desde 10, 15, 20 hasta 25 mmol L^{-1} y se realizaron ensayos a velocidades de 50 y 200 mV s^{-1}. La variación de la velocidad se realiza como comprobación, asumiendo que el radio resultante debe ser el mismo, lo cual se puede comprobar tanto en los voltamogramas obtenido como en el resultado calculado.

FIGURA 4.1 VOLTAMOGRAMA DE FERRICIANURO SOBRE UN UME

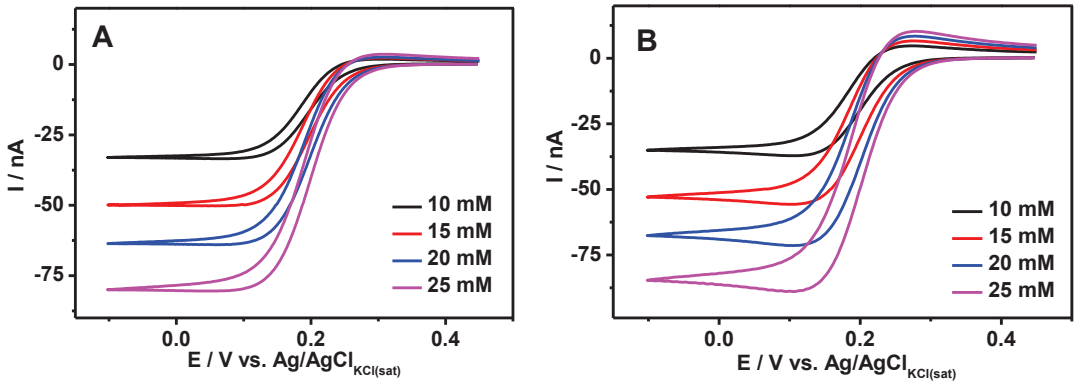


CV registrado en $Fe(CN)_6^{3-}$ 20 mM, en KCl 0.1 mol L^{-1} a 50 mV s^{-1}, sobre un microelectrodo de oro

FUENTE: ORELLANA D.

En función de la Ecuación 3.2, la velocidad límite de barrido para un radio de 12.5 µm es 0.125 V s^{-1}, lo cual explica porque el voltamograma obtenido a 0.2 V s^{-1} denota ligeramente mayores intensidades de pico. Los voltamogramas obtenidos que se observan en la Figura 4.2 muestran la mínima variación de las intensidades de pico al modificar las velocidades del ensayo.

FIGURA 4.2 VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS



CV registrados en $Fe(CN)_6^{3-}$ a diferentes concentraciones, en KCl 0.1 mol L^{-1}, a velocidades de (A) 50 mV s^{-1} y (B) 200 mV s^{-1}, sobre un microelectrodo de oro.

FUENTE: ORELLANA D.

Con las intensidades de pico obtenidas mediante el software utilizado, se calcula el radio teórico en función de la Ecuación 3.1, como se muestra en el ejemplo del anexo 1, el cual en promedio resulta prácticamente igual al radio real, Tabla 4.1, lo que demuestra que el microelectrodo funciona correctamente.

TABLA 4.1 DIÁMETRO Y ÁREA DEL MICROELECTRODO DE ORO

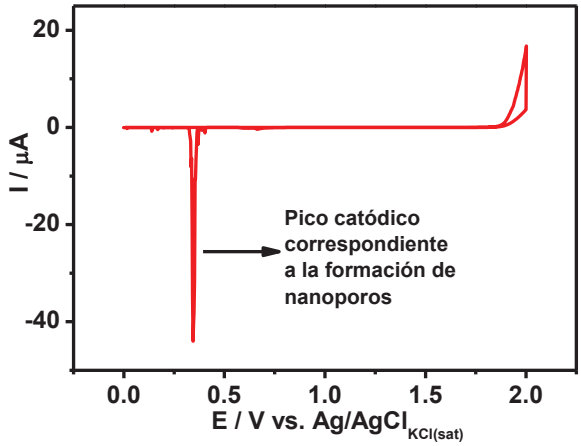
VELOCIDAD ($mV\ s^{-1}$)	$[Fe(CN)_6^{3-}]$ ($mmol\ L^{-1}$)	i_P	d (µm)	A (cm^2)
50	10	-3.34E-08	24.07	4.55E-06
	15	-5.02E-08	24.09	4.56E-06
	20	-6.40E-08	23.03	4.17E-06
	25	-8.04E-08	23.16	4.21E-06
PROMEDIO			**23.59**	**4.37E-06**
200	10	-3.72E-08	25.34	5.04E-06
	15	-5.57E-08	25.32	5.03E-06
	20	-7.14E-08	24.33	4.65E-06
	25	-8.90E-08	24.27	4.63E-06
PROMEDIO			**24.81**	**4.84E-06**

FUENTE: ORELLANA D.

4.1.2 CARACTERIZACIÓN DEL MICROELECTRODO NPGF

La Figura 4.3 muestra la voltametría cíclica de formación electroquímica de los nanoporos, realizada en ácido sulfúrico 0.5 mol L^{-1} ,entre 0.0 y 2.0 V a una velocidad de 0.02 V s^{-1}; en la que luego de pausarla para llevar a cabo la formación de los óxidos de oro, se observa el pico catódico correspondiente a la reducción de los óxidos formados, aproximadamente a 0.3 V.

FIGURA 4.3 VOLTAMOGRAMA DE FORMACIÓN DE NPGF

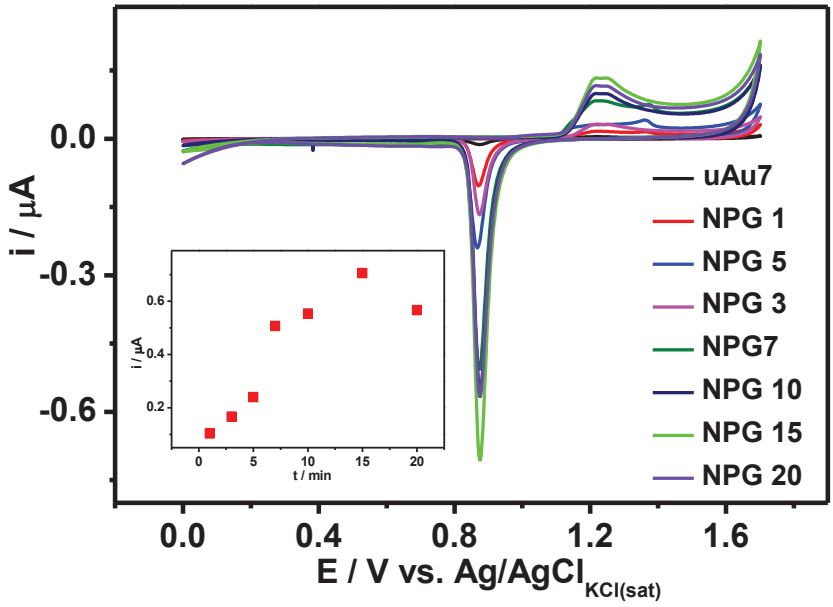


CV registrado en H_2SO_4 0.5 mol L^{-1}, a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} sobre un microelectrodo de oro.

FUENTE: ORELLANA D.

En la Figura 4.4, se comprueba la formación de nanoporos mediante una voltametría cíclica sobre el microelectrodo nanoporoso de oro fabricado, en H_2SO_4 0.5 mol L^{-1}. Se aprecia el incremento de las corrientes de pico de oxidación, aproximadamente a 1.2 V, y principalmente del pico característico de reducción, aproximadamente a 0.9 V, con base en el cual estimó el área superficial electroquímica (ECSA, por sus siglas en inglés) para compararla con la del microelectrodo de oro. El tiempo que se mantiene la anodización en 2.0 V es de una hora para un electrodo de disco de oro que tiene un diámetro de 3 mm (Sukeri et al., 2015). Considerando el reducido diámetro del microelectrodo, se probaron tiempos bajos de 1, 3, 5, 7, 10, 15 y 20 minutos y se obtuvo que el tiempo donde el pico de reducción es más intenso y por ende tiene una mayor ECSA es en 15 minutos (inserto de la Figura 4.4).

FIGURA 4.4 VARIACIÓN DEL TIEMPO DE FABRICACIÓN DE NPGF



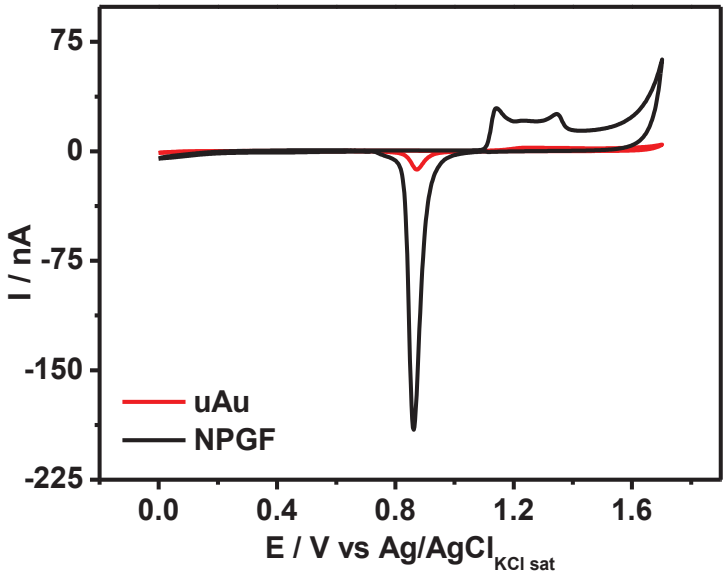
CV registrado en H_2SO_4 0.5 mol L^{-1}, a una velocidad de 100 mV s^{-1}, sobre electrodos nanoporosos de oro preparados con distintos tiempos

FUENTE: ORELLANA D.

4.1.2.1 Cálculo del área superficial electroquímica (ECSA) y factor de rugosidad

Mediante el método de adsorción de hidrógeno del medio, el cual se obtiene en función del pico catódico que aparece en el potencial aproximado de 0.9 V en el voltamograma tanto del microelectrodo de oro como en el NPGF, como se aprecia en la Figura 4.5, y aplicando la Ecuación 3.4; se hallaron el área superficial electroquímica y el factor de rugosidad. La velocidad a la que llevaron a cabo las mediciones fue de 0.1 V s^{-1}. Las alturas de los picos de oxidación son aproximadamente 37 nA para el microelectrodo de oro y 190 nA para el NPGF, lo que, a priori puede implicar un aumento de 5 veces la actividad electroquímica el segundo electrodo respecto del primero; pero el aumento real en la actividad electroquímica se determina usando la ECSA.

FIGURA 4.5 COMPARACIÓN DE VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS SOBRE MICROELECTRODO DE ORO Y ELECTROD NPGF



CV registrado en H_2SO_4 0.5 mol L^{-1}, a una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1}, sobre un microelectrodo de oro (línea roja) y un electrodo NPGF (línea negra)

FUENTE: ORELLANA D.

El ECSA calculado para el microelectrodo NPGF fue de $2.7064x10^{-4}$ cm^2 mientras que el Rf fue de 56. De la misma forma se calculó el ECSA y el Rf para el microelectrodo de oro, los cuales son $2.16029x10^{-5}$ cm^2 y 4.5 respectivamente. Estos resultados sugieren el mejoramiento del área activa para análisis del NPGF con respecto al electrodo normal es de más de 10 veces.

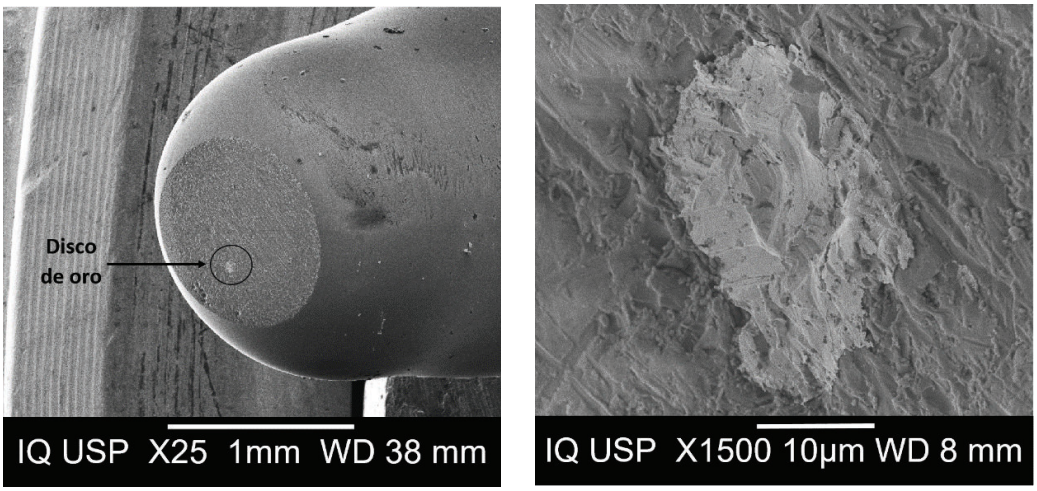
Con el cálculo del factor de rugosidad, el cual relaciona directamente el *ECSA* con el *área geométrica real*, se demostró la eficiencia de los nanoporos en comparación con el electrodo metálico normal debido a que en una misma área geométrica, existe una mayor área activa. El ejemplo de cálculo se muestra en el anexo 2.

4.1.3 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se llevó a cabo la toma de imágenes por Microscopía Electrónica de Barrido para caracterizar los electrodos nanoporosos de oro. En la Imagen 4.1 A se observa la

punta de la pipeta Pasteur con una ampliación X25, en medio de la cual se distingue el disco de oro correspondiente al electrodo activo. En la Imagen 4.1 B se aprecia la superficie de oro aislada por el vidrio, con una ampliación X1500, la cual no presenta una definición perfecta, pero puede apreciarse como un disco de 25 µm de diámetro aparente.

IMAGEN 4.1 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL MICROELECTRODO DE ORO

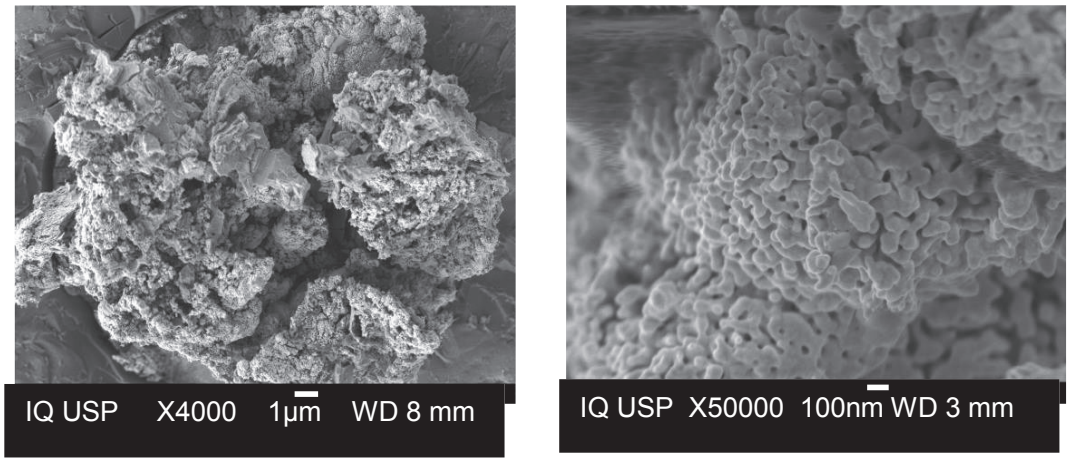


(A) **(B)**

FUENTE: ORELLANA D.

Para la verificación de la formación de los nanoporos se puede comparar la Imagen 4.1 B con la Imagen 4.2 A. En la segunda se tiene una vista superior de la punta del microelectrodo, ampliada en un orden de x4000, sobre la cual se observa la formación del conjunto de nanoporos a lo largo de los 25 µm que corresponden al diámetro original del electrodo. En la Imagen 4.2 B, con una ampliación de x50000, se puede ver que el diámetro promedio de los nanoporos es de aproximadamente 100 nm con base en la escala dada por el software del microscopio.

IMAGEN 4.2 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL ELECTRODO NPGF



(A) **(B)**

FUENTE: ORELLANA D.

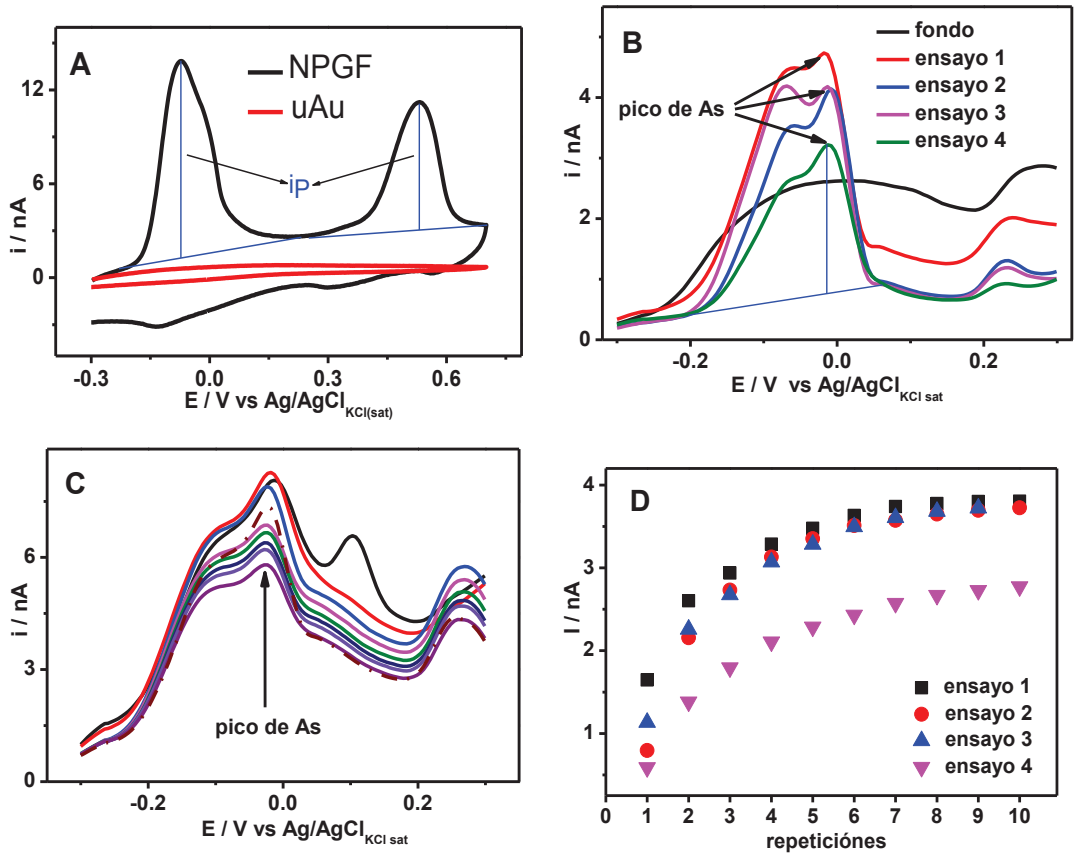
4.2 ELECTROLITO SOPORTE

4.2.1 ENSAYO EN SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE FOSFATO (PBS)

Con base en la literatura (Li et al., 2012) se realizaron ensayos de detección de As(III) sobre PBS pH ~7. En la Figura 4.6 se presentan los voltamogramas obtenidos en PBS. En la Figura 4.6 A se observa el registro de una voltametría cíclica realizada a una velocidad de 0.1 V s^{-1}, en una solución que contenía 10 mg L^{-1} de As(III). Se aprecia que la intensidad de pico (i_P) de oxidación de As(0) a As(III) alcanzada con el microelectrodo NPGF es aproximadamente 13 nA, el cual se observa en el potencial aproximado de -0.9 V, y la de As(III) a As(V) 8 nA, sobre el potencial de 5 V; mientras que hay ausencia en la intensidad de pico del microelectrodo. Los voltamogramas tanto en de Figuras 4.6 B y C se llevaron a cabo usando la técnica SWASV con los siguientes parámetros: deposición 100 s a -0.6 V, t_P = 2 mV, ΔE_P = 10 mV, f = 50 Hz. La solución contenía una concentración de As(III) de 50 µg L^{-1}. En éstas se observa la poca intensidad que tiene el pico de redisolución de As, entre 3 y 5 nA, aproximadamente a -0.3 V, y se ve un *hombro* a la izquierda junto al pico de redisolución; en estas Figuras se observa también

cómo el potencial de oxidación se desplaza de -0.9 a -0.3 V. Finalmente en la Figura 4.6 D se aprecia un gráfico de repetibilidad en el que la i_p aumenta con el número de repeticiones en lugar de mantenerse constante. Los resultados obtenidos no fueron los adecuados, ya que no existió una óptima sensibilidad ni repetibilidad y el voltamograma obtenido no es bien definido.

FIGURA 4.6 ENSAYOS EN PBS



(A) CV registrados en PBS con una concentración de As de 10 mg L^{-1} (B) y (C) SWASV de 50 µg L^{-1} de As en PBS; y (D) Intensidad de pico de redisolución para distintos ensayos de repetibilidad

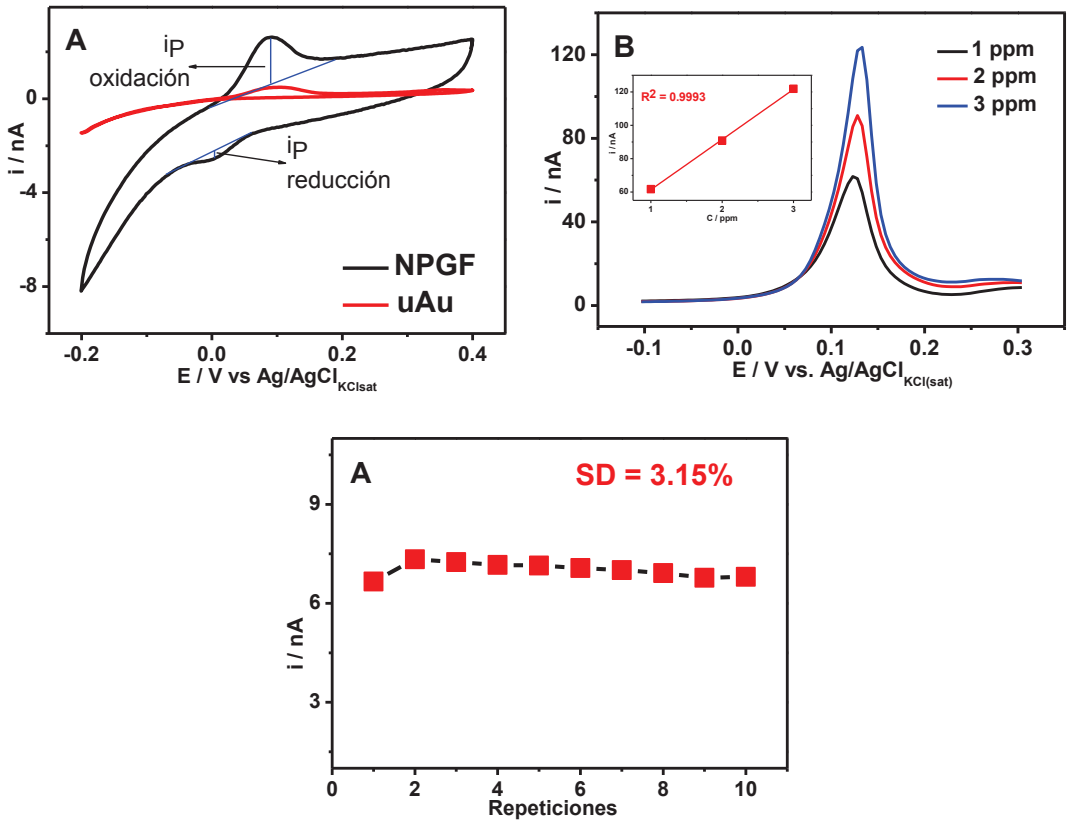
FUENTE: ORELLANA D.

4.2.2 ENSAYO EN ÁCIDO CLORHÍDRICO (HCl)

Partiendo de la bibliografía y teniendo en cuenta los resultados sobre PBS, se decidió usar HCl como electrolito. Se prepara una solución de HCl 1 mol L^{-1} (Xuan Dai et al., 2004), para los ensayos con As, tanto por CV como los posteriores realizados con una técnica más sensible (SWV).

En la Figura 4.7 A, se observa que la respuesta de intensidad de pico del microelectrodo nanoporoso (negro) es mucho mayor a la del microelectrodo de oro (rojo). Para ésta, se aplicó una CV con una velocidad de 0.1 V s^{-1}.

FIGURA 4.7 ENSAYOS EN ÁCIDO CLORHÍDRICO HCl



(A) CV registrado en HCl 1 mol L^{-1} conteniendo 400 µg L^{-1} de As, usando un microelectrodo de oro (línea roja), y un electrodo NPGF (línea negra); (B) SWASV registrado con un microelectrodo NPGF en HCl 1 mol L^{-1}, usando distintas concentraciones de As (III); y (C) Gráfico de repetibilidad sobre un microelectrodo NPGF

FUENTE: ORELLANA D.

El voltamograma correspondiente al microelectrodo NPGF (negro) se observan los picos de oxidación, aproximadamente a $E_{anódico}$ = 0.12 V, y $E_{catódico}$ = 0. Se usó una concentración de As relativamente alta (400 µg L^{-1}) debido a que la CV es una técnica poco sensible y se precisaba denotar bien los potenciales donde ocurren las reacciones redox, además que en esta técnica no existe el paso previo de preconcentración del analito, es por lo que la altura de picos es baja, en el orden de los pocos nanoamperios.

Habiendo identificado los potenciales redox del As(III), se puede seleccionar los parámetros para los ensayos posteriores: un potencial de preconcentración menor a 0 V; esta ventana de redisolución debe ser tan amplia como se precise para que el pico obtenido tenga una resolución apreciable. En la Figura 4.7 B se observa el voltamograma entre -0.1 y 0.3 V, para tres concentraciones distintas de As(III): 1, 2 y 3 mg L^{-1}; usando los siguientes parámetros: E_{dep} = -0.3 V; t_{dep} = 60 s; t_P = 5 mV, ΔE_P = 25 mV, f = 75 Hz. Las intensidades de pico aumentan con la concentración de As(III), lo cual demuestra una respuesta adecuada del microelectrodo NPGF.

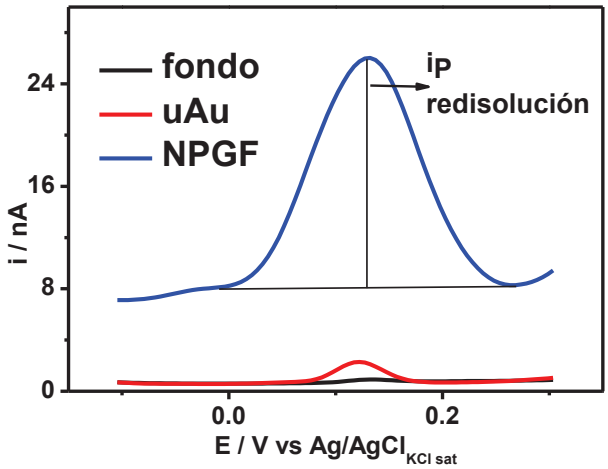
En la Figura 4.7 C se observa una repetibilidad estable. Utilizando los mismos parámetros, con un tiempo de diferencia de una hora entre cada medición. El error relativo obtenido es de 3.1%, menor al 10% máximo aceptable.

Tomando las Figuras 4.6 A y 4.7 A se puede observar que tanto en PBS como en HCl es posible obtener una respuesta de intensidad de pico de As(III); en las Figuras 4.6 B y C y 4.7 B se denota la diferencia entre los dos elecrolitos base, siendo la respuesta en PBS muy pobre, además que el potencial de pico de redisolución se desplaza, mientras que en HCl se obtiene una relación directa entre intensidad de pico y concentración añadida. Finalmente se comprueba en las Figura 4.7 C que la repetibilidad en HCl es adecuada mientras que en PBS (Figura 4.6 D) es pobre. Bajo estos resultados se elige al HCl como electrolito soporte para la puesta a punto del método. Se ha reportado que la mejora que este aporta se debe a la formación de puentes iónicos entre el Cl^- y el As(0). (Mays y Hussam, 2009).

4.3 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO

El voltamograma de la Figura 4.8, muestra que usando la técnica SWASV, la intensidad de pico de redisolución obtenida con el electrodo NPGF (azul), aproximadamente 20 nA, es mayor a la obtenida con el microelctrodo de oro (rojo) de alrededor de 3 nA. Esta mejora se da debido a que la ECSA del electrodo nanoporoso aumentó aproximadamente 10 veces en relación con el microelectrodo de oro; además la mejora en la caída ohómica del primero respecto del segundo contribuye también a la mayor intensidad de pico observada. Los parámetros de la SWV fueron tomados directamente de la literatura (Xuan Dai et al., 2004) :E_{dep} = -0.3 V; t_{dep} = 60 s; t_P = 5 mV, ΔE_P = 25 mV, f = 75 Hz; después de haber ensayado otros sin buenos resultados.

FIGURA 4.8 COMPORTAMIENTO DEL ELECTRODO NPGF EN HCl + As(III) USANDO SWASV



SWASV registrado en HCl 1 mol L^{-1} conteniendo 400 µg L^{-1} de As con microelectrodo de oro (línea roja) y electrodo NPGF (línea azul)

FUENTE: ORELLANA D.

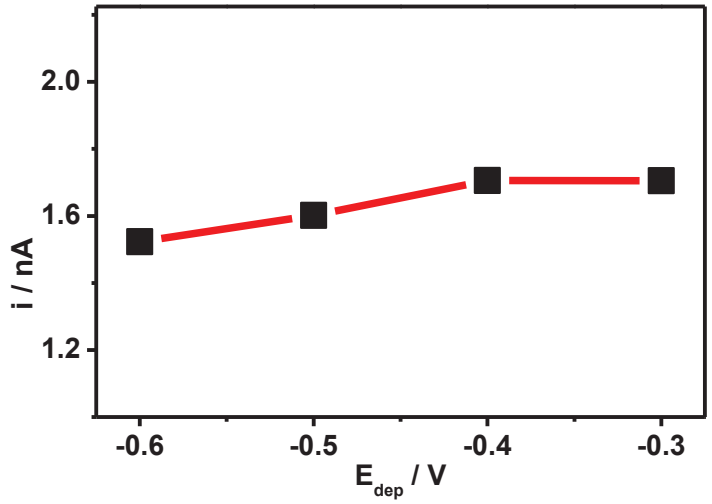
4.3.2 EFECTO DEL TIEMPO DE PRECONCENTRACIÓN DE As(III) SOBRE EL ELECTRODO NPGF

La Figura 4.8 muestra el voltamograma registrado con un tiempo de precocentración de 60 s. Cuando se ensayan concentraciones de arsénico menores a 10 µg L^{-1}, se necesitan de tiempos mayores. Los picos de redisolución de concentraciones bajas de As(III) (10 µg L^{-1}) son inapreciables usando un tiempo de preconcentración de 60 s. Los datos de la Figura 4.9 fueron tomados con un t_{prec} = 120 s, el mismo con el cual se realizaron los ensayos posteriores.

4.3.1 EFECTO DEL POTENCIAL DE PRECONCENTRACIÓN DE As(III) SOBRE EL ELECTRODO NPGF

La Figura 4.9 es el resultado de medir As(III) con los parámetros previamente establecidos, variando el potencial de preconcentración. Teniendo en cuenta que el potencial de reducción de As(III) a As(0) es aproximadamente 0 V, como se muestra en la Figura 4.7 A, se comenzó a ensayar con un E_{dep} de -0.3 V y se ascendió hasta -0.6 V, todos los ensayos con un t_{dep} de 120 segundos. Se puede observar cómo la intensidad de pico de redisolución varía sutilmente, siendo de 1.7 nA en -0.3 V y descendiendo hasta 1.5 nA en -0.6 V. La diferencia de la altura de pico no es tan representativa, pero tomando el potencial de reducción más bajo (-0.3 V) el gasto de energía producido en el experimento es menor, por lo que se decidió usar este potencial para la calibración.

FIGURA 4.9 EFECTO DEL POTENCIAL DE PRECONCENTRACIÓN



Intensidades de pico registradas en HCl 1 mol L^{-1} sobre un electrodo NPGF, con una concentración de As de 10 µg L^{-1} a diferentes potenciales de preconcentración

FUENTE: ORELLANA D.

4.4 FIGURAS DE MÉRITO

Demostrado que el electrodo NPGF responde adecuadamente a la adición de concentraciones conocidas de As, denotando una relación directa entre la cantidad de analito y la altura de pico, se construyó una curva de calibración con patrones de As(III).

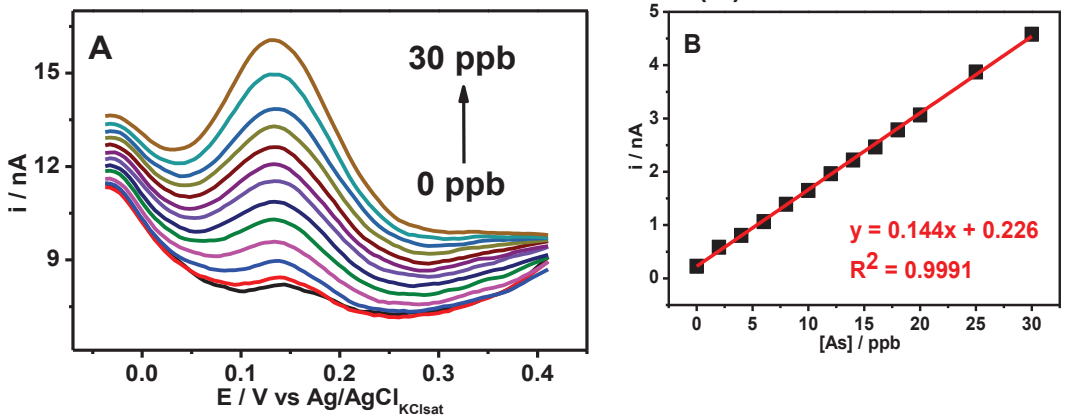
Se realiza la medición de patrones entre 2 y 30 µg L^{-1}. Se considera a este un rango lineal adecuado para la identificación de As(III) en muestras de agua de consumo humano, las cuales en teoría no contienen As y si lo contuvieren, estaría dentro de este rango.

El LOD obtenido en función de la Ecuación 3.7, fue 0.3 µg L^{-1}. El cálculo de éste se detalla en el anexo 3, y el mismo cumple de manera correcta con el LMP impuesto en la legislación. Este LOD se encuentra muy por debajo del recomendado tanto por la OMS como por la norma INEN, con lo que el método desarrollado se muestra

más que suficiente para el análisis de muestras de agua potable que contengan niveles trazas de As(III). Además cumple incluso con el límite de 0.5 µg L^{-1} impuesto por la IARC.

El LOD obtenido (0.3 µg L^{-1} o 4 nmol L^{-1}) es comparable e incluso mejor que el descrito por trabajos similares, donde los LOD obtenidos fueron 0.137 µg L^{-1} (Yang, Chen, et al., 2016) y 1.5 µg L^{-1} (Jiang et al., 2015), lo que afianza más aún la metodología desarrollada.

FIGURA 4.10 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA As(III)



(A) Voltamograma SWASV registrado sobre HCl 1 mol L^{-1} con As(III) en el rango lineal de 2 a 30 µg L^{-1}; (B) curva de calibración del voltamograma A

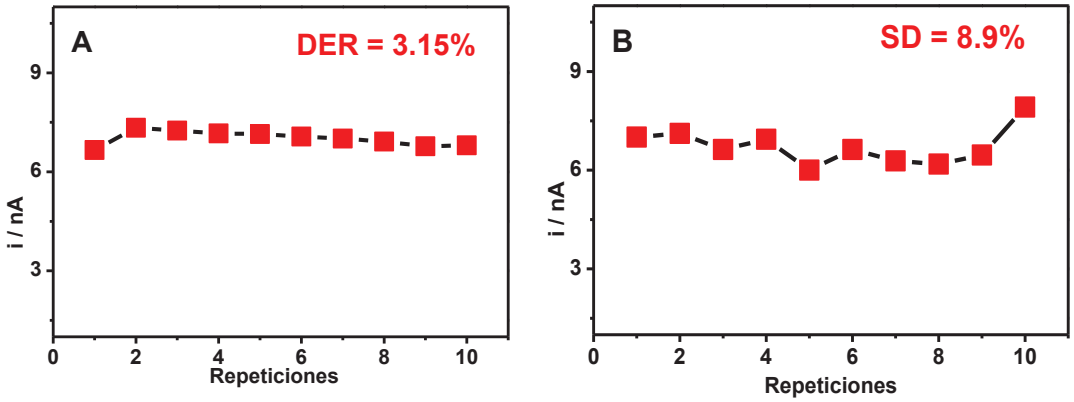
FUENTE: ORELLANA D.

4.5 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

Se realizaron ensayos tanto de repetibilidad como de reproducibilidad para definir la robustez del electrodo NPGF. En la Figura 4.11 A se observan los resultados de mediciones hechas cada 60 minutos con un mismo electrodo sobre una muestra de 50 µg L^{-1} de As en HCl 1 mol L^{-1}. La fiabilidad de los datos se calculó mediante la desviación estándar relativa (*DER*), Ecuación 3.6, cuyo valor máximo aceptable es de 10% (Magnusson y Oenemark, 2014). La Figura 4.11 B muestra los ensayos de reproducibilidad, llevados a cabo en días diferentes, con los mismos parámetros que los ensayos de repetibilidad.

Se observa en la Figura 4.11 que tanto la repetibilidad como la reproducibilidad están dentro del rango aceptable, 3.15% y 8.9% respectivamente, con lo que queda demostrada la robustez y fiabilidad del electrodo NPGF.

FIGURA 4.11 REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD



FUENTE: ORELLANA D.

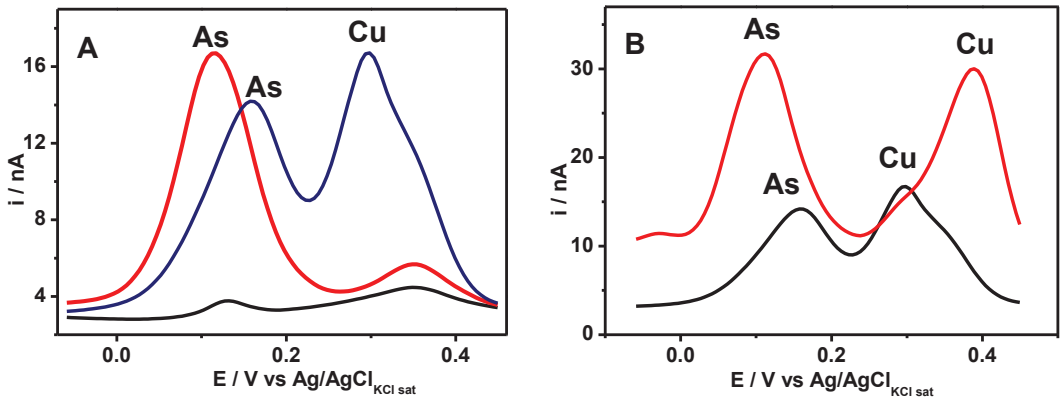
4.6 INTERFERENTES

Se observa en la Figura 4.12 A, el efecto que causa el Cu (línea azul) sobre una muestra que contiene As (línea roja), en un microelectrodo de electrodo de oro con una ECSA grande (aproximadamente $1x10^{-4}$ cm^2), debido a que en un microelectrodo con un ECSA menor no se puede apreciar los picos y no es posible realizar una comparación. El pico de As se ve disminuido. Debido a la poca definición del pico, no se utiliza la intensidad de éste sino su carga (Q), integrando el área de pico del voltamograma obtenido, usando la Ecuación 3.3. Así se ve que la carga inicial dada por el As(III) es de 3.66 nC (línea roja, Figura 4.12 A), la cual disminuye a 1.65 nC en presencia de una concentración igual de Cu(II). Por otro lado en la Figura 4.12 B se aprecia el comportamiento de la mezcla As y Cu, en la línea negra sobre el microelectrodo de oro (Q = 3.66 nC), mientras que en línea roja, la medición sobre el electrodo NPGF (Q = 5.42 nC); sobre este último se observa como el pico de As y el de Cu se separan considerablemente, aproximadamente 280 mV, haciendo que el pico de As no se vea afectado por la

presencia de Cu, a diferencia de la separación obtenida sólo con el microelectrodo, alrededor de 130 mV, lo que provoca la superposición.

Se observa nuevamente el efecto de los nanoporos sobre el microelectrodo de oro, pues la respuesta del pico de As(III) medida como carga es mayor en el electrodo NPGF a pesar de que la corriente capacitiva aumenta (Figura 4.12 B).

FIGURA 4.12 COMPORTAMIENTO DEL MICROELECTRODO DE ORO Y EL ELECTRODO NPGF EN UNA MUESTRA CON ARSÉNICO Y COBRE

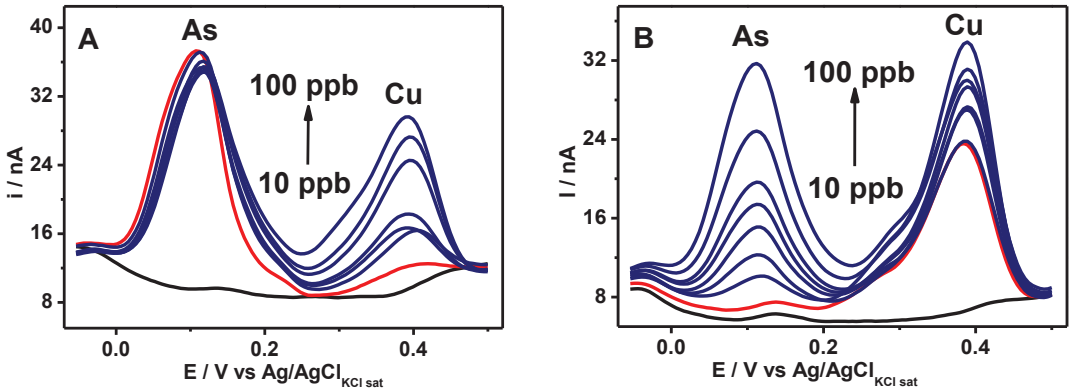


SWASV registrado en HCl 1 mol L^{-1} con una concentración de As y Cu de 100 µg L^{-1}, registrados sobre (A) microelectrodo de oro, sólo As(III) (línea roja) y As(III) y Cu(II) (línea azul); y (B) microelectrodo de oro (línea negra) y electrodo NPGF (línea roja)

FUENTE: ORELLANA D.

Por último, se realiza una prueba con una curva de calibración en presencia de Cu. En la Figura 4.13 A se añade gradualmente, 10 µg L^{-1} de Cu, hasta los 100 µg L^{-1}, sobre una muestra que contiene inicialmente 100 µg L^{-1} de As. Se observa que la respuesta del As permanece inalterada respecto de la adición de Cu. En la Figura 4.13 B, por otro lado, se realiza la adición de estándares de 10 µg L^{-1} de As, hasta igualar los 100 µg L^{-1} de Cu que contiene la muestra; la misma denota una aumento lineal del pico de As en función de su concentración, siendo el pico máximo, 100 µg L^{-1}, de la misma altura que en la Figura 4.13 A, también 100 µg L^{-1}.

FIGURA 4.13 CALIBRACIÓN DE ARSÉNICO EN PRESENCIA DE COBRE



SWASV registrado en HCl 1 mol L^{-1} con una concentración de As y Cu de 100 µg L^{-1}, registrados sobre electrodo NPGF. (A) Adición de Cu sobre una muestra que contiene As, y (B) Adición de As sobre una muestra que contiene Cu

FUENTE: ORELLANA D.

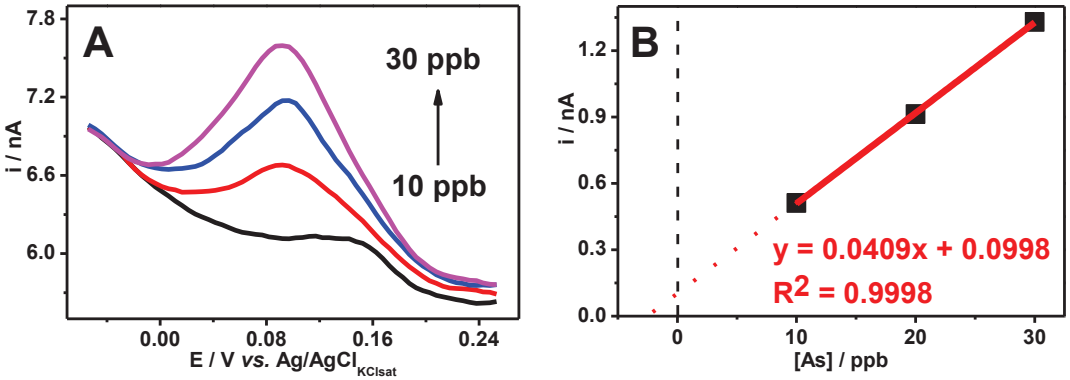
4.7 ENSAYO EN MUESTRA REAL

Para el ensayo sobre muestra real se tomó una muestra de agua de la llave del laboratorio LSEME, ciudad de Sao Paulo, Brasil. Se diluyó un volumen de HCl 2 mol L^{-1}, previamente preparado, con un volumen igual de agua de grifo, con el fin de obtener una solución de HCl 1 mol L^{-1}.Se lleva a cabo una calibración con adición de estándares.

Se considera que los datos de concentración analizados deben encontrarse dentro del rango lineal calculado para esta metodología, que es de 2 a 30 µg L^{-1}, por lo tanto se añaden alícuotas de 10, 20 y 30 µg L^{-1}, que cumplen la condición.

En la Figura 4.14 A se muestra el voltamograma obtenido después de la adición de tres concentraciones conocidas, y la Figura 4.14 B muestra la curva de calibración resultante, donde se aprecia el comportamiento del electrodo NPGF.

FIGURA 4.14 CALIBRACIÓN DE MUESTRA REAL



(A) Voltamograma SWASV registrado sobre HCl 1 mol L^{-1} (preparado con agua de la llave) con As(III) en el rango lineal de 10 a 30 µg L^{-1}; parámetros: E_{dep} = -0.3 V; t_{dep} = 120 s; t_P = 5 mV, ΔE_P = 25 mV, f = 75 Hz. (B) curva de calibración del voltamograma A

FUENTE: ORELLANA D.

Mediante el método de adición de estándares y los datos obtenidos de la curva de calibración, además de tener en cuenta el factor de dilución (2x), se calcula la concentración inicial de As(III) presente. Ésta da como resultado 4.8 µg L^{-1} de As(III) en el agua de grifo, cantidad que se encuentra dentro del límite de tolerancia máximo definido por la OMS.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Los ensayos desarrollados sobre el microelectrodo de oro para la detección de arsénico en función de las alturas y potenciales de pico, indican que este es un material muy adecuado para el análisis electroquímico de este semimetal.

- La técnica electroquímica de anodización empleada para la construcción de electrodos nanoporosos de oro mostró ser eficiente mediante la caracterización de los mismos, tanto electroquímicamente como mediante la microscopía electrónica de barrido. Además, al medir la ECSA y el Rf se demuestra que el área activa del NPGF incrementa más de 10 veces en relación con el microelectrodo de oro.

- El potencial de preconcentración de As(III) sobre el electrodo desarrollado es -0.3 V, por lo que se minimiza la posible producción de H_2 que surge al trabajar con potenciales más negativos. También, el proceso de preconcentración de As(III) y Cu(II) sobre la superficie del NPGF se da de manera diferente a la observada sobre el microelectrodo de oro, lo que permite una buena separación de los picos de As(III) y Cu(II) y una buena lectura de arsénico en presencia del interferente.

- El electrodo NPGF demostró una robustez adecuada con base en los cálculos de repetibilidad y de reproducibilidad, para ser tomado como un sensor de fácil fabricación y adecuado para la posible medición de As en muestras in situ empleando un potenciostato portátil. También, la concentración de As(III) obtenida en la muestra real está dentro del rango lineal de trabajo del electrodo, por lo que es confiable, y se encuentra dentro del límite de tolerancia de la OMS.

- Los microelectrodos nanoporosos de oro construidos electroquímicamente mostraron ser adecuados para determinar concentraciones a nivel traza de arsénico en agua potable de una manera reproducible y confiable.

5.2 RECOMENDACIONES

- Con base en el método desarrollado en este estudio se puede realizar un estudio más minucioso de los parámetros a optimizar tales como tiempo y potencial de formación de nanoporos y potencial y tiempo de preconcentración, con el fin de realizar una validación del método.

- Para futuros análisis y mejoras del LOD del método, se pueden realizar curvas de calibración trabajando con tiempos de preconcentración mayores a los 120 segundos y bajo los mismos parámetros usados en este estudio.

- Realizar la comparación de los resultados de la técnica desarrollada con los de una técnica ya establecida, confiable y validada en laboratorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antonova, S., & Zakharova, E. (2016). Inorganic arsenic speciation by electroanalysis. From laboratory to field conditions: A mini-review. *Electrochemistry Communications, 70*, 33-38.

Armienta, M. A., Farías, S. S., & Litter, M. I. (Eds.). (2008). *Distribución del As en las regiones ibérica e iberoamericana*. Argentina.

Armienta, M. A., Farías, S. S., & Litter, M. I. (Eds.). (2009). *Metodologias analiticas para deteccion de As en agua y suelo.pdf*. Argentina.

ATSDR. (2007). Arsénico ATSDR. 11. Tomado de de Arsénico ATSDR de: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs2.html

Baeza, A., & García, A. (2011). Principios de electroquímica *Documentos de apoyo. UNAM* (pp. 34-72). pp, 34-72.

Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical methods: fundamentals and applications* (Second ed. Vol. 2): Wiley New York. pp, 1-528.

Baur, J. E. (2007). 19 - Diffusion Coefficients A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 829-848). Amsterdam: Elsevier. pp, 829-848.

Begerow, J., Dunemann, L., & Sur, R. (2002). Arsenic species (As(III), As(V), monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid) *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety* (pp. 97-117): Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. pp, 97-117.

Bertrand, M. J. (1998). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry *Journal of the American Chemical Society, 120*(26), 6633-6633.

Bundschuh, J., et al. (2012). One century of arsenic exposure in Latin America: a review of history and occurrence from 14 countries. *Sci Total Environ, 429*, 2-35.

Ciobanu, M., et al. (2007). 1 - Fundamentals A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 3-29). Amsterdam: Elsevier. pp, 3-29.

CNA. (2009). Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento. In SEMARNAT (Ed.). México: Comisión Nacional del Agua.

Creager, S. (2007). 3 - Solvents and Supporting Electrolytes A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 57-72). Amsterdam: Elsevier. pp, 57-72.

Chen, S. (2007). 2 - Practical Electrochemical Cells A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 33-56). Amsterdam: Elsevier. pp, 33-56.

Dai, X., & Compton, R. G. (2006). Detection of As(III) via oxidation to As(V) using platinum nanoparticle modified glassy carbon electrodes: arsenic detection without interference from copper. *Analyst, 131*(4), 516-21.

Dai, X., et al. (2004). Anodic Stripping Voltammetry of Arsenic(III) Using Gold Nanoparticle-Modified Electrodes. *Analytical Chemistry, 76*(19), 5924-5929.

Denuault, G., Sosna, M., & Williams, K.-J. (2007). 11 - Classical Experiments A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 431-469). Amsterdam: Elsevier. pp, 431-469.

Ecuador, R. d. M. d. Ambiente (2003). *TULSMA, Libro VI Anexo I*. Euador.

EPA. (2004). Monitoring Arsenic in the Environment: A review of science and technologies for field measurements and sensors. Cincinnati: US Environmental Protection Agency.

EPA. (2009). National primary drinking water regulations. 6. Tomado de de National primary drinking water regulations de: https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-06/documents/npwdr_complete_table.pdf

EU. (1999). Directiva del consejo relativa a la calidad de las aguas destinadas al cnsumo humano. 23. Tomado de de Directiva del consejo relativa a la calidad de las aguas destinadas al cnsumo humano de: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0083&from=EN

Evans, D. H., et al. (1983). Cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education, 60*(4), 290.

Fischer, A. E., Show, Y., & Swain, G. M. (2004). Electrochemical Performance of Diamond Thin-Film Electrodes from Different Commercial Sources. *Analytical Chemistry, 76*(9), 2553-2560.

Forsberg, G., et al. (1975). Determination of arsenic by anodic stripping voltammetry and differential pulse anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry, 47*(9), 1586-1592.

Forster, R. J., & Keyes, T. E. (2007). 6 - Ultramicroelectrodes A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 155-171). Amsterdam: Elsevier. pp, 155-171.

Gibbon-Walsh, K., Salaun, P., & van den Berg, C. M. (2010). Arsenic speciation in natural waters by cathodic stripping voltammetry. *Anal Chim Acta, 662*(1), 1-8.

Granger, M. C., et al. (2000). Standard Electrochemical Behavior of High-Quality, Boron-Doped Polycrystalline Diamond Thin-Film Electrodes. *Analytical Chemistry, 72*(16), 3793-3804.

Henke, K. (2009). *Arsenic: environmental chemistry, health threats and waste treatment*: John Wiley & Sons. pp, 69-235.

Hernández, A., et al. (2011). Toxicología Básica o Fundamental. Tomado el 6 de enero, 2016, de http://www.ugr.es/~ajerez/proyecto/t1-13.htm

Hung, D. Q., Nekrassova, O., & Compton, R. G. (2004). Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review. *Talanta, 64*(2), 269-77.

IARC. (2006). Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 27. Tomado de de Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans de: http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf

IARC. (2012). *Arsenic, Metals, Fiber and Dusts* (Vol. 100). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp, 35-85.

IARC. (2016). Agents Classified by the IARC Monographs. 36. Tomado de de Agents Classified by the IARC Monographs de: https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf

INEN. (1998). Agua potable. Determinación de arsénico. Método del dietilditiocarbamato de plata. Tomado de de Agua potable. Determinación de arsénico. Método del dietilditiocarbamato de plata de: https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0980.1984.pdf

INEN. (2011). Agua Potable. Requisitos. [4a revisión]. Tomado de de Agua Potable. Requisitos de: https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf

Jiang, J., Holm, N., & O'Brien, K. (2015). Improved Anodic Stripping Voltammetric Detection of Arsenic (III) Using Nanoporous Gold Microelectrode. *ECS Journal of Solid State Science and Technology, 4*(10), S3024-S3029.

Li, D., et al. (2012). Electrochemical determination of arsenic(III) on mercaptoethylamine modified Au electrode in neutral media. *Anal Chim Acta, 733*, 23-7.

Liu, Z.-G., & Huang, X.-J. (2014). Voltammetric determination of inorganic arsenic. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 60*, 25-35.

Magnusson, B., & Oenemark, U. (Eds.). (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.).

Mandal, B. K., & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic around the world: a review. *Talanta, 58*(1), 201-235.

Mardegan, A., et al. (2012). Electroanalysis of Trace Inorganic Arsenic with Gold Nanoelectrode Ensembles. *Electroanalysis, 24*(4), 798-806.

Mays, D. E., & Hussam, A. (2009). Voltammetric methods for determination and speciation of inorganic arsenic in the environment--a review. *Anal Chim Acta, 646*(1-2), 6-16.

Ndlovu, T., et al. (2014). Voltammetric detection of arsenic on a bismuth modified exfoliated graphite electrode. *Electrochimica Acta, 128*, 48-53.

OMS. (2001). Environmental Health Criteria 224 - Arsenic and Arsenic Compounds. 554. Tomado de de Environmental Health Criteria 224 - Arsenic and Arsenic Compounds de: http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_224/en/

OMS. (2006). Guias para la calidad del agua potable. *1*, 408. Tomado de de Guias para la calidad del agua potable de: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/es/

OMS. (2011). Arsenic in drinking water. Tomado de de Arsenic in drinking water de: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/arsenic.pdf

Palchetti, I., et al. (1999). Characterisation of screen-printed electrodes for detection of heavy metals. *Microchimica Acta, 131*(1-2), 65-73.

Roy, P., & Saha, A. (2002). Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Current Science, 82*(1), 38-45.

Salaun, P., Planer-Friedrich, B., & van den Berg, C. M. (2007). Inorganic arsenic speciation in water and seawater by anodic stripping voltammetry with a gold microelectrode. *Anal Chim Acta, 585*(2), 312-22.

Sánchez, M. A. (2015). Métodos de Calibrado. Mérdida, Venezuela: Universidad de los Andes.

Seker, E., Reed, M., & Begley, M. (2009). Nanoporous Gold: Fabrication, Characterization, and Applications. *Materials, 2*(4), 2188.

Smith, T. J., & Stevenson, K. J. (2007). 4 - Reference Electrodes A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 73-110). Amsterdam: Elsevier. pp, 73-110.

Stulik, K., et al. (2000). Microelectrodes. Definitions, characterizations and applications (C. o. E. C. A. C. Division, Trans.) (Vol. 72, pp. 1483-1492): International Union of Pure and Applied Chemistry.

Sukeri, A., Saravia, L. P., & Bertotti, M. (2015). A facile electrochemical approach to fabricate a nanoporous gold film electrode and its electrocatalytic activity towards dissolved oxygen reduction. *Phys Chem Chem Phys, 17*(43), 28510-4.

Sur, U. K., Dhason, A., & Lakshminarayanan, V. (2012). A Simple and Low-Cost Ultramicroelectrode Fabrication and Characterization Method for Undergraduate Students. *Journal of Chemical Education, 89*(1), 168-172.

Swain, G. M. (2007). 5 - Solid Electrode Materials: Pretreatment and Activation A2 - Zoski, Cynthia G *Handbook of Electrochemistry* (pp. 111-153). Amsterdam: Elsevier. pp, 111-153.

Trasatti, S., & Petrii, O. (1991). Real surface area measurements in electrochemistry. *Pure and applied chemistry, 63*(5), 711-734.

Van Benschoten, J. J., et al. (1983). Cyclic voltammetry experiment. *Journal of Chemical Education, 60*(9), 772.

Yang, M., et al. (2016). Enhanced anti-interference on electrochemical detection of arsenite with nanoporous gold in mild condition. *Sensors and Actuators B: Chemical, 234*, 404-411.

Yang, M., et al. (2016). Electrochemical determination of arsenic(III) with ultra-high anti-interference performance using Au–Cu bimetallic nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical, 231*, 70-78.

Zakharova, E. A., et al. (2015). Investigations into the Speciation of Inorganic Arsenic in Weakly Alkaline Medium by Voltammetry. *Electroanalysis, 27*(4), 890-901.

ANEXOS

ANEXO N° 1

EJEMPLO DE CÁLCULO DEL RADIO DEL MICROELECTRODO DE ORO

$$i_p = 4nFDCr$$

$$3.344x10^{-8}A = 4\ x\ 1\ x\ 96485.3329\ C\ mol^{-1}\ x\ 7.2x10^{-6}\ mol\ cm^{-3}\ x\ 10\ mmol\ L^{-1}\ x\ r\ cm$$

$$r = \frac{4\ x\ 1\ x\ 96485.3329\ C\ mol^{-1}\ x\ 7.2x10^{-6}\ mol\ cm^{-3}\ x\ 10\ mmol\ L^{-1}}{3.344x10^{-8}A}$$

$$r = 0.00247\ cm$$

$$\frac{0.0247\ \cancel{cm}}{}\ x\ \frac{1\ \mu m}{10^{-4}\ \cancel{cm}}$$

$$\boldsymbol{r = 24.7\ \mu m}$$

ANEXO N° 2

EJEMPLO DE CÁLCULO DE LA ECSA Y EL Rf

Para un microelectrodo nanoporoso de oro NPGF

$$Área\ geométrica\ real = 4.84x10^{-6}cm^2$$

$$Carga\ (Q) = \frac{Área\ de\ pico}{Velocida\ de\ barrido}$$

$$Carga\ (Q) = \frac{10.5550\ nA\ V}{0.1\ V\ s^{-1}}$$

$$\boldsymbol{Carga\ (Q) = 0.1056\ \mu C}$$

$$ECSA = \frac{Q}{390\mu C\ cm^{-2}}$$

$$ECSA = \frac{0.1055\ \mu C}{390\mu C\ cm^{-2}}$$

$$\boldsymbol{ECSA == 2.7064x10^{-4}\ cm^2}$$

$$Rf = \frac{ECSA}{Área\ geométrica}$$

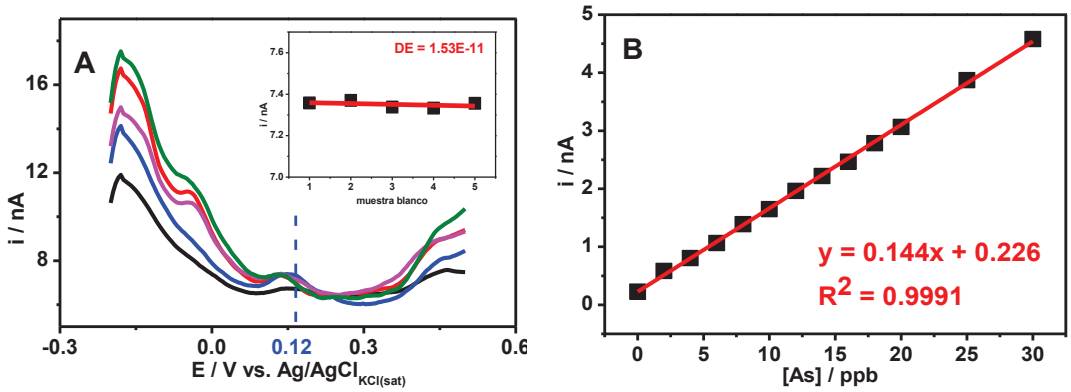
$$Rf = \frac{2.7064x10^{-4}\ cm^2}{4.84x10^{-6}cm^2}$$

$$\boldsymbol{Rf = 56}$$

ANEXO N° 3

EJEMPLO DE CÁLCULO DEL LIMITE DE DETECCIÓN LOD

$$LOD = \frac{3\ DE(del\ blanco)}{pendiente}$$



(A) Mediciones blanco mediante SWASV en HCl 1 mol L^{-1} registrados sobre un microelectrodo NPGF; y (B) Curva de calibración por adición estándar de As en HCl 1 mol L^{-1}. Rango lineal 2 – 30 µg L^{-1}

FUENTE: ORELLANA D.

$$LOD = \frac{3\ x\ 1.53x10^{-11}}{1.44x10^{-10}}$$

$$\boldsymbol{LOD = 0.318\ \mu g\ L - 1}$$