Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Química

Cuantificación electroquímica de arsénico en agua mediante uso de un electrodo de oro modificado con nanopartículas metálicas

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico

AUTOR

Jenny Elizabeth REYES QUESQUEN

ASESOR

Dr. Julio César SANTIAGO CONTRERAS

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Reyes, J. (2021). *Cuantificación electroquímica de arsénico en agua mediante uso de un electrodo de oro modificado con nanopartículas metálicas*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos del autor	
Nombres y apellidos	**Jenny Elizabeth Reyes Quesquen**
Tipo de Documento	**DNI**
Número de documento de identidad	**47070456**
Código ORCID del autor	**https://orcid.org/0000-0002-7014-9391**
Datos del asesor	
Nombres y Apellidos	**Julio César Santiago Contreras**
Tipo de Documento	**DNI**
Número de documento de identidad	**08505549**
Código ORCID del asesor	**https://orcid.org/0000-0002-1905-7029**
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y Apellidos	**Eduardo Montoya Rossi**
Tipo de Documento	**DNI**
Número de documento de identidad	**10342886**
Miembro del jurado 1	
Nombres y Apellidos	**Edgar Orlando Nagles Vidal**
Tipo de Documento	**CE**
Número de documento de identidad	**000731661**
Datos de investigación	
Línea de investigación	**C.0.5.2. Síntesis química**
Grupo de investigación	**Grupo de Investigación de Materia Condensada - GIMC**
Agencia de financiamiento	País de la agencia financiadora: **Perú** Nombre y siglas de agencia financiadora: **Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y Medioambientales - CITBM** Nombre del programa financiero: **Proyecto "Diagnóstico, monitoreo y tratamiento de aguas contaminadas de las bahías de Sechura y Paita usando procedimientos innovados"**

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	País: **Perú** Departamento: **Lima** Provincia: **Lima.** Distrito: Cercado de Lima Edificio: Facultad de Ciencias Físicas – UNMSM Coordenadas geográficas: **Latitud: -12.0597934** **Longitud: -77.0817253**
Año o rango de años en que se realizó la investigación	**Enero 2018- diciembre 2019** **2018- 2019**
URL de disciplinas OCDE	Electroquímica. https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.05 Química Analítica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.07 Química https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.00

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA
Central: 619 7000 anexos 1230 Telefax: 1209
Ciudad Universitaria – Calle Germán Amezaga 375 – Lima 1
"Año del Bicentenario del Perú:200 años de Independencia"

ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS VIRTUAL

Los suscritos miembros del Jurado nombrados por la Dirección de la Escuela Profesional de Química, bajo la Presidencia del **Dr. Eduardo H Montoya Rossi** (Presidente), el **Dr. Edgar Orlando Nagles Vidal** (Miembro) y el **Dr. Julio César Santiago Contreras** (Asesor), habiendo presentado para tal efecto la **TESIS,** titulada **"CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA DE ARSÉNICO EN AGUA MEDIANTE USO DE UN ELECTRODO DE ORO MODIFICADO CON NANOPARTÍCULAS METÁLICAS"** después de **SUSTENTADA Y APROBADA** la **TESIS** presentado por la bachiller en Química **Jenny Elizabeth Reyes Quesquen;** para optar el **TÍTULO PROFESIONAL** de **QUÍMICA,** acordaron calificarla con la **NOTA** de:

DIECINUEVE	**19**
(LETRA)	**(NÚMERO)**

Ciudad Universitaria, 27 de agosto de 2021.

Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
ASESOR

Dr. EDUARDO H MONTOYA ROSSI
PRESIDENT E

Dr. EDGAR ORLANDO NAGLES VIDAL
MIEM BRO

UNMSM
Firmado digitalmente por SANTIAGO CONTRERAS Julio Cesar FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.09.2021 17:07:00 -05:00

Dr. JULIO CÉSAR SANTIAGO CONTRERAS
Director de la E.P. de Química

... A mis padres por todo el apoyo, amor y comprensión que me han brindado durante todo el trayecto de mi vida.
A mi hermano, por su constante apoyo durante mi carrera profesional.

Agradecimientos

Principalmente, agradezco a Dios por darme la fortaleza y tenacidad de poder alcanzar una más de mis metas.

Al Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y Medioambientales (CITBM), centro de excelencia de la UNMSM, por el financiamiento otorgado en el desarrollo de la tesis, permitiéndome participar en diferentes tipos de eventos.

De manera especial quiero agradecer a mis co-asesores al Dr. Carlos Landauro Saénz y al Dr. Justiniano Quispe Marcatoma, por sus conocimientos y enseñanzas durante todo el transcurso de esta tesis.

A mi asesor el Dr. Julio Santiago Contreras por la ayuda en la asesoría de mi tesis y aconsejarme con sus conocimientos.

A mis padres, Sunciona y Jorge, por su apoyo incondicional que me han brindado en todo el transcurso de mi vida personal y profesional, por eneseñarme a no rendirme ante cualquier dificultad, sobre todo por representar el mayor ejemplo para mi vida. Sin ustedes, no sería la persona que soy.

De la misma medida agradezco profundamente a mi hermano, Luis, por darme su cariño y protección infinito desde que tengo uso de razón; por brindarme sus enseñanza en los momentos más dificiles de mi carrera profesional.

A mis compañeros del GIMC (Grupo de Investigaciones en Materias Condensadas de la UNMSM), que hicieron amena la culminanción de esta tesis.

Índice general

Resumen xiii
Abstract xvi

1. Introducción **1**

2. Fundamentos teóricos **4**
2.1. Origen y contaminación del agua con arsénico 4
2.1.1. Arsénico 4
2.1.2. Fuentes de contaminación 5
2.1.3. Arsénico en el agua 8
2.1.4. Química del arsénico 9
2.1.5. Toxicidad 11
2.1.6. Situación a nivel mundial y nacional 14
2.2. Electroquímica 15
2.2.1. Sistema Electroquímico 16
2.2.2. Sensores Electroquímicos 18
2.2.3. Parámetros de validación 19
2.3. Técnicas electroquímicas para la detección y cuantificación 21
2.3.1. Voltamperometría Cíclica (CV) 22
2.3.2. Voltamperometría de Onda Cuadrada (SWV) 25
2.3.3. Voltamperometría de Pulso Diferencial (DPV) 26
2.4. Nanopartículas metálicas para el recubrimiento del electrodo de trabajo 28
2.4.1. Métodos de síntesis de nanopartículas metálicas 30
2.4.2. Técnicas de caracterización de las nanopartículas 32
2.5. Deposición de nanopartículas sobre la superficie del electrodo de trabajo 37
2.5.1. Técnica de inmersión “Dip-Coating” 37
2.5.2. Microscopia Electronica de Barrido (MEB) 39

3. Procedimiento experimental **41**

3.1. Métodología 43

3.1.1. Identificación del electrodo de trabajo 43

3.1.2. Limpieza del electrodo de trabajo 44

3.1.3. Activación del electrodo de trabajo 45

3.1.4. Determinación de la concentración del electrolito soporte . . . 46

3.1.5. Elección de la técnica electroquímica 46

3.1.6. Curva de calibración con electrodo de oro 46

3.2. Síntesis de nanopartículas metálicas para la modificación del electrodo de trabajo 47

3.2.1. Síntesis química de nanopartículas de plata 48

3.2.2. Síntesis química de nanopartículas de cobre 50

3.2.3. Técnicas de caracterización de las nanopartículas metálicas . . 51

3.3. Recubrimiento del electrodo de trabajo con nanopartículas metálicas (Ag,Cu) 53

3.3.1. Técnica de inmersión (Dip Coating) 53

3.3.2. Caracterización por Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) 55

3.4. Curvas de calibración con electrodos modificados 56

4. Resultados y discusión **57**

4.1. Comportamiento del arsénico sobre diferentes tipos de electrodos de trabajo 57

4.2. Evaluación del proceso electródico 58

4.3. Determinanción de las condiciones óptimas para la cuantificación electroquímica del arsénico 61

4.4. Recubrimiento del electrodo de trabajo con nanopartículas 66

4.4.1. Caracterización estructural de las nanopartículas de plata y cobre 68

4.4.2. Incorporación de las nanopartículas en la superficie del electrodo de trabajo 75

4.5. Detección electroquímica del arsénico frente a electrodos modificados 76

4.6. Evaluación de las condiciones experimentales para la cuantificación con los electrodos modificados 81

4.7. Curvas de calibración y límite de detección 82

4.7.1. Electrodo de oro sin dopar 82

4.7.2. Electrodo modificado con nanopartículas de cobre 84
4.7.3. Electrodo modificado con nanopartículas de plata 86

5. Conclusiones y perspectivas **89**
5.1. Conclusiones 89
5.2. Perspectivas 90

A. Parámetros de calidad **91**

Bibliografía **97**

Índice de figuras

2.1. Ciclo del arsénico en el medio ambiente [**28**] 6
2.2. Impacto de las fuentes antropogénicas al ciclo del arsénico [**30**] 7
2.3. Especies de arsénico encontradas en el agua [**33**]. 8
2.4. Diagrama Eh-pH para las especies de arssénico en solución acuosa en el sistema de AsO_2 - H_2O a 25^{o}C y 1 bar de presión [**35**]. 9
2.5. Estructuras de compuesto de arsénico 10
2.6. Persona con arsenoicosis debido al consumo de aguas subterráneas que contienen altas cocnentraciones de arsénico 13
2.7. Mujer con despigmetanción en la mano por envenenamiento con arsénico 13
2.8. Niño con toxicidad crónica de arsénico 13
2.9. Perturbación potencial de un experimento de voltamperometría cíclica [**53**]. 23
2.10. Voltamperograma cíclico de un proceso redox reversible [**53**]. 24
2.11. Técnica SWV: A la izquierda, se muestra la forma de onda y a la derecha, la respuesta de una voltametría de onda cuadrada [**56**]. . . . 26
2.12. Técnica DPV: a) formula de la modulación del potencial con el tiempo. b) Corresponde al voltamograma de pulso diferencial [**81**]. . . 27
2.13. Métodos para la obtención de nanopartículas de plata [**59**] 31
2.14. Esquema de un espectrofotómetro UV-Vis 32
2.15. Resonacia de plasmón superficial [**91**]. 33
2.16. Difracción de rayos X producido por un cristal [**62**] 35
2.17. Diagrama de las fluctuaciones de intensidad medidas para: a) partículas grandes; b) partículas pequeñas [**64**] 36
2.18. Etapas del proceso de inmersión y de extración de la capa delgada (Fuente: autor). 38

2.19. Detalle de los patrones de flujo (líneas de corriente) durante el proceso de recubrimiento por inmersión. U_0 es la velocidad de extracción, S es el punto de estancamiento, δ la capa límite y h_0 es el grosor de la película de fluido arrastrada sobre el sustrato [**65**]. 39
2.20. Partes del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). 40

3.1. Potenciostato DY2100. Laboratorio de síntesis química. Facultad de Ciencias Físicas- Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 42
3.2. Instrumentación utilizada para la cuantificación. 1) Pc conectado por un puerto USB con el programa DY2100; 2) Potenciostato; 3) Celda electroquímica. 43
3.3. Arreglo experimental usado en este trabajo. 44
3.4. Voltamograma cíclico de la limpieza del electrodo de trabajo. 45
3.5. Esquema de la producción de nanopartículas de plata (fuente propia). 48
3.6. Diagrama de flujo del procedimiento de las NPs-Ag obtenidas por el método coloidal. 49
3.7. Esquema de la producción de nanopartículas de cobre [**101**]. 50
3.8. Equipo de espectroscopia UV-Vis. 51
3.9. Difractómetro Bruker modelo D8- Focus. 52
3.10. Equipo de trabajo instalado para el recubrimiento de películas delgadas (Dip Coating) 54
3.11. Equipo de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB). 55

4.1. Voltamograma cíclico utilizando como electrodo de trabajo un electrodo de oro (EAu) y un electrodo de carbón vítreo (GCE) en una solución de arsénico. 58
4.2. Voltamograma cíclicos de ferricianuro de potasio a diferentes velocidades de barrido. 59
4.3. a) Representación de las intensidades de corriente anódicas frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido; b) Representación de las intensidades de corriente anódicas frente a la velocidad de barrido. . 59
4.4. Respuesta electroquímica para 10 ppb de As^{+3} a distintas concentraciones de HNO_3. 61
4.5. Determinación de la concentración del HNO_3. 62

4.6. Determinación de las variables para la cuantificación de arsénico por voltamperometría de onda cuadrada. La figura (a) muestra que mejor frecuencia durante el proceso y en la gráfica (b) muestra la mejor amplitud. 63
4.7. Comportamiento de la señal analítica para 50 ppb de As^{+3} según la variación del tiempo de deposición. 64
4.8. Curva de calibración obtenido para cada una de las técnicas voltamperométricas en estudio. 65
4.9. Nanopartículas de plata 67
4.10. Nanopartículas de cobre 67
4.11. Espectro de absorción UV-vis de nanopartículas de plata. 69
4.12. Espectro de absorción UV-vis de nanopartículas de cobre. 70
4.13. Patron de difracción de las nanopartículas de plata. 71
4.14. Patron de difracción de las nanopartículas de cobre. 72
4.15. Distribución de tamaños de las nanopartículas de plata. 74
4.16. Distribución de tamaños de las nanopartículas de cobre. 74
4.17. Microscopia Electronica de Barrido (MEB) a) Electrodo modificado con nanopartículas de plata a una escala de 10 μm b) Electrodo modificado con nanopartículas de plata a una escala de 10 μm con 15k de aumento. 75
4.18. Voltamograma cíclico del comportamiento electroquímico del arsénico con un electrodo de oro con y sin NPsAg con 100 ppb de As(III) en HNO_3 (0,1 M). 77
4.19. Efecto de las nanopartículas de plata a diferentes concentraciones molares en HNO_3 (0,1 M) que contiene 100 ppb de As (III). 78
4.20. Voltamograma cíclico registrados a 0,1 V/s en el electrodo de oro modificado con NPsAg en HNO_3 (0,1 M) que contiene 10 ppb de As (III). 79
4.21. Estabilidad del electrodo modificado 80
4.22. Respuesta voltamperométrica de una solución de As(III) 10 μgL^{-1} en 0,1 HNO_3 $molL^{-1}$ en los EAu, EAu/NPsCu y EAu/NPsAg. Barrido de potencial en dirección anódica: -0,2 a 0,2 V (vs ECS). 81

4.23. a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro sin modificar, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μg L^{-1}). 83
4.24. a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro modificado con NPsCu, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μg L^{-1}). . . 85
4.25. a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro modificado con NPsAg, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μgL^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 molL^{-1}). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μgL^{-1}). . . . 87

A.1. a) SWV, para un electrodo de oro sin modificar, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración. 91

Índice de cuadros

2.1. Principales minerales de As que se enucentran en la naturaleza [**28**] . 6

4.1. Tamaño de partículas y características espectrales de las nanopartículas de plata. 68
4.2. Valores obtenidos por DLS de las nanopartículas de plata y cobre. . . 73
4.3. Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro sin modificar. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}). 84
4.4. Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de cobre. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}). 86
4.5. Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de plata. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}). 88

A.1. Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III) 92
A.2. Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III) 95
A.3. Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de cobre. 95
A.4. Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III) 96
A.5. Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de plata. 96

Resumen

Actualmente la presencia de arsénico en aguas destinada para el consumo humano es objeto de múltiples investigaciones, debido a su alto grado de toxicidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado que el nivel máximo permitido de arsénico en el consumo de agua potable sea de 10 ppb (μg L^{-1}). Debido a este problema, las técnicas electroanalíticas son una alternativa para su detección y cuantificación, debido a su simplicidad, rapidez, alta sensibilidad y a que emplean equipos sencillos y portátiles. Ante esta situación, el presente trabajo de tesis se enfoca en la determinación electroquímica del contenido de arsénico en aguas destinadas para consumo humano, así como el estudio de la mejora de la sensibilidad a través de la modificación del electrodo de trabajo empleando nanopartículas (NPs) metálicas. En la primera parte del trabajo se realiza un estudio sobre un electrodo de trabajo de oro y en la segunda parte, el electrodo de oro es modificado con nanopartículas de plata y cobre. Que fueron sintetizados por reducción química, empleando quitosano como agente estabilizante, estas muestras fueron caracterizadas por UV-Vis, DRX y DLS. Para el recubrimiento del electrodo de oro (electrodo de trabajo) a base de nanopartículas, se utilizó la técnica conocida como *Dip Coating*. Esta técnica permite que las nanopartículas se adhieran a la superficie del electrodo mediante la formación de una película delgada, otorgando una mejoría en la sensibilidad del sistema, por tanto, se obtendrá límites de detección más bajos para dar seguimiento a las normas oficiales. Dicha incorporación de nanopartículas sobre la superficie del electrodo fue corroborado mediante la técnica de microscopia electrónica de barrido (MEB).

Los resultados se obtuvieron tras realizar pruebas en agua contaminada con diferentes concentraciones de arsénico en un amplio rango lineal que abarca desde los 2 ppb hasta los 100 ppb. La cuantificación se llevó a cabo usando la técnica de voltamperometría de onda cuadrada (SWV), en un medio electrolítico de HNO_3 (0,1

M), desarrollando ensayos consecutivos en los cuales se modificaron y optimizaron parámetros. Luego de tener las condiciones óptimas, la evaluación electroquímica se efectuó por medio de una curva de calibración graficando corriente generada versus concentración de arsénico (E vs [As^{+3}]). El ajuste por mínimos cuadrados de esta curva permitió determinar: la sensibilidad, el límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).

Resultando para el electrodo sin modificar un LOD de 0,32 ppb y LOQ de 1,07 ppb. En cambio, para el electrodo modificado Au/NPsAg se obtiene un LOD de 0,03 ppb y un LOQ de 0,11 ppb, siendo este 10 veces menor que el electrodo sin modificar y 3 veces menor que el electrodo de Au/NPsCu. Por lo tanto, el electrodo modificado con Au/NPsAg ofrece una gran oportunidad para la cuantificación de arsénico en agua para consumo humano.

Palabras claves: Arsénico, Electrodo de oro, Voltamperometría de onda cuadrada, Detección electroquímica, nanopartículas de plata, nanopartículas de cobre.

Abstract

Currently the presence of arsenic in waters intended for human consumption is the subject of multiple investigations, due to its high degree of toxicity. The World Health Organization (WHO) has recommended that the maximum permitted level of arsenic in drinking water consumption is 10 ppb (μg L^{-1}). Due to this problem, electroanalytical techniques are an alternative for its detection and quantification, due to its simplicity, speed, high sensitivity and the use of simple and portable equipment. In this situation, the present thesis work focuses on the electrochemical determination of the arsenic content in specific waters for human consumption, as well as the study of the improvement of sensitivity through the modification of the working electrode using nanoparticles (NPs) metallic In the first part of the work a study is made on a gold working electrode and in the second part, the gold electrode is modified with silver and copper nanoparticles. Which were synthesized by chemical reduction, using chitosan as a stabilizing agent, these samples were characterized by UV-Vis, DRX and DLS. For coating the gold electrode (working electrode) with a nanoparticle base, this is the technique known as *Dip Coating*. This technique allows the nanoparticles to adhere to the surface of the electrode by forming a thin film, providing an improvement in the sensitivity of the system, therefore, the lower detection limits are limited to follow official standards. Said installation of nanoparticles on the surface of the electrode was corroborated using the scanning electron microscopy (MEB) technique.

The results were obtained after carrying out tests in water contaminated with different concentrations of arsenic in a wide linear range that ranges from 2 ppb to 100 ppb. The quantification was carried out using the square wave voltammetry (SWV) technique, in an HNO_3 (0,1 M) electrolytic medium, developing consecutive tests in which parameters were modified and optimized. After having the optimal conditions, the electrochemical evaluation was carried out by means of a calibration

curve plotting generated current versus arsenic concentration (E vs [As +3]). The least squares adjustment of this curve allowed determining: the sensitivity, the detection limit (LOD) and the quantification limit (LOQ).

Resulting for the unmodified gold electrode a LOD of 0.32 ppb and LOQ of 1.07 ppb. On the other hand, for the modified Au / NPsAg electrode an LOD of 0.03 ppb and an LOQ of 0.11 ppb are obtained, this being 10 times less than the unmodified electrode and 3 times less than the Au / NPsCu electrode. Therefore, the Au / NPsAg modified electrode offers a great opportunity for the quantification of arsenic in water for human consumption.

Words keys: Arsenic, gold electrode, square wave voltammetry, electrochemical detection, silver nanoparticles, copper nanoparticles.

Capítulo 1

Introducción

En la actualidad existe un problema de gran importancia ambiental a nivel mundial, producto de la contaminación. Se debe a la presencia de metales pesados tales como As, Pb, Cd y Hg que se encuentran en aguas destinada al consumo humano, generando problemas en la salud y afectando a millones de personas en la población. Tal es el caso del arsénico (As), que es un elemento natural de la corteza terrestre; ampliamente distribuido en todo el medio ambiente, está presente en el aire, el agua y la tierra, siendo este elemento el vigésimo más abundante en la naturaleza, el decimocuarto en agua de mar y el doceavo más abundante en el cuerpo humano [**1**].

La presencia de este contaminante en el agua es un tema de gran preponderancia, ya que representa una seria amenaza para la salud humana. Los niveles de arsénico son bajas en el agua de mar, superiores en el caso de ríos, lagos y muy elevados en las aguas subterráneas. Si bien es cierto que el arsénico es un oligoelemento esencial para el organismo humano en minúsculas cantidades, pero la exposición de una concentración alta puede causar intoxicación crónica. Los efectos más característicos son la aparición de lesiones cutáneas, cáncer de piel y padecimiento cardiacos [**6**, **7**].Debido a esto, organismos internacionales, como la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental (WHO y EPA por sus siglas en inglés respectivamente), han establecido un límite de máximo permisible el cual es de 10 μg L^{-1} (WHO, 2011; USEPA 2012) [**8**, **9**].

Como consecuencia a esto, muchas técnicas analíticas se han desarrollado para detectar arsénico a bajas concentraciones entre ellos destacan: la Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS), la Espectroscopia de Absorción Atómica con Generación de Hidruros(GF-AAS), la Espectroscopia de

Fluorescencia Atómica (AFS), la Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES) y la Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS) [**10**]. Sin embargo, los usos de estas técnicas suelen tener altos costos de equipamiento y operación, además de no permitir hacer mediciones en campo [**11**].

Respecto a lo anterior, la electroquímica, posee ventajas en comparación a otros métodos de análisis convencional, además promete desarrollar técnicas que son muy prometedoras para la detección de metales pesados, estas técnicas miden la intensidad de corriente que atraviesa un electrodo por aplicación de una diferencia de potencial. Así mismo ofrecen la posibilidad de desarrollar nuevas tecnologías que contribuye a la protección del medio ambiente. En este sentido, la electroquímica juega un papel importante al sugerir técnicas electroquímicas para realizar la cuantificación de As(III) presente en el agua, con una sensibilidad extremadamente alta, una alta reproducibilidad y un bajo límite de detección. Además de ofrecer un equipamiento menos costoso y portátil, lo cual facilitaría el análisis y medición in situ. Por ello esta técnica es una clara ventaja para aplicación de campo y desarrollo de métodos [**12**].

Para la aplicación de métodos electroquímicos se debe considerar el uso de una celda electroquímica el cual consta de tres electrodos, teniendo como electrodo principal al electrodo de trabajo. En el transcurso del tiempo se han utilizado diversos materiales de electrodos para la detección de arsénico [**13**]. Se han realizado estudios anteriores donde el análisis electroquímico para la detección de As(III) se hacía mediante un electrodo de gota de mercurio (HDME) [**14**, **15**].Sin embargo, debido a su toxicidad fueron sustituidos posteriormente por otros electrodos solidos metálicos, tales como platino (Pt) [**16**, **17**], plata (Ag) [**18**] y oro (Au) [**19**, **13**]. Existen varios reportes donde, se han utilizado electrodos de oro metálico y nanopartículados en conjunto con otro material como modificador [**22**, **23**]. Desde el punto de vista analítico, la mayoría de los investigadores concuerdan en el hecho de que los electrodos de oro son los más convenientes debido a su inercia y mejor interacción entre As/Au. No obstante, Dai y Compton utilizaron nanopartículas de oro para la modificación de un electrodo de carbón vítreo, dando a conocer que la sensibilidad en la detección de As(III) fue más alto cuando se modificó el electrodo con nanopartículas de oro que los de un electrodo de oro macro, además de reportar que el pico de As(III) era más estrecha y más simétrica sobre un electrodo

modificado.

En la actualidad los electrodos son modificados a base de nanopartículas metálicas, ya que se considera que desempeña un papel importante y crucial en el suministro de aplicaciones científicas y tecnológicas, por lo tanto, el estudio de los materiales a nanoescala en los últimos años ha sido muy amplio, particularmente con respecto a las nanopartículas metálicas. El desarrollo de técnicas que utilizan, es muy prometedor y se está convirtiendo en una investigación atractiva en la detección de metales pesados [**20**]. Dichos electrodos proporcionan importantes ventajas, por su sencilla renovación de la superficie del electrodo y factible modificación con nanopartículas metálicas, las cuales tienen bajos costos y alta afinidad por el arsénico.

Por tal motivo, el presente trabajo tiene un enfoque en la cuantificación de arsénico por medio de electrodos modificados con nanopartículas de plata y cobre. Representando un avance positivo dentro del campo electroquímico, ya que por muchos años han hecho uso de electrodos que contienen niveles de toxicidad altas. Por lo tanto, la demanda para realizar análisis químicos para la detección de metales pesados cada vez es mayor, es por ello que estas técnicas electroquímicas explicadas, ofrecen límites de detección menores y una sensibilidad mayor.

Atendiendo estas particularidades, es imperante que en el Perú se cuente con metodologías alternativas económicas, rápidas, confiables y selectivas para la determinación y cuantificación del arsénico (III) en aguas.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

A lo largo de este capítulo, se describirán conceptos clave enfocados con la situación global del arsénico en el medio ambiente, así mismo se hizo una revisión de literaturas previas, los cuales sirvieron como fundamento para la propuesta y realización de este trabajo.

2.1. Origen y contaminación del agua con arsénico

2.1.1. Arsénico

El arsénico es un elemento químico cuyo nombre procede del griego «Aarsenkon», que significa «potente». Se encuentra en la tabla periódica, cuyo símbolo es As, que tiene por número atómico 33 y peso atómico 74,992 $gmol^{-1}$ Se conocen otros 17 nucleídos radiactivos de As. En la tabla periódica de los elementos se encuentra en el quinto grupo principal. Es un elemento ampliamente distribuido en la atmósfera, hidrósfera y biósfera [**24**]. El arsénico ha sido clasificado químicamente como un metaloide, con propiedades tanto de metal como de elemento no-metálico. Es un material sólido de color gris acero, sin embargo, en el ambiente generalmente se encuentra combinados con otros elementos. La mayoría de los compuestos inorgánicos y orgánicos de arsénico son polvos de color blanco que no se evaporan, no tienen olor y ningún sabor especial. Por esta razón, generalmente no se puede saber si están presentes en los alimentos, en agua o en el aire. Existe en los ambientes naturales en cuatro estados de oxidación; Arseniato (V), Arsenito (III), Arsénico (0)

y Arsina (-III) [**2**]. Así mismo, las especies formadas según el estado de oxidación son varias y pueden ser de origen inorgánico u orgánico, siendo en su forma inorgánica la más toxica. Por ejemplo, el As (III) generalmente se encuentra en aguas subterráneas en condiciones reductoras y el As (V) se encuentra en ambientes oxidantes. [**3**, **4**, **5**].

Sus compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, se encuentran relacionados a través de complejas transformaciones bióticas y abióticas en el ambiente [**26**]. Dicho elemento puede encontrase en diferentes formas químicas, siendo estas; arsénico elemental (también llamado arsénico metálico), arsénico orgánico (cuando se combina con carbono e hidrógeno) y arsénico inorgánico (cuando se combina con metales, tales como el oxígeno, el azufre y el cloro).La presencia de este elemento en el medio ambiente proviene de fuentes naturales, tales como: la mineralización, actividad biológica y emisiones volcánicas; sin embargo, existe una importante contribución a partir de actividades antropogénicas que son causadas por el mismo hombre (procesos industriales), uso de combustibles fósiles, aplicación de pesticidas, etc.

2.1.2. Fuentes de contaminación

Fuentes naturales de As

El arsénico ocurre naturalmente en el suelo y en minerales y por lo tanto puede entrar al aire, al agua y al suelo en polvo que levanta el viento. La principal fuente natural proviene de las rocas madres de origen volcánico, cuyo proceso de erosión libera dicho elemento, también se encuentra en los suelos, sedimentos y agua. Se concentran principalmente en minerales de, siendo los más importantes arsenopirita, rejalgar y oropimente [**27**]. Aunque la mineralización se da de procedencia natural, es la intervención humana la que ha ocasionado la contaminación de As, causando graves problemas ambientales y de salud [**28**].

Mineral	Composición	Ocurrencia
Arsénico nativo	As	Venas hidrotermales
Arsenopirita	FeAsS	Mineral de As más abundate
Oropimente	As_2S_3	Venas hidrotermales y producto de sublimación de emanaciones volcánicas
Rejalgar	AsS	Generalmente asociado con oropimente, arcilla y carbonatos
Nicolita	NiAs	Filones y noritas
Cobaltita	CoAsS	Dépositos de rocas metamórficas
Arsenolita	As_2O_3	Mineral secundario formado por oxidación de arsenpirita,As nativo y otros minerales de arsénico
Tennantita	$(Cu,Fe)_{12}As_4S_{13}$	Venas hidrotermales
Enargita	Cu_3AsS_4	Venas hidrotermales
Escorodita	$FeAsO_4.2H_2O$	Mineral secundario

Cuadro 2.1: Principales minerales de As que se enucentran en la naturaleza [**28**]

En el ciclo natural del arsénico participan una gran cantidad de reacciones químicas y biológicas, tales como la oxidación, reducción, metilación, precipitación y adsorción que ayudan al medio ambiente a controlar la disponibilidad de este elemento [**29**].

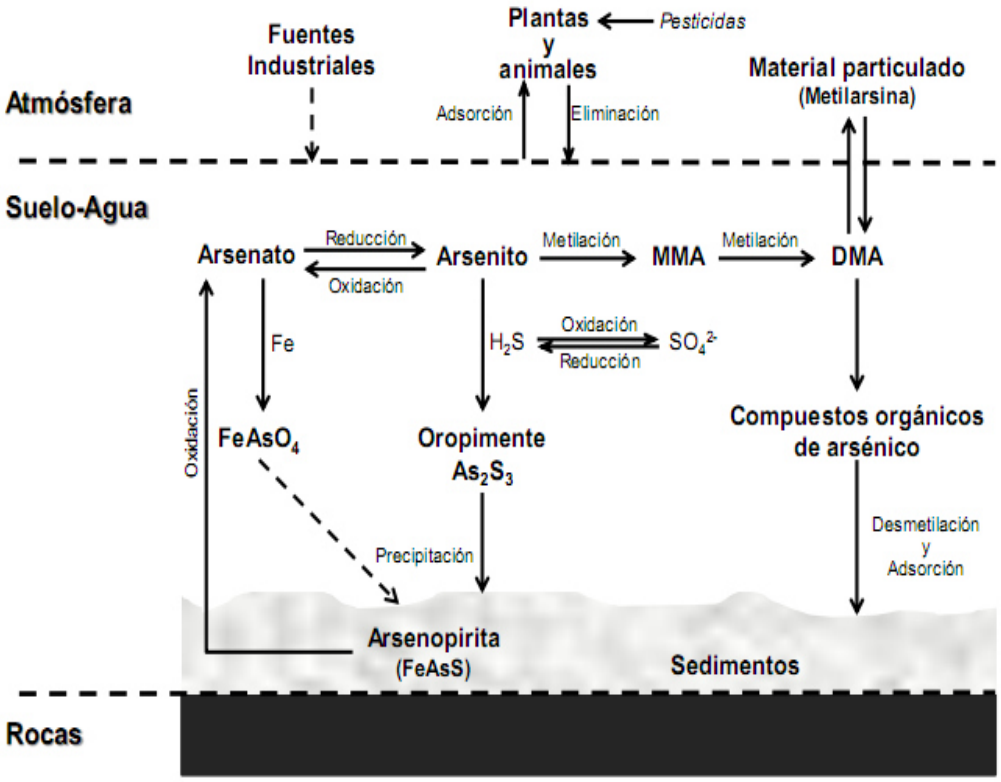


Figura 2.1: Ciclo del arsénico en el medio ambiente [**28**]

Fuentes antropogénicos de As

El arsénico está presente en muchos lugares en la naturaleza, además de estar naturalmente en el medio ambiente, el arsénico también se ha usado durante años para propósitos industriales entre los que se incluyen el control de plagas, tratamiento antimicrobiano animal, conservación de la madera, refinación de petróleo, y las industrias de minería y fundición. Los usos industriales del arsénico emplean las formas inorgánicas más tóxicas. La liberación de arsénico a través de estos procesos puede producir una mayor concentración de arsénico inorgánico en la atmósfera, el agua y el suelo. La mayor parte que existe de arsénico en el agua y en el medio ambiente proviene de las actividades humanas, esto ha hecho que se vaya incrementado potencialmente su concentración en el ámbito local. La cantidad de arsénico se incrementa por procesos industriales, fundición de metales que provocan cambio al ciclo del arsénico. En la Figura 2.2 se muestra las principales actividades antropogénicas que modifican el ciclo del arsénico [**30**].

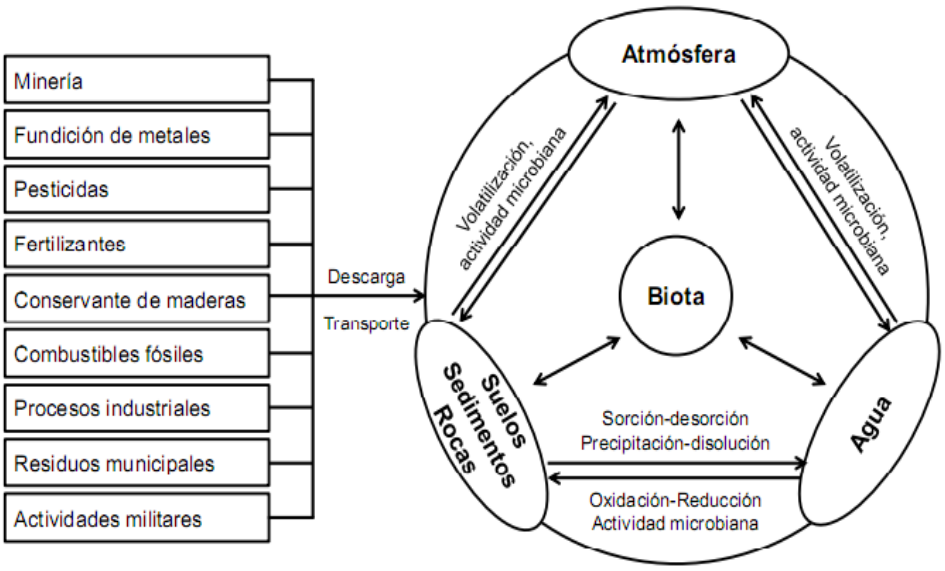


Figura 2.2: Impacto de las fuentes antropogénicas al ciclo del arsénico [**30**]

El ciclo del arsénico ha sido ampliado como consecuencia de la interferencia humana y debido a esto, grandes cantidades de arsénico terminan en el ambiente y en organismos vivos. El arsénico es mayoritariamente emitido por las industrias productoras de cobre, pero también durante la producción de plomo y zinc y en la agricultura. Este no puede ser destruido una vez que este ha entrado en el ambiente,

así que las cantidades que hemos añadido pueden esparcirse y causar efectos sobre la salud de los humanos y los animales en muchas localizaciones sobre la tierra. Dadas las variedades fuentes de arsénico, tanto en fuente natural como antropogénica, ya no resulta extraño que en los vegetales y animales lo capten y que lleguen al hombre a través de los alimentos.

2.1.3. Arsénico en el agua

La presencia de altos niveles de arsénico en el agua es un tema prioritario que ha generado una gran preocupación, debido a que es el medio de ingesta del ser humano aparte que es un elemento altamente tóxico y cancerígeno que afecta a la población humana [**31**]. Las personas pueden verse principalmente expuestas ante este elemento a través de la inhalación, la ingesta de alimentos y el agua. Los estados de oxidación que predominan en el agua son As (V), As (-I) y As (III), siendo este último 50 veces más tóxico [**32**], como se muestra en la Figura 2.3. Con menos frecuencia se encuentra el As (0) y As (-III); aunque ambas especies (As^{+3}, As^{+5}) son móviles en el medio, es el arsenito más lábil y tóxico.

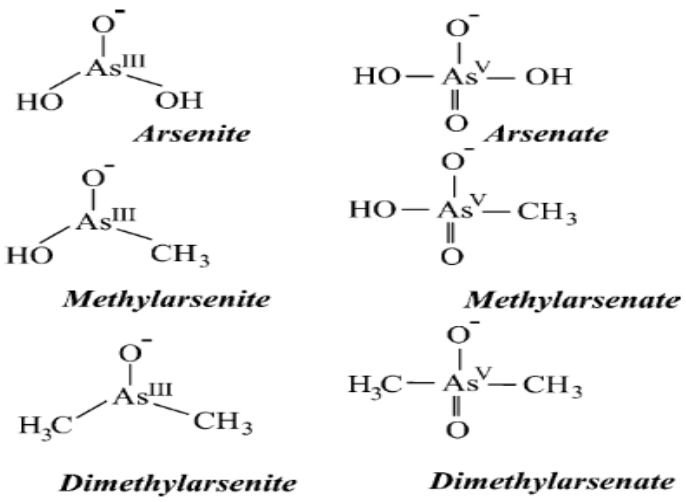


Figura 2.3: Especies de arsénico encontradas en el agua [**33**].

El arsénico se encuentra en un amplio rango de pH y depende del potencial de oxidación y reducción del agua, sin embargo, se puede encontrar en depósitos abiertos puesto que se me moviliza fácilmente a pH neutro.

En las aguas naturales bajo condiciones oxidantes el As(V) puede encontrarse como H_3AsO_4 y sus correspondientes productos de disociación ($H_2As_4{}^{-1}$, $HAsO_4{}^{-2}$ y $AsO_4{}^{-3}$; pK_{a1}: 2,3; pK_{a2}: 6,8 y pK_{a3}: 11,6), mientras que en leves condiciones reductoras el As(III) se presenta como H_3AsO_3 y sus correspondientes derivados protolíticos dependiendo del pH ($H_4AsO_3{}^{+}$, $H_2AsO_3{}^{-}$, $HAsO_3{}^{-2}$ y $AsO_3{}^{-3}$; pK_{a1}: 9,2; pK_{a2}: 12,7) [**34**].

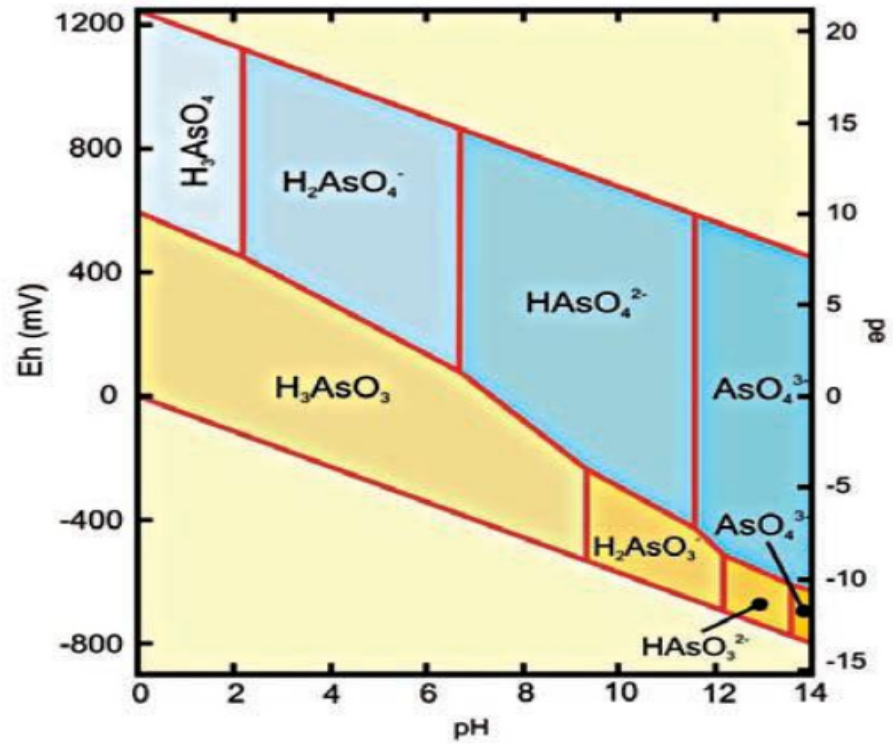


Figura 2.4: Diagrama Eh-pH para las especies de arssénico en solución acuosa en el sistema de AsO_2 - H_2O a 25^{o}C y 1 bar de presión [**35**].

El diagrama pe-pH (o Eh-pH) representado en la Figura 2.4 muestra los intervalos de potencial redox y pH a los cuales predomina cada una de las especies ácido-base de As(III) y As(V). Este diagrama puede usarse para predecir la especiación de As inorgánico en aguas midiendo únicamente el potencial redox y el pH [**35**, **36**].

2.1.4. Química del arsénico

Con respecto a la química del arsénico, este es un metaloide el cual puede estar presente en distintos estados de oxidación. La forma trivalente, As (+3), se hidroliza como ácido arsenioso y este se disocia completamente a un pH>4, y se

encuentra como ácido libre o como una de las especies resultantes de su disociación. La forma pentavalente As (+5) también se hidroliza como ácido arsénico y muestra una disociación sustancial solamente a un pH>8 [**37**].

En determinados organismos la metilación del arsénico inorgánico puede dar lugar a metabolitos trimetilados. Las reacciones de metilación mediadas biológicamente que ocurren en organismos terrestres y marinos convierten el arsenito y arseniato inorgánico en compuestos metilados de toxicidad moderada como el monometilarsonato [MMA(v)] o ácido monometilarsónico [MMA, As^V], el dimetilarseniato [DMA(v)] o ácido dimetilarsínico [DMA, As^V] [**5**], el óxido de trimetilarsina (TMA) y el ion tetrametilarsonio (TMA^+) [**38**].

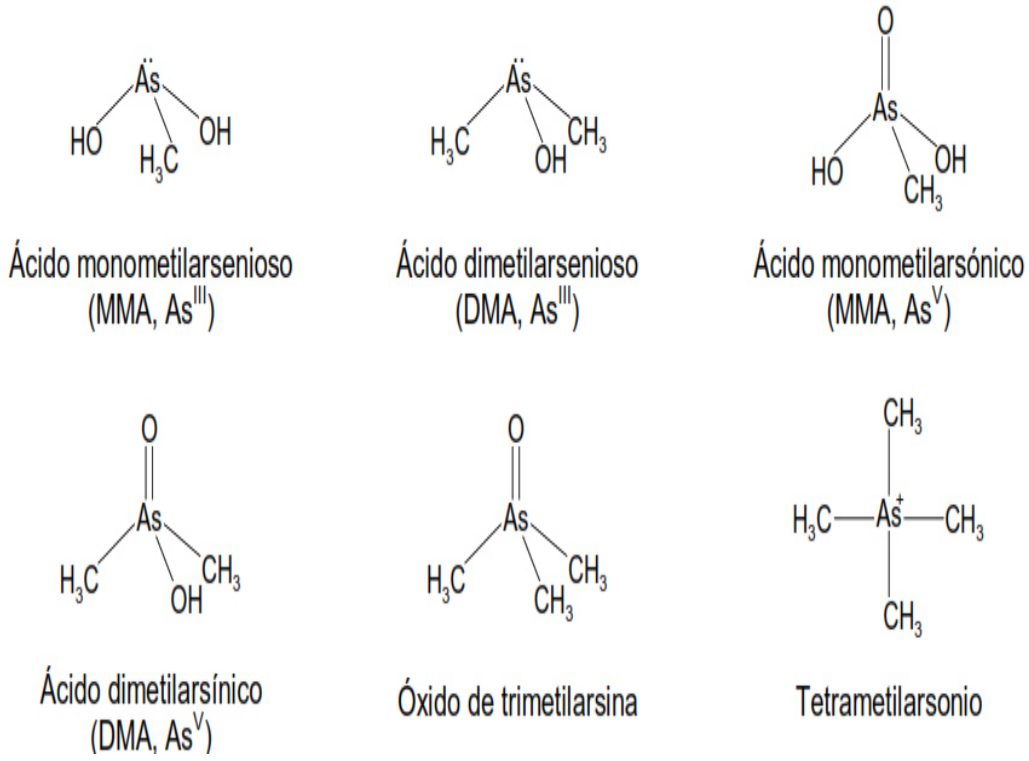


Figura 2.5: Estructuras de compuesto de arsénico

Existen varios factores que afectan la química del arsénico y, por tanto, su movilidad son los procesos químicos tales como: disolución reductiva de óxidos/hidróxidos de hierro [**39**], la reducción de sulfato y la precipitación de pirita, las transformaciones biológicas [**40**, **41**] y los procesos físico-químicos como la adsorción/desorción [**42**, **43**] y el intercambio iónico.

2.1.5. Toxicidad

Debido a su alta toxicidad, el As es una de las 10 sustancias químicas que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera más preocupante para la salud pública [**44**], además La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), 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) [**45**].

El arsénico es uno de los más tóxicos elementos que pueden ser encontrados. La toxicidad del arsénico está determinada por su estado de oxidación, generalmente, las formas inorgánicas son más tóxicas que las orgánicas. Se ha reportado que el As(III) es de 4 a 10 veces más soluble en agua que el As(V) [**46**]. Las formas arsenicales ingresan al cuerpo humano tanto en su forma orgánica como inorgánica, principalmente mediante el consumo de agua, comida y en menor proporción por vía respiratoria o dermal. Actualmente están completamente definidos sus efectos adversos a la salud, la toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación y de la dosis suministrada, manifestándose como intoxicación aguda o intoxicación crónica. Las fuentes de exposición son habitualmente los alimentos contaminados que proviene de cultivos regados a altas concentraciones de arsénico; la exposición a una atmosfera contaminada con compuestos volátiles de arsénico y el agua de bebida contaminada.

La exposición al arsénico inorgánico puede causar varios efectos sobre la salud, como es irritación del estómago e intestinos, disminución en la producción de glóbulos rojos y blancos, cambios en la piel, e irritación de los pulmones. Es sugerido que la toma de significantes cantidades de arsénico inorgánico puede intensificar las posibilidades de desarrollar cáncer, especialmente las posibilidades de desarrollo de cáncer de piel, pulmón, hígado, linfático. A exposiciones muy altas de concentración de arsénico inorgánico puede causar infertilidad y abortos en mujeres, puede causar perturbación de la piel, pérdida de la resistencia a infecciones, perturbación en el corazón y daño del cerebro tanto en hombres como en mujeres. Finalmente, el arsénico inorgánico puede dañar el ADN. El arsénico orgánico no puede causar cáncer, ni tampoco daño al ADN. Pero exposiciones a dosis elevadas puede causar ciertos efectos sobre la salud humana, como es lesión de nervios y dolores de estómago.

De todas las fuentes de arsénico en el medio ambiente, su presencia en aguas de bebida es la que supone un mayor riesgo para la salud humana, debido a sus propiedades tóxicas.

Efectos sobre la salud

Los efectos que puede causar el arsénico sobre la salud, pueden ser detectado a tiempo con los primeros síntomas, en caso contrario la salud del ser humano puede ser muy grave. La contaminación por este elemento se diagnostica por medio de mediciones en orina, cabellos o uñas.

Efectos agudos: Se da por una absorción de una dosis grande de As ingerido o inhalado en una vez o varias veces seguidas. Los síntomas inmediatos de intoxicación aguda por arsénico incluyen vómitos, dolor abdominal y diarrea. Seguidamente, aparecen otros efectos, como entumecimiento u hormigueo en las manos y los pies o calambres musculares y, en casos extremos, la muerte. El tratamiento consiste de lavados estomacales y la oportuna administración del antídoto llamado dimercaprol.

Efectos crónicos: Se da por consumo de pequeñas cantidades de agua con As durante tiempos prolongados. Los primeros síntomas de la toxicidad crónica se dan a través del consumo de agua y alimentos contaminados.

* Hiperqueratosis: Es un trastorno que se observan generalmente en la piel caracterizado por el engrosamiento de la capa externa, esto se debe a una acumulación excesiva de queratina, el cual tiene como consecuencias durezas y callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies [**12**].

* Arsenicosis: Es una enfermedad crónica que resulta de beber agua con altos niveles de arsénico y como consecuencia en la salud incluyen problemas como: la despigmentación en la piel, cáncer de la piel, cáncer del hígado, riñón y pulmones, problemas de los vasos sanguíneos en los pies y las piernas; otros síntomas posibles son diabetes, alta presión sanguínea y problemas reproductivos. Estos efectos se producen tras un largo periodo de tiempo de 5 a 20 años.



Figura 2.6: Persona con arsenoicosis debido al consumo de aguas subterráneas que contienen altas cocnentraciones de arsénico



Figura 2.7: Mujer con despigmetanción en la mano por envenenamiento con arsénico



Figura 2.8: Niño con toxicidad crónica de arsénico

2.1.6. Situación a nivel mundial y nacional

El arsénico es una de las 10 sustancias químicas que la OMS considera más preocupantes para la salud pública. En Latinoamérica, aproximadamente unos 4.5 millones de residentes de Argentina, Chile; México, El salvador, Nicaragua, Bolivia y Perú son afectadas por ingerir de forma permanente agua con niveles de arsénico que perjudican su salud [**80**]. En el Perú, la presencia de este contaminante proviene directamente por factores naturales como, por ejemplo, de la explotación minera, de origen geológico y por la refinación de metales por fundición. Actualmente en Perú no existe una cuenta exacta de la población propensa a la ingestión de arsénico a través del agua; a pesar de ello, la presencia de este metaloide ha afectado a varios departamentos del país. Los departamentos que registran con un mayor índice de contaminación son: Lambayeque, Piura, Tumbes, Cajamarca, Tacna, Moquegua y La Libertad. Pues las concentraciones reportadas varían mucho en el transcurso del tiempo y los máximos reportados tienen un orden que se encuentra por encima del límite permisible establecido por la OMS en agua potable de 10μg L^{-1} y supone una gran amenaza que requiere una mayor investigación y acción.

2.2. Electroquímica

El antecedente acerca del conocimiento de la electricidad empieza en 1781 con Charles- Augustin (teoría de la atracción electrostática) siguiendo encaminado Joseph Priestley en Inglaterra para el nacimiento científico de la electroquímica. Durante los finales del siglo XVIII, el físico italiano Luigi Galvani marco el nacimiento de la electroquímica, demostrando a través de sus experimentos la conducción eléctrica a través de los metales sobre unas ancas de rana, hecho que aprovecharía favorablemente su colega Volta para la elaboración de una pila eléctrica. Sin embargo, años más adelante Davy explorando el uso de pila de Volta se dio cuenta que mediante la electrolisis se podía identificar varios elementos químicos. Los aportes de otros científicos como Ampere, Oersted y Liebig se suman a la teoría electroquímica y posteriormente Berzelius un químico sueco logra interpretar en función las proporciones de materia que se combinan con los flujos eléctricos que están implicados. [**92**]

Para mediados del siglo XIX, el estudio y la teoría sobre electroquímica, se vieron aclarados por Michael Faraday (leyes de la electrólisis) y John Daniell (pila galvánica). A finales del siglo, Arrhenius y Ostwald comenzaron a influenciarse en campos más importante como las teorías de la conductividad de electrolitos. A partir del siglo XX, Millikan descubrió la carga del electrón gracias a la electroquímica. Dichas contribuciones han permitido que en la actualidad la electroquímica sobresalga en temas tan diversos que van desde la electroquímica hasta las celdas fotovoltaicas y quimioluminiscencia.

En la actualidad definimos electroquímica como el estudio de la interrelación que se establece entre las corrientes o voltajes eléctricos y las reacciones químicas que producen efectos eléctricos. Es decir, las reacciones químicas que se dan en la interfase de un conductor eléctrico y un conductor iónico, siendo este último una disolución y en algunos casos especiales un sólido. En un sentido más amplio, la electroquímica es una reacción no espontánea que al inducir una corriente eléctrica se produce reacciones de óxido-reducción [**93**].

2.2.1. Sistema Electroquímico

Un sistema electroquímico está conformado por un dispositivo electrónico capaz de medir y controlar el potencial de una celda que es producida por el paso de una corriente eléctrica, compuesto por tres conductores electrónicos puesto en contacto con un conductor iónico. El proceso de reacción dentro de una celda electroquímica ocurre antes, durante y después de imponer una perturbación eléctrica. Dentro de un sistema electroquímico se puede encontrar:

***Potenciostato**

Para llevar acabo los experimentos electroquímicos, se necesitan como mínimo dos electrodos, donde se pueda producir una reacción de óxido-reducción, llevados a cabo de un ánodo y un cátodo respectivamente. Sin embargo, esta propuesta de utilizar dos electrodos presenta un inconveniente. Y es que cuando la reacción procede dentro de la celda, la diferencia de potencial aplicada circula por el electrodo de referencia haciendo que se polarice, es decir, se ve afectado por el paso de corriente. Para evitar que esto suceda se añadió un tercer electrodo que pueda controlar automáticamente el potencial de la celda, este nuevo electrodo se le conoce como contra electrodo o electrodo auxiliar. Fue Hickling en 1942 que construyo el primer potenciostato incluyendo los tres electrodos dentro de una celda electroquímica por lo que fue un gran avance en la resolución y precisión de las mismas. Siendo este principio manteniéndose hasta la actualidad.

El potenciostato es un dispositivo de control y medición de gran importancia muy utilizado en los experimentos electroquímicos, es una fuente necesaria que brinda una diferencia de potencial constante. Se encuentra conectado a un ordenador, en el cual se ha instalado un software adecuado para la obtención de resultados del experimento, así mismo, cuenta con una variedad de técnicas electroquímicas y parámetros que pueden ser visualizados, lo que facilita la tarea del procesamiento de datos [**94**].

Una característica importante de este instrumento, es el control potenciostático, que controla el potencial de la superficie del electrodo de trabajo para que no sea vea afectado durante la reacción (que puede actuar indiferentemente con ánodo o cátodo) con respecto al electrodo de referencia.

***Electrodo de trabajo (EW)**

En el electrodo de trabajo es en el que está ocurriendo la reacción de interés, por tanto, la reacción que va ser objeto de estudio. La mayoría de electrodos de trabajo consisten en ser de materiales inertes y de diámetro conocidos.

***Electrodo de referencia (ER)**

El electrodo de referencia se caracteriza por poseer un potencial de equilibrio estable e invariable y es totalmente independiente de la concentración del electrolito. Permite conocer a que potencial ocurre el proceso de oxidación y reducción estudiado. De esta manera se puede controlar el potencial del electrodo de trabajo. En consecuencia, el potencial del electrodo de referencia debe ser constante y estable. Como ejemplos de electrodos de referencias se tiene: Al electrodo de Calomel, electrodo de plata- Cloruro de plata, electrodo de zinc, entre otros [**96**].

***Electrodo auxiliar o contra-electrodo (EA)**

El electrodo auxiliar suele ser un hilo de un material inerte (generalmente se usa un alambre de platino) con el objetivo de que no reaccione al entrar en contacto con la disolución. Es un electrodo no polarizable que esta acoplado al electrodo de trabajo y juega el papel de colector. Este electrodo auxiliar se utiliza para que la corriente circule a través de este, cerrando el circuito del proceso electroquímico y manteniendo constante la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia [**95**].

***Electrolito soporte**

Los más frecuentes son los electrolitos que aparecen como soluciones de sales, ácidos o bases. Soporta la mayor parte de la corriente de migración de iones, y por tanto disminuye la migración culombica de la especie electro activa a un nivel despreciable. El electrolito también disminuye la resistencia de la disolución. Tiene como función:

- Evitar el efecto migración eléctrica
- Conducir en la fuerza iónica en la celda
- Ceder protones al agua

El efecto de la concentración del electrolito soporte sobre la determinación de As por voltamperometría fueron revisados en publicaciones anteriores.

2.2.2. Sensores Electroquímicos

En el campo de la Química Analítica, los sensores electroquímicos detectan selectivamente los contaminantes y se presentan como una de las áreas más activas, debido a que hay que asegurar y mantener la calidad de agua o suelo para que más adelante su descomposición no sea ningún peligro para el ser vivo. Desde hace varios años, la tecnología de los sensores ha tomado gran importancia en la química analítica, ya que estos sensores permiten realizar análisis in-situ, tener una alta sensibilidad y fiabilidad. Los empleos de los sensores ofrecen varias ventajas, rápidas respuestas (potencial, corriente, potencial-corriente), estabilidad y son los más estudiados. Los campos donde los sensores han tenido una mayor implantación son principalmente en la biomedicina, el medioambiente y en los últimos años en la electroquímica [**97**].

Los electrodos de trabajo que se utilizan en las técnicas electroquímicas son de un área superficial y de gran afinidad por el metal a ser reducido. Reportes antiguos señalan que la técnica polarográfica utilizaba como electrodo de trabajo a la gota colgante de mercurio (HMDE)[**48**], con el fin de detectar en forma selectiva al arsénico en estas dos últimas décadas, sin embargo, por ser el mercurio tóxico para la salud, se consideró reducir el uso de este electrodo. Para ello se propuso reemplazar el electrodo por otros materiales más amigables con el medio ambiente y menos riesgoso. Por ejemplo, los electrodos de carbón vítreo y de pasta de carbón son los más utilizados para la detección de arsénico, este último presenta una gran ventaja teniendo una alta corriente de fondo debido a la formación de óxidos, no obstante, hay un problema con estos tipos de electrodos es que se ve afectada por la composición exacta de la pasta y su morfología depende mucho de su preparación por lo que resulta deficiente volver a reutilizarlo y/o recubrirlo para usos posteriores [**98**] . A diferencia del carbón vítreo este electrodo puede ser pulido, expuesto al vacío y es compatible con solvente orgánicos. Por esta razón es el electrodo más utilizado con una variedad de pre-tratamiento, aunque hasta la actualidad no se ha establecido un tratamiento estándar.

Por otro lado, los electrodos metálicos han llamado mucho la atención por su versatilidad y afinación que tiene con los metales pesados. Los electrodos metálicos mayormente son de alambres o placas de un metal específico, por ejemplo, el oro, y el platino que son metales inertes. Teniendo este último un alto costo y un suministro limitado, siendo el oro un metal más abundante y económico que el platino.

***Electrodo de oro para la determinación de arsénico**

El electrodo de oro ha suscitado un gran interés por sus aplicaciones electroquímicas debido a las propiedades que presenta este metal. La propiedad que más destaca es su elevada conductividad, una buena relación entre superficie/volumen, así como una baja reactividad frente a reactivos simples. Así mismo ha sido investigado por su comportamiento catalítico.

El uso del electrodo oro en análisis electroquímico permite detectar la determinación del arsénico con elevada sensibilidad y bajos límite de detección como producto de la gran afinidad que presenta el oro por dicho metal, lo que hace que se deposite sobre su superficie electródica. Varios autores han publicado diversos trabajos en los que se han utilizado electrodos de oro de diferentes formas para la determinación de arsénico: microelectrodo de oro [**49**], electrodo con películas de oro nanoestructuradas [**50**], electrodo de oro policristalino [**51**] y así muchos casos más, donde el electrodo de oro es más usado para la determinación de As(III).

La principal desventaja de este metal es su alto coste, por ello se ha llevado a una nueva búsqueda del metal modificando su morfología llevando al metal a escalas manométricas, que resulta un incremento en la superficie activa del electrodo. Lo que da paso al uso de los nanomateriales.

2.2.3. Parámetros de validación

Los parámetros de validación, es el proceso por el cual se demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado.

*** Sensibilidad**

La sensibilidad es un método analítico que se define como, la corriente máxima de un pico anódico a diferentes concentraciones de un analito, es decir, es el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito. La IUPAC, define como sensibilidad la pendiente de la curva de calibración que se da ajustando una línea recta los resultados con tendencia lineal por mínimos cuadrado [**52**].

*** Límite de Detección (LOD)**

Se puede definir como límite de detección de un procedimiento analítico, como la mínima concentración o cantidad de analito en estudio, que puede ser detectada con un nivel de confianza dado, aunque no necesariamente puede ser cuantificada bajo dichas condiciones experimentales. De esta manera este parámetro ha sido utilizado cuando el método estudiado abarca concentraciones pequeñas a niveles de trazas, así mismo, comprueba si la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un nivel determinado. Se expresa habitualmente en las unidades de concentración que se encuentra el analito, por ejemplo: en partes por millón (ppm), partes por billón (ppb), otros [**99**]. Para hallar el límite de detección se basa en considerar la desviación estándar, a partir de mediciones repetidas del blanco.

Primero se calcula la mínima señal analítica distinguible (Sm).

$$S_m = I_{bl} + KS_{bl} \tag{2.1}$$

En donde: I_{bl} es la suma del valor medio de la intensidad del blanco más un múltiplo K de la desviación estándar S_{bl} del mismo. Según Káiser, estadísticamente se considera que para K=3, el nivel de confidencia de detección es del 95 %.

Luego para calcular el límite de detección se usa la pendiente de la curva de calibración (m) y la señal analítica distinguible [**100**].

$$LOD = \frac{S_m + S_{bl}}{m} \tag{2.2}$$

*** Límite de Cuantificación (LOQ)**

Se define como la concentración mínima de analito que produce una señal suficiente mayor que el blanco y que puede detectarse con una adecuada precisión y exactitud [**102**].

$$S_q = I_{bl} + 10S_{bl} \tag{2.3}$$

La mínima señal analítica cuantificable (S_q) se toma como la suma del valor medio de la intensidad del blanco I_{bl} más un múltiplo K=10 de la desviación estándar.

Luego para calcular el límite de cuantificación, se da mediante la siguiente ecuación.

$$LOD = \frac{S_q + S_{bl}}{m} \tag{2.4}$$

*** Recuperación**

Por recuperación de analitos en un ensayo se entiende la respuesta del detector ante una adición de analito de la matriz, en comparación con la respuesta de la concentración real del estándar verdadero. Los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Por ello, no es necesario que la recuperación del analito sea del 100 %, pero el grado de recuperación (del analito y del estándar interno) debe ser estable (con cualquier tipo de concentración analizada), precisa y reproducible (más del 20 %).

$$CF = \frac{CF - CU}{CA} * 100 \tag{2.5}$$

Donde; CF es la concentración del analito en la muestra fortificada, CU es la concentración del analito de la muestra sin fortificar y CA es la concentración del analito añadido.

2.3. Técnicas electroquímicas para la detección y cuantificación

La técnica electroquímica se basa en un principio físico-químico, donde se estudian las propiedades eléctricas de una disolución en la llamada "célula electroquímica". Con las técnicas electroquímicas se introduce una señal eléctrica en el sistema que se estudia y se obtiene información del mismo analizando la respuesta eléctrica que genera a dicha señal. Así mismo es una opción para el análisis de trazas de metales pesados y otros compuestos orgánicos en agua a niveles de ppt, ppb y

ppm. En esta tesis se han aplicado principalmente dos técnicas, que se comentan a continuación.

Voltamperometría

El comienzo de la voltamperometría se vio facilitado por el descubrimiento de la polarografía en 1922 por el Premio Nobel de Química Jaroslav Heyrovský. La voltamperometría comprende un grupo de técnicas electroquímicas y son muy utilizada en el área de química inorgánica, orgánica, bioquímica e incluso física, no tanto para analizar una determinada muestra, sino más bien para estudiar procesos de oxidación y reducción, procesos de adsorción, entre otros. Es un método mediante el cual se puede obtener información sobre una determinada especie química o analito, se basan en la respuesta corriente- potencial generado por un potencial aplicado, que favorece la polarización en el electrodo de trabajo. Existe una gran variedad de técnicas voltamperométricas.

2.3.1. Voltamperometría Cíclica (CV)

Es una de las técnicas más ampliamente utilizadas para analizar sistemas electroquímicos, tienen una gran importancia, especialmente por los estudios de procesos redox, mecanismos de reacción, propiedades electrocatalíticas, etc. Esta técnica no es muy útil para hacer cuantificaciones precisamente por ser una técnica electroanalítica de baja sensibilidad, sin embargo, esta sensibilidad a esta gran cantidad de parámetros es precisamente lo que la hace muy útil para estudiar procesos electroquímicos complejos. Esta técnica se basa en aplicar un barrido de potencial a un electrodo de trabajo estacionario a velocidad constante entre un límite superior y un inferior, es decir se realiza lo que se denomina barrido lineal de potencial con una forma triangular, en la figura 2.9 se muestra el gráfico de potencial en función del tiempo. Durante el barrido de potencial la corriente registrada nos da información sobre el tipo de reacción que se produce. El grafico resultante se le llama voltamograma [**53**].

El programa de potencial que se aplica varía linealmente con el tiempo desde un potencial inicial (E_i) hasta un potencial final (E_f) a una velocidad de barrido constante (V) que viene dada por voltios por segundo ($V.s^{-1}$).

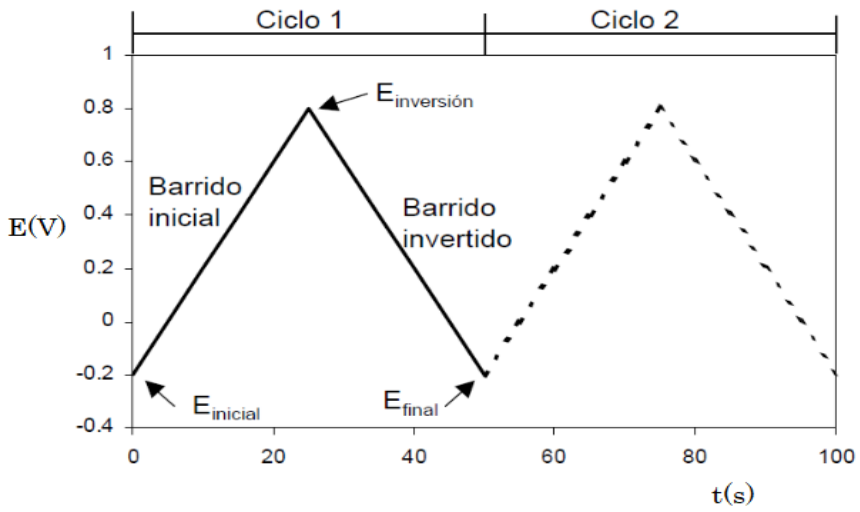


Figura 2.9: Perturbación potencial de un experimento de voltamperometría cíclica [**53**].

Cabe aclarar que no necesariamente el potencial final del barrido tiene que coincidir con el valor inicial. El potencial de barrido puede ser iniciado en cualquier sentido (anódico o catódico) y esta técnica permite repetir este ciclo una o varias veces.

La forma que presentará un voltamograma, será la que nos otorgue información acerca del analito a estudiar, pero va a depender mucho de su concentración, del potencial escogido y de la velocidad de barrido. En el ejemplo de la figura 2.10 muestra esquemáticamente un voltamperograma de un par redox reversible durante un ciclo simple de barrido de potencial, que se obtiene al graficar la corriente leída al potencial asociado, en una curva de tiempo.

Los parámetros importantes son:

E_{pc}: Potencial de pico catódico

E_{pa}: Potencial de pico anódico

I_{pc}: Intensidad de pico catódico

I_{pa}: Intensidad de pico anódico

Para la representación de curvas voltamperométricas la IUPAC fija como criterio que las corrientes catódicas (reducción) sean negativas y las anódicas positivas (oxidación), como se muestra en la figura 2.10.

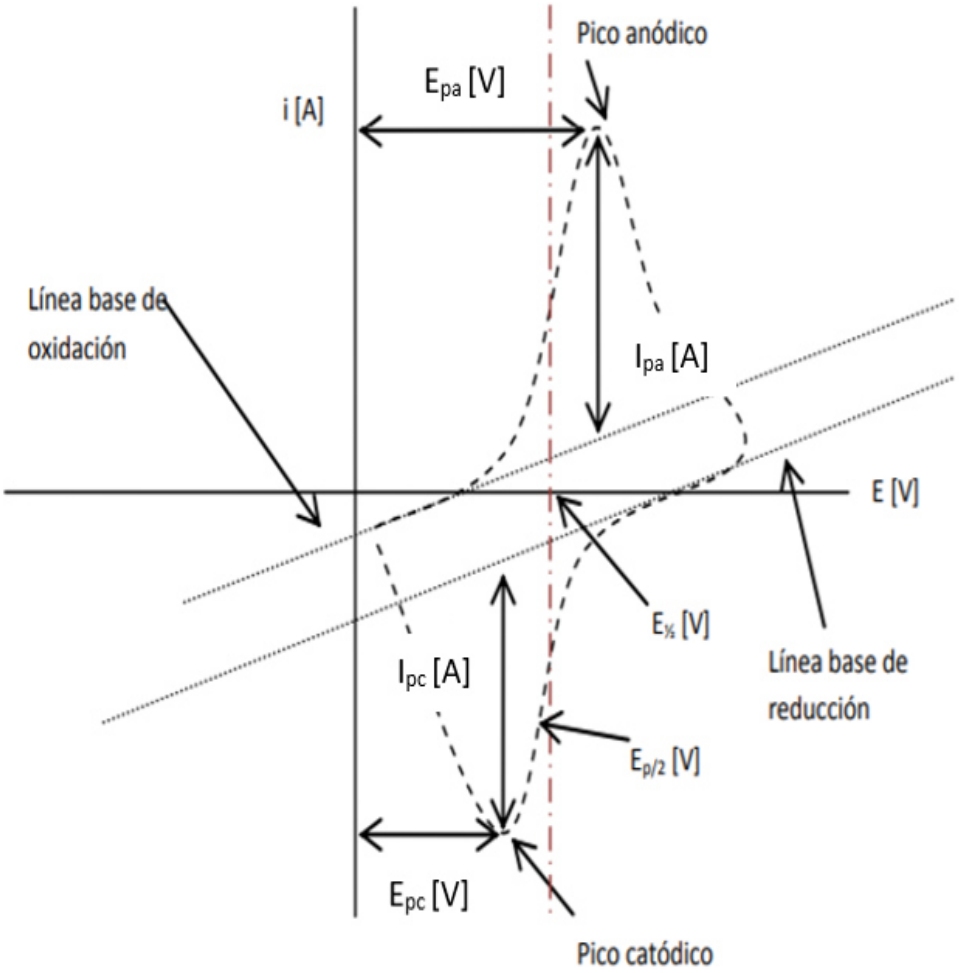


Figura 2.10: Voltamperograma cíclico de un proceso redox reversible [**53**].

Durante un proceso reversible, muestra un pico anódico y un pico catódico en la simetría de la imagen de un espejo, que son ocasionados por la formación de una capa de difusión en la superficie del electrodo de trabajo. Este proceso implica que la velocidad de la etapa de transferencias de electrones es muy rápida, en comparación con la velocidad de los demás procesos.

En concreto, la ecuación matemática que cuantifica la intensidad máxima de corriente (ecuación 2.6), es la ecuación de Randles–Sevcik.

$$ip = 0{,}4463nFAc(VD\frac{nF}{RT})^{1/2} \tag{2.6}$$

Que a temperatura ambiente (25°C) queda representada por la ecuación 2.7. En consecuencia, la intensidad corriente es directamente proporcional a la concentración y decrece con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido. Así mismo, la inclinación permite calcular el área efectiva del electrodo [**54**].

$$ip = 2{,}69x10^5 n^{3/2} A D_0^{1/2} C_0^* v^{1/2} \tag{2.7}$$

Donde:

ip : Intensidad de corriente pico (A cm^{-2})

n : Número de electrones transmitidos en la reacción

A : Área del electrodo de trabajo (cm^{-2})

D_0: Coeficiente de difusión ($cm^2 s^{-1}$)

C_0 *: La concentración del analito (mol cm^{-3})

v : Velocidad de barrido (V s^{-1})

2.3.2. Voltamperometría de Onda Cuadrada (SWV)

La voltamperometría de onda cuadrada (SWV, por sus siglas en inglés), es una técnica de gran amplitud y ofrece ventajas como: la rapidez de la medida del analito, presenta una mayor sensibilidad, permite una mejor resolución de picos y una mayor intensidad de señal, alcanzando ser comparada con las técnicas espectroscópicas y cromatografías con respecto a su límite de detección.

Esta técnica se caracteriza por ser una onda compuesta por una onda cuadrada simétrica, superpuesta a una base de potencial en forma de escalera (ver figura 2.11), aplicado en el electrodo de trabajo [**55**], donde ocurre dos impulsos, el primero es un impulso catódico (negativo), donde el analito se reduce en la superficie del electrodo, el segundo es el impulso anódico (positivo), en esta fase el analito que se redujo se reoxida, entonces la longitud de cada escalón de la escalera es igual al periodo de los impulsos (τ).

La corriente es medida dos veces en intervalos cortos de tiempo durante cada ciclo de onda cuadrada, una cuando llega al final de la onda catódica (tiempo t_{i1}) y otra cuando llega al final de la onda anódica (tiempo t_{i2}).

La diferencia entre las intensidades de corriente es graficada en la base del potencial de cada escalón [**81**]. Obteniéndose un voltamograma de onda

cuadrada, donde se registran los valores de corriente-potencial, siendo este un pico aproximadamente simétrico, en donde el potencial del pico sirve para la identificación del analito en la muestra y la intensidad de corriente del pico sirve para la cuantificación del analito.

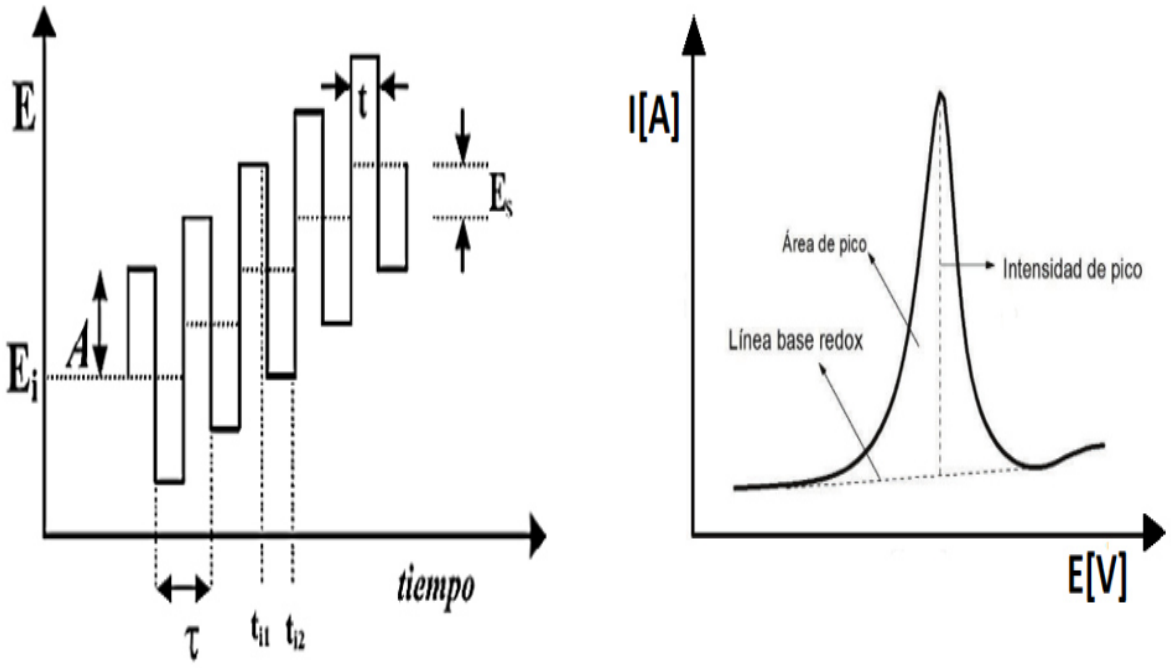


Figura 2.11: Técnica SWV: A la izquierda, se muestra la forma de onda y a la derecha, la respuesta de una voltametría de onda cuadrada [**56**].

En principio, cuanto más corto sea el periodo de impulso (τ) mayor es la corriente que se observa, debido a la suma de corrientes opuestas (anódicas y catódicas), que se generan en el proceso de óxido-reducción del analito en estudio y pueden ser cuantificadas electroquímicamente.

La SWV es mucho más rápida en comparación a otras técnicas voltamperométricas, tanto que ha llegado a desplazar casi completamente a los métodos clásicos por su sensibilidad, comodidad y selectividad.

2.3.3. Voltamperometría de Pulso Diferencial (DPV)

La voltamperometría de pulso diferencial (o DPV por sus siglas en inglés), es una de las técnicas electroanalíticas que alcanzó una gran aceptación a partir de los

años 70's. En esta técnica, la forma de la onda en señal de excitación, consiste en la aplicación de potencial mediante una serie de impulsos a manera de escaleras. Se mide la intensidad de corriente antes y después de la aplicación de cada pulso, registrando la diferencia de las dos intensidades de corriente en función del potencial, proporcionando voltamogramas en forma de pico. La amplitud del pulso Ep, se mantiene constante respecto al potencial de base [**81**].

La corriente resultante del proceso electródico se mide justo antes de la aplicación del pulso y al final de la aplicación del mismo, de esta manera al graficar la diferencia de corrientes obtenidas en función del potencial aplicado, se obtienen respuestas típicas como la que se muestra en la figura 2.12, donde la intensidad máxima de corriente (I_p) aumenta rápidamente al alcanzarse el potencial de reducción/oxidación de la especie de interés.

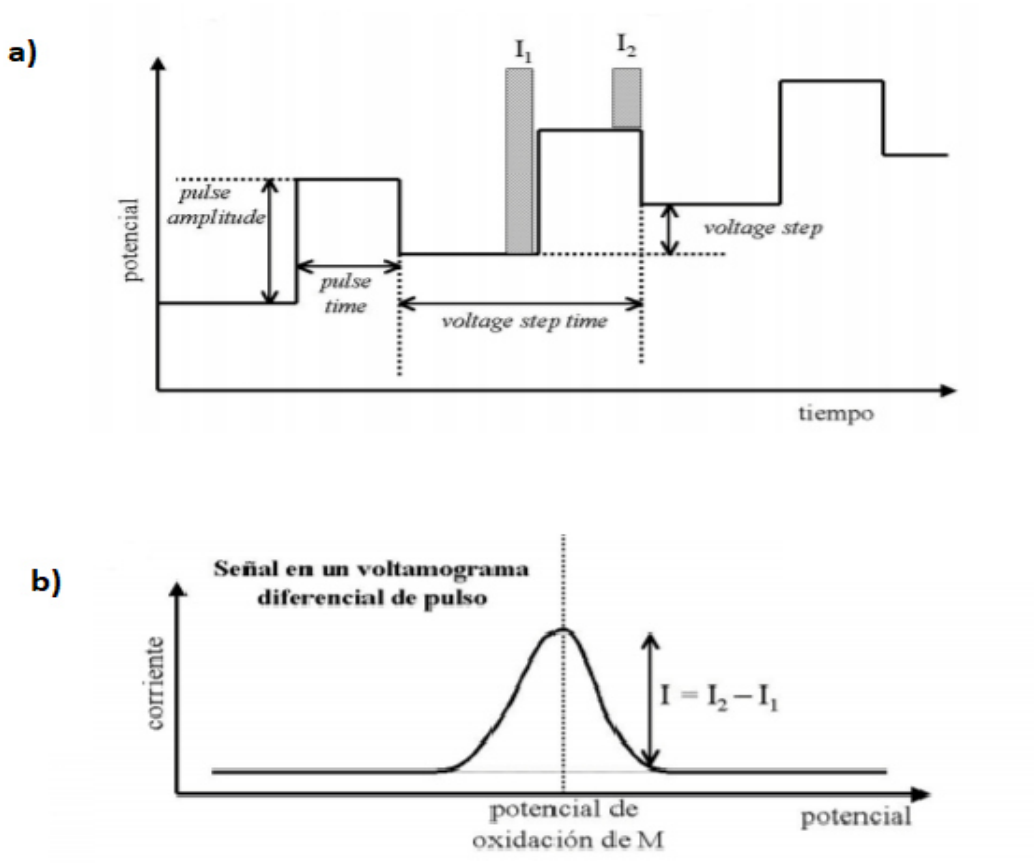


Figura 2.12: Técnica DPV: a) formula de la modulación del potencial con el tiempo. b) Corresponde al voltamograma de pulso diferencial [**81**].

2.4. Nanopartículas metálicas para el recubrimiento del electrodo de trabajo

Desde el siglo pasado, el mundo de la nanoescala ha captado gran interés y una gran importancia, por esta razón, el estudio de los nanomateriales a escalas nanométricas en los últimos años ha sido muy amplia, particularmente con respecto a las nanopartículas metálicas.

Actualmente las nanopartículas metálicas son un área de intensa investigación científica desarrollada por físicos de materia condensada, fisicoquímicos, biólogos, químicos, etc. Así mismo, son el puente entre el sistema macroscópico y estructuras atómicas o moleculares. El creciente interés y el gran número de investigaciones, es debido a sus novedosas propiedades y a que tienen una amplia variedad de aplicaciones en campos tales como la capacidad catalítica, fotocatálisis, energéticas (uso en celdas solares), electrónicas (uso en sensores de gases), y remediciones ambientales [**57**]. La aparición de estas propiedades se relaciona con el tamaño de la partícula, a medida que esta disminuye, su área superficial aumenta. Por tanto, se define como nanopartículas a cualquier partícula con dimensiones manométricas que se ubican desde 1 nm hasta 100 nm. Las de mayor tamaño, pueden presentar propiedades similares, pero con menor intensidad.

Se ha tenido un incremento en el número de productos y dispositivos que utilizan nanomateriales, debido a que presenta características como su conductividad eléctrica, alta estabilidad y una alta actividad superficial, que las hacen una excelente opción para construir novedoso y mejorados dispositivos de detección , en especial sensores electroquímicos y biosensores, que pueden ofrecer soluciones en campos multidisciplinares, como puede ser en el desarrollo de técnicas de detección y monitorización de metales pesados. Además, pueden ser muy útiles para mejorar la relación señal/ruido a través del elemento-sensor. En la última década se ha documentado un amplio crecimiento donde se vienen desarrollando electrodos modificados con NPs. La idea de modificar la superficie a base de nanopartículas metálicas, es adquirir una mejor optimización de la señal que emite el electrodo, para detectar de manera eficiente los iones de interés [60]. La sensibilidad del sensor de una base desnuda, es decir sin modificación alguna, puede ser baja en caso de sensores de carbonos; o alta en caso de sensores metálicos (Pt, Au, Ag. . .). En general los electrodos no modificados tienen un área de superficie específica reducida y una

baja transferencia que aumenta de sensibilidad y selectividad. Por eso, para obtener una mayor sensibilidad en las medidas, se recurre a la modificación del electrodo con NPs.

Existe una variedad de técnicas para la elaboración de nanopartículas. Pueden ser obtenidas y sintetizadas en diferentes formas y con diversos materiales adquiriendo diferentes propiedades. Existen diversas categorías. El más evidente es el tamaño de las nanopartículas, mencionado anteriormente que va desde 1 a 100 nm. También se puede clasificar de acuerdo a su forma, estas pueden ser sintetizadas de diversas formas como esféricas, cúbicas, cilíndricas y algunas más complicadas como hélices o estrellas en forma de zig-zag.

Electrodo modificado con cobre

Para evitar la necesidad de utilizar electrodos costosos y en algunas ocasiones tóxico se propone, la modificación de la superficie del electrodo depositando metales u otras especies que determinen la cuantificación de arsénico en medio acuoso. Para rebajar los costos en la cuantificación de arsénico se propone modificar el electrodo de trabajo con nanopartículas de cobre. Sin embrago, el cobre se presenta como la principal interferencia para la determinación de arsénico. Entonces para poder reducir el efecto que tiene el cobre en la cuantificación de arsénico se propuso modificar la superficie del electrodo de trabajo, puesto que hay referencias donde describen resultados óptimos al utilizar cobre como depósito sobre la superficie del electrodo [**79**].

Electrodo modificado con nanopartículas de plata

Entre las nanopartículas de metales nobles, las nanopartículas de plata han recibido considerablemente la atención debido a sus propiedades fisicoquímicas, incluyendo una estabilidad química y una alta conductividad eléctrica, además que presenta una actividad antibacteriana y antifúngico que le han hecho popular en una diversa gamma [**21**]. Estas propiedades hacen que la nanopartículas de plata sean ideal para las aplicaciones electroanalíticas.

Publicaciones recientes reportan resultados satisfactorios en la cuantificación de arsénico utilizando electrodo modificado con nanopartículas de plata. Prakash fue el primero en preparar nanopartículas de plata en quitosano y depositarlo sobre un electro de carbón vítreo para la detección de As(III) usando como técnica voltamperométrica, voltamperometría de pulso diferencial por redisolución anódica

[**78**]. Siguientemente y como última publicación del 2018 fue con Sonkoue, que también sintetiza nanopartículas de plata para la modificación de un electrodo de oro, usando como técnica la voltamperometría de pulso diferencia para la detección de As (III) [**82**].

2.4.1. Métodos de síntesis de nanopartículas metálicas

Tal y como se hizo mención antes, el tamaño y la forma de las nanopartículas pueden ser sintetizadas y obtenidas en una amplia variedad de formas con diferentes materiales que les confieren distintas propiedades. De manera general, existen dos enfoques para la obtención de nanopartículas: Por un lado, lo que se denomina método descendente o también llamado "top-dow" (método físico), y por otra parte el método ascendente o también llamado "bottom-up" (método químico).

El enfoque "top-dow" consiste en la reducción del tamaño del metal a escalas manométricas de forma mecánica, generalmente utilizando métodos físicos como molienda mecánica, litografía, ablación laser, deposición de vapor a vacío y métodos por radiación. Sin embargo, la eficiencia de las partículas producidas no es tan alta como sintetizadas químicamente, ya que estos métodos no muestran un buen control de tamaño, distribución y forma de las partículas producidas, pero sobresale por su versatilidad, por resultar más económicos cuando se requiere obtener en grandes escalas y por presentar sistemas 3D (metal masivo), 2D (pozo cuántico), 1D (alambre cuántico) y 0D (punto cuántico) o también llamado nanopartículas [**59**].

Por otro lado, el enfoque "bottom up" es el método más utilizado en la actualidad, parte desde el nivel atómico, por medio de reacciones químicas hasta conseguir un conglomerado de moléculas de tamaño nanométrico. Este tipo de metodología es acogida como enfoque principal de la nanotecnología, ya que es el más empleado para la obtención de nanopartículas metálicas, además que permite controlar mejor el tamaño de las nanopartículas, uniformidad y forma, reduciendo el nivel de impurezas. Aunque resulta costoso en comparación con el método "top-dow", esto es porque se requiere un cierto número de reactivos además del equipo necesario para poder llevar acabo las reacciones. Existen diversos métodos químicos como la micro emulsión coloidal, irradiación con microondas, reducción química y la reducción fotoquímica-radioquímica [**60**].

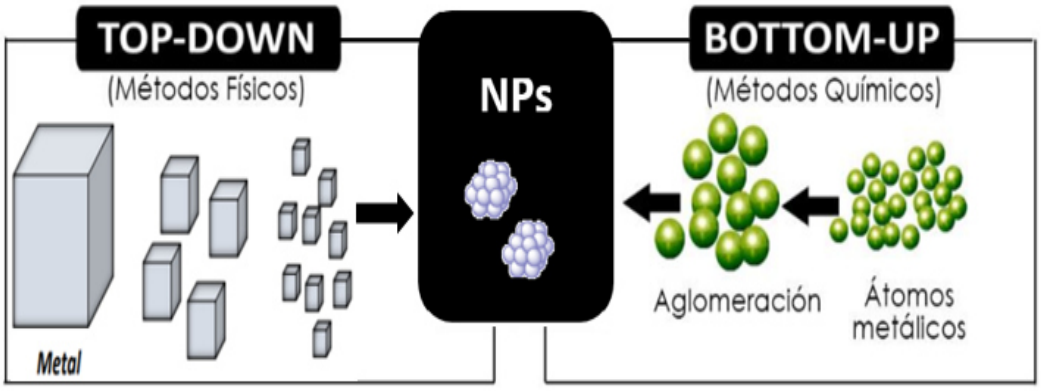


Figura 2.13: Métodos para la obtención de nanopartículas de plata [**59**]

En cuanto a los métodos de síntesis, la ruta por vía húmeda suele ser la más apropiada para la obtención de nanopartículas metálicas, ya que se puede controlar los parámetros de reacción tales como la temperatura, pH, tipo de disolvente, concentración y cantidad de agente precursor. Particularmente, en este trabajo la obtención de nanopartículas de cobre y plata, se proponen para la modificación de electrodos electroquímicos aplicados en la cuantificación de aguas contaminadas por arsénico.

El principio básico para la realización de la síntesis química por vía húmeda requiere tres componentes principales: un precursor, un reductor y un agente estabilizante en una fase continua o dispersante.

El precursor generalmente es una sal metálica (orgánica o inorgánica), que puede tener influencia en el control del tamaño promedio, la distribución y la morfología de las nanopartículas variando la concentración. Los precursores más usados para las NPs Ag y Cu, son el $AgNO_3$ y el $CuSO_4$ respectivamente, aunque también se han usado otros de diferente procedencia como óxidos, cloruros, citratos, etc.

El agente reductor tiene la función de formar centros de nucleación dando lugar a racimos atómicos o clúster cuyo crecimiento aumenta hasta la formación de la NPs. Durante este proceso los parámetros cinéticos se controlan mejor a través de un agente reductor débil (menor potencial de reducción) como por ejemplo el ácido cítrico (AC) y el ácido ascórbico (AA) que generan centros de nucleación lentos, lo cual permite tener un mayor control en la morfología obteniendo de esta manera NPs más pequeñas.

Referente al agente estabilizante, generalmente son moléculas orgánicas, surfactante o polímeros, cuyo propósito es prevenir la agregación del metal por aglomeración. Estas moléculas se adsorben en la superficie de la nanopartícula, provocando una estabilización.

2.4.2. Técnicas de caracterización de las nanopartículas

Se utilizaron diferentes técnicas para obtener la caracterización estructural de las nanopartículas sintetizadas.

Espectroscopia de absorción Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

La espectroscopia UV-Vis está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta- visible (por lo general este rango se encuentra dentro de los valores de 190 a 900 nm) por una molécula. Es una técnica rápida, sencilla y se puede emplear a diferentes tipos de nanopartículas. La absorción de energía se cuantifica y da por resultado la elevación de los electrones desde orbitales en el estado basal a orbitales de mayor energía, llamado estado excitado.

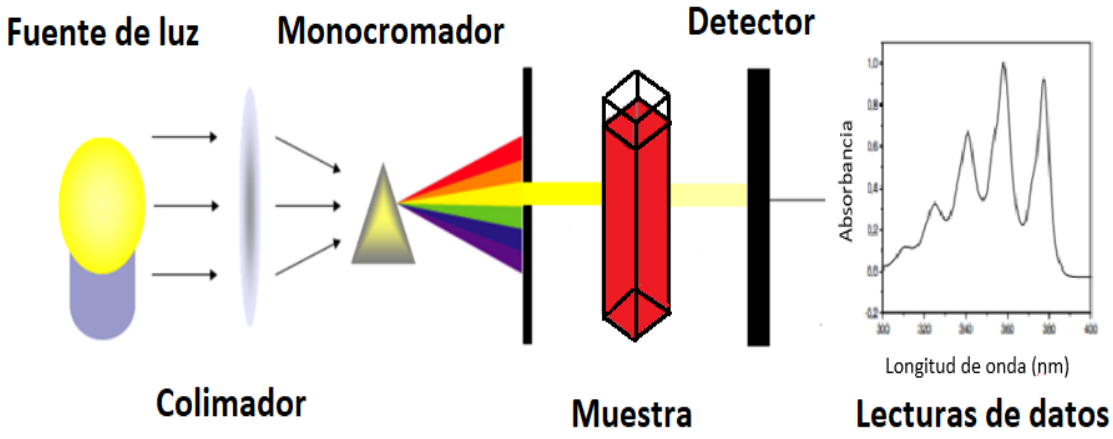


Figura 2.14: Esquema de un espectrofotómetro UV-Vis

La luz UV-vis incide sobre la muestra (I_0), una parte del haz la traspasa (I) y la otra es absorbida por los electrones de valencia, siendo éstos elevados a estados excitados. El haz que logra atravesar la muestra se denomina transmitancia ($T=I/I_0$) y se relaciona con la absorbancia de la siguiente manera: $A = -\log(T)$.

$$A = \varepsilon bc = -log_{10}T = log\frac{I_0}{I} \tag{2.8}$$

La expresión se denomina, la ecuación de ley de Lambert- Beer. El cual relaciona la absorbancia con la concentración (c) que se encuentra expresada en moles/litros. La constante ε, es denominado absortividad molar y el camino óptico, b, en centímetros. Debido a ello, la espectroscopia UV-Vis es una de las técnicas más ampliamente utilizadas para la caracterización de nanopartículas metálicas.

En muchos casos se presenta bandas de absorción que permite identificar la naturaleza nanométrica, debido a que la banda de conducción y la banda de valencia se encuentran muy cercas, lo que facilita que los electrones se muevan libremente dando origen al fenómeno de resonancia de plasmón superficial (SPR, Surface Plasmon Resonance, por sus siglas en inglés), que tienen la capacidad de absorber determinadas frecuencias de la luz incidente y de transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color.

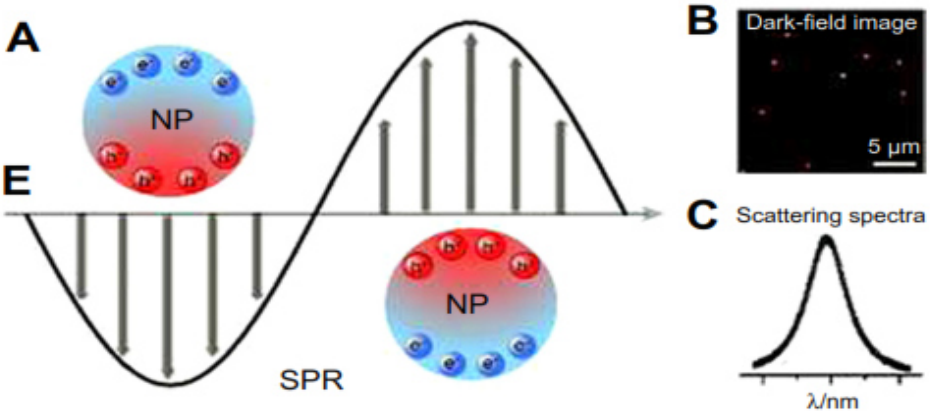


Figura 2.15: Resonacia de plasmón superficial [**91**].

Cuando las NPs metálicas son irradiadas por un haz de luz incidente, el campo electromagnético oscilante origina una exitación colectiva de los electrones de conducción, produciendose un desplazamiento de las cargas negativas de los electrones contra las cargas positivas de los nucleos inmoviles.

Los espectros de absorción que se obtienen de NPs metálicas, presenta su propia banda de absorción característica de RPS y aparece a una longitud de onda determinada. La forma y posición del pico de absorción va a depender mucho de varios factores como la naturaleza del tamaño, la forma y la polidispersidad de las partículas [**61**], Aunque se puede obtener espectros UV-Vis para todos los metales, sólo los metales nobles (plata, oro, platino, paladio, cobre) presentan resonancia plasmónica superficial localizada en la región visible, lo que les otorga colores intensos y picos prominentes de absorción [**66**].

Difracción de Rayos X (DRX)

Es una técnica de alta tecnología no destructiva (permite recuperar el material sin ningún tipo de deterioro) para el análisis estructural de una amplia gama de materiales. Es utilizada en diversas áreas científicas para la caracterización de sólidos y en especial para la identificación de fases cristalinas, también puede proporcionar información sobre las posiciones atómicas, estimación de tamaño de grano, tipo de red de Bravais y parámetros de celda. Esta técnica se basa en radiaciones electromagnéticas, capaz de atravesar cuerpos opacos con longitudes de ondas cortas, teniendo como unidad de medida al angstrom (Å) que es igual a los 10^{-10} m, cuya orden de magnitud es similar al espaciado interplanar de los sólidos. Tiene como propiedad difractar los rayos X a un determinado ángulo cuando atraviesa un material cristalino y dar como resultado de la interacción una serie de planos atómicos paralelos.

Este fenómeno se puede interpretar aplicando la ley de Bragg. El principio básico de la ley de Bragg relaciona el espaciado entre planos cristalinos, característico de cada fase, la longitud de onda incidente el ángulo de dispersión, medido en los difractómetros.

$$n\lambda = 2d \sin\theta \tag{2.9}$$

Donde n es el orden de difracción y debe ser un número entero, (lambda) la longitud de onda de los rayos X, d es la distancia de separación entre dos planos atómicos y (teta) es el ángulo de incidencia. Esta ecuación predice para una longitud de onda particular, va depender mucho del sistema cristalino que pertenece el cristal

y de sus parámetros de red. En otras palabras, la dirección de difracción está definido por el tamaño y forma de la celda unidad. En la figura 2.16 se muestra de forma gráfica en la que el haz es generado por el difractómetro y luego sale como un haz difractado.

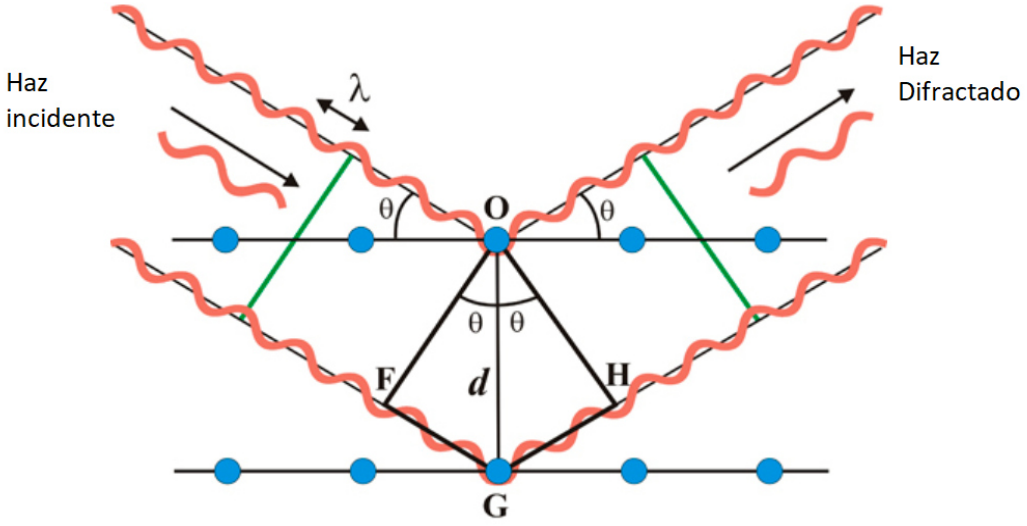


Figura 2.16: Difracción de rayos X producido por un cristal [**62**]

Dispersión de la luz dinámica (DLS)

La dispersión dinámica de la luz (DLS, por sus siglas en inglés, dynamic ligtht scattering), se caracteriza por ser una técnica óptica no invasiva, la cual permite determinar el tamaño y la distribución de las partículas en suspensión o macromoléculas en solución. Generalmente son utilizadas para las caracterizaciones de nanopartículas metálicas.

Es una técnica que mide las fluctuaciones de intensidad de la luz en tiempos cortos, en margen de microsegundo, de tal manera que puede detectarse el movimiento Browniano de las partículas que define el movimiento aleatorio que está dado por el constante choque con las moléculas del solvente, producto de la agitación térmica. Esas fluctuaciones proporcionan información sobre el diámetro de las partículas, de tal forma que, al conocer la intensidad de luz en función del tiempo se puede determinar el coeficiente de difusión traslacional y por tanto el diámetro hidrodinámico de la partícula mediante la relación de Stokes- Einstein.

$$D_h = \frac{K_B T}{3\eta\pi D_t} \tag{2.10}$$

Donde:

D_h: Diámetro hidrodinámico

D_t: Coeficiente de difusión de traslación (se encuentra por DLS)

K_B: Constante de Boltzmann

T: Temperatura absoluta (^oC)

η : Viscosidad del medio de dispersión

En general se basa en hacer incidir un haz de luz láser por una solución de partículas a una determinada longitud de onda (λ_0), causando dispersión en diferentes direcciones y originando fluctuaciones temporales en la intensidad de la luz dispersada ($I_{\theta r}$ (t)) a un ángulo determinado (θ_r) [**63**]. Los tiempos de relajación de las fluctuaciones tienen relación con las constantes de difusión, por ende, con los tamaños de las partículas. Si las partículas se mueven rápidamente (partículas pequeñas), acelera la variación de la intensidad de dispersión. Por el contrario, las partículas lentas (partículas grandes) llevan variaciones más lentas. Lo que provoca un ligero ensanchamiento de las frecuencias difundidas, conocido como el efecto Doppler.

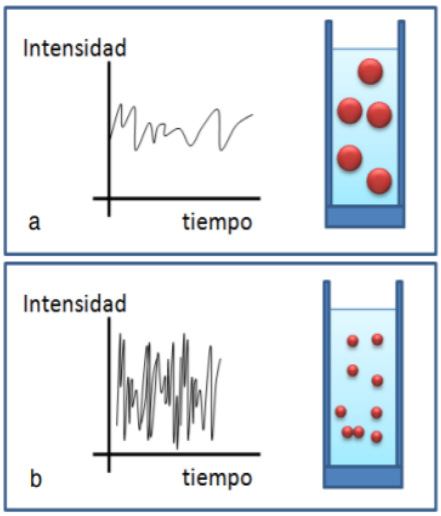


Figura 2.17: Diagrama de las fluctuaciones de intensidad medidas para: a) partículas grandes; b) partículas pequeñas [**64**]

2.5. Deposición de nanopartículas sobre la superficie del electrodo de trabajo

Como se mencionó anteriormente la deposición de las NPs (Ag y Cu), puede influir en la optimización de la señal del electrodo por lo que se empleó para este trabajo la técnica de Dip coating, siendo este un equipo de trabajo de gran simplicidad y de practico uso, que proporciona espesores de películas controlado por la viscosidad de la solución. A continuación, se describe esta técnica.

2.5.1. Técnica de inmersión "Dip-Coating"

Es una técnica con una precisión controlada que se caracteriza por ser un proceso esencialmente mecánico, consiste en sumergir y extraer un substrato móvil dentro de una solución a una velocidad constante, provocando un arrastre del líquido cuando alcanza la región de deposición. Este método es utilizado con el fin de depositar mono-capas y multicapas delgadas, dando lugar al desarrollo de dispositivos ópticos que de una u otra manera incluyen este método para la fabricación de un material en forma de fibra, recubrimiento o matriz.

Lo más importante del recubrimiento por inmersión es el proceso de elaboración, que consta de cuatro etapas, como se indica en la figura 2.18.

1) Inmersión del sustrato: Se sumerge el sustrato en la solución a una velocidad constante.

2) Deposición: Permanencia del sustrato en la solución para dejar suficiente tiempo de interacción del sustrato con la solución.

3) Drenaje: Extracción del sustrato a una velocidad constante, el cual arrastra una capa delgada de solución, es decir deposición de la película dejando el exceso del líquido que drenará a la superficie.

4) Evaporación: En esta etapa el solvente se evapora de la solución, formando una película delgada que puede adherirse con un tratamiento térmico.

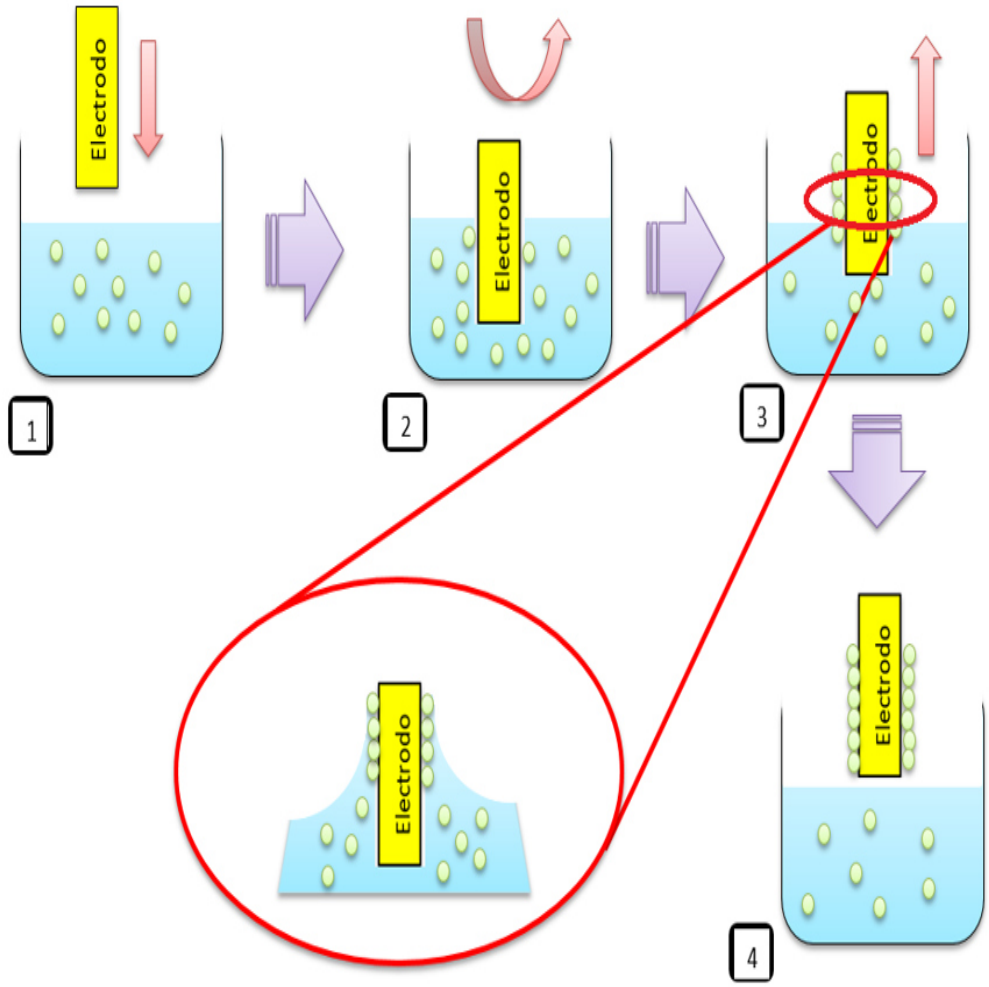


Figura 2.18: Etapas del proceso de inmersión y de extración de la capa delgada (Fuente: autor).

El arrastre del fluido que se puede observar en la etapa tres, causa la división de dos capas; la primera es la capa interna la cual se dirige hacia arriba con el substrato y la segunda es la capa externa que retorna a la solución [**65**].

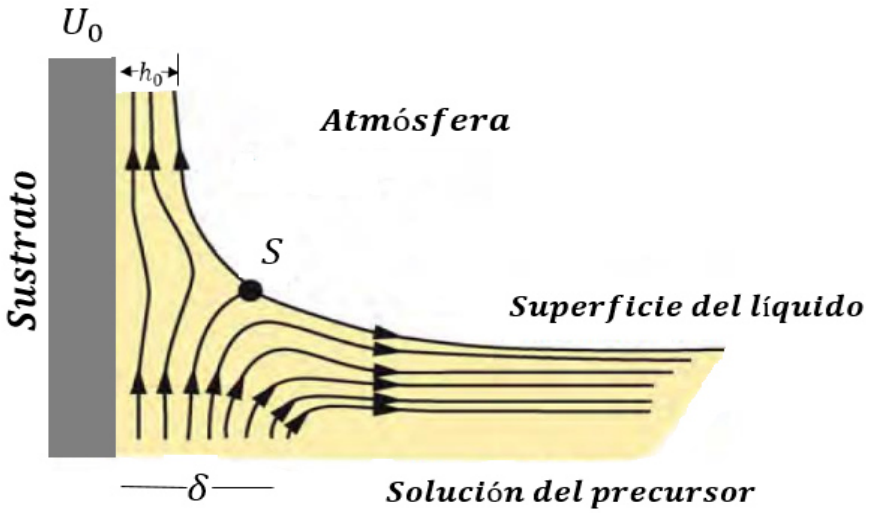


Figura 2.19: Detalle de los patrones de flujo (líneas de corriente) durante el proceso de recubrimiento por inmersión. U_0 es la velocidad de extracción, S es el punto de estancamiento, δ la capa límite y h_0 es el grosor de la película de fluido arrastrada sobre el sustrato [**65**].

2.5.2. Microscopia Electronica de Barrido (MEB)

MEB (término usado también para referirse al microscopio electrónico de barrido). Esta técnica de Microscopía electrónica de barrido, es una de las técnicas más avanzadas y empleadas para observar materiales a escalas nanométricas y capaz de producir imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra. Cuyo funcionamiento está basado en principios básicos de la óptica; en otras palabras, el sistema de formación está basado en el sistema óptico de reflexión.

El principio de este método, consiste en realizar un barrido de la superficie de la muestra con un haz de electrones de alta energía. Estos electrones son emitidos por un campo eléctrico hasta que finalmente, el haz incidente y la muestra son colectados por los detectores para generar una señal eléctrica, la cual se utiliza para modular la intensidad que incide en la pantalla de un tubo de rayos catódicos (TRC), permitiendo enfocar gran parte de la muestra, además de producir imágenes 3D de alta resolución que permite obtener detalles de alta magnificación.

La figura 2.20 muestra los principales componentes de un microscopio electrónico de barrido, el cual consiste en un haz fino de electrones que es enfocado y barrido sobre la superficie de la muestra.

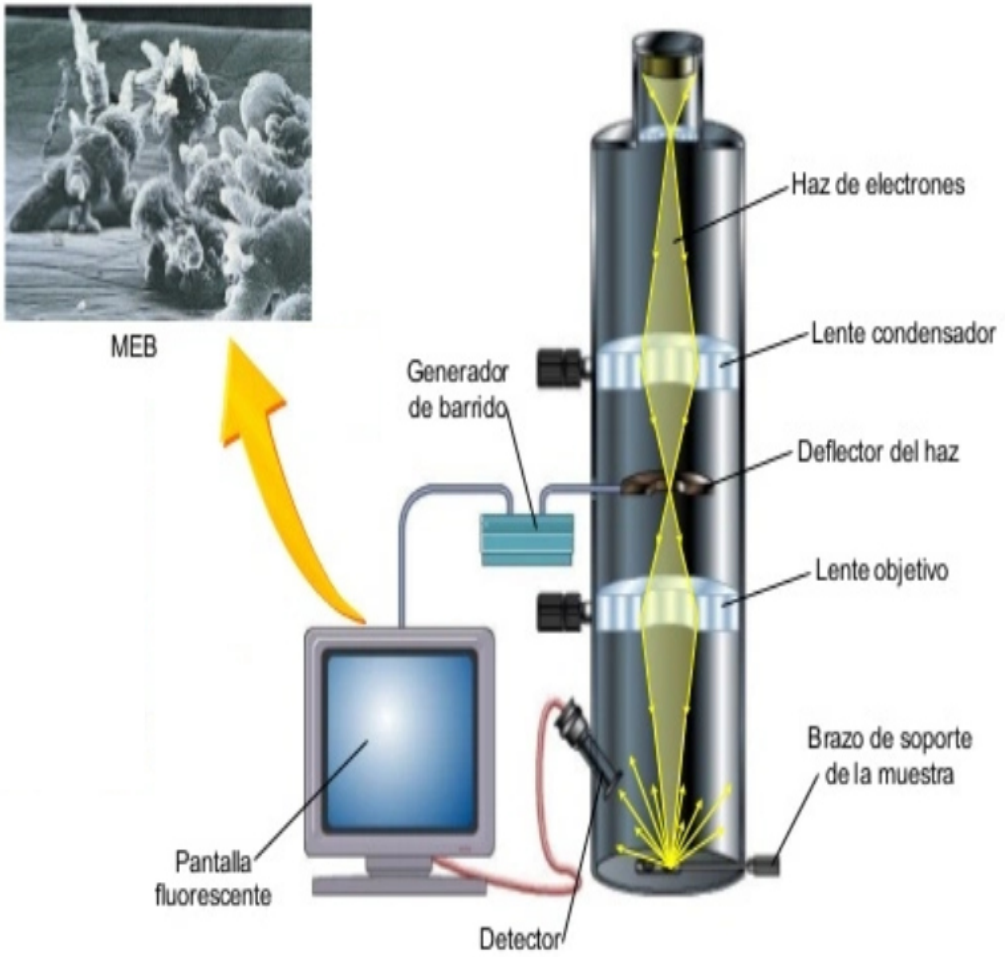


Figura 2.20: Partes del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

Capítulo 3

Procedimiento experimental

En este capítulo se describe la metodología y las condiciones adecuadas que se tuvo en cuenta para la realización de este trabajo. Todas las soluciones que fueron cuantificadas con arsénico se prepararon a partir de reactivos de grado analítico y agua desionizada, el mismo día de trabajo para evitar la degradación de las mismas.

Reactivos

Los ácidos usados en los ensayos, tanto el HNO_3 y el HCl, fueron preparados a partir de la dilución ácidos de Merck, almacenados adecuadamente en frascos de vidrio. La solución de As(III) se preparó con un estándar de concentración 1000 μgL^{-1}, fue preparada con base en arsenito de sodio ($NaAsO_2$) de Merck, se almacenó en un frasco de vidrio ámbar para evitar la fotoxidación. Así mismo, se utilizó agua desionizada en la preparación de todas las soluciones.

Instrumento

Todas las mediciones electroquímicas fueron realizadas con un potenciostato de la marca *Digi-Ivy*, modelo DY2116B. (Figura 3.1) que controla tres electrodos y está conectado a una laptop por un puerto USB, es un equipo que posee una variedad de técnicas electroquímicas, así mismo, posee un sistema de control que permite variar todos los parámetros necesarios, por ello puede adaptarse a diferentes condiciones de operación, controlado mediante una laptop con el software llamado DY2100B y para el análisis de los datos experimentales y gráficos se utilizó el software OriginPro 2018.



Figura 3.1: Potenciostato DY2100. Laboratorio de síntesis química. Facultad de Ciencias Físicas- Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

En la cuantificación de arsénico se utilizó una celda electroquímica convencional con tres electrodos. Un alambre de platino; como electrodo auxiliar o tambien llamado contra-electrodo (CE), un electrodo de calomel saturado (SCE) con solución externa de $Hg/HgCl_2$; como electrodo de referencia (RE) y como electrodo de trabajo (WE), un electro de oro. En secciones posteriores se explica cómo se llevó acabo el estudio voltamperométrico con el electrodo de trabajo.

En la siguiente Figura 3.2 se muestra el sistema completo en funcionamiento y ensamblado.

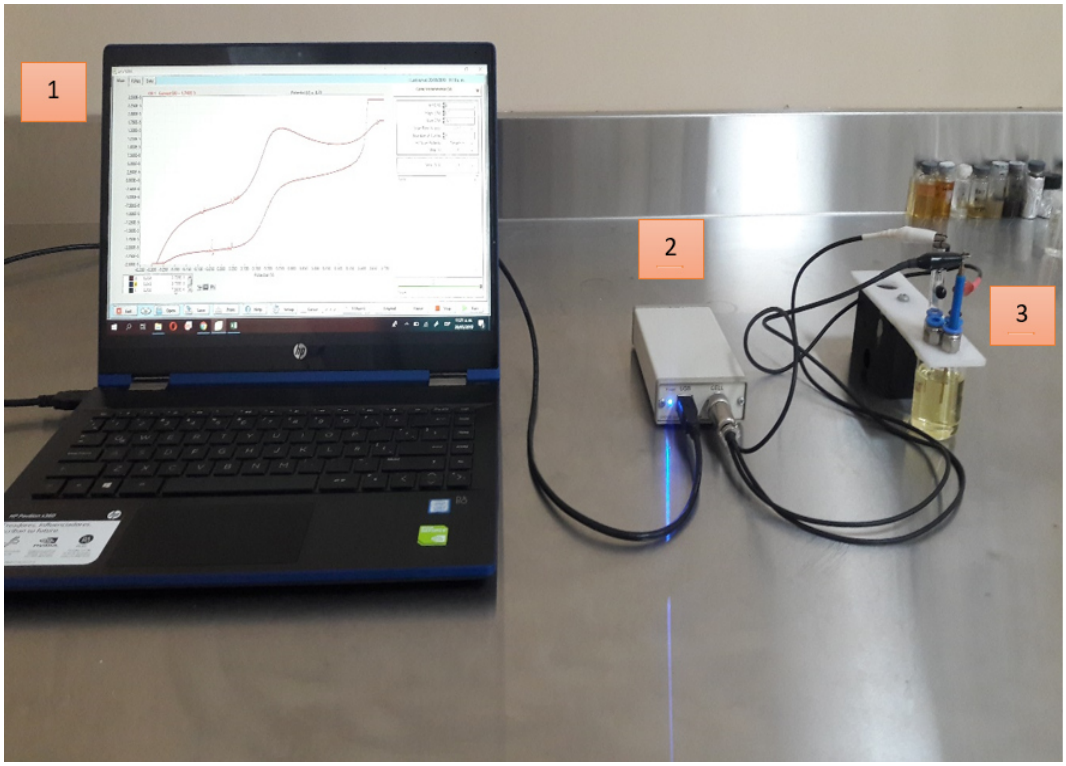


Figura 3.2: Instrumentación utilizada para la cuantificación. 1) Pc conectado por un puerto USB con el programa DY2100; 2) Potenciostato; 3) Celda electroquímica.

3.1. Métodología

Condiciones ambientales de trabajo

Todos los experimentos fueron realizados a temperaturas ambiente y sin eliminación de oxígeno disuelto.

3.1.1. Identificación del electrodo de trabajo

Para la identificación del electrodo de trabajo, se realizó la técnica de Voltamperometría Cíclica, empleando dos electrodos de trabajo: oro y de carbono vítreo. Se realizó una simple prueba en 25 mL de agua destilada con una concnetración de 10 ppb de As en HNO_3 (0,1 M). En la figura 3.3 se muestra la celda electroquímica empleado para la cuantificación de As. Las conexiones son: el cable negro corresponde al electrodo de trabajo; el cable blanco con el electrodo de referencia y el cable rojo con el contra-electrodo, usando el potenciostato DY2116B.

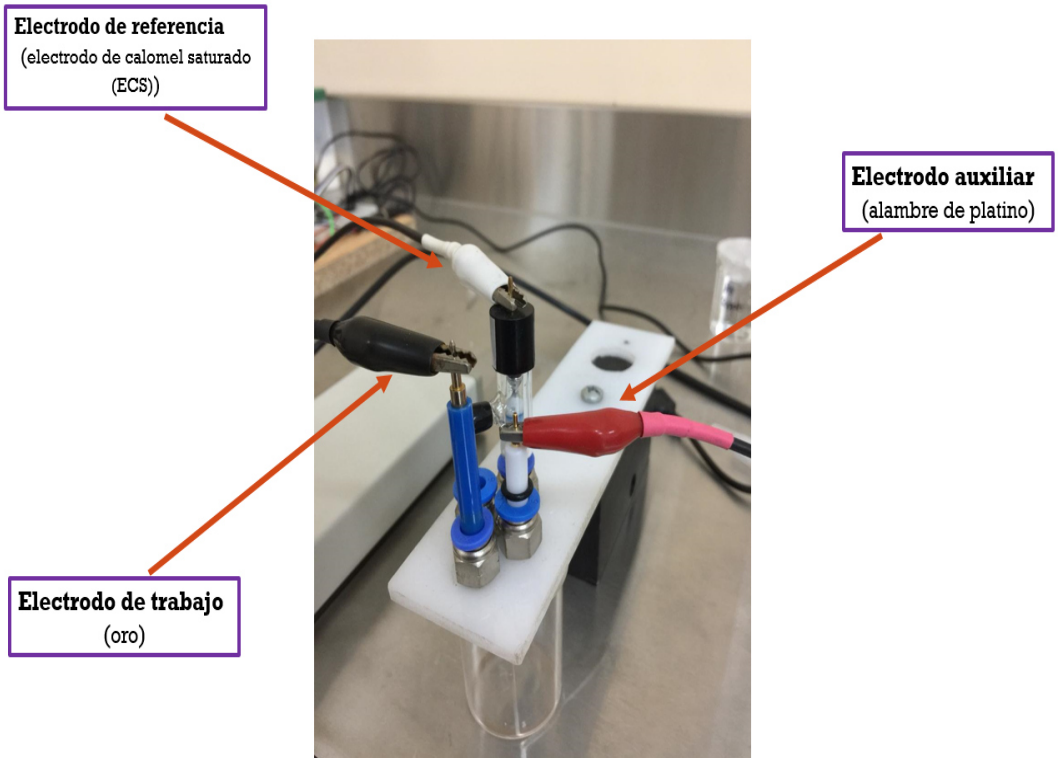


Figura 3.3: Arreglo experimental usado en este trabajo.

3.1.2. Limpieza del electrodo de trabajo

Para el uso del electrodo de trabajo se utilizó dos métodos:

Primer método: Fue de procedimiento mecánico, en el cual el electrodo de oro se pulió con un papel de lija de número P2000 y con polvo de alúmina de 0,3 μm. Posteriormente el electrodo se llevó a una vibración ultrasónica por 15 minutos con alcohol isopropílico ya que este último sirve como disolvente para separar los residuos de alúmina, luego se enjuago con agua desionizada por 5 minutos. Se realiza este procedimiento antes de cada experimento con la finalidad de asegurar una superficie nueva y libre de impurezas en la superficie del electrodo y lograr obtener reproducibilidad en los resultados. Cada medida experimental se realizó por cuadruplicado.

Segundo método: Fue un proceso electroquímico, donde se hace uso de la técnica por voltamperometría cíclica,que consiste en sumergir el electrodo de oro en una solución buffer de fosfato a 0,10 M con un pH 7,0. En la figura 3.4, se observa como debe ser la señal de respuesta, de este modo se puede garantizar que la superficie del electrodo esté limpia.

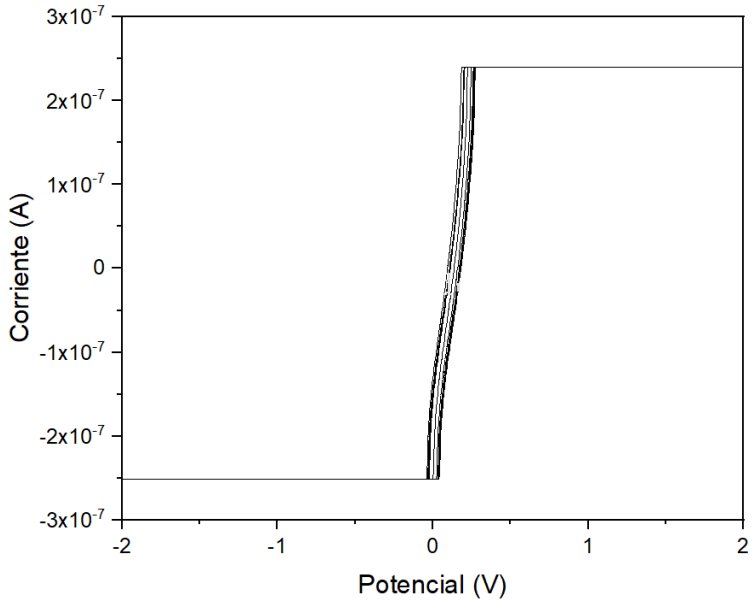


Figura 3.4: Voltamograma cíclico de la limpieza del electrodo de trabajo.

3.1.3. Activación del electrodo de trabajo

Para la determinación del área del electrodo, se usa una sal que tenga una especie de comportamiento redox. La más conocida por su alta solubilidad y poca toxicidad es el ferricianuro de potasio $[K_3Fe(CN)_6]$ [**67**, **68**]. La respuesta electroquímica se evaluó utilizando la técnica de voltamperometría cíclica, con una concentración conocida de $[K_3Fe(CN)_6]$ a 1 mM disuelto en una solución de KCl 0,1 $molL^{-1}$, realizándose una serie de voltamogramas cíclicos a diferentes velocidades de barrido. Posteriormente se graficó la corriente resultante versus la raíz cuadrada de las velocidades de barrido.

3.1.4. Determinación de la concentración del electrolito soporte

Se utilizó el patrón de As^{+3} comercial, se decidió elegir el ácido nítrico como medio electrolíto de soporte para una mayor investigación debido a su acidez media. Se llevó a cabo un estudio utilizando diferentes concentraciones de HNO_3, con la finalidad de elegir una concentración adecuada para posterior determinación de arsénico en agua y capaz de usarse en el campo de prueba.

Se llevaron a cabo experimentos adicionales para establecer condiciones en las que se pudiera obtener una respuesta estable para As (III) en el medio electrolítico. En la figura 4.4 se muestran las intensidades de corriente obtenidas para las distintas disoluciones que contienen una concentración constante de 50 ppb de As(III) y diferentes concentraciones de HNO_3 (0,05 M; 0,1 M; 0,5 M).

3.1.5. Elección de la técnica electroquímica

Para comparar una técnica con otra, se procedió a realizar una curva de calibración con cada una de ellas, teniendo en cuenta de cada técnica la intensidad de corriente para las distintas disoluciones que contienen una concentración distinta de As (III) y una concentración constante de HNO_3 (0,1 M). El objetivo fue la comparación entre técnicas para darnos cuenta cual de estas tiene una mayor sensibilidad, mas no de obtener una curva de calibración exhaustiva del método. El calibrado resultante para cada una de las técnicas usadas se muestra en la Figura 4.6.

3.1.6. Curva de calibración con electrodo de oro

Para la evaluación del método experimental, se tuvo en cuenta todos los parámetros fijados hasta el momento, por lo que se realizó una curva de calibración procediendo a preparar soluciones estándar de arsénico cuyas concentraciones son de 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppb (μg L^{-1}) y el blanco, usando como medio electrolítico HNO_3 (0,1 M). Se ha obtenido cuatro curvas de calibración, tras realizar varias réplicas de orden secuencial.

3.2. Síntesis de nanopartículas metálicas para la modificación del electrodo de trabajo

Materiales

- Vaso de precipitado de 100 y 250 mL
- Fiola de 100 ± 0,05 mL
- Pipetas de 10 ± 0,01 mL
- Probeta de 50 ± 0,01 mL
- Micropipeta de 0,5 ± 10 μL
- Lunas de reloj

Equipos

- Balanza analítica marca OHAUS modelo PA224
- Agitador magnético- térmico marca CAT, modelo M6
- Estufa, marca
- pH-metro portátil, de la marca HANNA, modelo HI202-01
- Sonicador, marca BRANSON, modelo 2510R-DTH
- Termómetro 110 ^{0}C

Reactivos

- Nitrato de plata, $AgNO_3$ (99 % de pureza Merck, pf= 169,87 g/mol)
- Ácido cítirico, $C_6H_8O_7$ (99 % de pureza Himedia, pf= 192,124 g/mol)
- Hidrazina, N_2H_2 (marca Merck, pf= 40,00 g/mol)
- Agua desionizada
- Citrato de cobre, $Cu_2C_6H_4O_7$ (99 % de pureza Movilab, pf = 360,18 g/mol)
- Ácido ascórbico, $C_6H_8O_6$ (99 % de pureza Movilab, pf = 176,13 g/mol)
- Hidróxido de sodio, NaOH (J.T.Baker, pf = 40,00 g/mol)
- Etelinglicol (marca Merck)
- Quitosano viscosidad 400 mPA.s

3.2.1. Síntesis química de nanopartículas de plata

Se siguió el método de Mohammad [**83**], que describe una síntesis sencilla y rápida. Durante el procedimiento de la síntesis, se realizaron algunas modificaciones.

En un beaker se añadió 5 mL de nitrato de plata ($AgNO_3$) a una concentración de 1 mM, enseguida se añadió 5 mL de ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) con una concentración de 1,5 mM, se trató bajo agitación constante y a una temperatura de reacción de 40 °C. Después de obtener la temperatura deseada, se midió el pH (6,01) de la solución con ayuda del pH-metro y se adicionó lentamente 20 μL de hidrazina al 4 % . Este procedimiento se llevó a cabo bajo agitación magnética (400 rpm), dando como resultado una coloración amarilla, indicando la presencia de nanopartículas de plata. Finalmente se añadió 5 mL del agente estabilizante, que fue preparado a partir de 0,2 g de quitosano en 50 mL al 0,5 % de ácido acético, para la estabilidad de las nanopartículas de plata.

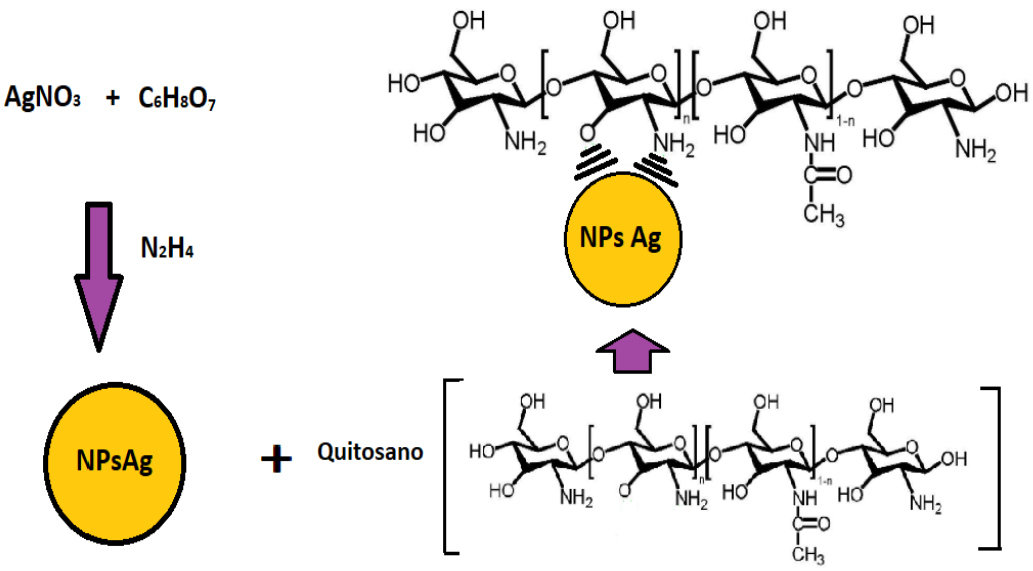


Figura 3.5: Esquema de la producción de nanopartículas de plata (fuente propia).

El diagrama de flujo del procedimiento sintético para las NPsAg por el método de solución coloidal se muestra brevemente en el esquema 1.

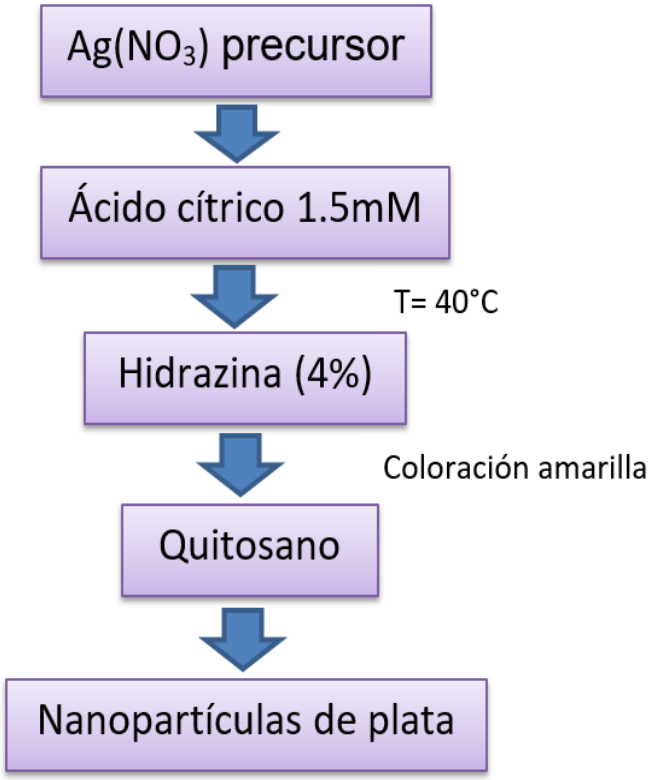


Figura 3.6: Diagrama de flujo del procedimiento de las NPs-Ag obtenidas por el método coloidal.

3.2.2. Síntesis química de nanopartículas de cobre

Para este procedimiento se dio seguimiento a la sintesis de Mohammad [**84**] con previas modificaciones, con la finalidad de hacer una síntesis rápida y estable en el transcurso del tiempo.

En un vaso de precipitado de 50 mL se preparó una solución acuosa de color celeste de citrato de cobre (CitrCu) que fue diluida en 3:5 de agua destilada y etlilenglicol respectivamente, donde se trabajó bajo agitación constante (500 rpm) durante diez minutos en una plancha calefactora, que tuvo como temperatura inical 40 °C con la finalidad de diluir todo el CitrCu (0,01 g). Luego de obtener la temperatura deseada, a toda la solución se le añadió 1 mL de hidroxido de sodio a 0,2 N ajustando el pH hasta 11, mientras se observó un ligero cambio de coloración. Enseguida se prosiguió a añadir el ácido ascórbico (0,05 g) a la solución y se elevó la temperatura a 80 °C con una fuerte agitación (700 rpm), después de quince minutos se observó el cambio de coloración de celeste a un color plomo e inmediato una coloración marrón que cambio rápidamente a rojo oscuro, la solución se agitó durante quince minutos más para que se pueda completar la reacción. Finalmente se agregó la solución de quitosano (0,2 g) que fue previamente disuelto en 0,5 % de ácido acético.

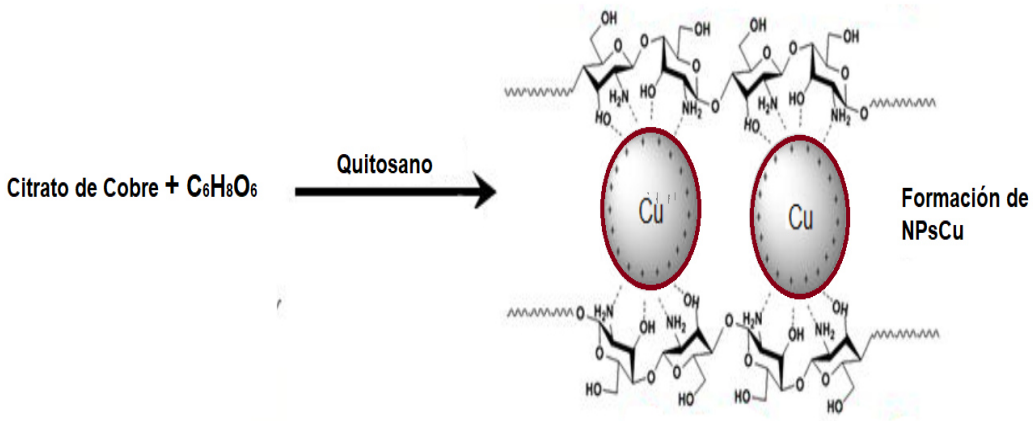


Figura 3.7: Esquema de la producción de nanopartículas de cobre [**101**].

3.2.3. Técnicas de caracterización de las nanopartículas metálicas

A continuación, se llevó a cabo la caracterización de nanopartículas y se describe el método de preparación de la muestra y los equipos utilizados para cada parámetro de caracterización.

Espectroscopia de absorción Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

El análisis UV-Vis se llevó acabo usando un espectrofotómetro UV-visible de la marca Biochrom modelo Libra S22 como se observa en la Figura 3.8, los datos fueron obtenidos con el software llamado Resolution.

A las nanopartículas obtenidas se les realizó una dilución de 1:3 y posteriormente se colocaron en una celda de cuarzo para la realización del análisis y se empleó agua destilada para la corrección del *background.* Se realizó un barrido de longitud de onda desde los 300nm hasta los 700 nm para las NPsAg y 400 nm hasta los 900 nm para las NPsCu.



Figura 3.8: Equipo de espectroscopia UV-Vis.

Difracción de Rayos X

Las fases cristalinas de las NPs de Ag y Cu fueron identificadas por Difracción de Rayos-X (DRX). El equipo utilizado fue un difractómetro de la marca BRUKER, modelo D8-Focus con geometría Bragg-Brentano. Los rayos X fueron generados apartir de un tubo de Cu-Kα a una longitud de onda $\lambda = 1{,}54060$ Å, con un voltaje de 40 kV y una corriente de 40 mA.

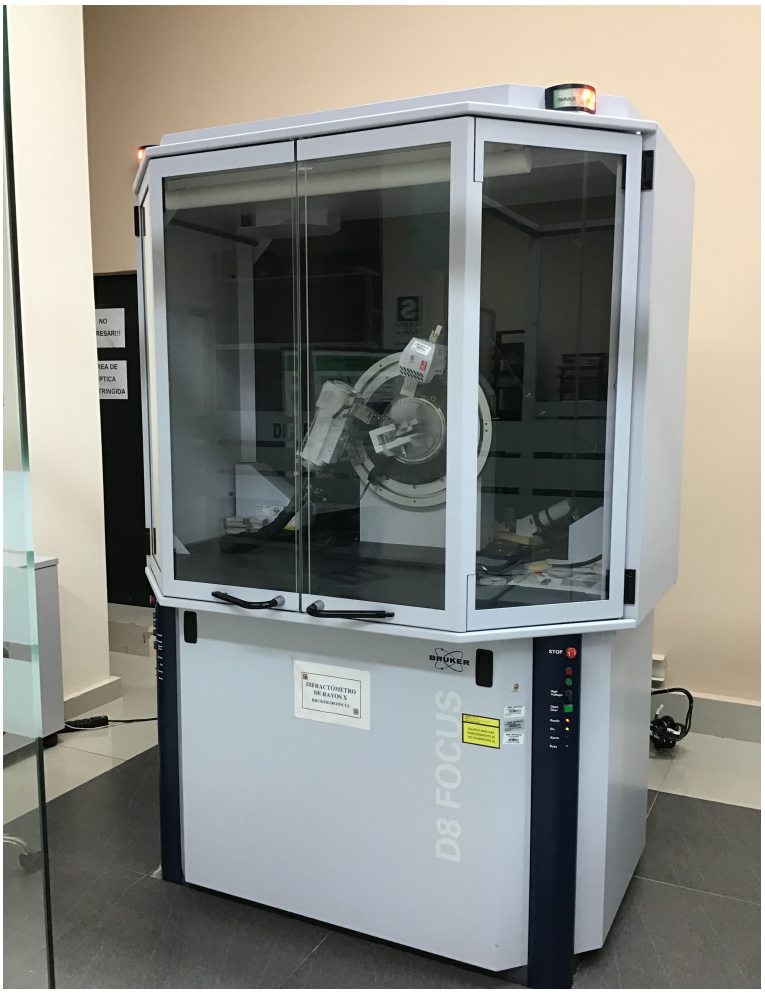


Figura 3.9: Difractómetro Bruker modelo D8- Focus.

Las medidas se realizarón en un portamuestra *background zero* con diámetro de 3cm y 2mm de profundidad. La barredura del ángulo de Bragg (2θ) fue de 30° a 100°, con un paso de 0.05° por 50 segundos.

Dispersión de la Luz Dinámica (DLS)

El tamaño de las nanopartículas de plata y cobre se determinó mediante dispersión de luz modo dinámico, utilizando un equipo de la marca Brookhaven modelo 90 plus BI MAS - Multi angle Particle sizing.

Para la preparación de la muestra se realizó un tratamiento previo.
- Dispersión del material mediante sonicación.
- Sonicacion de la dispersion coloidal recuperado.
- Eliminacion de material no dispersado (centrifugación, filtración o decantación)

Todas las muestras se procesaron a temperatura ambiente, así mismo, se realizó las mediciones por triplicado de cada muestra. Cabe recordar que esté método nos proporciona información sobre el diámetro promedio de las partículas que se encuentran en el medio.

3.3. Recubrimiento del electrodo de trabajo con nanopartículas metálicas (Ag,Cu)

Este recubrimiento se realizó usando la técnica de Dip Coating que consiste en sumergir el electrodo a la solución en un tiempo y a una velocidad controlada. A continuación, se explicará detalladamente.

3.3.1. Técnica de inmersión (Dip Coating)

La técnica de Dip Coating se divide en varias etapas: inmersión (comienzo del proceso), deposición, drenaje (o escurrimiento) y evaporación como ya se había descrito anteriormente en el apartado 2.5.1. La construcción de este equipo se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Físicas con el apoyo de los integrantes del Grupo de Investigación de Materia Condensada (GIMC).

En la parte superior de nuestro equipo se tiene el motor de pasos que se encuentra en la parte superior extrema. El movimiento vertical de subida o bajada del eje depende del giro horario u antihorario del motor. En la figura 3.10 se observa el ensamblado del equipo con las conexiones, tiene una salida USB a la computadora, para poder programar los parámetros adecuados (Velocidad, tiempo, número de

inmersiones), todo esto fue controlodo mediante un software que tiene por nombre arduino.

Pasos del funcionamiento del equipo

* Se programa desde la computadora el tiempo de inmersión, las velocidades de inmersión y de extracción.

* Se fija que los indicadores de sensores estén ubicados en la parte superior y conectamos el equipo.

* Cuando el indicador del sensor se encuentre en la parte inferior, las pinzas empezaran a subir con una velocidad muy lenta y constante (En nuestro caso, es un aproximado de 0,08 mm/s). Este desplazamiento de aproximadamente 4 cm servirá para la extracción del sustrato.

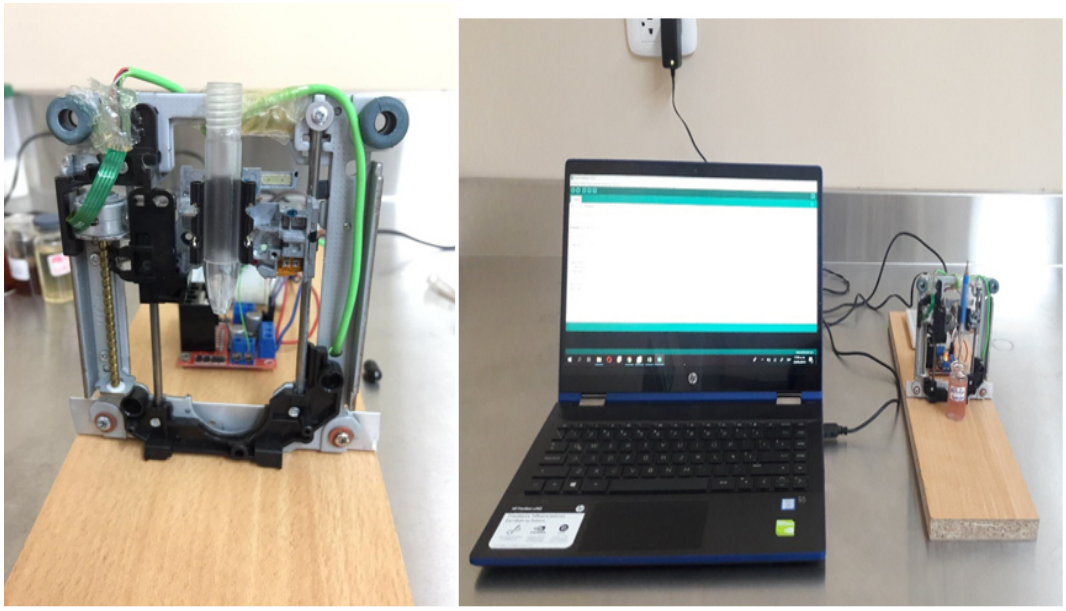


Figura 3.10: Equipo de trabajo instalado para el recubrimiento de películas delgadas (Dip Coating)

3.3.2. Caracterización por Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Las imagenes morfológicas tomadas y el análisis químico se realizaron en las instalaciones de la empresa MyAP (Microscopía Electronica y Aplicaciones). El equipo usado es un microscopio electrónico del modelo FEI Quanta 200 (véase la figura 3.11) que cuenta con un filamento de tungsteno y un accesorio EDS marca EDAX para el analisis químico. La muestra, que en este caso fue el electrodo, se depositó en cintas de grafeno para luego montarlas sobre un portamuestras metálico.



Figura 3.11: Equipo de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).

3.4. Curvas de calibración con electrodos modificados

Tras la optimización de los parámetros con el electrodo de oro ya mencionado en el apartado 3.2.6. Se evaluó la respuesta electroquímica del arsénico con cada uno de los electrodos modificados. Para ello, se realizó curvas de calibración para diferentes diluciones crecientes de arsénico (2, 4, 6, 8, 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppb) y el blanco, en HNO_3 (0,1 M), haciendo uso de los electrodos modificados con nanopartículas de plata y de cobre Au/NPsAg y Au/NPsCu respectivamente. Cabe resaltar que este procedimiento se llevó a cabo por cuadriplicado, para poder evaluar así la estabilidad de la superficie modificada.

Capítulo 4

Resultados y discusión

A continuación se discute todos los resultados obtenidos a lo largo de este trabajo.

4.1. Comportamiento del arsénico sobre diferentes tipos de electrodos de trabajo

Como se indicó anteriormente, se trabajó con dos tipos de electrodos: electrodo de carbón vítreo y electrodo de oro. Este proceso se realizó mediante voltamperometría cíclica, con el objetivo de ver con cuál de estos electrodos genera un proceso electroquímico más adecuado. En el siguiente gráfico (Figura 4.1) se puede observar el voltamograma cíclico realizado con ambos electrodos.

Se escogió el electrodo de oro ya que demuestra una mayor sensibilidad con respecto al electrodo de carbón vítreo, el cual se realizó una simple prueba para analizar el comportamiento de cada uno de ellos, a una concentración definida de 10 ppb de As en HNO_3 (0,1 M).

Obteniéndose una mayor sensibilidad en el electrodo de oro. Varios estudios anteriores han reportado, que los electrodos de oro han sido ampliamente utilizados debido a que este permite la detección del arsénico con elevada sensibilidad y bajos límites de detección como consecuencia de la gran afinidad que presenta el oro por dicho elemento. Teniendo en cuenta dicho análisis, se escoge el electrodo de oro para llevar a cabo la cuantificación de arsénico.

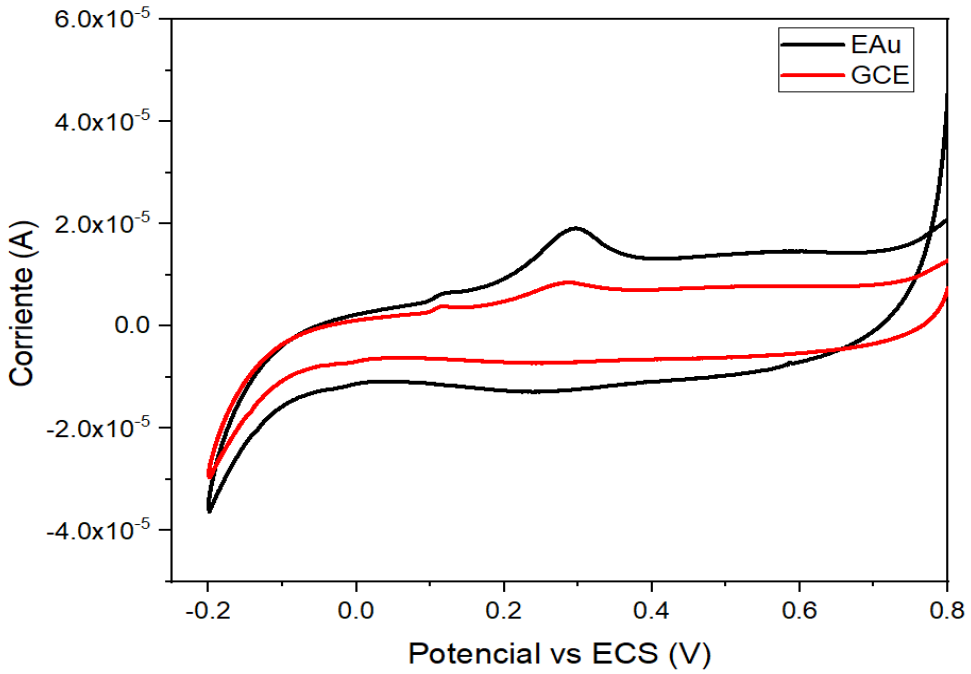


Figura 4.1: Voltamograma cíclico utilizando como electrodo de trabajo un electrodo de oro (EAu) y un electrodo de carbón vítreo (GCE) en una solución de arsénico.

4.2. Evaluación del proceso electródico

Se realizaron estudios fundamentales sobre la velocidad de barrido, antes de realizar un determinado proceso electroquímico, que consiste en saber si la superficie del electrodo de trabajo está controlada por adsorción o difusión. Dicho estudio se llevó a cabo mediante la técnica de voltamperometría cíclica, haciendo uso del electrodo de oro.

Para el análisis se generó una aplicación de corriente durante 60 s a diferentes velocidades de barrido, donde se obtuvo una serie de voltamogramas cíclicos de una disolución de $[K_3Fe(CN)_6]$ en KCl (0,1 M) para hallar el área superficial efectiva del electrodo de oro.

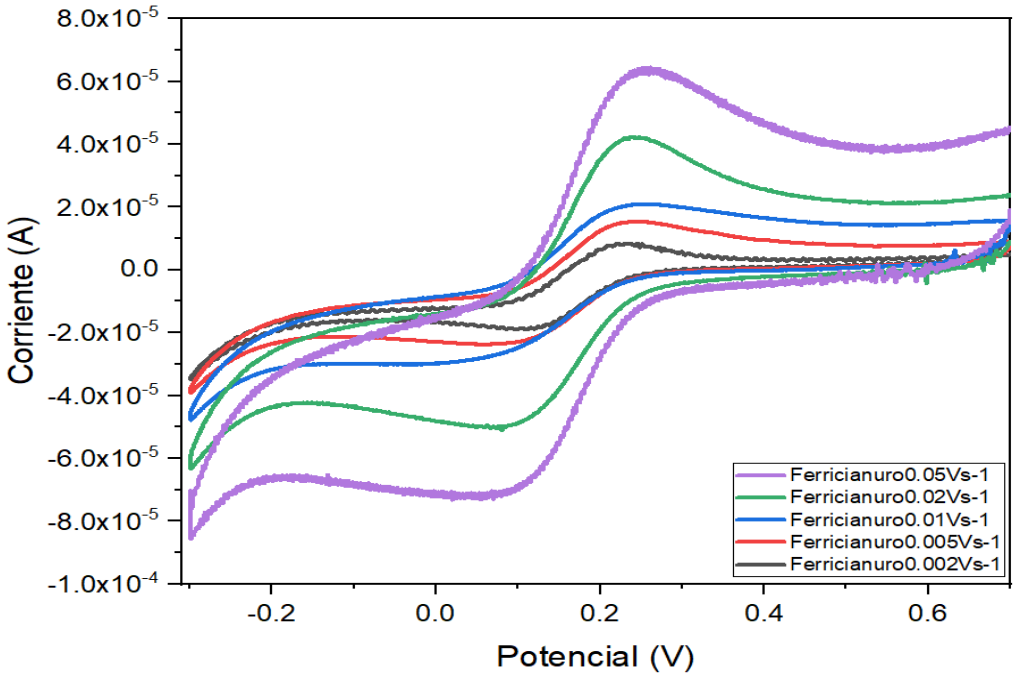


Figura 4.2: Voltamograma cíclicos de ferricianuro de potasio a diferentes velocidades de barrido.

Para ello se tuvo en cuenta las intensidades de corrientes (Ic) de la gráfica 4.2 y la ecuación (2.7).

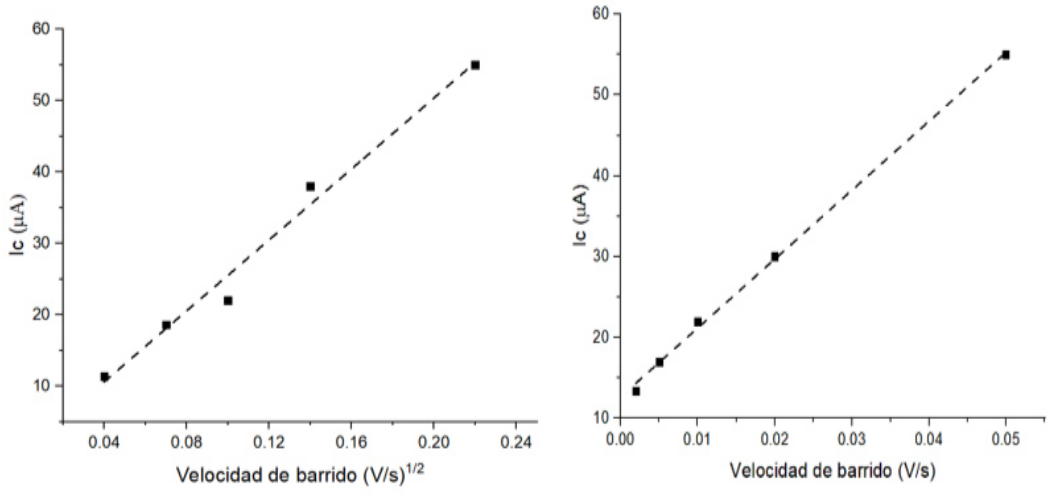


Figura 4.3: a) Representación de las intensidades de corriente anódicas frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido; b) Representación de las intensidades de corriente anódicas frente a la velocidad de barrido.

Siguiendo la ecuación de Randles-Sevcik (ecuación 2.7) describe que la intensidad pico de los voltamogramas realizados, y de la pendiente, se obtiene el área del electrodo (ver ecuación 4.1), teniendo en cuenta que el coeficiente de difusión del ferricianuro es 7,63x10^{-6} cm^2s^{-1} y el número de electrones transmitidos en la reacción es 1 [**69**].

Si la intensidad de corriente varía linealmente con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, el proceso electroquímico estará controlado por difusión. En cambio, si la intensidad de corriente varía linealmente con la velocidad de barrido el proceso será controlado por adsorción. De acuerdo con los datos obtenidos (ver figura 4.3), se obtiene una curva lineal en el caso de la figura b), lo que significa que el proceso electroquímico está controlado por el proceso de adsorción del analito sobre la superficie del electrodo. Para la determinación del área superficial del electrodo, se tiene en cuenta la pendiente de la figura 4.3(b) y la ecuación 2.7.

$$A = \frac{m}{2{,}69x10^5 n^{3/2} D_0^{1/2} C_0^*} \tag{4.1}$$

$$A = \frac{0{,}00024 \pm 0{,}000012}{2{,}69x10^5 (1)^{3/2} (7{,}63x10^{-6})^{1/2} (0{,}1x10^{-3} \pm 0{,}00016)} \tag{4.2}$$

$$A = 0{,}387 \pm 0{,}0019 cm^2 \tag{4.3}$$

4.3. Determinanción de las condiciones óptimas para la cuantificación electroquímica del arsénico

Influencia del medio electrolíto

Trabajos publicados reportan que el medio electrolítico más utilizado para la cuantificación de metales pesados es el HCl [**70**]. También comprobaron el efecto del pH en diferentes medios ácidos (HNO_3, H_2SO_4, $HClO_4$) a una concentración de 1 M [**71**], y tambien, esos medios a una concentración conocida de NaCl para ver su efecto en un medio con cloruro, no se obtuvieron diferencias entre los diferentes medios ácidos, pero lo que sí ocurrió fue la disminución de la señal.

Por lo tanto,con el fin de evaluar y establecer el efecto del pH y la concentración del electrolito soporte para una apropiada cuantificación del arsénico, se estudió el comportamiento que produce las variables por efecto de la intensidad de corriente pico. Por lo tanto, para el desarrollo de este trabajo se escogió el HNO_3 (explicado en el apartado 3.1.4). La figura 4.4 muestra, las intensidades de pico obtenidas que contiene una concentración constante de 50 ppb de As(III) y diferentes concentraciones de ácido nítrico.

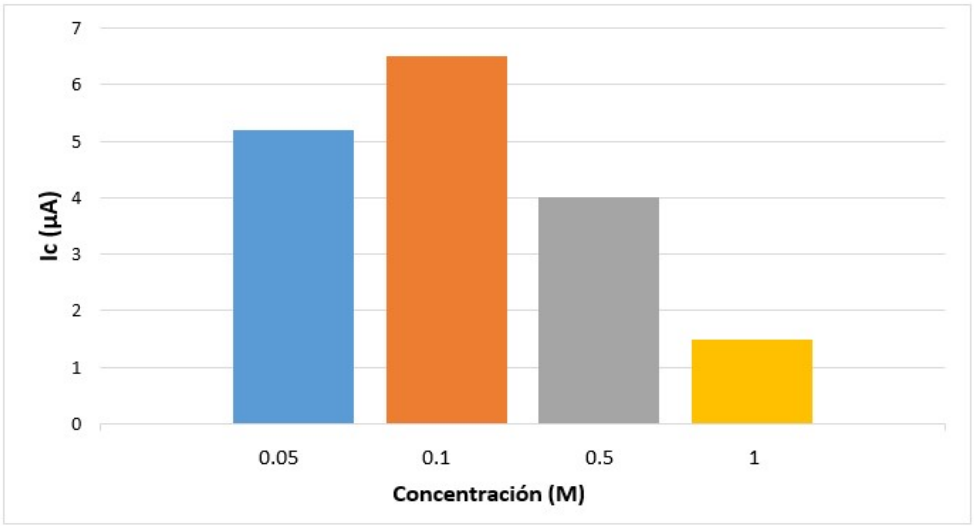


Figura 4.4: Respuesta electroquímica para 10 ppb de As^{+3} a distintas concentraciones de HNO_3.

La respuesta voltamperométrica de especies electroactivas a estudiar, depende del electrolito soporte ya que este es el encargado de conducir la conductividad eléctrica del medio. Por lo tanto, al incrementar la concentración del HNO_3 en la solución, se puede apreciar una mejor respuesta en la intensidad de corriente. Sin embargo, a medida que se va incrementando dicha concentración se observa la reducción en la intensidad de corriente anódica, este problema es explicado por Su y Plus 2001, donde explica que hay una competitividad entre los iones NO_3^- y As por los sitios activos en la superficie del electrodo [**77**].

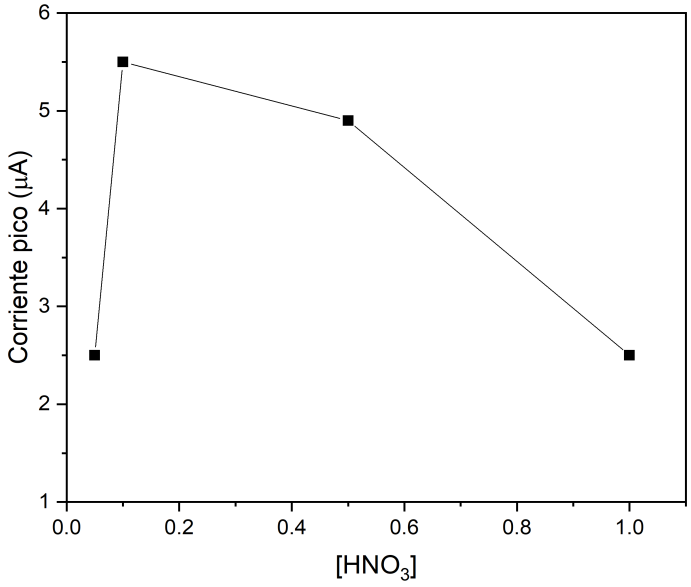


Figura 4.5: Determinación de la concentración del HNO_3.

La respuesta voltamperométrica se vio influenciada fuertemente por el pH. La intensidad de corriente anódica para una concentración de [0,05 M], resultó un valor mínimo de corriente de 2,5 μA, para una concentración de [0,1 M] llegó a un valor máximo de 5,5 μA; mientras que para concentraciones más altas como [0,5 M] y [1 M]; se puede observar una reducción de la señal. Por tanto, los resultados indican que la concentración del medio electrolítico es importante para la cuantificación de arsénico y este pH fue predilecto para realizar los análisis.

Optimización de la amplitud y la frecuencia

En el 2001, Bard and Faulkner [**74**] proponen que para poder obtener una mejor intensidad de corriente pico, se tiene que proceder a evaluar los parámetros que afectan un cambio en la misma, a causa de la variabilidad momentánea de las especies electroactivas en la superficie del electrodo. Estos parámetros son la frecuencia y la amplitud que son usadas en la técnica de voltamperometría de onda cuadrada.

En la gráfica 4.6(a) se muestra que la mejor frecuencia se obtuvo en 0,5 Hz y en la gráfica 4.6(b) muestra la mejor amplitud se obtuvo en 0,05 V.

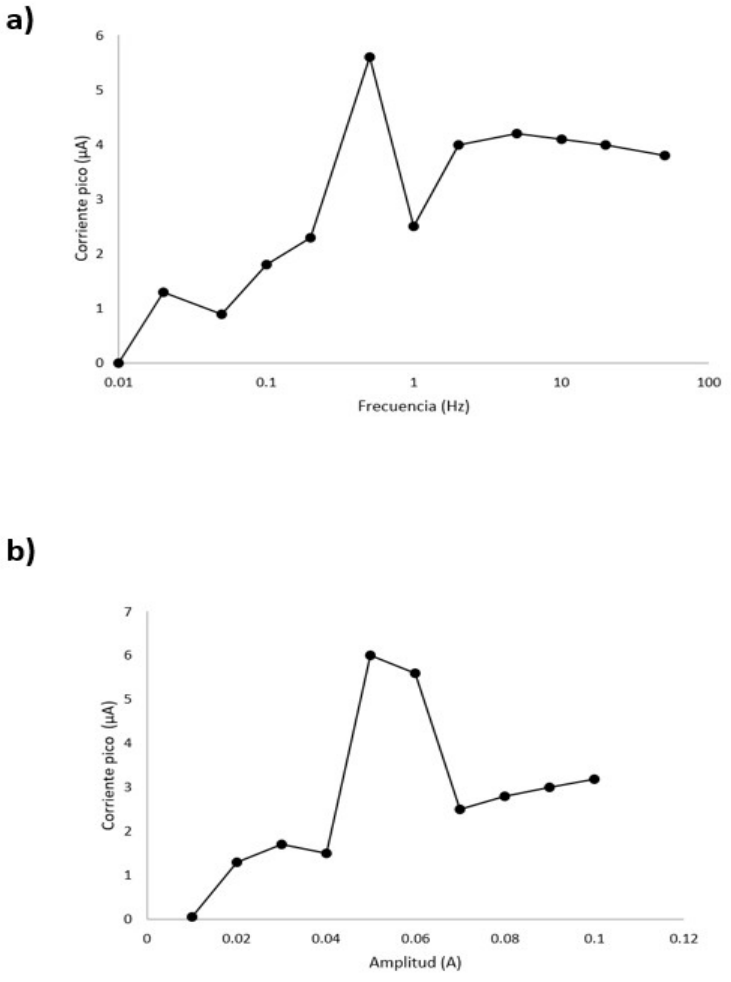


Figura 4.6: Determinación de las variables para la cuantificación de arsénico por voltamperometría de onda cuadrada. La figura (a) muestra que mejor frecuencia durante el proceso y en la gráfica (b) muestra la mejor amplitud.

Influencia del tiempo de deposición en la señal analítica

Tras escoger los parámetros adecuados, se tuvo que optimizar el tiempo de deposicón del arsénico sobre dicho electrodo, ya que es un parámetro que influye en la intensidad de la señal analítica medida y en el rango lineal que puede presentar el sensor electroquímico.

Al igual que en los casos anteriores, este estudio se realizó utilizando el electrodo de oro en las condiciones optimizadas. Se hizo un estudio para diferentes tiempos de deposición, utilizando una misma concentración de arsénico (50ppb).

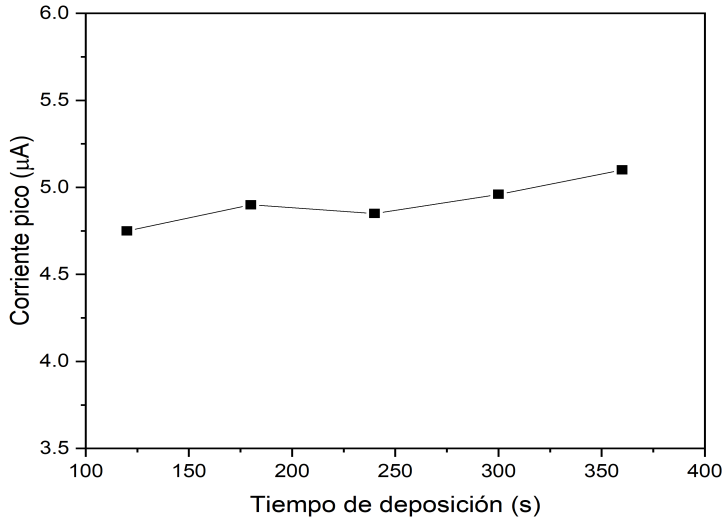


Figura 4.7: Comportamiento de la señal analítica para 50 ppb de As^{+3} según la variación del tiempo de deposición.

Según los datos obtenidos para este estudio, se escogió como tiempo de deposición óptimo a 120 s. Se escogió este tiempo por dos razones, la primera es que la elección de un tiempo de deposición más elevado podría dar lugar a señales mayores sin embargo, el rango lineal de la respuesta del electrodo podría ser bajo y como consecuencia de ello las nanopartículas que se encuentran en la superficie del electrodo podrian saturarse. Como segunda razón es que el aumento del tiempo de deposición también produce un aumento en las señales obtenidas pero a bajos potenciales, por lo que podrían causar un efecto negativo en la determinación de concentraciones pequeñas de arsénico.

Eleccción de la técnica electroquímica

Existen diversos tipos de técnicas electroquímicas para la especiación. El principio de la voltamperometría es el de monitorear la corriente generada por encima de la aplicación de un potencial de barrido, cada uno de los diferentes tipos de voltamperometría generan gráficas diferentes que están en función al potencial aplicado [**72**]. Se llevó acabo el estudio del proceso electroquímico para determinar una técnica electroquímica sensible que, de lugar a la cuantificación del arsénico, para ello se utilizó diferentes tipos de técnicas, una de ellas fue la voltamperometría cíclica, sin embargo, esta técnica es menos sensible en comparación con otras técnicas voltamperométricas, como la voltamperometría de pulso diferencial (DPV) o la voltamperometría de onda cuadrada (SWV) [**73**].

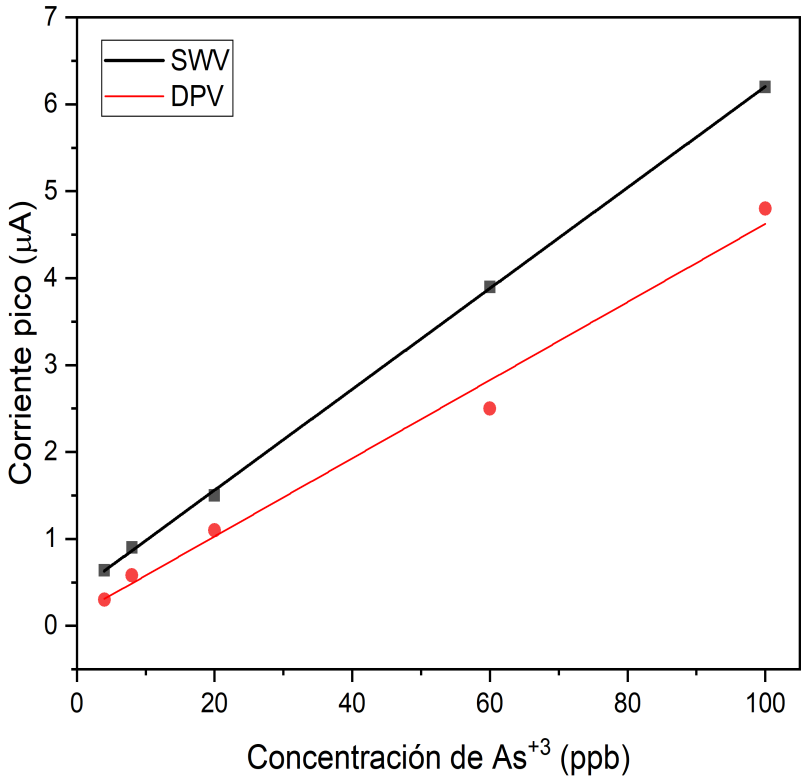


Figura 4.8: Curva de calibración obtenido para cada una de las técnicas voltamperométricas en estudio.

La SWV, en relación con la DPV, es más rápida en elaborar voltamogramas en tiempos muy cortos y presenta una mayor sensibilidad, alrededor de dos a tres veces superior a la DPV. Por esta razón que la SWV es la técnica que se eligió para el proceso de determinación de arsénico, lo cual es una ventaja para la cuantificación de cantidades muy pequeñas [**81**].

4.4. Recubrimiento del electrodo de trabajo con nanopartículas

Para el recubrimiento de las nanopartículas en el electrodo. Lo primero que se realizó fue la síntesis de nanopartículas de plata y de cobre, con su respectiva caracterización estructural.

Síntesis de nanopartículas de plata

Para sintetizar las nanopartículas de plata, se siguió el procedimiento descrito en la sección 3.2.1 de la metodología, con lo cual se obtuvo cinco suspensiones diferentes de nanopartículas de plata en agua destilada, las cuales fueron rotuladas como NPsAg0,5, NPsAg1, NPsAg10, NPsAg40 y NPsAg70 con respecto a la concentración de nitrato de plata usado en la síntesis química (0,5; 1; 10; 40; 70 mM, respectivamente). Las suspensiones de nanopartículas realizadas se dejaron en reposo por un tiempo de 7 días, con la finalidad de descartar precipitados y poder obtener una suspensión de NPs estables, coincidiendo con lo reportado por Ascencio et ál [**74**]. Durante el proceso de síntesis se observó un cambio de coloración de transparente a amarillo, indicando la efectiva formación de nanopartículas de plata, según reportado en la literatura donde el cambio de color es el desarrollo de las NPs.

Se realizó una simple prueba para verificar si existen Nps dentro de la solución obtenida, esta se realizó con un láser para observar la dispersión y reflexión de la luz en la solución coloidal. El efecto Tyndall es un fenómeno físico que causa que las partículas coloidales en una disolución sean visibles al dispersar la luz. Las partículas, poseen la propiedad de reflejar o refractar la luz que les llega, así el trayecto luminoso que se sigue en las soluciones coloidales se ve gracias a las partículas coloidales, que pasan a convertirse y actuar como verdaderos emisores de luz.

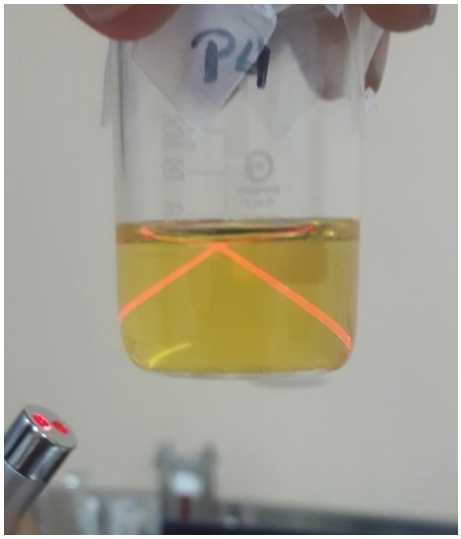


Figura 4.9: Nanopartículas de plata

Síntesis de nanopartículas de cobre

La figura 4.10, muestra la formación de las NPsCu donde se evidencia visualmente por la aparición de un color rojizo característico y propio del cobre. La suspensión de las nanopartículas de cobre presentó un pH ácido debido al uso del ácido ascórbico durante la síntesis. Como se había descrito anteriormente las suspensiones de nanopartículas realizadas se dejó en reposo por un tiempo.

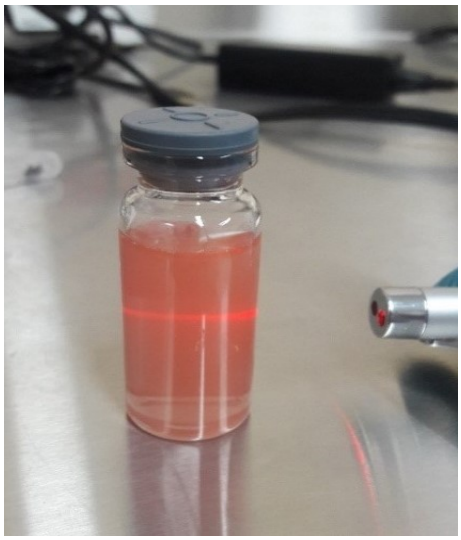


Figura 4.10: Nanopartículas de cobre

4.4.1. Caracterización estructural de las nanopartículas de plata y cobre

Para obtener información acerca del estado cristalino de las nanopartículas utilizada en la modificación del electrodo de trabajo para la cuantificación de arsénico, se realizaron análisis de espectroscopia UV-vis, difracción de rayos X y dispersión dinámica de la luz.

Espectroscopia UV-Vis de absorción

Después de realizar la síntesis, la obtención de las nanopartículas de plata y de cobre (NPsAg- NPsCu) se constata mediante la espectroscopia UV-Vis, donde muestran las bandas de resonancia de plasmón superficial (RPS), ubicadas en 410 nm y 585 nm respectivamente.

En el caso de las NPsAg como se muestra en la figura 4.11, se indica un espectro típico de absorción obtenido para un sistema coloidal de nanopartículas de plata, con el cual se confirma la formación de estas. Se puede observar que el espectro UV-Vis analizado, presentó una sola banda simétrica de RPS ubicado en los 410 nm, lo que indica que no hay trazas de los agentes reductores presente en la suspensión de las nanopartículas. No obstante, muestra un ancho de pico aproximadamente de 100 nm, lo que indicaría que existe una amplia distribución en el tamaño de nanopartículas, siendo estas parcialmente mono dispersas. Coincidiendo con las observaciones que fue reportado por Salomón y colaboradores como se muestra en el cuadro 4.1, donde se puede deducir la formación y tamaño de las nanopartículas a base de las características espectrales [**75**].

Tamaño de las partículas (nm)	**Longitud de onda máxima (nm)**	**Ancho del pico del plasmón (nm)**
10 - 14	395 - 405	50 - 70
35 - 50	405 - 420	100 - 110
60 - 80	420 - 438	140 - 150

Cuadro 4.1: Tamaño de partículas y características espectrales de las nanopartículas de plata.

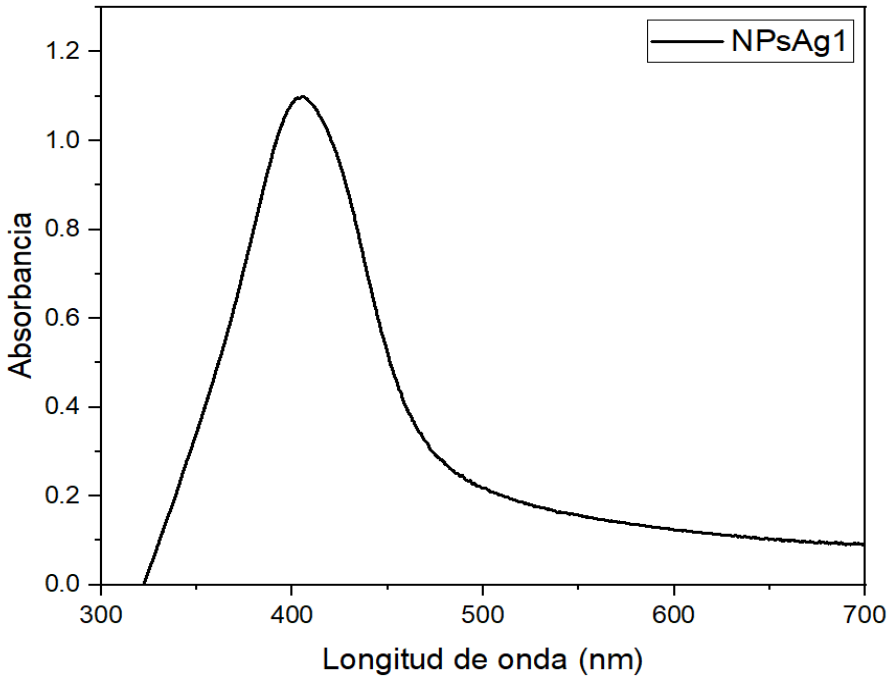


Figura 4.11: Espectro de absorción UV-vis de nanopartículas de plata.

El fenómeno RPS se origina a partir de la excitación de las vibraciones típicos de los plasmas, causado por la interacción de la radiación electromagnética de baja frecuencia y los portadores de carga libres, suscitando la aparición de una fuerte banda de resonancia de plasmón de superficie. Generalmente, las NPsCu muestran una banda SPR en le rango de 573-600 nm.

En la figura 4.12 se muestra el plasmón superficial en 585 nm, indicando la formación de nanopartículas de cobre, que se demuestra con los datos obtenidos experimentalmente por Usman [**84**], Akshma [**85**] y Tokarek [**86**].

Con la figuras 4.11 y 4.12, se quiere demostrar la estabilidad de los sistemas coloidales de nanopartículas de plata obtenida en este trabajo de tesis. Para ello, se realizó la medición de espectro UV-vis después de tres meses, permaneciendo prácticamente igual al espectro obtenido inicialmente, lo que nos da a entender que no hubo un crecimiento abrupto en el tamaño de las nanopartículas. Cabe resaltar que cuando se quiso separar las NPs de plata por medio de centrifugación (500 rpm), el precipitado que se obtuvo fue mínima (casi nula), sin embargo, cuando se centrifugó las NPsCu si se observó precipitado, por lo que se puede deducir que estos nanomateriales sintetizados, posiblemente tienen un tamaño relativamente grande, por lo que puede existir aglomeración por parte del quitosano como agente

estabilizador.

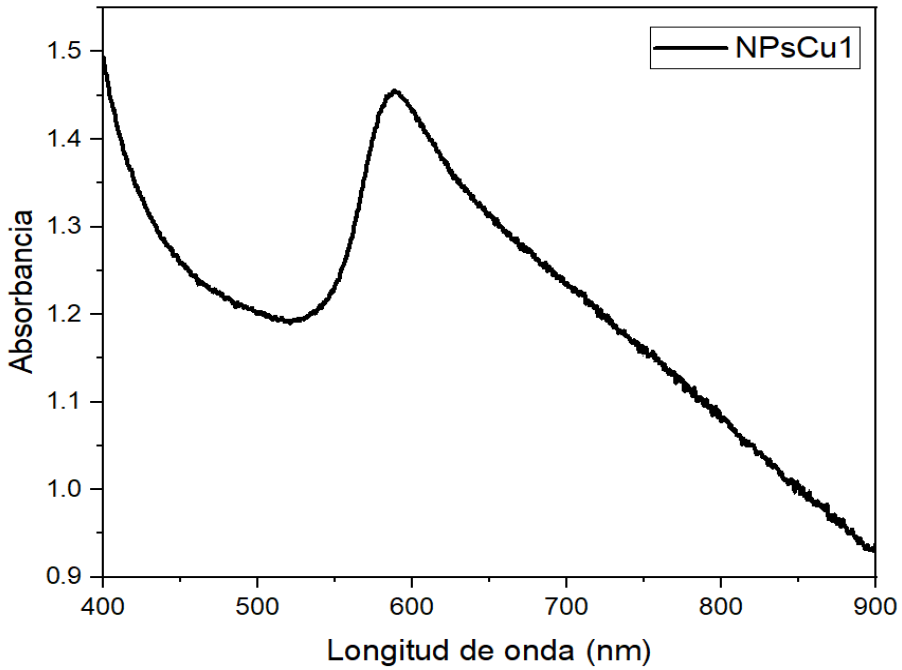


Figura 4.12: Espectro de absorción UV-vis de nanopartículas de cobre.

Difracción de Rayos X (DRX)

La caracterización de las nanopartículas por difracción de rayos X es otra técnica que se utilizó para comprobar la estructura cristalina de las NPs obtenidas. Los datos de las estructuras cristalinas encontradas en las muestras, se corroboraron con la biblioteca de la base de datos del propio equipo. Para estimar el tamaño promedio del grano se empleo la fórmula de Scherrer, donde demuestra que el ancho integral (β) del pico es inversamente proporcional al tamaño del grano "D", con la relación:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos(\theta)} \tag{4.4}$$

Donde:

D : es el tamaño de grano promedio.

K : el factor de forma del cristal y su valor es de 1.

β : es el ancho integral de la reflexión localizado en 2θ.

λ : es la longitud de onda de los rayos X.

θ : el ángulo de Bragg.

El primer caso estudiado corresponde al difractograma de las nanopartículas de plata como se muestra en la figura 4.13, donde se puede apreciar cinco picos de baja intensidad asociados a la estructura correspondiente de la plata en base a la tarjeta de identificación JCPDS-ICDD N°: 087-0717. Se aprecia la posición angular de las reflexiones localizadas a 2θ = 38,1°; 44,2°; 64,4° y 77,5°, indexadas como (111), (200), (220) y (311) respectivamente, que corresponden a los planos de difracción de la estructura cúbica centrada en las caras (FCC) de la plata elemental.

Obteniéndose interferencias constructivas muy débiles y dando lugar a picos de bajas intensidades. Investigadores como Lung-Shuo y Ahmad reportan que la señal de cada pico se amplia debido a la presencia de quitosano en la reacción [**87**] [**88**], por otro lado Fattah indica que la señal de los picos es debido al efecto del tamaño de las las NPsAg [**89**].

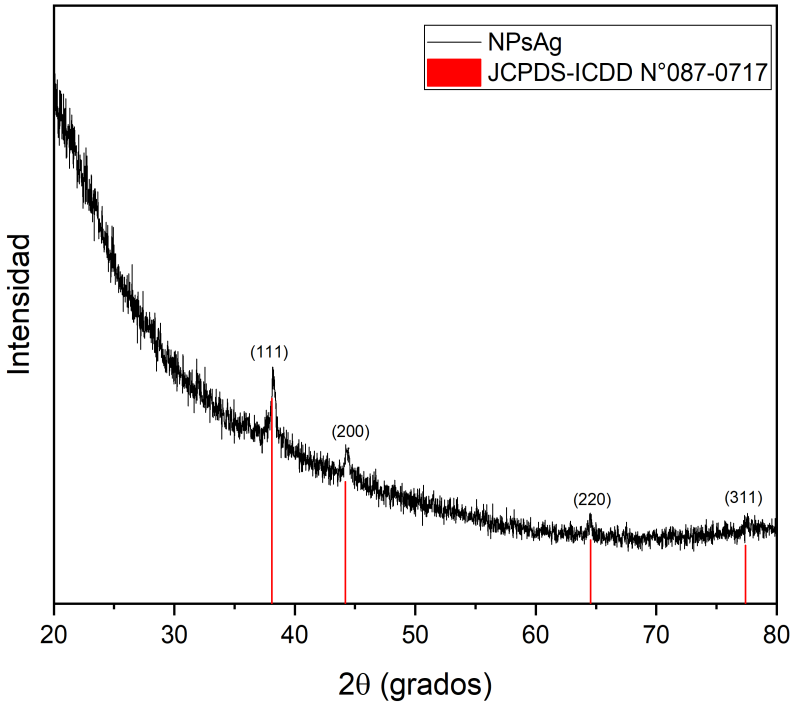


Figura 4.13: Patron de difracción de las nanopartículas de plata.

Con respecto al difractograma el pico de difracción localizado en la posición angular 38,1° manifiesta una máxima intensidad de señal en comparación con los

demás picos indicados. Dando a entender que los átomos en el plano 111 las NPs de plata presentan un mayor acomodo, tal como fue reportado por Pal y colaboradores, donde demuestran que las NPsAg se ven favorecidas por su alta densidad de átomos en el plano 111 [**76**].

Por otra parte, el patrón de difracción que muestra la figura 4.14, corresponde a los picos característicos de las nanopartículas de cobre, donde se observan valores de 2θ iguales a 43,47°; 50,37°; 73,99°; 89,93° y 95,57° correspondientes a los planos (111), (200), (220), (311) y (222) de la estructura cubica centrada en las caras (FCC) de los patrones estándar JCPDS-ICDD N° 004-0836 convalidando la fase metálica del cobre. No observándose otros picos correspondientes a especies oxidadas. En el difractograma los dos primeros picos máximos concuerdan con las señales del patrón de difracción del Cu^0. En tanto que la tercera señal del plano (220) está presente, pero en baja intensidad.

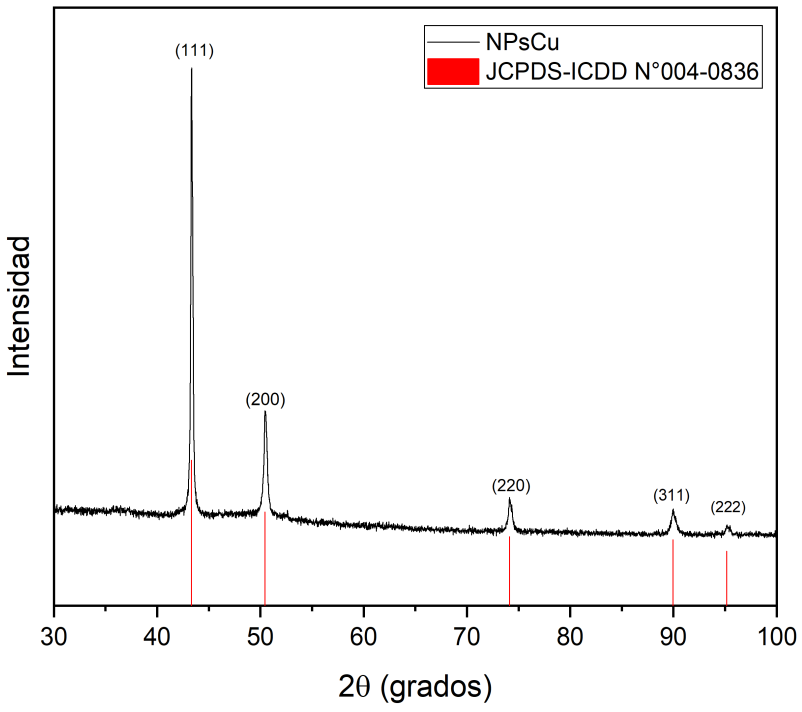


Figura 4.14: Patron de difracción de las nanopartículas de cobre.

Dispersión de la Luz Dinámica (DLS)

En la figura 4.15 y 4.16, se presenta los histogramas de distribución del tamaño hidrodinámico y le índice de polidispersión para las nanopartículas de plata y de cobre rspectivamente. La siguiente tabla resume los resultados generados.

Muestra	**Diámetro (nm)**	**Índice de polidispersidad (Pdl)**
Plata	44.10	0.346
Cobre	562.3	0.184

Cuadro 4.2: Valores obtenidos por DLS de las nanopartículas de plata y cobre.

En la figura 4.15, se puede apreciar la distribución del tamaño de las NPsAg, indicando un diámetro promedio de 44,10 nm con una polidispersidad de 0,346, el cual se determina que es parcialmente monodisperso. Por otro lado, en la figura 4.16, se puede apreciar el histograma para las nanopartículas de cobre, donde resulta ser de un diámetro promedio de 562,3 nm y un índice de polidispersión de 0,184. Este resultado se debe a que las NPsCu son estabilizadas con quitosano lo que hace que presente una mayor aglomeración, pero una menor polidispersión.

Si comparamos estos resultados obtenidos con los resultados de análisis de los espectros UV-Vis nos podemos dar cuenta la relación que existe entre el tamaño hidrodinámico encontrado por DLS y la banda de absorción resultante de RPS (se puede apreciar en el cuadro 4.2). Además, el área que se encuentra debajo de la curva, proporciona información de cada fracción de nanopartículas en la solución y el índice de polidispersidad es una medida de los rangos de tamaño presente en la solución.

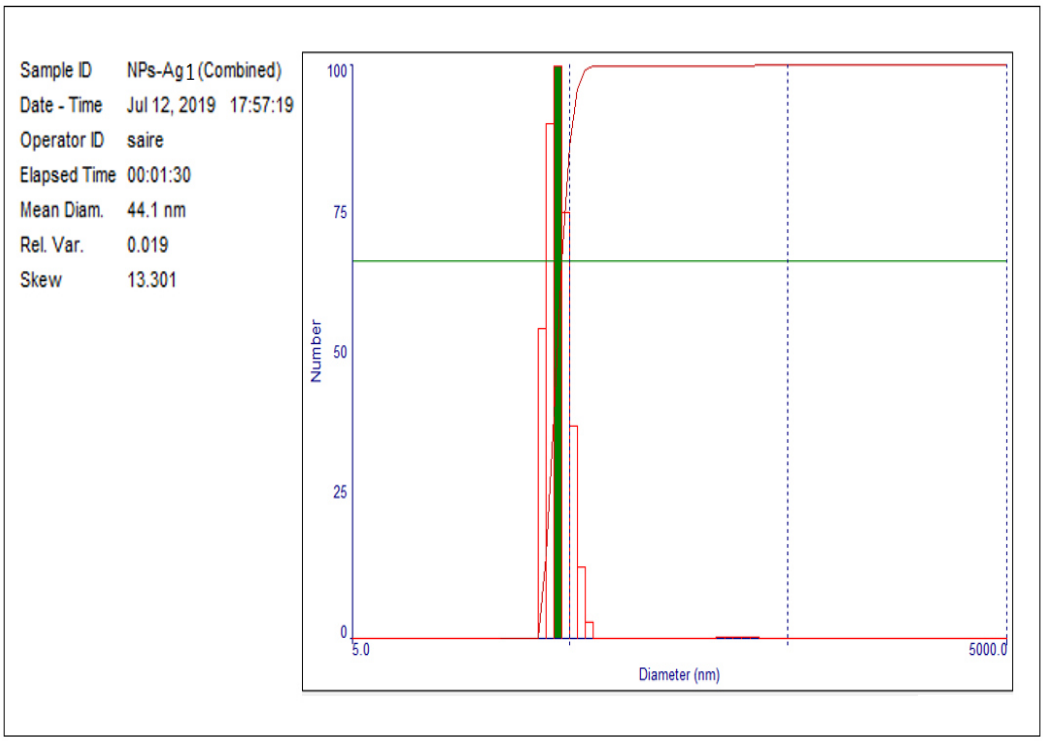


Figura 4.15: Distribución de tamaños de las nanopartículas de plata.

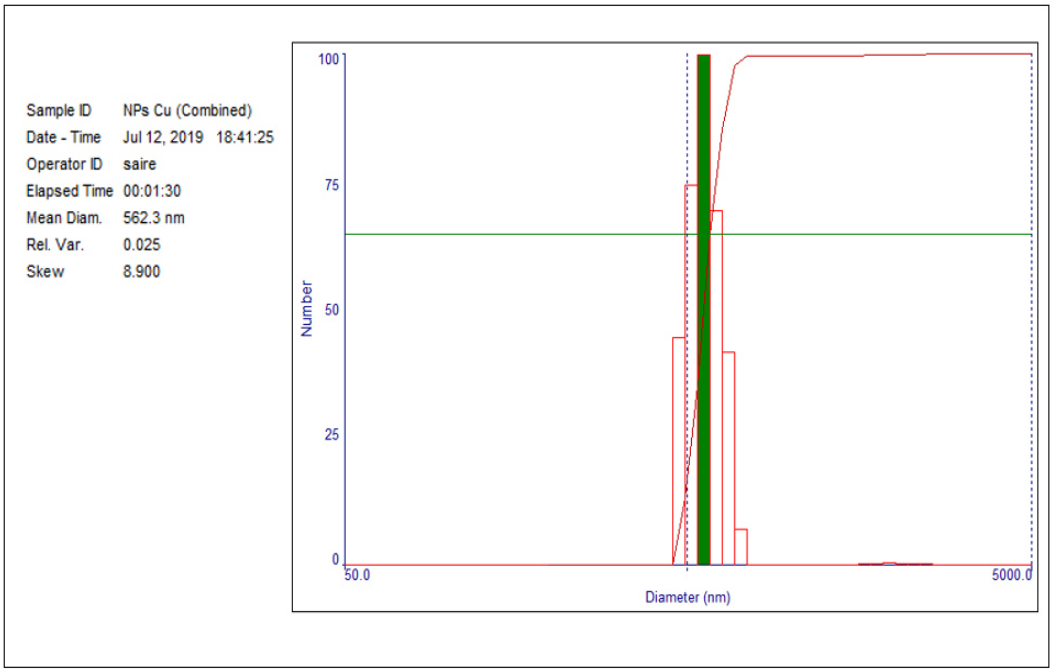


Figura 4.16: Distribución de tamaños de las nanopartículas de cobre.

4.4.2. Incorporación de las nanopartículas en la superficie del electrodo de trabajo

Hasta esta parte del trabajo de tesis se tiene definido la técnica electroquímica, el electrodo de trabajo y los parámetros completamente definidos , que se utilizaron para realizar la cuantificación de arsénico en agua. Por lo tanto, lo que se muestra a continuación es el resultado de como las nanopartículas metálicas se encuentran sobre la superficie del electrodo de trabajo modificado, para ello se realizó el análisis por MEB (Microscopia Electronica de Barrido) con la finalidad de corroborar la deposición de las nanopartículas. Cabe recalcar que se realizó dicha modificación con el objetivo de obtener un incremento de su sensibilidad sobre la superficie del electrodo.

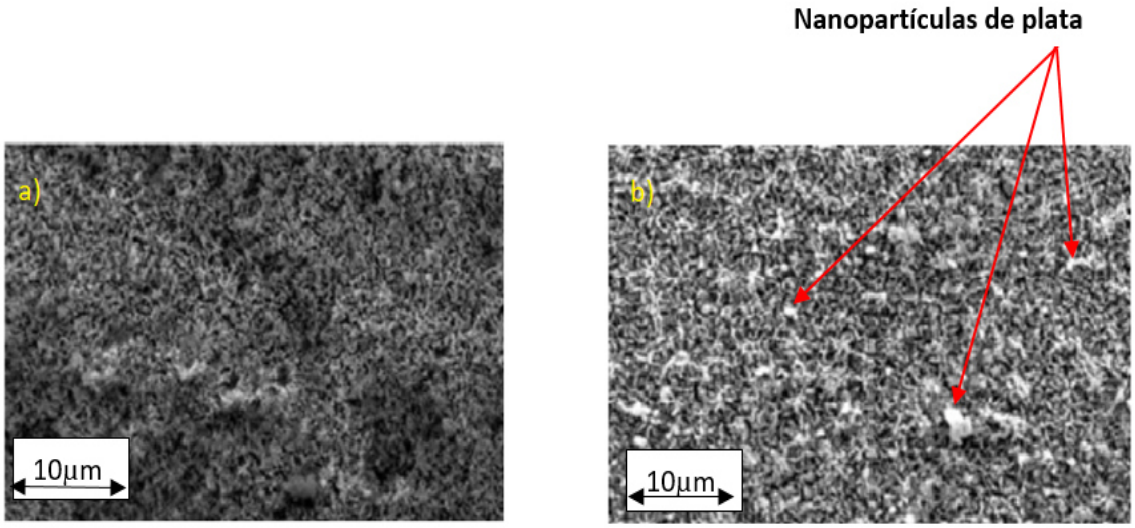


Figura 4.17: Microscopia Electronica de Barrido (MEB) a) Electrodo modificado con nanopartículas de plata a una escala de 10 μm b) Electrodo modificado con nanopartículas de plata a una escala de 10 μm con 15k de aumento.

En la figura 4.17a) Se tiene una imagen a una escala de 10 μm donde se puede observar como el polímero (quitosano) con las nanoparticulas se encuentra adherido al electrodo. En la imagen 4.17b) Se tiene una imagen a una escala 10 μm (15k aumento), en efecto, se puede observar en la superficie del electrodo las nanopartículas de plata, identificadas como puntos blancos, obteniéndose un resultado positivo, ya que la población de la NPsAg que se observa en la imagen está uniformemente distribuido sobre la superficie del electrodo. Por lo que se puede

inferir que va adquirir una señal aceptable a dicho electrodo.

4.5. Detección electroquímica del arsénico frente a electrodos modificados

Antes de proceder a realizar las pruebas electroquímicas con el semimetal contaminante (As), se realizó pruebas de voltamperometría cíclica con el electrodo de oro modificado y sin modificar con la finalidad de constatar si la señal del electrodo modificado genera una buena optimización. Se lleva acabo está técnica voltamperométrica ya que nos facilita información general del comportamiento del sistema, además de detectar los potenciales de oxidación y reducción.

En la figura 4.18 se observa el voltamograma cíclico que fue llevado a cabo bajo las siguientes condiciones: En un rango de potencial de -0,6 V a 0,6 V; tiempo de deposición (t_d) de 120 s, paso de potencial (step) de 10 mV y una velocidad de barrido de 20 V/s, sin agitación y sin desoxigenación del sistema. Se inició por una dirección catódica mostrándose una señal de reducción en 0,1 V (pico1) que contribuye la reducción del As^{+3} a As^0 y otra señal en 0,3 V (pico2) que corresponde a la oxidación de As^0 a As^{+3}. Cabe resaltar que los resultados voltamperométricos se realizaron sin previa eliminación de oxígeno, ya que se busca que esta técnica no tenga complicaciones para muestras previas en agua real.

En esta figura, se tiene que la línea de color negro representa la señal del electrodo de oro sin modificar, donde no se aprecia un pico definido, mostrando una señal débil frente a una solución que contenía una concentración de As(III) de 10 ppb. En cambio, la señal del electrodo modificado con nanopartículas de cobre (Au/NPsCu), muestra una respuesta voltamperométrica de arsénico con picos anchos y pocos intensos, siendo este la línea de color rojo. Por el contrario, la línea de color azul que representa al electrodo de oro modificado con nanopartículas de plata (Au/NPsAg), muestra el incremento de la señal de los picos tanto de oxidación como de reducción, en esta se puede apreciar un pico alrededor de Epa 0,12 V y una corriente pico Ipa 0,1 mA.

Este resultado quiere decir que, la modificación que se realizó al electrodo con las NPsAg con la técnica de dip coating (línea azul) muestra una señal notoriamente prominente donde se puede observar que alcanza una intensidad de pico más alta, por lo que se puede concluir que esta metodología puede alcanzar resultados

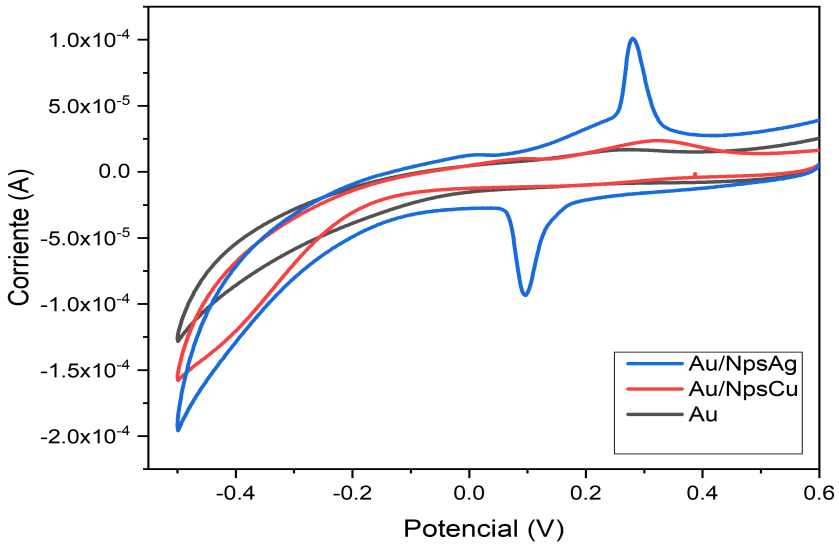


Figura 4.18: Voltamograma cíclico del comportamiento electroquímico del arsénico con un electrodo de oro con y sin NPsAg con 100 ppb de As(III) en HNO_3 (0,1 M).

óptimos, demostrándose por los previos resultados de microscopía electrónica de barrido (MEB) que demuestra la distribución uniforme de las nanopartículas sobre la superficie del electrodo de oro.

Concentraciones óptimas de las nanopartículas de plata y cobre

Como las nanopartículas de plata juegan un papel importante en el incremento de la sensibilidad al electrodo de trabajo, se tuvo en cuenta variar la concentración de NPsAg para encontrar la intensidad de pico máximo. Para ello en la síntesis química (4.4) se había indicado las diferentes concentraciones de nanopartículas de plata sintetizadas. Las concentraciones que se evaluaron fueron: 0,5; 1; 10; 40 y 70 mmol L^{-1}.

Entonces para encontrar la concentración adecuada de NPsAg, se utilizó la técnica de voltamperometría de onda cuadrada a una concentración constante de arsénico bajo las siguientes condiciones: tiempo de deposición (t_d) 120 s, frecuencia de 0,5 Hz, paso de potencia (step) de 10 mV y una amplitud de 50 mV sin agitación y sin desoxigenación.

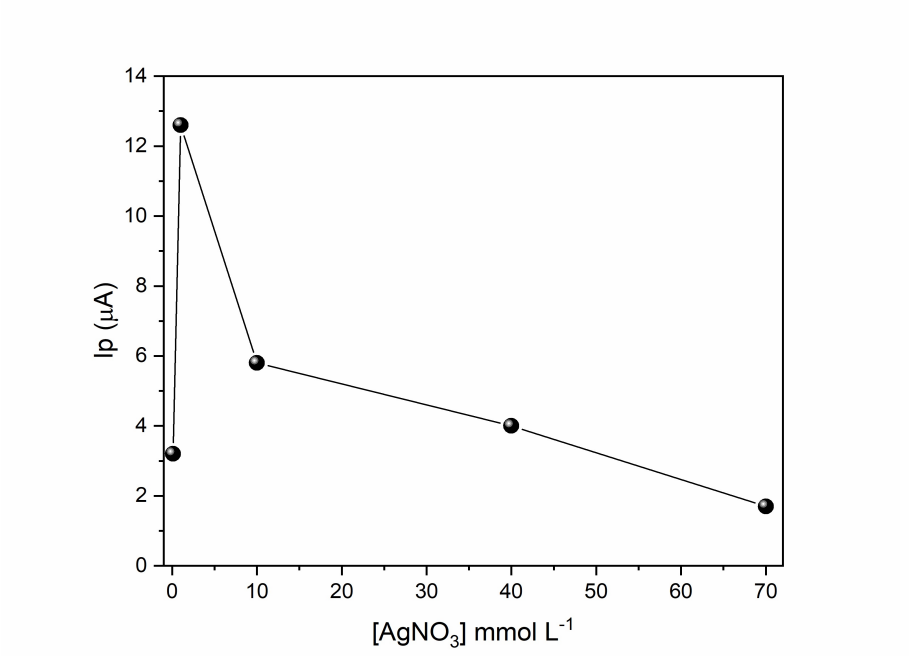


Figura 4.19: Efecto de las nanopartículas de plata a diferentes concentraciones molares en HNO_3 (0,1 M) que contiene 100 ppb de As (III).

Los resultados que se muestran en la figura 4.19, muestra que la intensidad de pico de arsénico se va reduciendo conforme se incrementa la concentración de NPsAg. Entonces se puede deducir que a una concentración elevada la intensidad de pico disminuye, debido al exceso de NPsAg que se adsorbe en la superficie del electrodo de trabajo lo que induce a una saturación provocando que la adsorción del arsénico no genere una señal óptima. Prakash y colaboradores, confirman que a mayor concentración de nanopartículas de plata menor será la intensidad de pico por la aglomeración presente en la matriz del electrodo [**78**]. Sin embargo, se puede apreciar que la intensidad de corriente aumenta cuando se encuentra en una concentación de 1 mM, debido al área superficial específica, lo que facilitó la detección de arsénico para dicha concentración.

Otro estudio que puede ser realizado tras la optimización de la intensidad de corriente, es el tamaño y la morfología de las nanopartículas metálicas, ya que existen estudios que el tamaño de dichas NPs influyen mucho en la señal analítica para la detección de metales pesados [**21**].

Por otro lado, pero no menos importante, se tiene que las intensidades de corriente con respecto a las nanopartículas de cobre, se obtuvieron de menor intensidad, pues esto se puede explicar al tamaño de la NPs que fue reportado dentro de este trabajo por ánalisis de DLS. Por lo que se puede inferir que si se hubiera obtenido nanopartículas de cobre de menor tamaño, la señal analítica incrementaria. Actualmente no existe un reporte sobre detección electroquímica de arsénico mediante un electrodo que este modificado con nanopartículas de cobre, por lo que seria una buena propuesta llevar acabo esta parte de la investigación a una mayor profundidad.

Teniendo en cuenta los resultados analizados, se estudió el comportamiento electroquímico de las nanopartículas de plata depositados sobre un electrodo de oro en 0,1 M de HNO_3 utilizando voltamperometría cíclica. La figura 4.20, muestra el voltamograma cíclico de tres exploraciones consecutivos usando esta técnica, se puede observar que por cada ciclo que se realiza, aparece un pico de oxidación y reducción menor al que se realizó inicialmente. Sonkoue y colaboradores [**82**] indican que como existe una formación de capas de NPsAg sobre la superficie del electrodo, este hace que aumente significativamente la superficie activa originando la disminución de la intensidad de picos de oxidación y reducción de aproximadamente entre un 3 y 5 % con respecto al primer ciclo. Lo que refleja que después de cada ciclo hay una cantidad inferior de NPsAg disponibles.

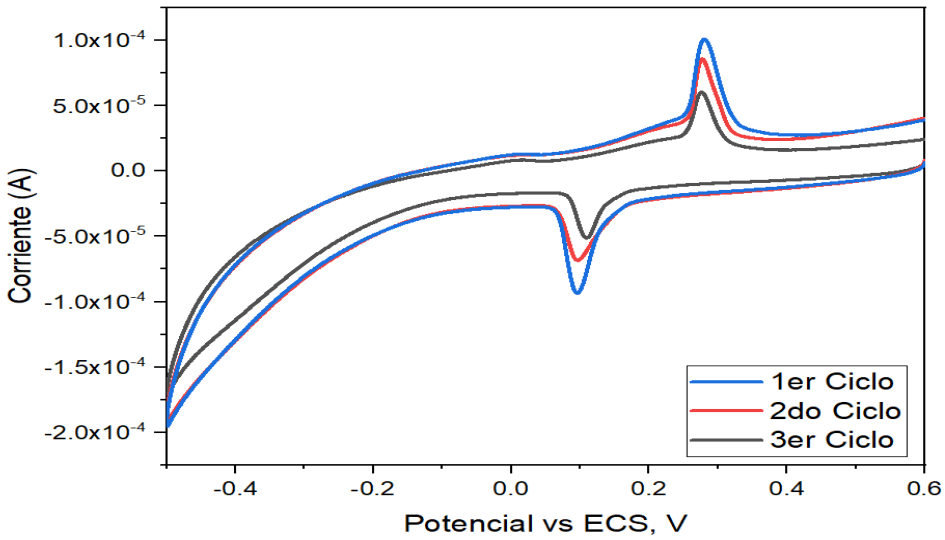


Figura 4.20: Voltamograma cíclico registrados a 0,1 V/s en el electrodo de oro modificado con NPsAg en HNO_3 (0,1 M) que contiene 10 ppb de As (III).

Luego del tercer ciclo, se demostró que los ciclos siguientes que se realizarón fueron constantes, es decir, se obtuvó ciclos con el mismo pico de reducción y oxidación. Por tanto, para realizar la curva de calibración, primero se tuvo en cuenta está técnica.

Estudio del electodo modificado

El estudio realizado consistió en evaluar la estabilidad de la superficie del electrodo modificado con nanopartículas. Para llevarlo a cabo se realizó mediciones por triplicado, y en difrentes días, la concentración de arsénico que se utilizó fue de 10 μg L^{-1}, siendo estas generadas de acuerdo a las condiciones optimizadas. La modificación del electrodo se llevó a cabo el mismo día para poder evaluar la estabilidad de dicha superficie con el transcurso del tiempo.

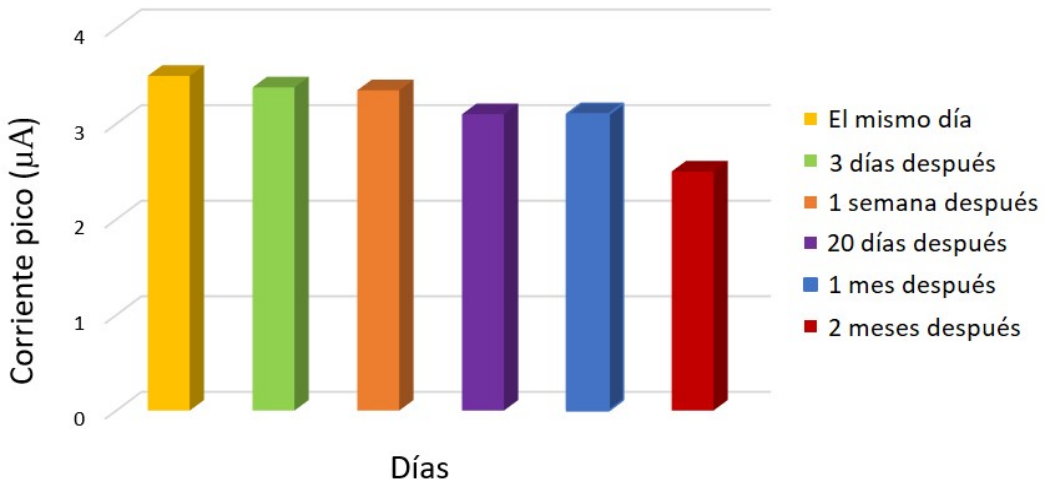


Figura 4.21: Estabilidad del electrodo modificado

Según los datos obtenidos en este estudio (Figura 4.21) para el electrodo modificado con NPs, la intensidad de corriente del mismo día nos da un resultado de 3,49 μA, en el tercer día 3,47 μA, en la primera semana de 3,45 μA hasta los 15 días, a partir del día 20 hasta el primer mes se mantiene constante dando un resultado de 3,10 μA, en cambio, a partir del segundo mes la medida realizada es mucho menor con respecto al mismo día en el que se modificó la supercicie del electrodo. Concluyendo de estos resultados se recomienda hacer uso del electrodo modificado el mismo día, ya que se obtiene un mayor pico corriente, pero también se recomienda hacer uso del electrodo hasta los primeros 15 días porque con respecto a la intensidad de la

primera medida no difieren en mucho, por caso contrario no se recomienda hacer uso del electrodo modificado despues del primer mes ya que se obtiene una intensidad menor y por ende, las curvas de calibración tendran resultados no óptimos.

4.6. Evaluación de las condiciones experimentales para la cuantificación con los electrodos modificados

En la siguiente figura se muestra las respuestas voltamperométricas de onda cuadrada con arsénico a una concentración de 10 μg L^{-1} sobre un electrodo de oro y se compara con las respuestas del electrodo modificado con NPsCu y con NPsAg.

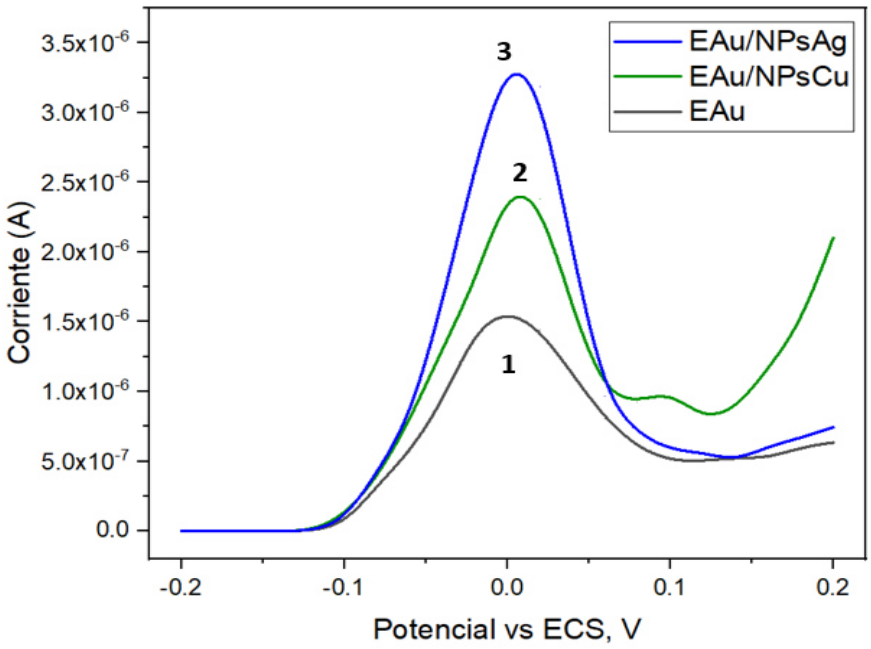


Figura 4.22: Respuesta voltamperométrica de una solución de As(III) 10 μgL^{-1} en 0,1 HNO_3 molL^{-1} en los EAu, EAu/NPsCu y EAu/NPsAg. Barrido de potencial en dirección anódica: -0,2 a 0,2 V (vs ECS).

El pico 1 de esta gráfica corresponde al electrodo de oro sin ninguna modificación, se observa un pico con poca intensidad es decir presenta una baja señal para este contaminante. Por el contrario, cuando se realizó el mismo experimento con los

electrodos modificados se observa en el pico 2 y 3 que están más definidos en la cuantificación de arsénico, indicando que las nanopartículas metálicas mejoran la detección de este contaminante. Todo este proceso se realizó con la finalidad de establecer la sensibilidad del electrodo que puede ser potencialmente aplicado como un sensor electroquímico en la detección de arsénico en muestras de agua real.

4.7. Curvas de calibración y límite de detección

Conforme con los resultados obtenidos y los parámetros establecidos, se elaboró las curvas de calibración en ausencia y presencia de las nanopartículas metálicas. Con la finalidad de determinar la sensibilidad del electrodo, para ello se elaboraron curvas de calibración, variando la concentración del arsénico usando los parámetros anteriormente seleccionados.

4.7.1. Electrodo de oro sin dopar

En la figura 4.23, se presentan las respuestas de voltamperometría de onda cuadrada del arsénico a concentraciones desde los 2 μgL^{-1} hasta los 100 μgL^{-1} sobre un electrodo de oro sin modificar, el cual va ser comparado más adelante con el mismo electrodo, pero ahora modificado con NPsAg y con NPsCu.

La cuantificación de arsénico se da inicio con un pre tratamiento con la intención de eliminar los residuos que se encuentren en la superficie del electrodo y que pueda interferir (explicado en el apartado 3.1.2). Seguidamente se impone un potencial de inicio en -0,2 V y un potencial final de 0,2 V; por un tiempo de deposición de 120s, se llevó a acabo a una frecuencia de 0,5 Hz, amplitud (A) de 0,04 y a un paso de potencial (step) de 50 mV. Por último, se hace el barrido voltamperométrico en dirección anódica dando lugar a la señal analítica.

De la figura 4.23(a) se puede deducir que al inicio el blanco (línea negra) que se toma en este procedimiento tiene un comportamiento adecuado, así mismo, se puede observar que las 5 primeras señales de concentraciones distintas generan picos pocos perceptibles, es decir, una intensidad de pico baja, en cambio, desde la sexta muestra se nota una señal más intensa. Sin embargo, se puede destacar que se logró detectar arsénico a bajas concentraciones.

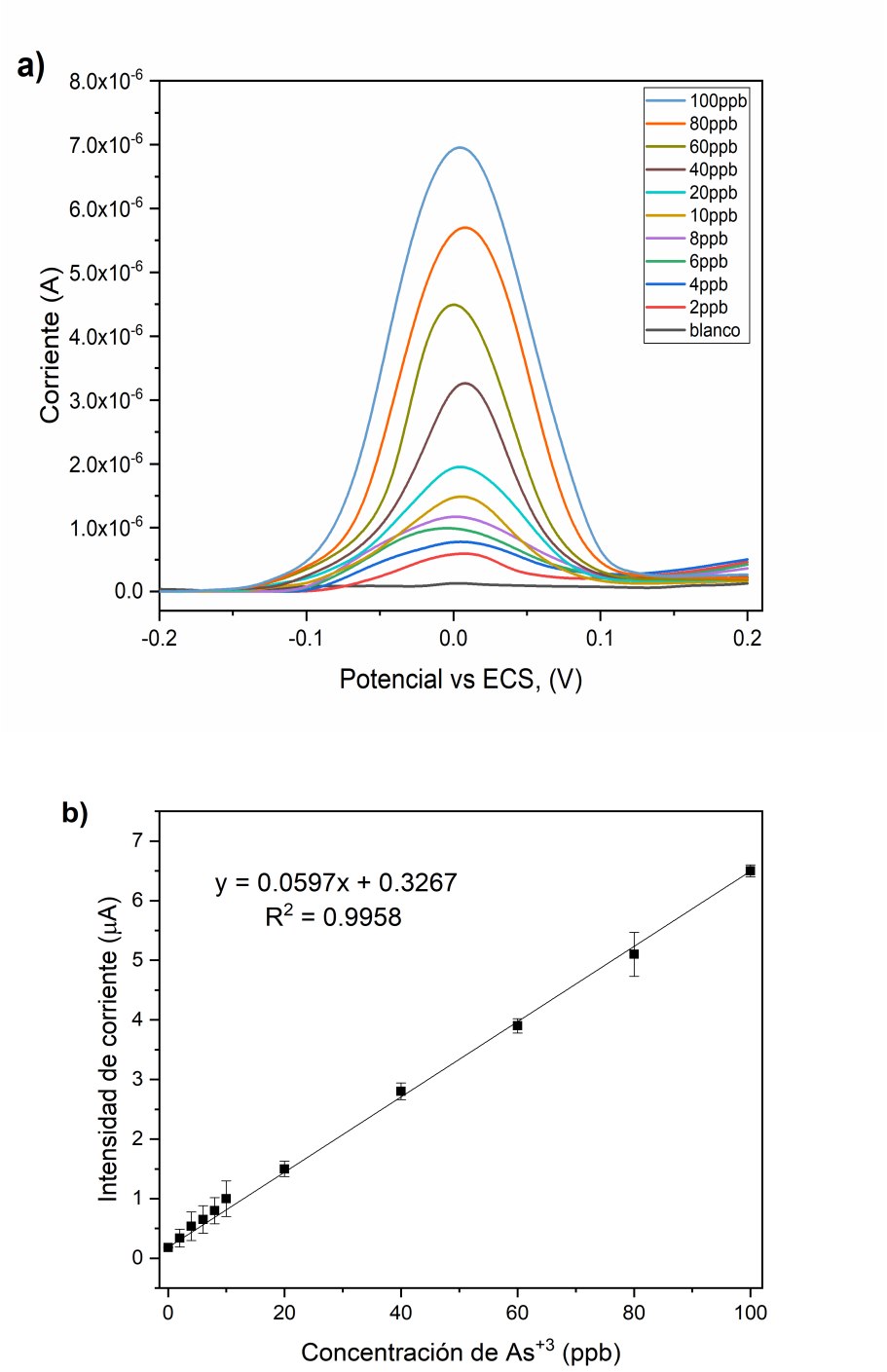


Figura 4.23: a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro sin modificar, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μg L^{-1}).

Por tanto, se logra obtener una recta de calibración graficando la intensidad de corriente pico (Ip) entre la concentración de As(III), y esta se ve representada en la figura 4.23(b), obteniendose un coeficiente de correlación de $R^2 = 0{,}9958$. Así mismo, se realizó calculos adiciones (presentados en el apéndice de la presente tesis) para obtener, el límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), linealidad. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

Parámetro analítico	**Valor**
Potencial de oxidación (V)	0.03
Coeficiente de correlación (r^2)	0.995
Límite de Detección (μgL^{-1})	0.32
Límite de Cuantificación (μgL^{-1})	1.07
Sensibilidad de calibración (μA L μgL^{-1})	0.059 ± 0.001
Intervalo lineal (μgL^{-1})	8 - 60

Cuadro 4.3: Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro sin modificar. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}).

4.7.2. Electrodo modificado con nanopartículas de cobre

En este caso el electrodo de oro es modificado a base de nanopartículas de cobre a través de la técnica de dip coating, con la finalidad de incrementar la respuesta electroquímica en la determinación de arsénico, utilizando los mismos parámetros y utilizando el mismo rango de alícuotas de 2 a 100 μgL^{-1}.

Se ha observado una mejora en la sensibilidad para la detección del As^{+3} con respecto al electrodo oro modificado con NPsCu. Por lo tanto, los siguientes resultados son proporcionados por la modificación que otorga dicho metal en la superficie del electrodo. En la figura 4.24, muestra la curva de calibración, donde se puede apreciar el incremento de la intensidad de corriente, siendo este cuatro veces mayor en comparación con el electrodo de oro sin modificar. Jaya et al., 1987; describe la influencia del cobre como depósito sobre la superficie de un electrodo de carbón vítreo para la determinación de arsénico y su posible aplicación en aguas naturales, contaminadas e incluso en aguas de mar [**79**].

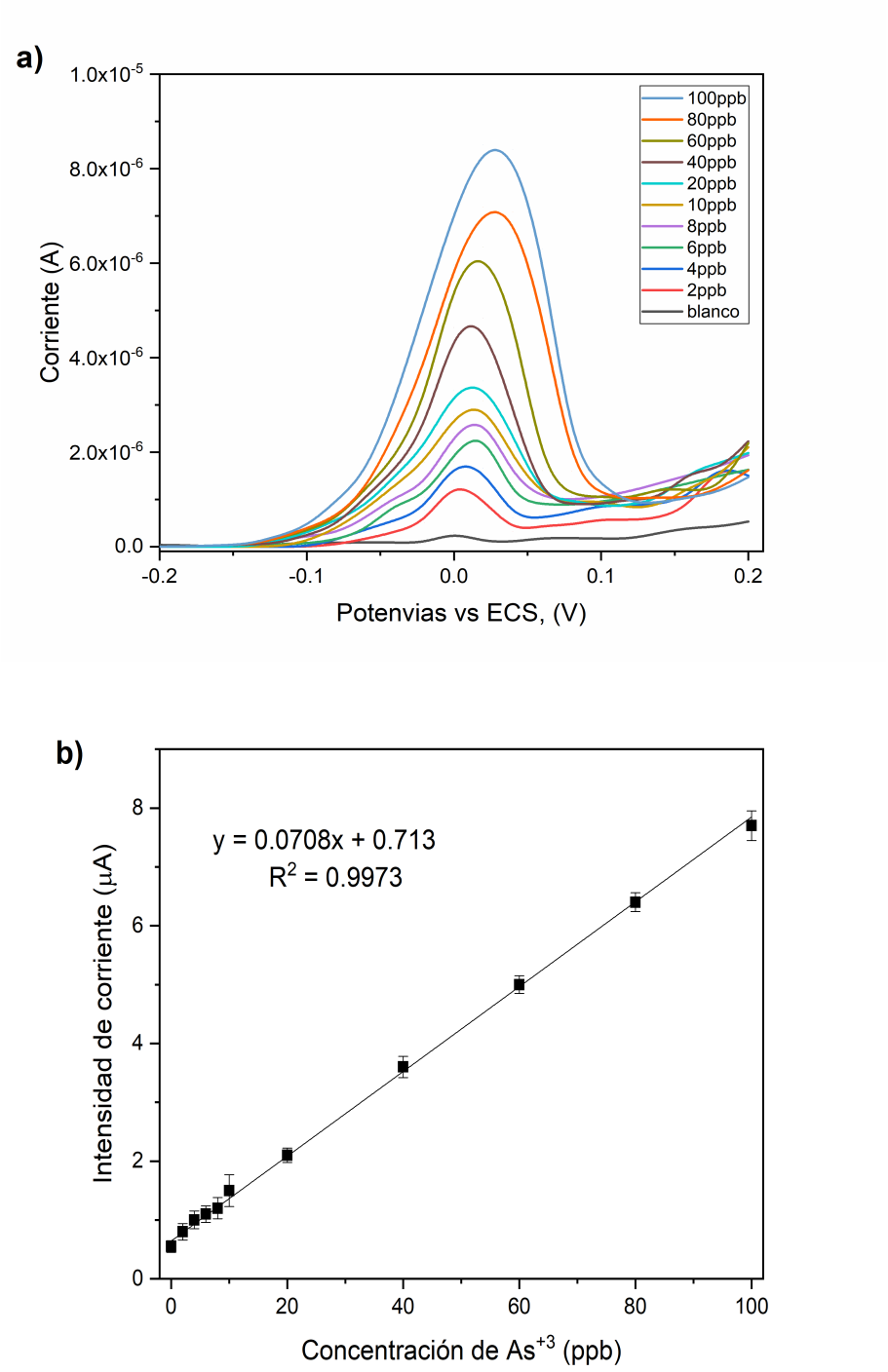


Figura 4.24: a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro modificado con NPsCu, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μg L^{-1}).

De la figura anterior 4.24(b), se visualiza la calibración del arsénico, con el fin de determinar la sensibilidad del electrodo de Au/NPsCu, y la pendiente de la recta ya que, de esta va a depender los demás resultados como se muestra en el cuadro siguiente.

Parámetro analítico	**Valor**
Potencial de oxidación (V)	0.03
Coeficiente de correlación ($\mathbf{r^2}$)	0.997
Límite de Detección ($\mu\mathbf{gL^{-1}}$)	0.08
Límite de Cuantificación ($\mu\mathbf{gL^{-1}}$)	0.28
Sensibilidad de calibración (μA L $\mu\mathbf{gL^{-1}}$)	0.070 ± 0.001
Intervalo lineal ($\mu\mathbf{gL^{-1}}$)	4 - 100

Cuadro 4.4: Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de cobre. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}).

4.7.3. Electrodo modificado con nanopartículas de plata

Son pocos los autores que han demostrado que las nanopartículas de plata son un buen material para sensores electroquímicos gracias a sus propiedades distintivas lo que hacen que sea ideal para aplicaciones electroanalíticas. Ya que, representan un buen material para la modificación de electrodos electroquímicos para la detección de arsénico.

Entonces, se llevó a cabo la modificación del electrodo oro por la técnica de dip coating, pero ahora a base de nanopartículas de plata, como se mencionó anteriormente es una excelente propuesta para la cuantificación de arsénico; además de demostrar un límite de detección superior comparado con los electrodos anteriormente mencionados, indicando que es posible dar seguimiento a las normas oficiales según la OMS y monitorizar la cantidad de arsénico que se encuentra en el agua.

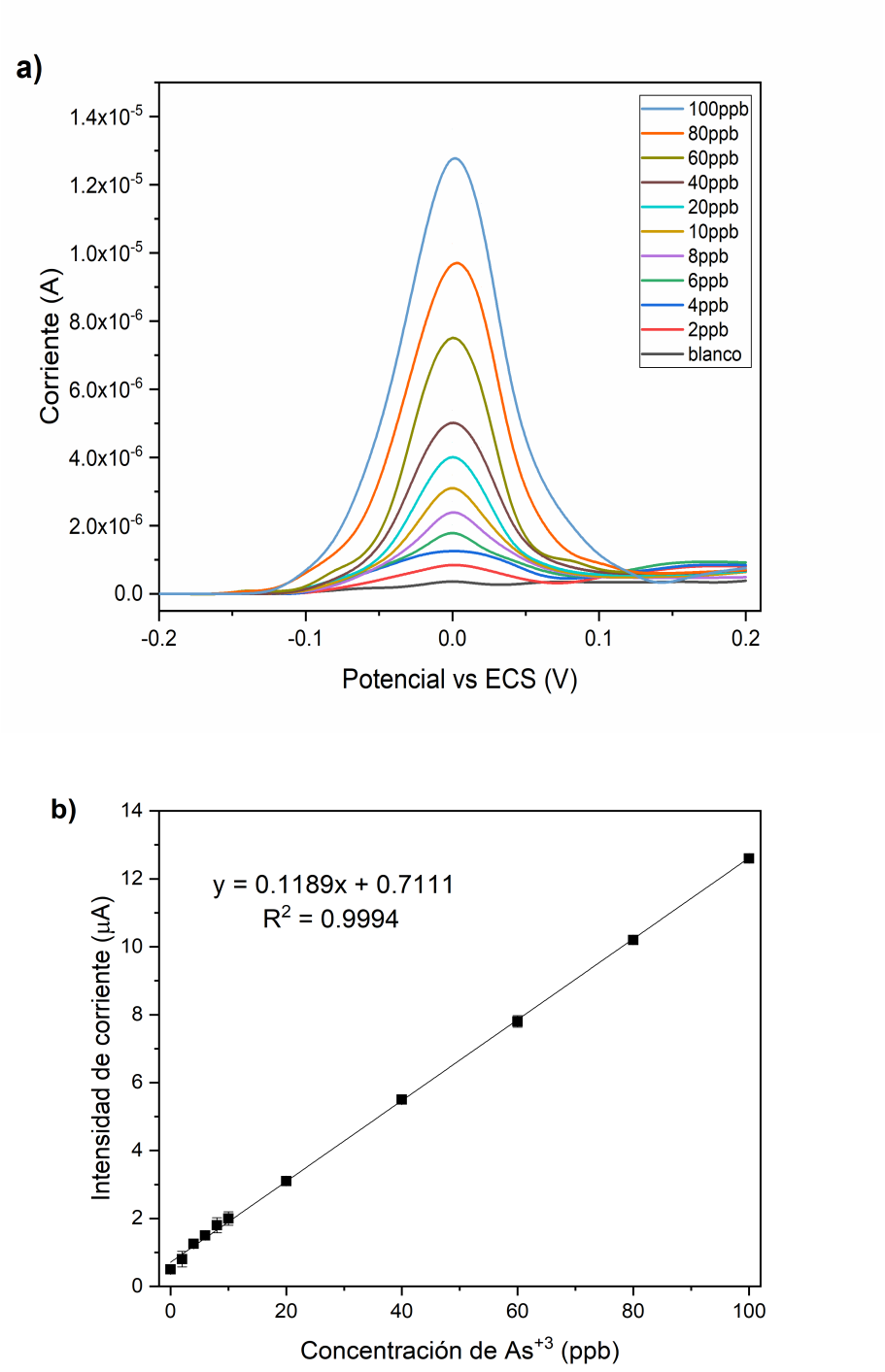


Figura 4.25: a) Voltamperogramas de onda cuadrada, para un electrodo de oro modificado con NPsAg, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μgL^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 $molL^{-1}$). b) Recta de calibración. Intensidad de corriente (μA) vs Concentración de As^{+3} (μgL^{-1}).

Se estudió el comportamiento electroquímico de las NPsAg en un electrodo de oro en 0,1 M de HNO_3, utilizando como técnica electroanalítica la voltamperometría de onda cuadrada. En una ventana electroquímica de -0,2 V a 0,2 V a las siguientes condiciones: td de 120 s, frecuencia de 0,5 Hz, paso de potencial (step) de 40 mV y amplitud de 50 mV sin agitación y sin desoxigenación del sistema. En la figura 4.25(a), se muestra el voltamograma donde se puede observar que para cada adición de As(III) se produce un incremento de intensidad de corriente y en la figura 4.25(b), muestra la curva de calibración donde se indica la correlación lineal entre la intensidad de corriente y la concentración de As(III).

Parámetro analítico	**Valor**
Potencial de oxidación (V)	0.01
Coeficiente de correlación (r^2)	0.999
Límite de Detección (μgL^{-1})	0.03
Límite de Cuantificación (μgL^{-1})	0.11
Sensibilidad de calibración (μA L μgL^{-1})	0.118 ± 0.0004
Intervalo lineal (μgL^{-1})	2 - 100

Cuadro 4.5: Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de plata. Intensidad de corriente vs concentración de arsénico (μgL^{-1}).

Capítulo 5

Conclusiones y perspectivas

5.1. Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye lo siguiente:

Evidentemente se presenta una técnica reproducible, de bajo costo y que hasta ahora ha demostrado límites de detección y cuantificación por debajo del límite permisible otorgado por la OMS, hasta el momento estos resultados destaca en comparación con otros trabajos reportados usando electrodo de oro como electrodo de trabajo.

El método propuesto no requiere desoxigenación de las muestras, por lo que significa disminución de tiempo de análisis y la aplicación del método permite monitorizar el contenido de arsénico en agua de manera in situ o en línea.

La incorporación de nanopartículas sobre la superficie del electrodo de oro se llevó a cabo por la metodología de Dip coating, de tal forma que, se atribuye directamente la uniformidad de distribución sobre la superficie, haciendo posible la cuantificación de arsénico a bajas concentraciones, por lo que permitió obtener un LOD menor a 10 μgL^{-1} y poder dar seguimiento a las normas oficiales.

Esta metodología planteada manifestó buenos resultados de manera que se obtuvo un incremento de sensibilidad al modificar el electrodo de oro. La sensibilidasd que se obtuvo con las NPsAg fue de 0,118 (μA L μgL^{-1}) y de las NPsCu fue de 0,070 (μA L μgL^{-1}), siendo más sensibles con respecto al electrodo

de oro sin modificar que fue de 0,059 (μA L μgL^{-1}). Por lo que, que se puede concluir que el electrodo modificado con nanopartículas de plata tiene una mayor eficiencia, por ello puede ser utilizado para la detección de este contaminante en muestras de agua real.

De las curvas de calibración se puede concluir; que la técnica de voltamperometría de onda cuadrada (SWV) fue la mejor opción para cuantificar arsénico y que el mejor límite de detección (LOD) lo obtuvó el electrodo de oro modificado con las NPsAg destacando un valor de 0,03 μg L^{-1}, siendo este diez veces menor con respecto al LOD que se obtuvó con el electrodo de oro (0,3 μg L^{-1}).

5.2. Perspectivas

Durante la realización de este trabajo se pueden destacar algunos puntos de mejora y/o seguimiento en los sistemas utilizados que pueden contribuir a la optimización de los resultados presentados.

En cuanto a la síntesis de NPsCu, podrían realizarse pruebas con NPs de menor tamaño, o incluso con nanopartículas bimetálicas de Ag-Cu para observar si presentan una señal mayor con respecto a las AgNPs, una vez que hayan sido depositadas sobre la superficie del electrodo. Otro factor que debería contribuir a la optimización de la señal del electrodo, es la metodología de deposición; se recomienda analizar el comportamiento del electrodo al depositar una doble capa de NPs, así como estudiar la optimitzación del proceso de deposición.

Por otra parte; con la intención de conseguir mejores rectas de calibración y por consecuencia menores límites de detección, existe la opción de usar micro-electrodos y electrodos impresos, que permita mejorar los resultados obtenidos.

Se puede destacar la aplicación de este trabajo, ya que con límites de detección tan bajos como los que se han expuesto en los resultados del proyecto valdría la pena corroborarlos en muestras reales y conocer el rango de concentraciones en los que el método presenta aplicabilidad, así como, conocer cómo se afecta la matriz de la muestra en la determinación de los analitos.

Apéndice A

Parámetros de calidad

A continuación se mostrará un ejemplo de cálculo, en este caso será del electrodo de oro sin modificar, para ello se tendrá en cuenta la Figura 4.20 de los resultados.

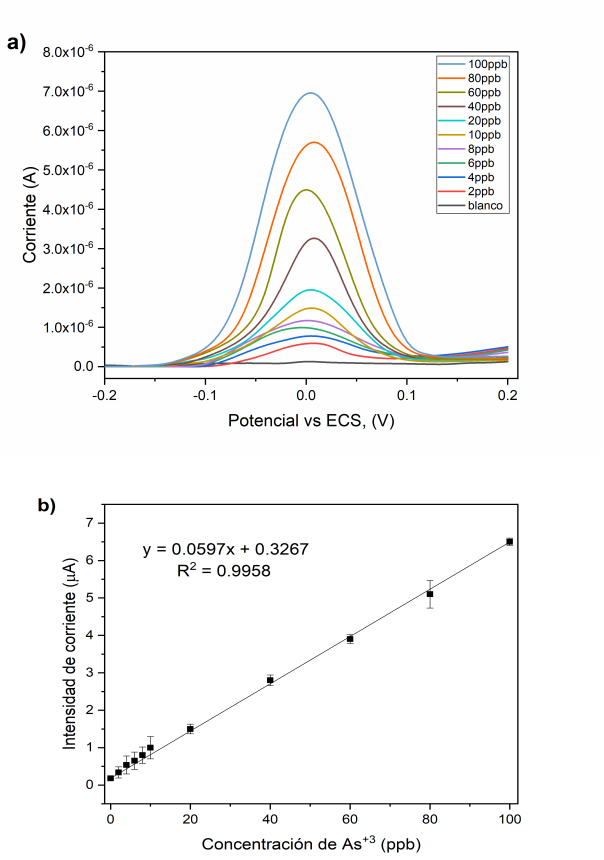


Figura A.1: a) SWV, para un electrodo de oro sin modificar, utilizando disoluciones estándar de 2 a 100 μg L^{-1} de As^{+3} en HNO_3 (0,1 mol L^{-1}). b) Recta de calibración.

Concentración de As (ppb)	Número de repeticiones	Valor medio de I (μA)	S (desv. estándar)
Blanco		0.1884	0.00642
2		0.3886	0.00027
4		0.6439	0.00051
6		0.7461	0.00039
8		0.9199	0.00022
10	4	1.0270	0.00475
20		1.5093	0.00024
40		2.8280	0.00022
60		3.9821	0.00031
80		4.8334	0.00027
100		6.5345	0.00037

Cuadro A.1: Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III)

Ejemplo de cálculo

*** Sensibilidad**

Por definición, la sensibilidad de calibración es la pendiente de la curva de calibración:

$$I = 0{,}0597 C_{As} + 0{,}3267 \tag{A.1}$$

Entonces la sensibilidad de calibración será:

$$\mathbf{m = 0.0597}$$

*** Límite de Detección (LOD)**

Con los datos de la tabla A.1, podemos hallar el límite de detección para ello primero calculamos la mínima señal analítica (S_a).

$$S_m = I_{bl} + kS_{bl} \tag{A.2}$$

En donde I_{bl} valor medio de la intensidad del blanco más un múltiplo k de la desviación estándar S_{bl} del mismo. Por acuerdo k=3 para tener un nivel de confianza de detección de 95 %. Por lo tanto:

$$S_m = 0.1884 + 3 \text{ x } 0.00642$$

$$S_m = 0.2076$$

Luego para calcular el límite de detección, utilizamos la pendiente de la curva de calibración (m) y la mínima señal analítica (S_m).

$$\mathbf{LOD} = \frac{\mathbf{S_m - S_{bl}}}{\mathbf{m}} \tag{A.3}$$

$$LOD = \frac{0{,}2076 - 0{,}1884}{0{,}0597} \tag{A.4}$$

$$\mathbf{LOD = 0.32 \text{ ppb}}$$

*** Límite de Cuantificación (LOQ)**

Así mismo, la mínima señal cuantitativa(S_q) se define como:

$$S_q = I_{bl} + 10S_{bl} \tag{A.5}$$

El valor medio de la intensidad del blanco más diez veces la desviación estándar del mismo.

$$S_q = 0.1884 + 10 \text{ x } 0.00642$$

$$S_q = 0.2526$$

La concentración que corresponde al límite de cuantificación (LOQ) se da mediante la eciación:

$$\mathbf{LOQ} = \frac{\mathbf{S_q} - \mathbf{S_{bl}}}{\mathbf{m}} \tag{A.6}$$

$$LOQ = \frac{0{,}2526 - 0{,}1884}{0{,}0597} \tag{A.7}$$

$$\mathbf{LOQ = 1.07 \text{ ppb}}$$

- Estos mismos resultados son los que se muestra en el cuadro 4.3 de los resultados.

Lo que se presenta a continuación son las tablas con los datos obtenidos de la curva de calibración (Figura 4.21 y Figura 4.22), que se realizó para los electrodos modificados.

Se realizaron los mismos procedimientos ya explicados anteriormente para hallar la sensibilidad, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).

*** Con las nanopartículas de cobre (NPsCu)**

Concentración de As (ppb)	**Número de repeticiones**	**Valor medio de I (μA)**	**S (desv. estándar)**
Blanco		0.4086	0.00220
2		0.8439	0.00051
4		0.7461	0.00039
6		0.1099	0.00560
8		1.2270	0.00481
10	4	1.4093	0.00020
20		1.6728	0.00519
40		2.1334	0.00029
60		3.6345	0.00037
80		5.0345	0.00037
100		7.7234	0.00658

Cuadro A.2: Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III)

Los resultados se resume en la siguiente tabla:

Parámetro analítico	**Valor**
Límite de Detección (μgL^{-1})	0.08
Límite de Cuantificación (μgL^{-1})	0.28
Sensibilidad de calibración (μA L μgL^{-1})	0.070 $\pm$ 0.001

Cuadro A.3: Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de cobre.

***Con las nanopartículas de plata (NPsAg)**

Concentración de As (ppb)	**Número de repeticiones**	**Valor medio de I (μA)**	**S (desv. estándar)**
Blanco		0.5095	0.00014
2		0.8280	0.00026
4		1.2545	0.00048
6		0.1553	0.00041
8		1.8890	0.00050
10	4	2.0611	0.00031
20		3.1268	0.00024
40		5.5268	0.00038
60		7.8268	0.00029
80		10.2094	0.00043
100		12.5158	0.00049

Cuadro A.4: Resultados del análisis estadístico para mediciones del As(III)

Los resultados se resume en la siguiente tabla:

Parámetro analítico	**Valor**
Límite de Detección (μgL^{-1})	0.03
Límite de Cuantificación (μgL^{-1})	0.11
Sensibilidad de calibración (μA L μgL^{-1})	0.118 ± 0.0004

Cuadro A.5: Parámetros analíticos de la curva de calibración del electrodo de oro modificado con nanopartículas de plata.

Bibliografía

[**1**] Mohan, D and Pittman, C. (2007). *Arsenic removal from water-wastewater using absorbents*. A critical review. Journal of Hazardous Materials 142, 1-53.

[**2**] Huang, J. F and Chen, H.-H. (2013). *Gold-nanoparticle-embedded nafion composite modified on glassy carbon electrode for highly selective detection of arsenic (III)*. Talanta 116, 852–859.

[**3**] Ballantyne B; Marrs T; Syversen, T. (2000). *General and applied toxicology* 20,245.

[**4**] Hung D, Q; Nekrassova, O and Compton, R, G. (2004). *Analitycal methods for inorganic arsenic in water*. Talanta 64, 269-277.

[**5**] Sounderajan S; Udas, A.C. y Venkataramani, B. (2007). *Characterization of arsenic (V) and arsenic (III) in water samples using ammonium molybdate and estimation by graphite furnace atomic absorption spectroscopy*. Journal of Hazardous Materials 149, 238- 242.

[**6**] IARC, I. A. (2009). *Arsenic and arsenic compounds. A revies of Human Carcinogens. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. 100, 41-85.

[**7**] Mandal B. K; Suzuki K. (2002). *Arsenic round the world*. A review, Talanta 58, 201-235.

[**8**] WHO, W. H. (2008). *Guidelines for Drinking Water Quality.*

[**9**] USEPA (2012). *Arsenic in drinking water.* http://water.epa.gov/lawsregs/rulesregs/sdwa/arsenic/index.cfm

[**10**] Martinez L. D; Gasquez J. A. (2005). *Determinación de arsénico en aguas: Diferentes técnicas y metodologías*. 1-6.

[**11**] Yamada, D; Ivandini, T; komatsu, M. and Fujishima, A. (2008). *Anodic stripping voltammetry of inorganic species of As^{+3} and As^{+5} at gold-modified boron doped diamond electrodes.* Journal of Electroanalytical Chemistry 615, 145 -153.

[**12**] Mays D; Hussam A. (2009). *Voltammetric methods for determination and speciation o inorganic arsenic in the environment.* A review. Analytica Chimica Acta 646, 6 -16.

[**13**] Dai. X, Nekrassova. O, Hyde. M. E, Compton. R. G. (2004). *Anodic Stripping Voltammetry of Arsenic(III) Using Gold Nanoparticle-Modified Electrodes.* Anal. Chem 76 5924–5929.

[**14**] Sadana R. S. (1983). *Determination of arsenic in the presence of copper by differential pulse cathodic stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode.* Anal. Chem 55, 304-307.

[**15**] Holak W. (1980). *Determination of arsenic by cathodic stripping voltammetry with a hanging mercury drop electrode.* Analytical chemistry 52(13), 2189-2192.

[**16**] Williams D. G, Johnson D. C. (1992). *Pulsed voltammetric detection of arsenic (III) at platinum electrodes in acidic media.* Anal Chem 64, 1785-1789.

[**17**] Nurulhaidah D; Kamaruddin N. K; Sulaiman; Syono M. I. (2016). *Electrochemical detection of arsenic using modified platinum-cobalt electrode.* International Journal of Chemical Engineering and Applications 7(4), 264-268.

[**18**] Simm, A. O; Banks, C. E and Compton, R. G. (2005). *The electrochemical detection of arsenic (III) at a silver electrode.* Electroanalysis, 17(19), 1727–1733.

[**19**] Kim J, Han Y and Younghun K. (2017). *Electrochemical detection of arsenic (III) using porous gold via square wave voltammetry.* Korean Journal of Chemical Engineering 34 (7), 1-3.

[**20**] Aragay. G, Pons. J, Merkoci A. (2011). *Recent trends in macro-micro and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection.* Chem. Rev 111, 3433–3458.

[**21**] Suherman, A. L; Ngamchuea, K; Tanner, E. E. L; Sokolov, S. V; Holter, J; Young, N. P; and Compton, R. G. (2017). *Electrochemical Detection of Ultratrace*

(Picomolar) Levels of Hg^{+2} Using a Silver Nanoparticle-Modified Glassy Carbon Electrode. Analytical Chemistry 89(13), 7166–7173.

[**22**] Li. D; L, J; Jia. X; Han. Y; and Wang. E. (2012). *Electrochemical determination of arsenic (III) on mercaptoethylamine modified Au electrode in neutral media.* Anal. Chim. Acta 733, 23–27.

[**23**] Lin, X; Ni, Y; and Kokot, S. (2014). *Electrochemical mechanism of eugenol at a Cu doped gold nanoparticles modified glassy carbon electrode and its analytical application in food samples.* Electrochim. Acta, 133, 484–491.

[**24**] Jones, F.T. (2007). *A broad view of arsenic.* Poultry Science 86, 2-14.

[**25**] Baron R, Sljukic, C. Crossley, A. and Compton R. G. (2007). *Electrochemical detection of arsenic on a gold nanoparticle array.* . Russia Journal of Physical Chemistry 81(9), 1443-1447.

[**26**] Cullen W. R. and Reimer K. J. (1989). *Arsenic speciation in the environment.* Chemical Reviews 89(4), 713-764.

[**27**] O'Day, P. (2006). *Chemistry and mineralogy of arsenic. In: Elements.* Chemical Reviews 89(4), 713-764.

[**28**] Litter, M; Armienta, A; Farías, S. (2009) . *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos.* IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires.

[**29**] Pradosh, R y Anupama S. (2002). *Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen.* Current science 82(1), 38-41.

[**30**] Wang, S. and Mulligan, C. N. (2006). *Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution.* Science of the Total Environment 366, 701-72.

[**31**] Luo, X., Wang, C., Luo, S., and et, al. (2012). *Adsorption of As (III) and As (V) from water using magnetite Fe_3O_4 reduced graphite oxide MnO_2 nanocomposites.* Science of the Total Environment 366, 701-72.

[**32**] Shin, S., and Hong, H. (2010). *Anodic stripping voltammetric detection of arsenic (III) at platinum-iron(III) nanoparticles modified carbon nanotubes on glassy carbon electrode.* Bull. Korean Chem. Soc. 31(11), 3077-3083.

[**33**] Francesconi K. and Kuehnelt D. (2004). *Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications.* Analyst 129, 373-395.

[**34**] Lillo, J. *Peligros Geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas.* Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Geológicas, Grupo de Estudios de Minería y Medioambiente. Madrid, 2003.

[**35**] Smedley, P; and Kinniburgh, D. (2002). *A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters.* Applied Geochemistry, 17(5), 517–568.

[**36**] Rakhunde, R; Jasudkar, D; Deshpande, L; Juneja, H y Labhasetwar, P. (2012). *International Journal of Environmental Sciences and Research* 1(4), 92-96.

[**37**] Höll, W. y Litter, M. *Ocurrencia y química del arsénico en aguas. Sumario de tecnologías de remoción de arsénico de aguas.* (2010) 17-32.

[**38**] Vega, L; Styblo, M; Patterson, R; Cullen, W; Wang, C; and Germolec, D. (2001). *Differential effects of trivalent and pentavalent arsenicals on cell proliferation and cytokine secretion in normal human epidermal keratinocytes.* Toxicology and Applied Pharmacology. 172(3), 225–232.

[**39**] Thirunavukkarasu, O; viraraghavan, and Subramanian K, S. (2002). *Arsenic removal from drinking water using iron oxide-coated sand.* Environmental Systems Engineering. 1-17.

[**40**] Katsoyiannis, I. A., and Zouboulis, A. I. (2004). *Application of biological processes for the removal of arsenic from groundwaters.* Water Research, 38(1), 17–26.

[**41**] Katsoyiannis, I. A., and Zouboulis, A. I. (2004). *Biological treatment of Mn(II) and Fe(II) containing groundwater: kinetic considerations and product characterization.* Water Research, 38(7), 1922–1932.

[**42**] Dinesh Mohan, Charles U. and Pittman Jr. (2007). *Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents.* Journal of Hazardous Materials 142, 1–53.

[**43**] Lenoble, V., Laclautre, C., Serpaud, B., Deluchat, V.,and Bollinger, J. C. (2004). *As(V) retention and As(III) simultaneous oxidation and removal on a MnO_2 loaded polystyrene resin.* Journal of Hazardous Materials 142, 1–53.

[**44**] IARC. (2006). *Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.* htpp://monographs .iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf.

[**45**] IARC. (2006). *Agents Classified by the IARC Monographs.* htpp://monographs .iarc.fr/ENG/Clasification/ClasificationAlphaOrder.pdf.

[**46**] Vaclavikoca, M., Gallios, G. H., and Jakabsky, S. (2008). *Removal of arsenic from water stream: an overview of available techniques.* Clean Techn Environ Policy 10, 89-95.

[**47**] Mays, D and Hussam, A. (2009). *Voltammetric methods for determination and speciation of inorganic arsenic in the environment.* Analytica Chimica Acta 646, 6–16.

[**48**] Gomez, S y Soria, E. (2002). *Análisis electroquímico* Rev Diagn Biol. 51(1), 6–16.

[**49**] Mardegan, A., Scopece, P., Lamberti, F., Meneghetti, M., Moretto, L, M., Ugo, P. (2012). *Electroanalysis of trace inorganic arsenic with gold nanoelectrode ensembles.* Electroanalysis 24(4), 798-806.

[**50**] Du Ying., Zhao, W., Xu, J. J., Chen, Hong-Yuan. (2009). *Electrochemical determination of arsenite in neutral media on reusable gold nanostructured films.* Talanta 79, 243-248.

[**51**] Rahman M. R., Okajima, T and Ohsaka, Takeo (2010). *Selective detection of As(III) at the Au(111)- like polycrystalline gold electrode.* Anal. Chem 82, 9169-9176.

[**52**] Thompson M., Ellison L.R., Wood R. (2002). *Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical report), Pure Appl.* Chem. 74, 835-855.

[**53**] Baeza, A., and García, A. (2011). *Principios de electroquímica Documentos de apoyo.* UNAM. 34-72.

[**54**] PINGARRON C. *Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones.* España: Síntesis, 2003.

[**55**] Espinoza. E and Alvarado A. (2012). *Desarrollo y validación de un método voltamperométrico para determinar estaño total en agua.* Rev. Int. Contam. Ambie. 28 (1) 61-72.

[**56**] Alves Ferreira, M. (2012). *Técnicas electroquímicas para la determinación y especiación de arsénico en aguas.* Capítulo 10.

[**57**] Ríos, G., Giannini, C., Siliqi, D., Altamura, D., Sibillano, T., Solís, J y Gómez, M. (2015). *Estudio morfológico y estructural de nanopartículas de CuO empleando técnicas de dispersión de luz y rayos X.* Revista de la Sociedad Química del Perú.81(3), 254-262.

[**58**] Torralba Cadena, Lourdes de Jesús. (2017). *Estudio de la modificación de electrodos comerciales serigrafiados de nanofibras de carbono, con nanopartículas de plata para la detección de Pb^{+2} y Cd^{+2} en disoluciones acuosas.* Barcelona.

[**59**] Georgiana. B, Irina. T, and Bonanno. S. *"State of the art for nanoParticles design".* Eur. Pupils Mag. 34(1) 12–16 (2014).

[**60**] López-Mora, Y., Gutiérrez-Arenas, D. A., Cuca-García, J. M. (2018). *Síntesis de nanopartículas y su aplicación en la nutrición animal.* Agroproductividad: 11(6), 85-90.

[**61**] Das, R., Nath, S., Chakdar, D., Gope, G and Bhattacharjee, R. (2009). *Preparation of silver nanoparticles and their characterization.* Journal of Nanotechnology. 5, 1-6.

[**62**] Grandez Arias F. (2016). *Síntesis, caracterización estructural y actividad antimicrobial de nanopartículas de cobre recubiertas con plata (Cu@Ag) obtenidas por electroless plating.* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

[**63**] Pecora, R. *Dynamic Light Scattering, Applications of Photon Correlation Spectroscopy.* Plenum Press New York, 1985.

[**64**] Guzmán Carissimi. (2015) *Nanopartículas de plata para su uso como agente antibacteriano" Laboratorio de Biomateriales.* Instituto de Química Biológica Facultad de Ciencias.

[**65**] Brinker, C. J. (2013). *Dip Coating. Chemical solution deposition of functional oxide thin films.* 233–261.

[**66**] Mock, J. J., Smith, D. R. and Schultz, S. (2003). *Local refractive index dependence of plasmon resonance spectra from individual nanoparticles.* Nano Letters 3(4), 485–491.

[**67**] Fischer, A., Show, Y and Swain, G. M. (2004). *Electrochemical Performance of Diamond Thin-Film Electrodes from Different Commercial Sources.* Anal. Chem 76 (9), 2553–2560.

[**68**] Granger, M. C., Witek, M., Xu, J., Wang J., Hupert, M., Hanks, A., Koppang, M. D., Butler, J. E., Lucazeau, G., Mermoux, M., Strojek, J. W y Swain, G. M. (2000). *Standard electrochemical behavior of high quality boron doped polycrystalline Diamond Thim - film electrodes.* Anal. Chem 72 (16), 3793–3804.

[**69**] Lisa D. Spurlock A. J., Praserthdam, A., Lewis, J., y Brajter, A. (1996). *Selectivity and sensitivity of ultrathin purine- template overoxidized polypyrrole film electrodes.* Analytica Chimica Acta 336(1-3), 37-46.

[**70**] Liua, Y., Huanga, Z., Xiea, Q., Suna L, Gua, T., Li, Z., Bua, L., Yaoa, S., Tub, X., Luo X., Luo Sh. (2013). *Electrodeposition of electroreduced graphene oxide-Au nanoparticles composite film at glassy carbon electrode for anodic stripping voltammetric analysis of trace arsenic (III).* Chemical Sensors and Actuators B: 188, 894–901.

[**71**] Duong, Q., Le, N., Le, T., Nguyen, H., Tong, H y Nguyen, T. (2015). *Determination of inorganic arsenic As(III) in water by linear sweep anodic stripping voltammetry using gold ultra-microelectrode array.* The Electrochemical Society 66 (27), 25-32.

[**72**] Gao. C and Huang. X. J. (2013). *Voltammetric determination of mercury (II)* Anal. Chem., vol. 51, 1–12.

[**73**] Blanco, L. M. C., Castañón, M. J., Miranda-Ordieres, A. J., and Tuñón-Blanco, P. (2004). *Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers.* TrAC Trends in Analytical Chemistry 23(1), 36–48.

[**74**] Ascencio F, Rius JL, Zorrilla C, Herrera R. *Síntesis y estabilización de nanopartículas de plata y óxidos de plata reducidas con ácido tánico.* Acta Microscopica. 2011.

[**75**] Solomon, S., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A., Rutkowsky, S., Bortiz, C. (2007). *Synthesis and study of silver nanoparticles.* Journal of Chemical Education, 84(2), 322-325.

[**76**] Pal, S., Tak, Y., Song, J. (2007). *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli.* Applied and environmental microbiology, 73(6), 1712-1720.

[**77**] Su, C. and Puls, R. (2001). *Arsenate and arsenite removal by zerovalente iron: effects of phosphates, silicate, carbonate, borate, sulfate, chromate, molybdate, and nitrate, relative to chloride.* Environmental Sciences and Technology 35, 4562-4568.

[**78**] Prakash, S., Chakrabarty T., Singh, A.K. and Shahi, V. K. (2012). *Silver nanoparticles built-in chitosan modified glassy carbon electrode for anodic stripping analysis of As(III) and its removal from water.* Electrochemica Acta, 72, 157-164.

[**79**] Jaya, S., Rao, T. P., and Rao, G. P. (1987). *Anodic-stripping voltammetric determination of arsenic at a copper-coated glassy-carbon electrode.* Talanta, 34(6), 574-576.

[**80**] Mc Clintock T. R, Chen Y, Bundschuh J, Oliver J. T, Navoni J, Olmos V, et al. (2012). *Arsenic exposure in Latin America: biomarkers, risk assessments and related health effects.* Sci Total Environ 429, 76–91.

[**81**] Alves Ferreira. (2012). *Técnicas electroquímicas para la determinación y especiación de arsénico en aguas.* 10, 185-210.

[**82**] Sonkue, B., Tchekwagep, P. M., Nanseu-Njiki, Ch. P and Ngameni, E. (2018). *Electrochemical determinantion of arsenic using nanoparticle.* Electroanalysis, 30, 1-7.

[**83**] Mohammad Shahjahan, Md Hasibur Rahman, Mohammad Sajjad Hossain, Most Afroza Khatun, Aminul Islam, Most Hosney Ara Begum. (2017). *Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles by Sol-Gel Technique.* Nanoscience and Nanometrology. 3(1), 34-39.

[**84**] Muhammad S. U., Ibrahim N. A., Shameli K., Zainuddin N ., and Yunus W. (2012). *Copper Nanoparticles Mediated by Chitosan: Synthesis and Characterization via Chemical Methods.* Molecules, 17, 14928-14936.

[**85**] Akshma Koul (2020) *"Copper-Chitosan Fused Nanoparticles as A Best Possible Remedy Against Fungal Phyto-Pathogens".* Acta Scientific Agriculture, 69-72.

[**86**] Tokarek K., Hueso J. L., Kuśtrowski P., Stochel G., Kyzioł A. (2013). *Green Synthesis of Chitosan - Stabilized Copper Nanoparticles.* European Journal of Inorganic Chemistry, 0000, 0–0.

[**87**] Lung-Shuo W., Chih-Yu W., Chih-Hui Y., Chen-Ling H., Szu-Yu C., Chi-Yen S., Jia-Jung W., Keng-Shiang H. (2015). *Synthesis and anti-fungal effect of silver nanoparticles–chitosan composite particles.* International Journal of Nanomedicine, 10, 2685–2696.

[**88**] Ahmad B.M., Lim J., Shameli K., Ibrahim N and Tay Y. M. (2011). *Synthesis of Silver Nanoparticles in Chitosan, Gelatin and Chitosan/Gelatin Bionanocomposites by a Chemical Reducing Agent and Their Characterization* Molecules, 16, 7237-7248.

[**89**] Fattah W., Sallam A., Attawa N., Salama E., Maghraby A and Ali G. (2014). *Functionality, antibacterial efficiency and biocompatibility of nanosilver/chitosan/silk/ phosphate scaffolds 1. Synthesis and optimization of nanosilver/chitosan matrices through gamma rays irradiation and their antibacterial activity.* Materials Research Express 1, 2-15.

[**91**] Xie,Tao; Chao J, and Yi Tao, L. (2013). *Single Plasmonic Nanoparticle as ultrasensitive Sensor.* The Royal Society of Chemestry. 00, 1-3.

[**92**] Costa, J,M. (2013). *La electroquímica: cuando el pasado era presente.* Departamento de Química Física. Facultad de Química. Universidad de Barcelona. Diagonal, 647. 08028.

[**93**] Sarria, V; Rincón, A; Torres, R y Pulgarín, C (2005). *New electrochemical and photochemical systems for water and wastewater treatment.* Revista colombiana de Química, 34, 161-173.

[**94**] Alfaro, M; y Alfaro, I. (2017). *Construcción de un potenciostato de bajo costo para estudios de inhibición de corrosión de acero: determinación del potencial de corrosión y mediciones cronoamperométricas.* Educación Química, 28(4), 269–274.

[**95**] Thevenot, D; y Toth, R; Durst, R and Wilson, G (2001). *Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification," Biosens.* 16(1-2), 121-131.

[**96**] Villarreal, E y Bello, S. (1975). *Electrodos de medida y de referencia.* Electroquímica. 2, 1-20.

[**97**] Cortés, T; Otero, M; Méndez, M, Suarez, M; Díaz, M y Vera, E. (2006). *Desarrollo de sensores electroquímicos.* Revista colombina de física. 38(4), 1355-1358.

[**98**] Nava, J y Gonzalez, J..(2005). *Los electrodos de pasta de carbon en el estudio de minerales metálicos.*Química Nova. 28(5).

[**99**] Boque, Ricard. *El límite de detección de un método analítico.* Grupo de quimiometría y cualimetría. Universitat Rovira i Virgili Tarragona.

[**100**] Quino, I; Ramos, O y Guisbert, E. (2007) *Determinación del límite de detección instrumental (LDI) y límite de cuantificación instrumental (LCI)en elementos de traza de agua subterránea.* Revista boliviana de química. 24(1).

[**101**] Maldonado, K; Barcenas, G; Padilla, F; Hernadez, E y España, B. (2017) *Preparación y Caracterización de nanocompositos Quitosa-Cobre con actividad antibacteriana para aplicaciones en ingeniería de tejidos.* Revista mexicana, Ingeniería Biomédica. 38(1), 303-313.

[**102**] Miller, N, J y Miller, J, C. (2002) *Estadística y quimiometría para química analítica.* Pearson Education. 4(1).