

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



DETERMINACION DE PESTICIDAS EN AGUAS A TRAVES DE ELECTRODOS SERIGRAFIADOS DE ORO MODIFICADOS CON AMINO- β -CICLODEXTRINAS INMOVILIZADAS A PARTIR DE ELECTROGRAFTING DE SALES DE DIAZONIO

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Magíster en Química área de Especialización en Química Analítica por:

MARTÍN IGNACIO PÉREZ PEREIRA

Directora de Tesis: Dra. Claudia Yáñez Soto

Santiago - CHILE

JUNIO 2023

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

MARTÍN IGNACIO PÉREZ PEREIRA

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Química, Área de Especialización: Química Analítica.

Directora de Tesis:

Dra. Claudia Yáñez

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. Edwar Fuentes

Dra. Ximena Briones

Dr. Rodrigo Segura

*“La vida es un parpadeo,
Donde la meta es ser feliz al menos así yo lo veo,
Nos preocupamos por estupideces y olvidamos
Que al morir solo llevamos lo que disfrutamos”*

Y la felicidad qué? – Canserbero

Agradecimientos al proyecto Fondecyt 1200592 por el financiamiento para llevar a cabo esta investigación.

I. AGRADECIMIENTOS

Quiero partir agradeciendo a las personas que me han apoyado y han estado conmigo desde el momento que decidí embarcarme en esta nueva aventura universitaria: mi padre Alejandro, que día a día me escucha, me acompaña y aconseja; a mi madre Karyn, que me apoya a la distancia y siempre pregunta como estoy; a mi hermano Felipe, quien me apoya incondicionalmente; A mi Abril, mi perrita regalona, fiel. Sobre todo, quiero agradecer a mi pareja Camila, mi compañera y pilar que me ha apoyado desde el pregrado y me motiva día a día a ser una mejor persona.

Agradezco a mis amigos que me dio la universidad: Christian, Paula y Beto, siempre es un agrado compartir con ustedes; como también a mis amigos de la selección de balonmano de la facultad.

También destaco a todo el grupo de personas de CIPRex; a Any por ser una guía y modelo para seguir; a Rodrigo y Raúl por sus sabios consejos y su eterna ayuda; a los ElectroWows: Seba Cum, Seba Wow, Tania, Alex, Karen, Xime, Javier y Andrés, ustedes hicieron mi día a día más llevadero y me dieron la motivación suficiente para afrontar y terminar este desafío. También a las otras personas que pertenecen o pertenecieron a CIPRex: Palma, Panchito, Cony, Dani, Caro, Carlos, profe Bollo y profe Squella, por los ratos agradables en los almuerzos, congresos y en el día a día en general.

No puedo dejar de agradecer a quien fue mi tutora a lo largo de todos estos años: la profesora Dra. Claudia Yáñez, por aceptarme y darme la confianza de poder ser parte de su equipo de trabajo, le agradezco por su apoyo, paciencia y confianza al largo de todos los años.

Finalmente agradecer a CIPRex nuevamente, lugar donde desarrollé la gran mayoría de mis experimentos relacionados con la electroquímica. Al la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, donde obtuve los resultados de AFM y SEM. Y al instituto de Física Química Rocasolano (Madrid, España) en conjunto con el Dr. José Marco, muchas gracias por medir y procesar mis muestras con la técnica XPS.

II. RESUMEN

Los electrodos serigrafados (SPE) son atractivos para el monitoreo *in situ* de contaminantes porque son económicos, sensibles, y portátiles. La superficie del electrodo puede ser modificada para dar lugar a plataformas que tienen nuevas y específicas funcionalidades que pueden ser aprovechadas en el área de sensores. Se espera que la inmovilización de un elemento de reconocimiento molecular en la superficie de estos electrodos permita la captura de diversas moléculas principalmente en solución acuosa. Las ciclodextrinas (CDs) son un buen candidato para ser utilizado como elemento de reconocimiento inmovilizado en la superficie. Estas macromoléculas poseen un exterior hidrofílico y una cavidad interna hidrofóbica donde pueden alojar de manera selectiva moléculas orgánicas, formando complejos de inclusión del tipo anfitrión-huésped.

En esta tesis se inmovilizaron derivados de hepta-amina- β -ciclodextrina (amino- β CDs) sobre electrodos de oro (Au) y electrodos serigrafados de oro (SPAu). Esta inmovilización se realizó mediante la formación de una película orgánica a partir de la electroreducción de sales de diazonio (SD) usando ácido *p*-aminobenzoico (*p*-ABA). La construcción supramolecular consistió en 4 etapas: i) deposición de ácido benzoico (AB) por electroreducción de SD, ii) activación con EDC+NHS, (iii) inmovilización de amino- β CDs, y (iv) bloqueo con etanolamina (EtN). La capacidad de inclusión de las amino- β CDs se evaluó frente a 2 analitos de interés ambiental: paraquat (PQ) y propanil (3,4-DPA), los cuales corresponden a herbicidas de uso agrícola cuya comercialización se encuentra actualmente prohibida en nuestro país.

Se evaluó la influencia que este método de inmovilización ejerce sobre la construcción de la arquitectura supramolecular del electrodo y cómo esta construcción afecta la selectividad del huésped. Para este fin, se utilizaron técnicas electroquímicas (voltametría cíclica (VC) y espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)), que permitieron determinar el grado de recubrimiento de la superficie de cada etapa del proceso de modificación. Mediante espectroscopía fotoelectrónica de Rayos-X (XPS) se verificó la inmovilización de amino- β CDs mediante enlaces amida entre los grupos $-\text{NH}_2$ ubicados en el borde estrecho de su estructura y los grupos $-\text{COOH}$ de AB (unidos covalentemente a la superficie de oro). La modificación de la superficie fue evaluada con otras técnicas como Ángulo de Contacto (AC), Microscopía electrónica de barrido (SEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).

Finalmente, se desarrollaron curvas de calibración mediante titulación amperométrica (TA) para los electrodos de Au y titulación amperométrica con análisis de inyección de flujo (FIA-TA) para SPAu, obteniendo un comportamiento lineal en el intervalo de 100 - 1300 μM y 50 - 700 μM para PQ y 3,4-DPA, respectivamente. El límite de detección (LoD) obtenido fue 52 y 3,2 μM para PQ y 3,4-DPA respectivamente, utilizando un electrodo serigrafiado modificado con amino- β CDs.

Se logró detectar ambos analitos utilizando SPAu/amino- β CDs, obteniéndose LoD en el intervalo de los μM al igual que otras plataformas reportadas en literatura. Sin embargo, el electrodo serigrafiado modificado no

mostró mejores resultados frente a paraquat, evidenciando una pobre interacción entre este pesticida y amino- β CD debido probablemente a que este herbicida presenta cargas positivas en su estructura. Caso contrario ocurre con 3,4-DPA, que sí presenta una gran afinidad para formar un complejo de inclusión con las amino- β CDs inmovilizadas en SPAu mostrando un aumento importante de la respuesta electroquímica con estos electrodos modificados.

DETERMINATION OF PESTICIDES IN WATER BY MEANS OF GOLD SERIGRAPHED ELECTRODES MODIFIED WITH AMINO- β -CYCLODEXTRINS IMMOBILIZED FROM ELECTROGRAFTING DIAZONIUM SALTS.

III. SUMMARY

Screen-printed electrodes (SPE) are attractive for *in situ* monitoring of contaminants because they are economical, sensitive, and portable. The electrode surface can be modified to give rise to platforms that have new and specific functionalities that can be exploited in the sensor area. The immobilization of a molecular recognition element on the surface of these electrodes is expected to allow the capture of various molecules mainly in aqueous solution. Cyclodextrins (CDs) are a good candidate for use as an immobilized recognition element on the surface. These macromolecules have a hydrophilic exterior and an internal hydrophobic cavity where they can selectively host organic molecules, forming host-guest inclusion complexes.

In this thesis hepta-amine- β -cyclodextrin derivatives were immobilized (amino- β CDs) on gold electrodes (Au) and screen-printed gold electrodes (SPAuE). This immobilization was performed by forming an organic film from the electroreduction of diazonium salts (SD) using *p*-aminobenzoic acid (*p*-ABA). The supramolecular construction consisted of 4 stages: i) deposition of benzoic acid (AB) by electroreduction of SD, ii) activation with EDC+NHS, (iii) immobilization of amino- β CDs, and (iv) blocking with ethanolamine (EtN). The inclusion capacity of the amino- β CDs was evaluated against 2 analytes of environmental interest: paraquat (PQ) and propanil (3,4-DPA), which correspond to herbicides for agricultural use currently prohibited in our country.

The influence of this immobilization method on the construction of the supramolecular architecture of the electrode and how this construction affects the selectivity of the guest was evaluated. To this end, electrochemical techniques (cyclic voltammetry (VC) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS)) were used to determine the degree of surface coating of each stage of the

modification process. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) verified the immobilization of amino- β CDs by amide bonds between the $-\text{NH}_2$ groups located at the narrow edge of their structure and the $-\text{COOH}$ groups of AB (covalently bound to the gold surface). Surface modification was evaluated with other techniques such as Contact Angle (CA), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM).

Finally, calibration curves were developed by amperometric titration (TA) for Au electrodes and amperometric titration with flow injection analysis (FIA-TA) for SPAu, obtaining a linear behavior in the range of 100 - 1300 μM and 50 - 700 μM for PQ and 3,4-DPA respectively. The detection limit (LoD) obtained was 52 and 3.2 μM for PQ and 3,4-DPA respectively, using a screen-printed electrode modified with amino- β CDs.

Both analytes were detected using SPAu/amino- β CDs, obtaining LoD in the μM range as well as other platforms reported in literature. However, the modified screen electrode did not show better results compared to paraquat, evidencing a poor interaction between this pesticide and amino- β CD probably because this herbicide has positive charges in its structure. Otherwise, it occurs with 3,4-DPA, which does have a high affinity to form an inclusion complex with amino- β CDs immobilized in SPAu showing a significant increase in electrochemical response with these modified electrodes.

IV. INDICE DE CONTENIDOS

I.	AGRADECIMIENTOS	5
II.	RESUMEN	7
III.	SUMMARY	10
IV.	INDICE DE CONTENIDOS.....	12
V.	INDICE DE TABLAS	15
VI.	INDICE DE FIGURAS	17
VII.	ÍNDICE DE ABREVIATURAS	21
1.	INTRODUCCIÓN.....	23
	Elementos de reconocimiento y metodologías de inmovilización.	27
	Determinación y cuantificación de pesticidas a través de sensores electroquímicos.	37
2.	HIPOTESIS	45
3.	OBJETIVOS DE LA MEMORIA.....	45
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	45
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	46
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	47
4.1	MATERIALES, SOLUCIONES Y EQUIPOS	47
4.1.1	Reactivos y Solventes.....	47
4.1.2	Soluciones	48
4.1.3	Equipos.....	48
4.2	Metodología	51
4.2.1	Preparación de Soluciones.....	51
4.2.2	Preparación de los electrodos.....	52
4.2.3	Modificación de electrodos de oro	56
4.3	Caracterización de superficies modificadas	61

4.3.1	Voltametría Cíclica (VC).....	61
4.3.2	Espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIS)	61
4.3.3	Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos-X (XPS).....	62
4.3.4	Angulo de contacto (AC)	63
4.3.5	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	63
4.3.6	Microscopía de fuerza atómica (AFM).....	63
4.4	Evaluación del comportamiento electroquímico de los analitos frente a los electrodos modificados.....	64
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
5.1	Electroreducción de sales de diazonio en superficies de oro.....	68
5.2	Caracterización de las superficies de oro modificadas con amino- β -ciclodextrinas	70
5.2.1	Voltametría cíclica (VC).....	70
5.2.2	Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS)	75
5.2.3	Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)	82
5.2.4	Angulo de Contacto (AC).....	89
5.2.5	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	92
5.2.6	Microscopia de Fuerza Atómica (AFM).....	94
5.3	Evaluación del comportamiento electroquímico de los analitos frente a los electrodos modificados.....	96
5.3.1	Caracterización de propanil (3,4-DPA).....	96
5.3.2	Caracterización de paraquat (PQ).....	100
5.3.3	Estudio de parámetros analíticos en sistema batch	104
	Detección mediante Titulación Amperométrica de 3,4-DPA.....	104

Detección Amperométrica de PQ	109
5.3.4 Estudio de parámetros analíticos en sistema de flujo continuo.....	112
6. CONCLUSIONES	122
7. REFERENCIAS.....	124

V. INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Comparación de métodos para la determinación de propanil y paraquat en muestras de agua.	43
Tabla 2.	Sensores reportados para la para la determinación de plaguicidas en electrodos serigrafados.	43
Tabla 3.	Descripción de los derivados de amino- β -ciclodextrinas utilizados.	48
Tabla 4.	Parámetros para la reducción electroquímica de la SD.	58
Tabla 5.	Intervalos de pH para PQ y 3,4-DPA.	64
Tabla 6.	Parámetros voltamétricos asociados a los procesos redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ y valor de impedimento B(%).	72
Tabla 7.	Valores de R_{ct} y R_s en cada etapa de la modificación utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0. $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$	80
Tabla 8.	Concentraciones atómicas obtenidas de los espectros generales de XPS.	82
Tabla 9.	Concentraciones relativas de las diferentes contribuciones a los espectros C $1s$	86
Tabla 10.	Concentraciones relativas de las diferentes contribuciones a los espectros N $1s$	87
Tabla 11.	Valores de θ medidos al depositar una gota de 2 μL de agua Milli-Q sobre las distintas superficies de oro.	90
Tabla 12.	Valores de los parámetros de rugosidad de las distintas superficies.	96
Tabla 13.	Constantes de asociación (Ka) de los diferentes complejos de inclusión entre PQ y los macrociclos (βCD y CB7).	103
Tabla 14.	Valores de concentración de 3,4-DPA en la celda.	105
Tabla 15.	Parámetros analíticos obtenidos a partir de las TA de 3,4-DPA.	106
Tabla 16.	Sensores electroquímicos reportados para la para la determinación de 3,4-DPA.	108
Tabla 17.	Valores de concentración de PQ en la celda.	109
Tabla 18.	Parámetros analíticos obtenidos a partir de las TA de PQ.	111
Tabla 19.	Sensores electroquímicos reportados para la determinación de PQ.	112

Tabla 20.	Parámetros analíticos obtenidos a partir de FIA-TA de PQ.....	114
Tabla 21.	Parámetros analíticos obtenidos a partir de FIA-TA de 3,4-DPA.....	118

VI. INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema de los principales componentes de un sensor.....	24
Figura 2.	Electrodos serigrafiados	25
Figura 3.	Esquema estructural de las ciclodextrinas donde n es igual a 6, 7 u 8 para α - , β - y γ CD, respectivamente.	29
Figura 4.	Dimensiones geométricas de α CD, β CD y γ CD.	29
Figura 5.	Mecanismo de reacción para el injerto del radical arilo a la superficie del electrodo.	30
Figura 6.	Ilustración esquemática de las diferentes vías de injerto del radical arilo en una superficie de oro.	32
Figura 7.	Esquema de la propuesta de modificación de electrodo serigrafiado de oro (SPAUE) con amino- β CDs inmovilizadas por electroreducción de <i>p</i> -ABA.	34
Figura 8.	Representación de las estructuras de las amino- β CDs.	35
Figura 9.	Estructura del propanil.	38
Figura 10.	Estructura del paraquat.	40
Figura 11.	Voltamogramas cíclicos de Au limpio en H ₂ SO ₄ 0,5 M a 0,1 V·s ⁻¹	53
Figura 12.	Estrategia de inmovilización de las amino- β CDs sobre superficies de oro. Inmovilización de AB a partir de <i>p</i> -ABA sobre oro por electroreducción de SD (1); activación de los -COOH terminales de AB, a través de la reacción EDC + NHS (2); unión covalente de amino- β CDs, a través de la formación de enlaces amida (3); bloqueo con EtN (4).	56
Figura 13.	Mecanismo de reacción para el injerto del AB en las superficies de oro.....	58
Figura 14.	Reacción típica de EDC+NHS al activar los grupos carboxílicos terminales del AB unido al oro en la etapa anterior.....	59
Figura 15.	Válvula de inyección y Celda de acrílico específica para utilizar el sistema FIA-TA.	67
Figura 16.	Electroreducción de SD sobre electrodo de Au (A) y SPAUE (B), donde (—) corresponde al primer barrido aplicado.	69
Figura 17.	Imágenes de SPAUE sin modificar (A) y modificado con AB (B).	69

Figura 18. VC de 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, sobre superficie Au (—), Au/AB (— — —), Au/AB/E+N (—) en ambas figuras. (A): Au/AB/CD7 (—), Au/AB/CD7~EtN (—); (B): Au/AB/CD7Me (—), Au/AB/CD7Me~EtN (—). $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$	71
Figura 19. Equilibrio acido-base de AB inmovilizado en Au.	73
Figura 20. Circuito equivalente de Randles.	76
Figura 21. Diagrama de Bode de los electrodos: Au (■), Au/AB (●), Au/AB/CD7~EtN (▲), Au/AB/CD7Me~EtN (▼). 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$	78
Figura 22. Diagrama de Nyquist de los electrodos: Au (■), Au/AB (●), Au/AB/CD7~EtN (▲), Au/AB/CD7Me~EtN (▼). 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$	79
Figura 23. Desactivación del éster-NHS con EtN.	81
Figura 24. Espectros generales XPS de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.	83
Figura 25. Espectros Au 4f de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.....	84
Figura 26. Espectros C 1s de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.....	85
Figura 27. Espectros N 1s de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.	86
Figura 28. Caracterización de las superficies por ángulo de contacto. Imágenes de 2 μL de agua Milli-Q sobre las superficies: SPAu (A), SPAu/AB (B), SPAu/CD7 (C), SPAu/CD7~EtN (D), SPAu/CD7Me (E), SPAu/CD7Me~EtN (F).....	89
Figura 29. Imágenes SEM de SPAu (A, A'), SPAu/AB (B, B') y SPAuE/AB/CD7 (C, C') con magnificación de 6000 (A, B, C) y 24000 (A', B', C').	93
Figura 30. Imágenes AFM de las superficies SPAu (A, A'), SPAu/AB (B, B') y SPAu/AB/CD7 (C, C'). Imágenes topográficas 3D (A, B, C). Imágenes topográficas 2D (A', B', C').	95
Figura 31. Voltamogramas cíclicos de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y B-BR 0,1 M (B) a pH 5, sobre un electrodo de Au.	97

Figura 32. Voltamogramas cíclicos de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y B-BR 0,1 M (B) a distintos valores de pH, sobre un electrodo de Au.	98
Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y en B-BR 0,1 M (B) a distintos valores de pH, sobre un electrodo de Au (Las líneas segmentadas en VPD corresponden al blanco).	99
Figura 34. Voltamograma cíclico (A) y de pulso diferencial (B) de PQ 0,5 mM en B-BR 0,1 M a pH 6(—), 8(—), 9(—), 10(—) en electrodo de Au. (líneas segmentadas corresponden al blanco a cada pH)	101
Figura 35. Mecanismo redox del PQ.....	101
Figura 36. Equilibrio electroquímico en la formación del complejo de inclusión entre PQ y β CD.....	103
Figura 37. Curva de calibración de 3,4-DPA (25 - 145 μ M), obtenida a partir de los amperogramas (figura superior insertada) realizadas por TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR 0,1 M pH 5,0. Los amperogramas de menor densidad de corriente corresponden a los blancos (solamente B-BR/EtOH 70:30) de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—).....	105
Figura 38. Curva de calibración de PQ (40 - 308 μ M), obtenida a partir de los amperogramas (inserto) realizados por TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR 0,1 M pH 10,0....	110
Figura 39. Curva de calibración de PQ (100 – 1300 μ M), obtenida a partir de los amperogramas (inserto) realizados por FIA-TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR 0,1 M pH 10,0....	113
Figura 40. Amperogramas de 3,4-DPA, realizados por FIA-TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CDs~EtN (blanco) (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—), en solución 90:10 B-BR 0,1 M pH 5,0/acetona. .	116
Figura 41. Relación i vs [3,4-DPA] obtenida a partir de FIA-TA.	117

Figura 42. Curva de calibración de 3,4-DPA (50 – 700 μ M) obtenida a partir de los amperogramas obtenidas por FIA-TA, de las superficies Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en solución 90:10 de B-BR 0,1 M pH 5,0/acetona.118

VII. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Amino-βCDs	Amino β-Ciclodextrinas (CD7 y CD7Me)
p-ABA	Ácido 4-aminobenzoico
AB	Ácido Benzoico
AC	Angulo de Contacto
a_G	área Geométrica
a_R	área Superficial Real
Au	Oro, Superficie de Oro sin modificar
Au/AB	Au modificado con Acido Benzoico
Au/AB/E+N	Superficie Au/AB activada con reacción EDC+NHS
Au/AB/CDs	Superficie Au/AB modificada con amino-βCDs
Au/AB/CDs~EtN	Superficie Au/AB/CDs post bloqueo con EtN
B	Factor de Impedimento
B-BR	Buffer Britton-Robinson
B-F	Buffer Fosfato
CDs	Ciclodextrinas
βCDs	β-Ciclodextrinas
CD7	β-Ciclodextrina Hepta-aminada no-metilada
CD7Me	β-Ciclodextrina Hepta-aminada metilada
CV%	Coefficiente de Variación
EDC	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilencarbodiimida
 E_i 	Potencial de trabajo
EIS	Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (Electrochemical Impedance Spectroscopy)
EtN	Etanolamina
[Fe(CN)₆]³⁻	Ferricianuro de Potasio
FIA	Análisis por Inyección en Flujo (Flow Injection Analysis)
FIA-TA	Titulación amperometría con FIA
K_a	Constante de asociación
LoD	Límite de Detección
LoQ	Límite de Cuantificación
NHS	N-Hidroxisuccinimida
PQ	Paraquat
r	Factor de Rugosidad
R_s	Resistencia a la solución
R_{tc}	Resistencia a la transferencia de carga
S_a	Rugosidad media
S_q	Raíz de la media cuadrática de la rugosidad (RMS roughness)
SD	Sal de Diazonio
SPE	Electrodo Serigrafiado (Screen Printed Electrode)
SPAuE	Electrodo Serigrafiado de Oro
SPAu/AB	SPAuE modificado con Acido Benzoico

SPAu/AB/E+N	Superficie SPAu/AB activada con reacción EDC+NHS
SPAu/AB/CDs	Superficie SPAu/AB modificada con amino-βCDs
SPAu/AB/CDs~EtN	Superficie SPAu/AB/CDs post bloqueo con EtN
SWV	Voltamperometría de Onda Cuadrada
TA	Titulación Amperométrica
VBL	Voltamperometría de Barrido Lineal
VC	Voltametría Cíclica
VPS	Voltametría de Pulso Diferencial
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X (X-Ray Photoelectron Spectroscopy)
3,4-DPA	Propanil
Å	Angstrom (10^{-10} metros)
θ	Angulo de Contacto

1. INTRODUCCIÓN

La química electroanalítica puede desempeñar un papel muy importante en el desarrollo de nuevas tecnologías para la protección del medio ambiente. En particular los sensores y detectores electroquímicos son atractivos para el monitoreo *in situ* de contaminantes, así como para abordar otras necesidades. Son sensibles y selectivos hacia especies electroactivas, rápidos, precisos, compactos, portátiles y económicos¹, en comparación a otras técnicas como por ejemplo la cromatografía gaseosa, ya que si bien permite la identificación específica de diferentes sustancias con una buena selectividad y sensibilidad, el equipamiento resulta ser costoso².

Según la IUPAC, un sensor químico es *“un dispositivo que transforma la información química, que se origina de una reacción química del analito o de una propiedad física del sistema investigado, que va desde a concentración de un componente de muestra específico hasta el análisis del comportamiento total, en una señal analíticamente útil”*³. En general, los sensores químicos contienen dos unidades funcionales básicas conectadas, un sistema de reconocimiento químico o receptor, que transforma la información química en una forma de energía medible, y un transductor fisicoquímico, capaz de transformar la energía que transporta la información sobre la muestra en una señal útil (**Figura 1**).

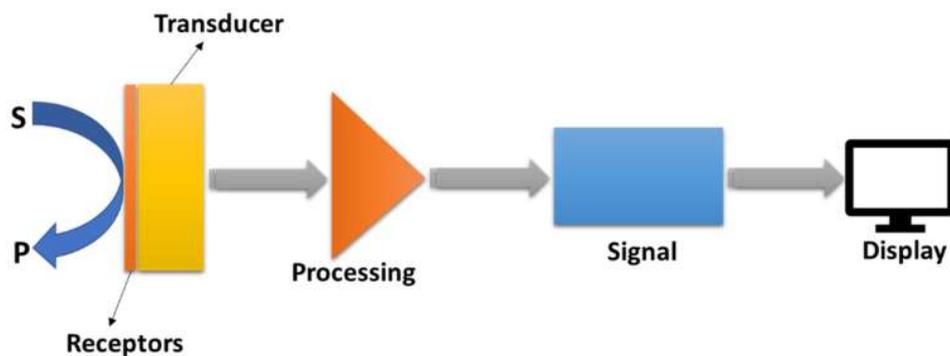


Figura 1. Esquema de los principales componentes de un sensor.

Los sensores electroquímicos son herramientas analíticas totalmente integradas en los principios de la química verde, debido a que la detección en tiempo real, el monitoreo y el manejo *in situ* de las muestras, evitan la formación de sustancias peligrosas debido al análisis directo de muestras sin necesidad de tratamiento previo⁴. Los sensores electroquímicos también poseen una gran compatibilidad con instrumentos analíticos, tales como la detección en análisis por inyección en flujo (**FIA**), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y electroforesis capilar (CE), como también en combinaciones con técnicas ópticas y microscópicas.

Por lo tanto, los sensores electroquímicos son por lejos, el tipo de sensor más utilizado debido a las ventajas mencionadas, teniendo límites de detección tan bajos, rápidos y de bajo costo utilizado para la detección. Además, los sensores electroquímicos en su mayoría son dispositivos miniaturizados y portátiles, por lo tanto, es posible el análisis a través de reacciones redox sin la necesidad de necesitar grandes cantidades de reactivos⁵. La utilidad de un sensor electroquímico es brindar información precisa en tiempo real sobre la

composición química del entorno, idealmente respondiendo de una manera constante y reversible sin interferir con la muestra⁶.

Desde los años 90, la tecnología de serigrafía ha ofrecido una producción de gran volumen de sensores de un solo uso extremadamente económicos, pero altamente reproducibles y confiables, convirtiéndose en una técnica muy prometedora para el monitoreo *in situ*⁷. Los electrodos serigrafados (o por sus siglas en inglés: **SPEs**) (**Figura 2**) son dispositivos portátiles que se producen al imprimir diferentes tintas en varios tipos de sustrato de plástico o cerámica.

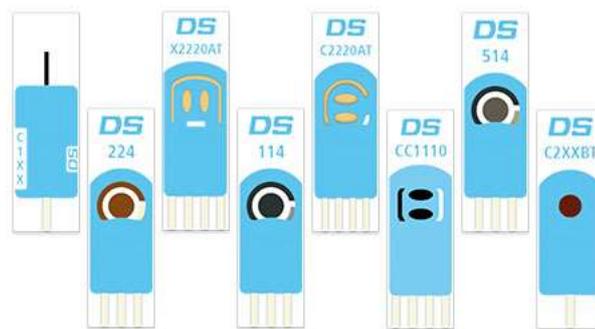


Figura 2. Electrodo serigrafado

A pesar de todas las ventajas anteriormente nombradas, muchos sensores químicos descritos en la literatura reciente muestran algunos inconvenientes en comparación a otros métodos analíticos. El problema más difícil de superar son las interferencias electroquímicas en la matriz de la muestra, puesto que estos pueden generar desplazamientos, anular y/o enmascarar algunas señales⁸. La selección de materiales y técnicas es crucial para la función adecuada de un sensor. En consecuencia, el desarrollo de

sensores se centra tanto en el material de la tinta del electrodo, como en la forma en que se activa dicho material para mejorar el funcionamiento del SPE⁹.

La tinta de carbón es la más usada para la fabricación de los SPEs debido al precio, a la fácil fabricación e inercia química. También se utiliza grafito y nanomateriales de carbono (grafeno, nanotubos de carbono, nanotubos de carbono de pared simple y múltiple)¹⁰. Junto con los materiales basados en carbono, el oro es también ampliamente usado como tinta de impresión para el electrodo de trabajo de los SPE, pudiéndose generar películas altamente estables basadas en enlaces covalentes¹¹. También existen otros materiales como plata, paladio, cobre, níquel, y óxidos metálicos¹².

La modificación de los SPEs consiste en un pretratamiento que mejora el rendimiento del electrodo, aumentando la sensibilidad del sensor y generando una base estable para mediciones electroquímicas a largo plazo. Además, la modificación de los SPEs puede cambiar y/o mejorar las propiedades del electrodo (como por ejemplo la conductividad, actividad, rugosidad y capacidad de carga). La modificación puede ser realizada por métodos físicos y/o químicos, lo que incluye la modificación con bioreceptores y elementos de reconocimiento molecular (enzimas, proteínas, ácidos nucleicos, polímeros y compuestos macrocíclicos)¹³.

Por lo tanto, la gran versatilidad presentada por los SPEs radica en la amplia gama de formas en la que estos electrodos pueden modificarse. Puede modificarse la tinta de impresión mediante la adición de sustancias o puede modificarse la superficie mediante el depósito de diversas sustancias, como películas de metal, nanomateriales, polímeros, enzimas, etc.¹⁴. Un ejemplo de esto es el trabajo de *Moore y colaboradores*, los cuales desarrollaron un método efectivo para la inmovilización de un complejo de rutenio (II) en la superficie de un electrodo serigrafiado de oro (**SPAuE**) para detectar en simultaneo cadmio (II) y plomo (II) en muestras de agua¹⁵.

ELEMENTOS DE RECONOCIMIENTO Y METODOLOGÍAS DE INMOVILIZACIÓN.

La preparación de sensores de afinidad electroquímica mediante la inmovilización de elementos de reconocimiento molecular sobre electrodos, implica por una parte, la selección del elemento de reconocimiento, y por otra parte, los métodos para la inmovilización de estos elementos como paso clave para lograr el rendimiento analítico deseado¹⁶.

Dentro de los elementos de reconocimiento molecular encontramos los receptores macrocíclicos, los cuales poseen una cavidad forzada de dimensiones moleculares que actúan como un sitio de reconocimiento molecular para los analitos entrantes. Las notables propiedades de encapsulación conducen a una relación de tipo "anfitrión-huésped" que puede modificar y / o

mejorar las características físicas, químicas y / o biológicas de la molécula huésped¹⁷. El tamaño y la forma de la cavidad, así como el tipo, el número y la direccionalidad de las interacciones pueden ajustarse para el reconocimiento estructural. En la mayoría de los casos son químicamente estables, fáciles de funcionalizar, disponibles en miligramos y/o gramos y con un alto grado de pureza. Dentro de los macrociclos más conocidos se encuentran los calixarenos, los cucurbiturilos, los cavitandos y las ciclodextrinas. Estos ofrecen excelentes propiedades de reconocimiento molecular para un grupo grande y diversos de “huéspedes”¹⁸.

Entre todos los posibles “anfitriones”, las ciclodextrinas (**CDs**) parecen ser las más importantes. Este es un producto seminatural producido a partir de la degradación enzimática de un material natural renovable, el almidón. Se producen miles de toneladas al año mediante tecnologías ecológicas, por lo tanto, sus precios inicialmente altos han disminuido a niveles donde se vuelven aceptables para la mayoría de los propósitos industriales.

Las CDs son oligosacáridos cíclicos compuestos de subunidades de D-glucopiranosas unidas a través de un enlace α -D-(1→4) (**Figura 3**). Las 3 principales CDs son sustancias cristalinas, homogéneas, no higroscópicas. Se componen de 6, 7 y 8 subunidades de D-glucopiranosas y se denominan como α -, β - y γ -ciclodextrina respectivamente (**Figura 4**)¹⁹.

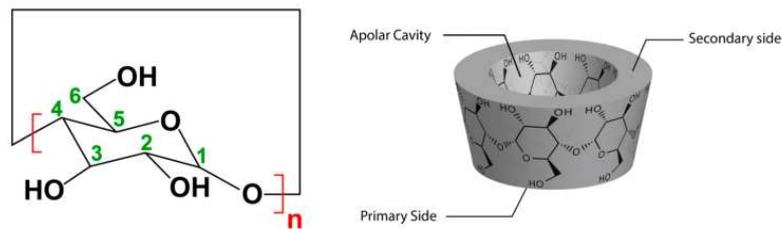


Figura 3. Esquema estructural de las ciclodextrinas donde n es igual a 6, 7 u 8 para α - , β - y γ CD, respectivamente.

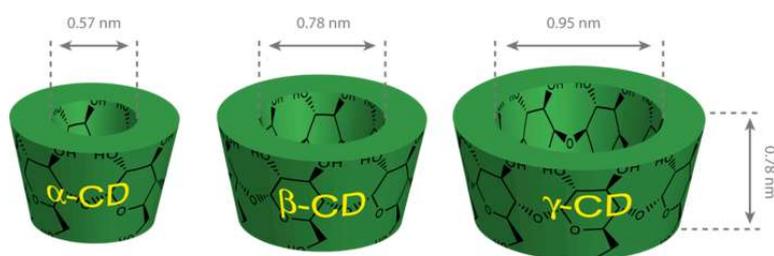


Figura 4. Dimensiones geométricas de α CD, β CD y γ CD.

Las CDs presentan una cavidad hidrófoba central que permite la inclusión de varios tipos de moléculas huésped lipofílicas. En el borde más ancho se encuentran los grupos hidroxilos secundarios (C_2 y C_3) mientras que en el borde angosto se ubican los grupos hidroxilos primarios (C_6) (**Figura 3**)^{20,21}. Dentro de las CDs nativas, la β CD es la más económica y accesible porque presenta el mayor rendimiento en la síntesis de estos macrociclos.

Algunas aplicaciones con CDs requieren que éstas se encuentren inmovilizadas sobre alguna superficie, para lo cual se han explorado algunas estrategias, por ejemplo, G_1 - β CD inmovilizada en nanopartículas recubiertas de sílice funcionalizada con aminopropilos²² o β CD inmovilizada en oro a través de

ferroceno²³. Una alternativa interesante de inmovilización de moléculas utilizadas para el reconocimiento molecular es la electroreducción de sales de diazonio (**SD**), donde se utilizan los radicales arilos generados a partir de la reducción electroquímica de dichas sales para modificar la superficie de los electrodos. El proceso reductor de tales sales da como resultado la formación de radicales centrados en arilos unidos covalentemente a la superficie del electrodo después de la eliminación espontánea de nitrógeno (**Figura 5**)²⁴.

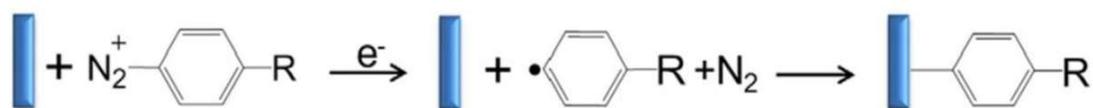


Figura 5. Mecanismo de reacción para el injerto del radical arilo a la superficie del electrodo.

Este método ha demostrado ser una excelente estrategia debido a su preparación simple, dado que las superficies conductoras y semiconductoras pueden modificarse con una amplia gama de grupos funcionales en solución acuosa sin necesidad de equipos sofisticados. Un ejemplo de esto es el estudio realizado por *Ocaña et al.*, el cual compara 2 tipos de aptasensores creados a partir de la inmovilización de aptámeros en SPCEs (screen-printed carbon electrodes) por electroreducción del ácido 4-aminobenzoico (**p-ABA**) seguido de la activación del grupo carboxílico terminal por N-hidroxisuccinimida (**NHS**) y N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilencarbodiimida clorhidrato (**EDC**). La inmovilización de los aptámeros se realiza depositando una concentración

óptima de cada uno de ellos sobre la superficie del electrodo preparada con EDC y NHS, finalizando con la desactivación de los grupos –COOH remanentes mediante incubación en una solución de etanolamina (**EtN**)²⁵.

Las sales de diazonio se han vuelto muy atractivas debido a que esta química se puede aplicar no solo a todo tipo de superficies de carbono (carbón vítreo, grafito, nanotubos de carbono²⁶, SPCE²⁵ y diamante), sino que también puede ser aplicado a otros materiales como el óxido de indio y estaño²⁷, silicio²⁸ y metales²⁹. La estabilidad que tienen estos electrodos es elevada, el enlace C-C generado por la unión del radical arilo a la superficie (**Figura 5**) crea capas de modificación que pueden soportar temperaturas superiores a los 700 K³⁰ y son estables en una región de potencial extraordinariamente amplia (2,6 V – 5,6 V) dependiendo del sustituyente en posición “para” del arilo unido a la superficie³¹.

En contraste a estas ventajas, las capas generadas en la superficie no están controladas porque los radicales arilos no se capturan en su totalidad en la superficie de carbono. Como ejemplo, *Allongue et al.*³⁰ informaron que el 84% de los radicales arilos forman enlaces en una superficie de carbón vítreo, mientras que solo un 54% forma enlaces en una superficie de grafito pirolítico altamente orientado. La reacción mostrada en la **Figura 5** es solo la más dominante pero pueden ocurrir reacciones secundarias, como por ejemplo el ataque del radical arilo a la posición “orto” de un arilo unido a la superficie (**Figura 6B**) o la unión de la SD sin pérdida de N₂ obteniéndose una hidracina (**Figura 6C**)³², generando así una multicapa. La fracción de radicales capturados

en el electrodo depende del tipo de superficie y del sustituyente en posición “para” en la SD.

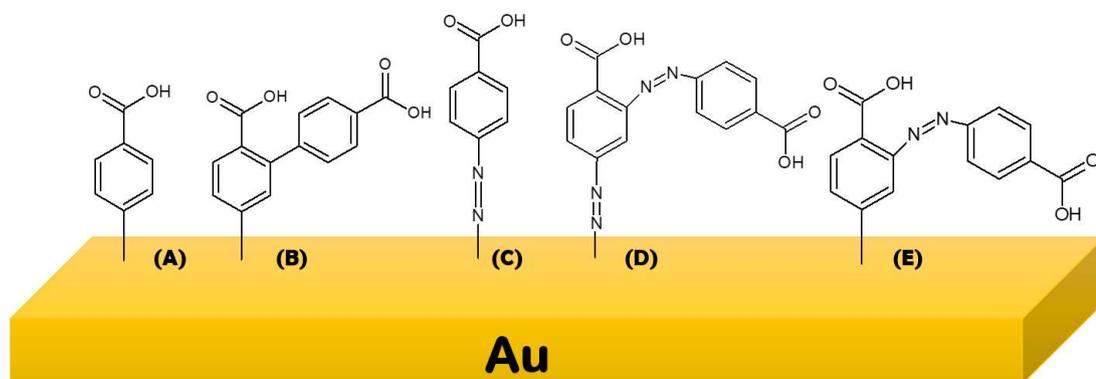


Figura 6. Ilustración esquemática de las diferentes vías de injerto del radical arilo en una superficie de oro.

Por lo tanto, las modificaciones con SD en superficies de carbono tienen la desventaja de poseer una naturaleza mal definida en la capa de modificación (formando multi o monocapa).

Desde una perspectiva de detección electroquímica, los metales que presentan mayor interés son el platino³³ y el oro^{34,35,36}. Sobre este último material, *Lyskawa y Bélanger*³⁵ inmovilizaron directamente en un electrodo de oro policristalino, compuestos con grupos aminofenilos mediante electroreducción de sales de diazonio generados *in-situ* y caracterizaron las superficies por medio de espectroscopía infrarroja de absorción y reflexión (IRRAS), espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (**XPS**), microscopía de fuerza atómica (**AFM**) y por técnicas electroquímicas. Ellos demostraron que la metodología permite un injerto fácil y eficiente de los compuestos con grupos

aminofenilos en la superficie de oro en un solo paso, y las distintas caracterizaciones mostraron una naturaleza de multicapa de la película de aminofenilos obtenida y que la película es gruesa con una fuerte unión a la superficie de oro. Los autores demostraron, además, que es posible una derivatización química de dicha película, lo cual podría extenderse a una reacción con una especie química o biológica seleccionada, como lo sería el anclaje de un elemento de reconocimiento molecular como las ciclodextrinas.

*Laforge et al.*³⁴ indicaron que la capa orgánica creada por la modificación en oro por SD es capaz de resistir la sonicación. Además, se demostró que las capas resistían ciclos consecutivos de barrido de potencial entre -0,3 V y 1,5 V en H₂SO₄ y que no había pérdida aparente de material en barridos cíclicos de potencial entre -1,4 V y 1,5 V vs SCE (electrodo de calomelano saturado), mostrando estabilidad en una región de potencial con una extensión total de 2,9 V. Y por último, luego de 2 meses de almacenamiento en el aire, prácticamente no hubo degradación en la calidad de la película³⁶.

*Gooding et al.*³⁷ compararon la estabilidad y rendimiento electroquímico de los electrodos de oro y carbono modificados con 4-carboxifenilo y un electrodo de oro modificado con 3-mercaptopropiónico (3-MPA). Con respecto a la estabilidad, las películas derivadas de la SD son significativamente más estables que las capas equivalentes del alcanotiol sobre oro. La monocapa de 3-MPA sobre oro se perdió con la sonicación y no pudo soportar el barrido cíclico de potencial entre -0,3 y 1,5 V en H₂SO₄ 0,1 M y se desorbieron por completo de la superficie después de 2 meses de almacenamiento.

Por otra parte, las superficies de oro modificadas por SD también superaron a los electrodos modificados de carbono con respecto al límite de detección. *Liu et al.*³⁶ inmovilizaron péptidos mediante unión al grupo arilo presente en los electrodos de oro y carbono modificados con SD con el fin de detectar iones metálicos. Los resultados mostraron una detección de iones significativamente superior por parte del electrodo de oro modificado (SD-Au 0,5 nM de Cu^{+2} , SD-C 2 nM de Cu^{2+}). Esto se atribuye tanto a una menor capacitancia como a una tasa superior de transferencia de electrones en los electrodos de oro.

Con estos antecedentes, en esta tesis se inmovilizaron amino- β -ciclodextrinas (**amino- β CDs**) sobre la superficie de un electrodo serigrafiado de oro a partir de la electroreducción de sal de diazonio sintetizada *in-situ* a partir de *p*-ABA para determinar y cuantificar analitos de interés (**Figura 7**).

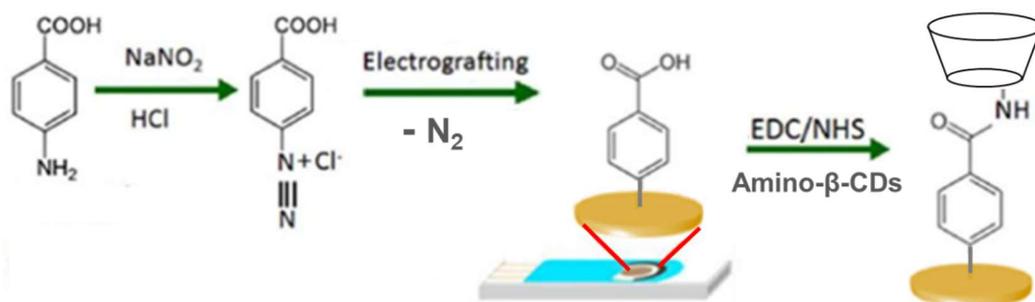


Figura 7. Esquema de la propuesta de modificación de electrodo serigrafiado de oro (SPAUE) con amino- β CDs inmovilizadas por electroreducción de *p*-ABA.

Se utilizaron derivados de ciclodextrinas hepta-aminados. En la **Figura 8** se pueden apreciar las estructuras de las amino- β CDs que fueron inmovilizadas en la superficie de oro. Ambas moléculas poseen siete grupos -NH_2 en el borde estrecho y difieren en el borde ancho de su estructura teniendo -H o grupos -CH_3 en las posiciones C_3 y C_5 , las que corresponden a beta-ciclodextrina hepta-aminada no metilada (**CD7 (Figura 8A)**) y beta-ciclodextrina hepta-aminada metilada (**CD7Me (Figura 8B)**).

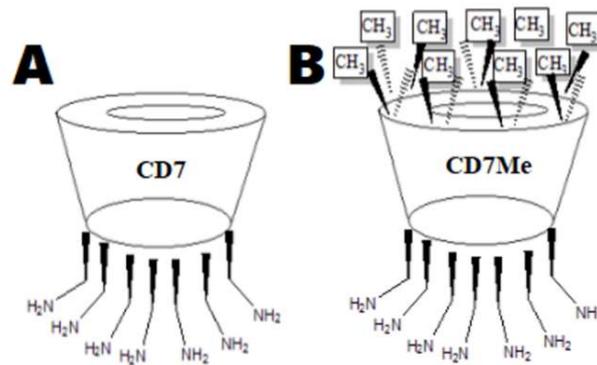


Figura 8. Representación de las estructuras de las amino- β CDs.

El grupo amino en el borde estrecho de la CD hace posible la inmovilización en la superficie mediante la formación de un enlace amida con el grupo carboxílico presente en el Ácido Benzoico (**AB**) unido a la superficie de oro (**Figura 7**).

Las superficies fueron caracterizadas utilizando técnicas electroquímicas tales como voltametría cíclica (**VC**) y espectroscopía de impedancia electroquímica (**EIS**) utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ como mediador redox, y otras técnicas, como ángulo de contacto (**AC**), microscopía electrónica de barrido (**SEM**) y microscopía de fuerza atómica (**AFM**), las cuales permitieron dilucidar el recubrimiento. Se utilizó espectroscopia de fotoelectrones generados por Rayos X (**XPS**) para caracterizar la unión química con la superficie. La respuesta de los electrodos modificados frente a analitos de interés fue evaluada utilizando voltametría de pulso diferencial (**VPD**) titulación amperométrica (**TA**) y titulación amperométrica con análisis por inyección en flujo (**FIA-TA**). Por lo tanto, en función de los resultados, se puede plantear el uso de estos electrodos serigrafados de oro modificados como posibles sensores de algunos analitos de interés ambiental, cuya principal característica sea la formación de complejos de inclusión con las amino- β CDs.

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PESTICIDAS A TRAVÉS DE SENSORES ELECTROQUÍMICOS.

Entre los analitos de interés ambiental están los pesticidas. Si bien su uso ayuda a reducir las pérdidas postcosechas, también es necesario considerar los impactos negativos que los pesticidas tienen sobre el medio ambiente y la salud humana. El uso continuo y a gran escala de estos pesticidas desde hace décadas ha creado un problema relacionado con la seguridad ambiental, en donde la mayoría de los países ha tenido que prohibir el uso y abuso de un número de pesticidas, llegando al nivel de tener que categorizarlos en una clase especial de contaminante, conocidos como contaminantes orgánicos persistentes (COPs). Debido a la persistencia de estos, y a la transportabilidad a larga distancia, al día de hoy aún se informan su presencia en diferentes ecosistemas, ya sea en suelos³⁸, ríos³⁹, e incluso el aire⁴⁰.

El análisis de pesticidas en muestras ambientales, alimentarias, clínicas y forenses es una tarea difícil debido a la complejidad de la matriz y los bajos valores de concentración que ellos presentan en las diferentes matrices⁴¹. Dentro de las metodologías actuales encontramos técnicas cromatográficas y de espectrometrías de masas (DI-SPME-GC-MS⁴², SPE-UPLC⁴³, MEPS-HPLC-MS/MS⁴⁴), técnicas electroquímicas^{45,46}, técnicas espectrofotométricas⁴⁷, métodos de quimioluminiscencia y fluorescencia³⁸ y ensayos bioquímicos⁴⁸. Teniendo en cuenta que los pesticidas pueden encontrarse en diferentes ecosistemas y que, en ocasiones, se necesita una respuesta rápida en el sitio de toma de muestra, la investigación en esta área se está dirigiendo hacia el

desarrollo de sensores para medición *in-situ*. Sobre esto mismo, la inmovilización de un elemento de reconocimiento molecular como las CDs en un sensor podría tener un futuro prometedor, porque estas macromoléculas no son tóxicas y pueden interactuar con una gran variedad de moléculas orgánicas⁴⁹. Los pesticidas de interés que se han escogido son propanil y paraquat.

Propanil (3,4-dicloropropioanilida) (**3,4-DPA**) (**Figura 9**) es un herbicida de anilida recomendado para el uso posterior al surgimiento en arroz⁵⁰, inhibe la fotosíntesis (fotosistema II) en cloroplastos, provocando manchas cloróticas y necrosis de las malas hierbas. En cambio el arroz, no realiza la degradación a 3,4-dicloroanilina (3,4-DCA) gracias a la enzima arilacimidasa, evitando así la necrosis^{51,52}. 3,4-DPA se degrada por efectos químicos, biológicos y por efecto de la luz solar, lo que se traduce en una acumulación de 3,4-DCA, siendo este un subproducto más tóxico que el compuesto original y de acción más prolongada⁵³. Según *Horgan* (ICSUSL 2015), para el año 2035 se producirán 115 toneladas adicionales de arroz en todo el mundo, debiendo también aumentar entonces el uso de este pesticida⁵⁴.

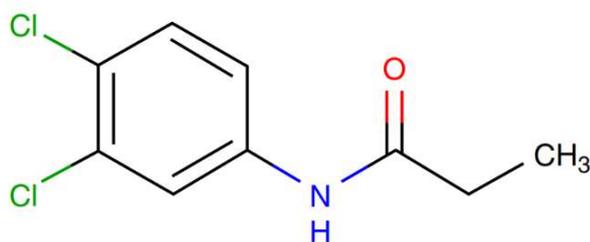


Figura 9. Estructura del propanil.

Se ha informado que este pesticida forma complejos de inclusión con CDs. *Flaherty y colaboradores* obtuvieron el valor de las constantes de asociación (K_a) de este y otros pesticidas con distintos derivados de CDs por medio de electroforesis capilar. Ellos determinaron la estequiometría para la formación del complejo de inclusión, la cual fue 1:1. De acuerdo con el estudio, los valores de K_a para el complejo de inclusión 3,4-DPA/ β CD y 3,4-DPA/Me- β CD, son 590 M^{-1} y 1138 M^{-1} , respectivamente⁵⁵. Estos resultados evidencian la formación de un complejo de inclusión más estable para propanil con Me- β CD, debido a los grupos metoxilos ubicados en el borde más ancho de la estructura, lo que provoca una reducción de la naturaleza polar global del entorno de la cavidad interna. En base a esto, se espera encontrar un comportamiento similar de este herbicida al interactuar con las amino- β CDs que se encontrarán inmovilizadas sobre la superficie de oro del electrodo serigrafiado.

Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridinio) (**PQ**) (**Figura 10**), también conocido como metil-viológeno, es un herbicida de contacto no selectivo que se utiliza en las prácticas agrícolas para controlar las malezas de hoja ancha. Gracias a la presencia de la doble carga catiónica en la molécula, PQ es un contaminante muy hidrosoluble y de difícil erradicación en el medio ambiente. La presencia de residuos de PQ en aguas y nutrimentos puede ser altamente tóxica para humanos y animales; causa daños graves al hígado, pulmones, corazón y riñones, y está involucrado en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson⁵⁶.

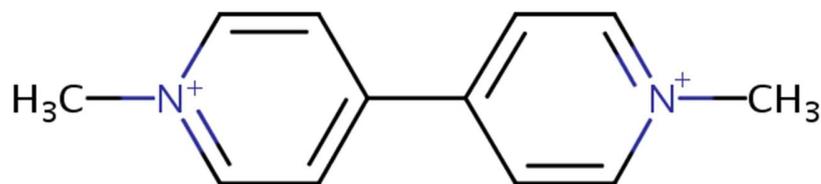


Figura 10. Estructura del paraquat.

Sivagnanam y *Palaniandavar* estudiaron el fenómeno de inclusión de este herbicida con α -, β - y γ -CDs y determinaron que el complejo PQ/ β CD presenta una estequiometría de inclusión de 1:1⁵⁷. La inclusión de este pesticida es posible porque el tamaño de PQ (13,4 Å X 3,6 Å)⁵⁸ es adecuado para la cavidad interna de la β CD (7,8 Å). *Junthip* sintetizó un polímero de CDs aniónico e insoluble en agua entrecruzando β CDs y ácido cítrico con el objetivo de remover PQ de aguas residuales. Se concluyó que efectivamente puede adsorberse PQ en el polímero de una manera exitosa, a un pH neutro y con un tiempo de contacto de 2 horas⁵⁹.

En la actualidad, el Servicio Agrícola Ganadero de Chile (SAG) define al PQ como un pesticida de la serie 3000 (ósea herbicidas), como **prohibido** de acuerdo con la resolución SAG N° 5810/2022 con actualización del 20 de diciembre del 2022.

Según la resolución exenta SAG N°5810/2022 se determina:

“En diciembre de 2022 se cancelan todos los registros de plaguicidas en base a Dicloruro de Paraquat. Por tanto, está prohibida la importación y fabricación de los plaguicidas que contengan el

ingrediente activo. La distribución en comercio y su uso en huertos y campos sólo se permite hasta el 12 de diciembre de 2024.”

En el caso del 3,4-DPA, el SAG no posee registros actuales de este pesticida. En la última actualización, con fecha del 04-01-2023, solamente están autorizados los herbicidas diurón y linurón, pertenecientes a la familia de los herbicidas de anilida al igual que propanil. Por lo tanto, al no estar autorizado, es de entender que su comercialización y distribución está prohibido.

El artículo 18 del decreto N° 131 “Reglamento de los servicios de agua destinados al consumo humano” publicado el 26-03-2007 por el Ministerio de Salud de Chile, indica que:

“El Ministerio de Salud, en aquellos casos calificados en que exista razones objetivas fundadas para sospechar la presencia de alguna de las sustancias tóxicas que figuran en las tablas 1, 2 o 3 en una determinada fuente de agua o en el agua suministrada a una localidad específica, podrá requerir de parte del servicio de agua potable respectivo el cumplimiento del límite que en dichas tablas figura para la sustancia en cuestión.”

Dicho límite máximo, presente en la tabla N°2 “Plaguicidas” del presente decreto, es de 20 µg/L (~0,1 µM) para 3,4-DPA.

Diversas técnicas se han utilizado para la detección y cuantificación de los pesticidas en muestras de aguas. Estas técnicas poseen un buen intervalo lineal y un bajo límite de detección (**LoD**), debido a que la mayoría de las técnicas además de utilizar el método de análisis en sí, utilizaron un paso previo de preconcentración o derivatización (**Tabla 1**). Por otro lado, las medidas obtenidas usando SPE modificados también poseen muy buenos resultados (**Tabla 2**), además tienen la ventaja de que estos métodos no requieren etapas previas de tratamiento de muestras como una preconcentración, solo etapas breves de preparación, como lo es una filtración y dilución de la muestra usando algún buffer. *Bergamini et al.* determinaron isocianida⁶⁰ y piramizida⁶¹ en muestras de orina humana enriquecidas usando SPCE modificado con poli-L-histidina. Tomaron alícuotas de las muestras de orina las cuales diluyeron con buffer fosfato (**B-F**) y fueron sometidas al electroanálisis después de 10 min previos de desaireación con nitrógeno. *Biscay et al.* determinaron fructosa en muestras de alimentos reales como la miel, bebida cola, jugos de frutas (naranja, tomate, manzana y piña) y vino tinto usando SPFCE (electrodo serigrafado de ferrocianuro/carbono) modificado con la enzima D-glucosa deshidrogenasa. La miel fue diluida con agua desionizada y diluida en buffer, mientras que los jugos de fruta, la bebida cola y el vino solamente fueron diluidos en buffer en diferentes proporciones. El procedimiento consistió simplemente en depositar una alícuota de cada muestra diluida en diferentes sensores y registrar el cronoamperograma para obtener la concentración⁶².

Tabla 1. Comparación de métodos para la determinación de propanil y paraquat en muestras de agua.

Pesticida	Técnica	LoD	Rango Lineal	Ref.
<i>Propanil</i>	SPE/HPLC-DAD	0,1 ng mL ⁻¹	-	63
	SPE/HPLC-Fluoresc.	0,07 µg mL ⁻¹	0,2 – 1,6 µg mL ⁻¹	64
<i>Paraquat</i>	SPE/HPLC-DAD	0,06 µg L ⁻¹	0,1 – 50 µg L ⁻¹	65
	Fluorescencia	3,35·10 ⁻⁹ mol L ⁻¹	1·10 ⁻⁸ – 1,2·10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	66

Tabla 2. Sensores reportados para la para la determinación de plaguicidas en electrodos serigrafiados.

Pesticida	Superficie	LoD	Rango Lineal	Ref.
<i>Paraquat</i>	Nf/CNT/SPCE	170 nM	0,54 – 4,3 µM	67
<i>Diuron*</i>	rGO-AuNPs/SPCE	0,125 µg mL ⁻¹	0,5 – 30 µg mL ⁻¹	68

SPCE: electrodo serigrafiado de carbono; Nf: Nafión; CNT: nanotubos de carbono; rGO-AuNPs: oxido de grafeno reducido-nanopartículas de oro.

*Diuron es un plaguicida isoestructural al propanil.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en este trabajo se realizará la determinación y cuantificación de estos pesticidas utilizando electrodos serigrafiados de oro modificados con amino-βCDs inmovilizados a partir de electrografting de SD. Los pesticidas propuestos presentan antecedentes que evidencian la formación de complejos de inclusión con distintos tipos de CDs, por lo que, al integrar este elemento de reconocimiento a la superficie de oro de un electrodo serigrafiado, debiese haber una mejoría en la sensibilidad, en los límites de detección y el rango lineal, en comparación a las técnicas mostradas anteriormente en las **Tablas 1 y 2**.

En esta tesis se busca entonces, desarrollar una superficie electródica que nos permita detectar y cuantificar concentraciones bajas de pesticidas, utilizando un equipamiento más económico y que permita medir contaminantes *in situ* en muestras acuosas.

2. HIPOTESIS

- i. Las amino- β CDs pueden ser inmovilizadas sobre la superficie de un electrodo serigrafiado de oro por medio de la reducción electroquímica de sales de diazonio.
- ii. La incorporación de ciclodextrinas como elemento de reconocimiento proporcionaría una respuesta sensible a los analitos propuestos, de tal manera de crear un sensor simple y rápido.

3. OBJETIVOS DE LA MEMORIA

3.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal es desarrollar superficies de oro modificadas con amino- β CDs en electrodos serigrafiados de oro a partir de la reducción electroquímica de SD (*p*-ABA) para la detección y cuantificación de analitos de interés.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- I. Obtener electrodos serigrafiados de oro modificados con amino- β CDs (CD7, CD7Me), las cuáles serán inmovilizadas través de la reducción de sal de diazonio generado *in-situ* a partir del ácido 4-aminobenzoico (*p*-ABA).

- II. Confirmar la inmovilización covalente de las amino- β CDs sobre la superficie del electrodo serigrafiado de oro, utilizando técnicas electroquímicas como Voltametría Cíclica (VC), Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS), y por otras técnicas como Ángulo de Contacto (AC), espectroscopía fotoelectrónica generada por Rayos-X (XPS), entre otras.

- III. Determinar la respuesta de los electrodos modificados hacia los pesticidas seleccionados y establecer los parámetros analíticos tales como, rango lineal, límite de detección y cuantificación, utilizando Titulación Amperométrica (TA) y Titulación amperométrica con Análisis por Inyección en Flujo (FIA-TA) como técnica.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIALES, SOLUCIONES Y EQUIPOS

4.1.1 Reactivos y Solventes

- Fosfato de sodio dibásico, Merck
- Fosfato de sodio monobásico, Merck
- Agua pureza Milli-Q (18,2 MΩ.cm a 25°C).
- Ácido ortofosfórico (85%) p.a., Merck.
- Nitrógeno extra puro (99,9%) Linde Chile S.A.
- Alúminas de 0,3 y 0,05 μm, Buehler
- Hidróxido de sodio (pellets) p.a., Merck.
- Ácido clorhídrico (36%) p.a., Merck
- Etanol absoluto (EtOH) (99,8%) p.a., Merck.
- Ácido acético glacial, Merck
- Ácido bórico, Merck
- Ácido sulfúrico 95-97 % Merck
- Propanil PESTANAL®, Sigma-Aldrich
- Paraquat PESTANAL®, Sigma-Aldrich
- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), Sigma-Aldrich
- N-Hidroxisuccinimida (NHS), Sigma-Aldrich
- Etanolamina (EtN), Sigma-Aldrich

Los derivados de amino- β -ciclodextrinas (amino- β CDs), provistos por AraChem (Países Bajos), se describen a continuación:

Tabla 3. Descripción de los derivados de amino- β -ciclodextrinas utilizados

Abreviatura amino-βCD	Nomenclatura IUPAC	Peso molecular (g/mol)	Formula Química
CD7	Heptakis-(6-amino-6-desoxi)- β -Ciclodextrina	1383	$C_{42}H_{77}N_7O_{28} \cdot 7HCl$
CD7Me	Heptakis-(2,3-di-O-metil-6-amino-6-desoxi)- β -Ciclodextrina	1579	$C_{56}H_{105}N_7O_{28} \cdot 7HCl$

4.1.2 Soluciones

- Solución Ácido Sulfúrico 0,5 M
- Solución tampón fosfato (**B-F**) 0,1 M.
- Solución tampón Britton-Robinson (**B-BR**) 0,1 M
- Solución stock propanil 20 mM.
- Solución stock paraquat 20 mM.

4.1.3 Equipos

A. Equipos de uso general

- Balanza de precisión, Semi-Micro Precisa Serie 360 ES 225SM-DR, sensibilidad 0,01 mg.
- Balanza granataria PJ Precisa Junior 500C (sensibilidad 1 mg).

- Medidor de pH, Oaklon pH 700.
- Sistema purificador de agua Milli-Q Ultra-Pure Water System.
- Sonificador Branson Branson 2210.
- Agitador magnético IKA® color squid White.

B. Sistema Electroquímico y Computacional

- Analizador voltamétrico CHI 650-e
- Sistema Computacional BIOANALYTICAL SYSTEMS CHI 650-e versión 13,1 para adquisición y tratamiento de datos.
- Software ZView, versión 2,80 para tratamiento de datos (EIS)
- Celda electroquímica:
 - Celda electroquímica (10 mL)
 - Electrodo de trabajo: Disco de Oro policristalino (CH-Instruments (CHI 101), Au 2mm)
 - Electrodo de referencia: Ag/AgCl (ALS-Co. (RE-1B))
 - Capilar de Luggin
 - Electrodo auxiliar: alambre de platino
 - Celda electroquímica de flujo para FIA-SPEs, DropSens
 - Válvula de inyección manual, DropSens

- Electrodo serigrafiado de oro DropSens C220AT (de trabajo: Au 4mm; Auxiliar: Au, Referencia: Ag)
- Bomba MV-Pumpsystem Cole-Parmer modelo 7332-00 marca Ismatec.

C. Angulo de Contacto

- Se utilizó un goniómetro Ramé-Hart, modelo 200, equipado con una cámara CCD y un software de imagen DROPstandard, con el cual es posible determinar ángulos de contactos entre una gota de solvente (agua Milli-Q, buffers, etc) y una superficie.

D. SEM

- Se utilizó un microscopio electrónico de barrido de alta resolución modelo INSPECT-F50 (FE-SEM), marca Thermo Fisher Scientific (FEI, Holanda). Detectores: STEM, vCD, DBS (Ultradry Pathfinder Alpine 129 eV, Thermo Fisher Scientific).

E. AFM

- Se utilizó un microscopio de fuerza atómica Antor Tosca 400 en modo tapping con un cantiléver Nanoworld Arrow NCR. Las imágenes topográficas AFM fueron tratadas y analizadas con el software Gwyddion versión 2,62.

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Preparación de Soluciones

1. **Solución ácido sulfúrico 0,5 M:** En un matraz aforado de 500 mL se añadió 13,9 mL de H_2SO_4 96% v/v (18 M) en suficiente agua Milli-Q. Luego se completó el volumen con Milli-Q.
2. **Tampón fosfato 0,1 M (B-F):** Se disolvieron 3,07 g de Na_2HPO_4 y 0,39 g de NaH_2PO_4 en un matraz aforado de 250 mL con agua Milli-Q, obteniendo una solución pH 6,0 aproximadamente. El pH de B-F se modificó adicionando NaOH o HCl hasta el valor de pH deseado.
3. **Tampón Britton-Robinson 0,1 M (B-BR):** Se disolvieron 6,18 g de H_3BO_3 , 7,93 mL de H_3PO_4 (85%) y 5,7 mL de CH_3COOH en un matraz aforado de 1 L con agua Milli-Q. Se adicionó NaOH o HCl para ajustar al pH deseado.
4. **Stock paraquat:** Se disolvieron 36 mg de paraquat en 7 mL de agua Milli-Q, obteniendo un stock de concentración 20 mM.
5. **Stock propanil:** Se disolvieron 43,78 mg de propanil en 7 mL de etanol p.a., obteniendo un stock de concentración 20 mM.

4.2.2 Preparación de los electrodos

La baja reproducibilidad de las composiciones químicas y topográficas de las superficies de oro preparadas para electroanálisis es una limitación bien conocida, a pesar de su uso generalizado en esta disciplina⁶⁹. La limpieza de las superficies de oro afecta las respuestas electroanalíticas posteriores, así como el comportamiento químico de estas superficies⁷⁰. Por lo tanto, para garantizar una baja rugosidad y una homogeneidad en la superficie, los electrodos de disco de oro policristalino (de ahora en adelante solo Au) fueron sometidos a tres tratamientos secuenciales, un tratamiento químico, luego uno mecánico y finalmente uno electroquímico, con el objetivo de obtener señales bien definidas y reproducibles⁷¹.

- i. Tratamiento químico: los electrodos de Au fueron sumergidos en una solución piraña ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$, 3:1) durante 10 minutos. Posteriormente los electrodos son enjuagados con abundante agua Milli-Q.
- ii. Tratamiento mecánico: posterior al tratamiento químico, los electrodos de Au fueron pulidos usando secuencialmente alúminas de 0,3 μm y 0,05 μm por el transcurso de 30 segundos en cada alúmina, enjuagando con abundante agua Milli-Q al final de cada pulido. Con el objetivo de eliminar la alúmina remanente de los electrodos, al finalizar cada etapa de pulimiento, los electrodos fueron sumergidos en agua Milli-Q y limpiados usando un baño de ultrasonido por 2 minutos. Posteriormente los

electrodos son sumergidos en etanol p.a. y limpiados nuevamente por el baño de ultrasonido, por 3 minutos. Finalmente son enjuagados con abundante agua Milli-Q⁷².

- iii. Tratamiento electroquímico: para asegurar una correcta limpieza y una respuesta electroquímica homogénea, se realizaron 12 barridos de potencial por voltametría cíclica para cada electrodo en H₂SO₄ 0,5 M a 0,1 V·s⁻¹, entre 0 y 1,6 V⁷⁰ y se registraron 2 voltamogramas cíclicos, uno inicial (1° barrido) y uno final (12° barrido) como se muestra en la **Figura 11**.

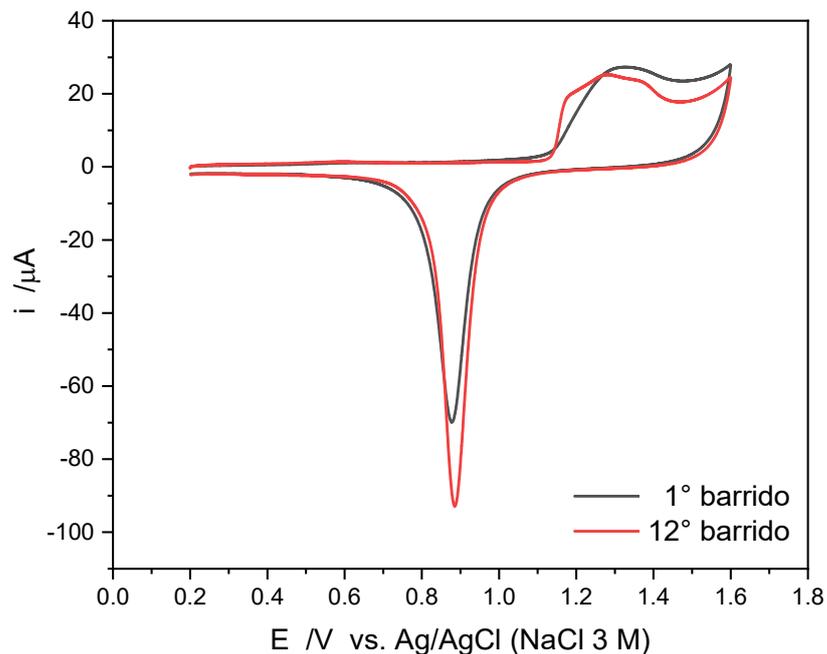
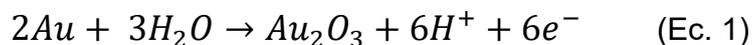


Figura 11. Voltamogramas cíclicos de Au limpio en H₂SO₄ 0,5 M a 0,1 V·s⁻¹.

Es sabido que el oro, cuando se evalúa su comportamiento electroquímico en una solución prótica, presenta una señal ancha de oxidación que inicia alrededor de 1,2 V y un pico de reducción agudo a los 0,9 V aproximadamente^{73,74}. La oxidación anódica de la superficie de oro en el intervalo de potencial usado daría como resultado la formación de Au₂O₃ o Au(OH)₃, debido a que el óxido de oro con su estado de oxidación +4 solo podría generarse a potenciales aplicados muy altos (2Au + 4H₂O → 2AuO₂ + 8H⁺ + 8e⁻, E ~ +4.14 V)^{75,76}. En consecuencia, Au³⁺ es el único estado de oxidación de oro presente en las capas de óxido generadas. En la siguiente ecuación se muestra el mecanismo de oxidación en medio ácido:



Ahrens y colaboradores⁷⁷ aplicaron sucesivos ciclos de potencial (entre 1 a 10000 ciclos) en un electrodo de Au en H₂SO₄ 0,1 M a 0,1 V·s⁻¹. Ellos observaron cambios temporales en el pico anódico del oro, pasando de un único pico a múltiples picos. En nuestro caso, se observa un cambio en la señal de oxidación de Au con los ciclos de potencial (**Figura 11**), aunque dicho cambio no es tan acentuado como lo visto por Ahrens y colaboradores. Este leve cambio en la forma de la respuesta corriente-potencial en la zona de formación del óxido provoca solo un pequeño aumento en la intensidad de la señal de reducción, aunque manteniendo un pico bien definido prácticamente al mismo potencial.

La carga de reducción de los óxidos de oro se midió entre 1,05 y 0,70 V (vs Ag/AgCl_(3M)) en el barrido catódico de cada voltamograma registrado para cada electrodo limpio y se comparó con la carga asociada a la reducción de la monocapa de óxido de oro de un electrodo de Au que corresponde a $482 \mu\text{C}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Oesch & Janata)⁷⁸ para obtener el área superficial real de los electrodos ($a_R = 0,080 \text{ cm}^2$). El factor de rugosidad (r) se obtuvo al comparar dicha área, con el área geométrica de los electrodos de oro ($a_G = 0,0314 \text{ cm}^2$), dando como valor de $r = 2,45 \pm 0,08$.

Los SPEs, como bien se dijo anteriormente, son dispositivos producidos mediante serigrafía y por lo general, no se realiza una etapa previa de limpieza exhaustiva de la superficie considerando que se podría dañar fácilmente la película impresa en estos dispositivos⁷⁹.

4.2.3 Modificación de electrodos de oro

Amino- β -ciclodextrinas (**amino- β CDs**) fueron inmovilizadas a través de la electroreducción de sal de diazonio (**SD**) generada *in-situ* a partir del ácido 4-aminobenzoico (***p*-ABA**) como se muestra en la **Figura 12**.

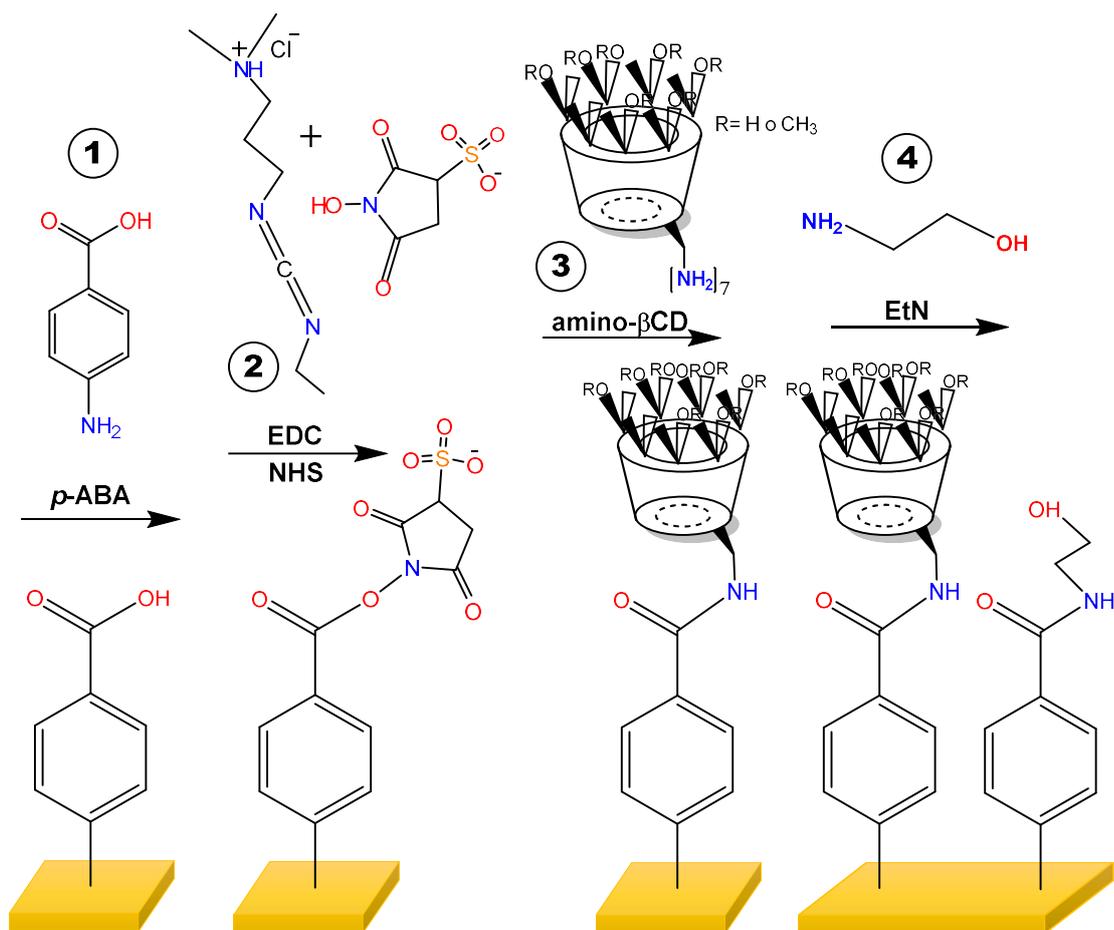


Figura 12. Estrategia de inmovilización de las amino- β CDs sobre superficies de oro. Inmovilización de AB a partir de *p*-ABA sobre oro por electroreducción de SD (1); activación de los -COOH terminales de AB, a través de la reacción EDC + NHS (2); unión covalente de amino- β CDs, a través de la formación de enlaces amida (3); bloqueo con EtN (4).

A continuación, se detalla cada uno de los pasos de esta estrategia de inmovilización:

1º. Generación de SD *in-situ*. En una celda electroquímica dentro de un baño de hielo y con agitación, se realizó la electroreducción de *p*-ABA (**Figura 13**). Es importante mantener una temperatura no muy baja para evitar congelar la solución acuosa como también lo suficientemente baja para controlar la formación de multicapas (**Figura 6**), debido a que la reacción genera un radical arilo altamente reactivo, que podría agregarse sin control a la primera capa orgánica injertada¹¹. Para ello primero se añadió a la celda 6,36 mL de HCl 0,5 M y 1,6 mL de *p*-ABA 25 mM y se purgó con N₂ por el transcurso de 5 minutos. Posteriormente, se añadió 40 µL de NaNO₂ 1 M a la solución, y se purgó también con N₂ por otros 5 minutos, siempre manteniendo una agitación constante. De esta forma, las concentraciones de *p*-ABA y NaNO₂ (preparados en agua Milli-Q) obtenidas corresponden a 5 mM en un volumen final de celda de 8 mL. Para realizar la electroreducción de la SD generada y lograr unir covalentemente ácido benzoico (**AB**) derivado del *p*-ABA en la superficie (como se observa en la **Figura 13**), se incorporó en la celda (manteniendo el sistema en ambiente libre de oxígeno y agitación) el electrodo auxiliar de platino, el capilar de Luggin que contiene en su interior al electrodo de referencia Ag/AgCl y el electrodo de trabajo de oro, que puede ser tanto el electrodo de Au (CHI 101) como el electrodo serigrafado SPAuE, (este último solamente conectado al electrodo de trabajo).

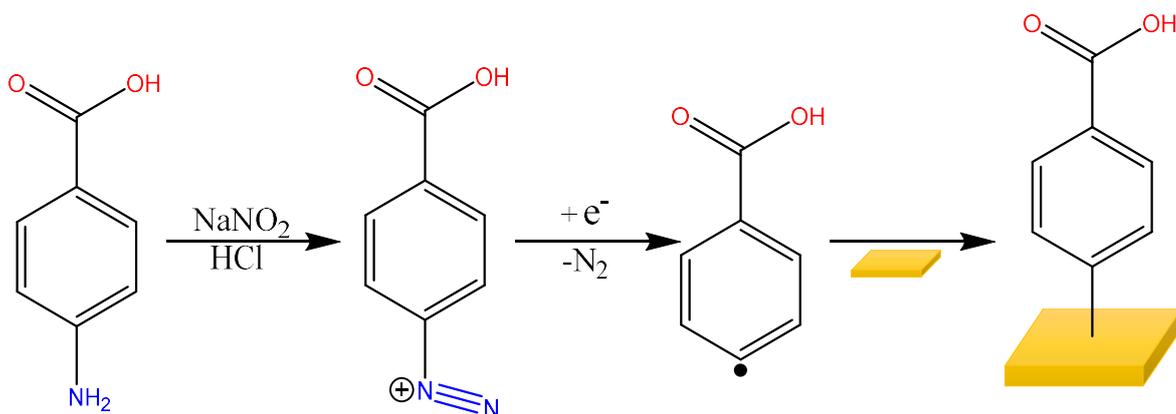


Figura 13. Mecanismo de reacción para el injerto del AB en las superficies de oro.

Una vez formada la SD *in-situ*, se realizó la reducción electroquímica mediante la aplicación de ciclos de potencial de acuerdo con los parámetros indicados en la **Tabla 4**, usando Voltametría Cíclica. Así, se forma el enlace covalente Au-C entre la superficie de oro del electrodo de trabajo y el arilo perteneciente al AB como se observa en la etapa final de la **Figura 13**.

Tabla 4. Parámetros para la reducción electroquímica de la SD.

Electrodo	Au (CHI 101)	SPAuE
E_i (V)	0	0
E_{max} (V)	0,5	0,4
E_{min} (V)	- 0,4	- 0,1
E_f (V)	- 0,4	- 0,1
Vel. Barrido ($V \cdot s^{-1}$)	0,02	0,02
N° ciclos	10	8

2º. Activación de los grupos carboxílicos. Posterior a la electroreducción de SD, para que la inmovilización de las amino- β CDs pueda ser llevada con éxito, es necesario activar los grupos-COOH terminales del arilo unido covalentemente a la superficie de oro. Para esto, se realizó la reacción de EDC+NHS ((N-etil-N-(3-(dimetilamino)propil) carbodiimida (**EDC**) y N-hidroxisuccinimida (**NHS**)), descrita en la **Figura 14**. El primer paso (reacción 1) es la adición del grupo -OH del ácido carboxílico del AB a través de uno de los enlaces dobles del EDC reactivo, formando un aducto inestable O-acilurea. Luego la superficie será transformada por un ataque nucleofílico por el NHS produciendo un éster succidimilo con la liberación correspondiente del reactivo inicial de EDC (reacción 2). Este intermediario amina-reactivo semi estable, permite la formación de un enlace covalente tipo amida para inmovilizar elementos de reconocimiento⁸⁰.

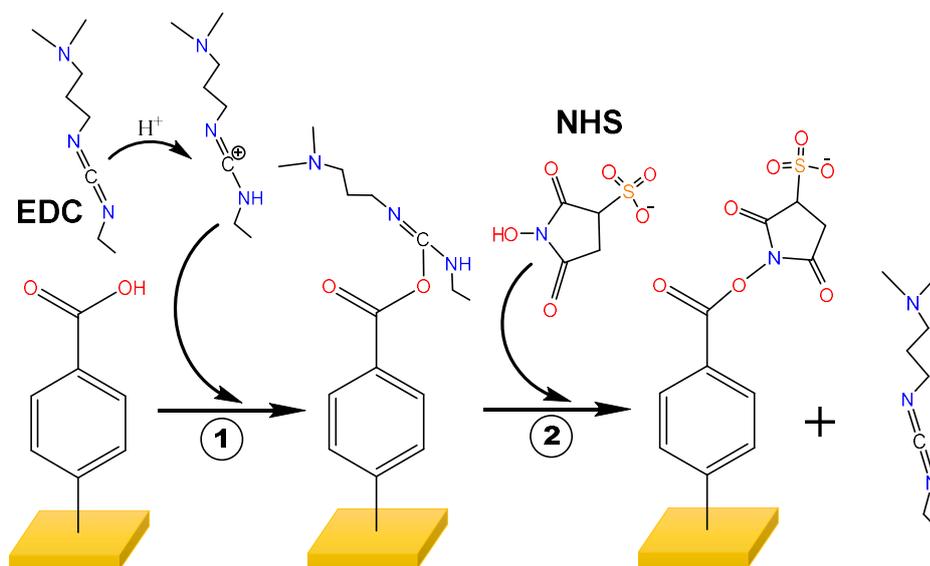


Figura 14. Reacción típica de EDC+NHS al activar los grupos carboxílicos terminales del AB unido al oro en la etapa anterior.

Las superficies de oro se modificaron con una solución 4:1 de EDC/NHS⁸¹ 800 mM y 200 mM respectivamente. Ambos compuestos son disueltos en agua Milli-Q (pH natural entre 5 y 6)⁸⁰ y estuvieron en contacto con la superficie de oro modificada por 20 min.

3°. Inmovilización de CDs. Posterior a esta etapa de activación, los electrodos de oro se pusieron en contacto con soluciones 3 mM de amino- β CDs (mencionadas en la **Tabla 3**) en B-F 0,05 M pH 7,4, para inmovilizarlas por acoplamiento del grupo amino de cada amino- β CDs, las cuales formarían un enlace amida con el grupo $-\text{COOH}$ activados con NHS. Los electrodos de oro activados permanecieron en contacto con estas soluciones durante 60 minutos.

4°. Bloqueo con Etanolamina (EtN). Como última etapa se realizó un bloqueo de los grupos $-\text{COOH}$ que quedaron sin reaccionar. Para esto se utilizó una solución 1 M de etanolamina (EtN) en B-F 0,05 M pH 8,0. Las superficies estuvieron en contacto con esta solución durante 15 minutos.

4.3 CARACTERIZACIÓN DE SUPERFICIES MODIFICADAS

4.3.1 Voltametría Cíclica (VC)

Para evaluar y corroborar cada etapa de la modificación de las superficies electrónicas, se utilizó ferricianuro de potasio $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (1 mM en B-BR 0,1 M pH 8,0) como mediador redox, debido a que este compuesto no forma complejos de inclusión con las ciclodextrinas, por lo que la disminución de esta señal es una medida indirecta del recubrimiento de la superficie. Por lo tanto, el comportamiento del $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ con los distintos electrodos modificados permite evaluar los procesos de transferencia electrónica. Además, los cambios en el potencial y en la intensidad de corriente fueron comparados con aquellos obtenidos de la superficie de oro sin modificar. Las mediciones electroquímicas se realizaron en todas las etapas de la modificación de la superficie por triplicado, utilizando electrodos de Au independientes, todos modificados al mismo tiempo.

4.3.2 Espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIS)

Al igual que en la caracterización por VC, se utilizó $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ como mediador redox. El intervalo de frecuencia utilizado fue entre 10^5 y 10^{-2} Hz, con una perturbación de potencial de trabajo E_i de 0,2 V. Los datos fueron tratados usando el software ZView (versión 2,80). Las mediciones electroquímicas se realizaron en todas las etapas de la modificación de la superficie en triplicado, utilizando los electrodos de Au.

4.3.3 Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos-X (XPS)

Para la caracterización de las distintas superficies de oro por medio de XPS, se modificaron SPAuEs de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección 4.2.3. Los datos XPS se registraron a una presión inferior a $1 \cdot 10^{-9}$ mbar usando un analizador de electrones PHOIBOS 150 (Specs) y radiación Mg K α (1253,6 eV). La potencia de la fuente de rayos X se fijó a 100 w para minimizar cualquier posible daño por radiación que pudiera ocurrir a las muestras, tras exposiciones prolongadas al flujo de rayos X. Los espectros se tomaron con energías de paso constante de 20 eV (espectros de alta resolución) y 100 eV (espectros generales). La escala de energías de ligadura se calibró usando la señal principal del espectro C 1s que corresponde al carbono alifático (284,6 eV). Con esa calibración, la energía de ligadura del nivel Au 4f_{7/2} aparece en los espectros de estas mismas muestras a 83,6 eV. Todos los espectros se ajustaron usando un fondo espectral tipo Shirley y funciones pseudo Voight (básicamente, el producto de una función Lorentziana y otra Gaussiana con proporciones respectivas del 30% y el 70%). Como regla general, las anchuras de línea de todas las contribuciones de un determinado un espectro (ya sea en el caso C 1s o N 1s) se constriñeron a ser iguales entre sí. De ese modo se evitan variaciones no sistemáticas en el análisis cuantitativo. Las concentraciones atómicas relativas de los diferentes elementos se calcularon a partir de la integración de las áreas de las principales señales espectrales tras substraer un fondo tipo Shirley usando las secciones eficaces de Scofield y una longitud de atenuación inelástica proporcional a $e^{-0,774}$.

4.3.4 Angulo de contacto (AC)

La hidrofobicidad e hidrofiliidad de las superficies modificadas fue evaluada a través de medidas de ángulo de contacto⁸². Las superficies de oro utilizadas fueron los SPAuE sin modificar y modificados utilizando el procedimiento descrito en la sección 4.2.3. El ángulo de contacto se determinó utilizando el método de la “gota sésil” para cada etapa de la modificación (es decir, se depositó sobre la superficie de oro una gota de 2 μL de agua Milli-Q).

4.3.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se estudió la morfología de la superficie de los SPAuE, por medio de la Microscopía de Barrido Electrónico, SEM por sus siglas en inglés. Este estudio se planteó para evaluar la existencia de cambios morfológicos en las superficies antes y después de cada una de las modificaciones.

4.3.6 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

La topografía de las superficies SPAuE se estudió por AFM. Se obtuvieron imágenes AFM para los SPAuE sin modificar, modificado por SD y posterior inmovilización con CD7. Se midió un área de $100 \times 100 \mu\text{m}$ a una velocidad de 0,1 líneas por segundo ($10 \mu\text{m/s}$) utilizando una resolución de 500 puntos por línea (X) y 500 líneas (Y) en modo tapping.

4.4 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE LOS ANALITOS FRENTE A LOS ELECTRODOS MODIFICADOS

Se prepararon soluciones stock de paraquat (PQ) y propanil (3,4-DPA) de la manera descrita en la sección 4.2.1. Se tomaron las alícuotas correspondientes para preparar soluciones de estos analitos a 0,1 mM tanto en B-F como en B-BR (descritos también en la sección 4.2.1) con el fin de realizar los siguientes estudios.

Analizando el comportamiento catódico y anódico para ambos analitos, se determinaron los procesos redox, realizando VC, y a su vez, se realizó la comparación del comportamiento por VPD.

El estudio de pH se llevó a cabo utilizando un electrodo de Au por medio de VC y VPD para soluciones 0,3 mM de PQ y 0,3 mM de 3,4-DPA, tanto en B-F como en B-BR 0,1 M a distintos intervalos de pH como indica la

Tabla 5.

Tabla 5. Intervalos de pH para PQ y 3,4-DPA.

ANALITO	B-F	B-BR
<i>Paraquat</i>	–	6 – 10
<i>Propanil</i>	5 – 9	4 – 9

- Estudio de parámetros analíticos en sistema batch

Se realizó una curva de calibrado por medio de Titulación Amperométrica (TA) en una celda electroquímica de 3 electrodos con un volumen inicial de 10 mL de buffer. Las mediciones se llevaron a cabo aplicando un potencial constante de $-1,00$ V para PQ y $+1,25$ V para 3,4-DPA (vs. $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(3M)}$). Cada solución se purgó por 15 minutos como mínimo antes de introducir en la celda. Luego se añadió 10 mL de la solución en la celda y se procedió a realizar TA bajo constante agitación. Se obtuvo la curva de calibrado para cada pesticida por separado. Una vez cumplido el tiempo de estabilización del sistema, se añadieron 50 μL de las respectivas soluciones patrones cada 50 segundos, 8 mM de PQ (en B-BR 0,1 M pH 10) y 5 mM de 3,4-DPA (en 70% B-BR 0,1 M pH 5,0 y 30% de EtOH p.a.).

Las mediciones electroquímicas se llevaron a cabo por triplicado, utilizando electrodos de Au independientes, todos modificados al mismo tiempo. Los límites de detección (LoD) y de cuantificación (LoQ) se calcularon en base a las ecuaciones (**Ec. 3 y 4**) descritas por *Desimoni & Brunetti*⁸³, donde $\bar{\Delta i}$ es la desviación estándar promedio de la diferencia de corriente (ruido) de las amperometrías (en unidades de corriente: nA, μA , etc), y S es la sensibilidad obtenida de las curva de calibración.

$$LoD = 3,3 \times \frac{\bar{\Delta i}}{S} \text{ (Ec. 3)} \quad \text{y} \quad LoQ = 10 \times \frac{\bar{\Delta i}}{S} \text{ (Ec. 4)}$$

- Estudio de parámetros analíticos en sistema de flujo continuo

Se realizó la curva de calibrado mediante esta técnica para PQ y 3,4-DPA en forma independiente. Para ello se diseñó e implementó un sistema de flujo continuo con un caudal de 1,47 mL/min usando solución buffer correspondiente para cada analito, purgando con N₂ constantemente. Se estudiaron las mejores condiciones para la detección: estabilización del sistema, volumen de inyección de muestra, caudal o velocidad de la bomba, etc. En este sistema de flujo continuo, el SPAuE está dentro de una celda de acrílico específica para un sistema FIA como se muestra en la **Figura 15**, en donde el buffer y los patrones de diferentes concentraciones de los analitos inyectados llegan en un flujo continuo directamente a la superficie del electrodo, donde entonces se mantiene constante el volumen de solución.

Para realizar la curva de calibrado de los analitos por medio de FIA-TA, se usaron los 3 electrodos integrados en los SPAuE y se fijó un potencial constante de - 0,8 V para PQ y de +1,115 V para 3,4-DPA. Como el flujo en la celda es constante, se prepara un set de patrones con distintas concentraciones de los analitos en B-BR 0,1 M, pH 10,0 para PQ y pH 5,0 para 3,4-DPA, y fueron burbujeadas con N₂, los cuales serán cargados a la válvula de inyección manual e inyectados en intervalos de tiempo posterior a un tiempo de estabilización. Las medidas se realizaron en triplicado, en SPAuE sin modificar y modificados con CDs. Se determinaron los parámetros analíticos utilizando las ecuaciones 3 y 4 mencionadas anteriormente.



Figura 15. Válvula de inyección y Celda de acrílico específica para utilizar el sistema FIA-TA.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ELECTROREDUCCION DE SALES DE DIAZONIO EN SUPERFICIES DE ORO

Como se indicó en la sección 4.2.3, la modificación de los electrodos se realizó en secuencia de 4 etapas. La primera etapa corresponde a la electroreducción de la sal de diazonio sobre la superficie de oro, quedando esta etapa denominada como **Au/AB** y **SPAu/AB**. Esta se llevó a cabo *in-situ* registrando las voltametrías cíclicas en presencia de 5 mM de *p*-ABA y 5 mM de NaNO₂ en HCl 0,5 M (Como se explicó en la sección 4.2.3, parte 1). La **Figura 16** muestra en el primer barrido catódico, un pico de reducción irreversible en $E_{p,c} \approx 0,15$ V que corresponde a la reducción de la sal de 4-carboxifenil diazonio al radical 4-carboxifenilo. La desaparición de este pico de reducción en los posteriores barridos es consistente con la formación de capas injertadas, que restringen una mayor reducción electroquímica del catión carboxifenil diazonio al inhibir la transferencia de electrones desde la superficie del electrodo al catión diazonio en solución³⁷. Otra evidencia que se puede observar a simple vista es un leve cambio de tonalidad en la superficie del electrodo de trabajo en el SPAuE, quedando un tono más oscuro después de la modificación (**Fig. 17**). Esto sugiere la formación de una película orgánica en las superficies del electrodo³⁵.

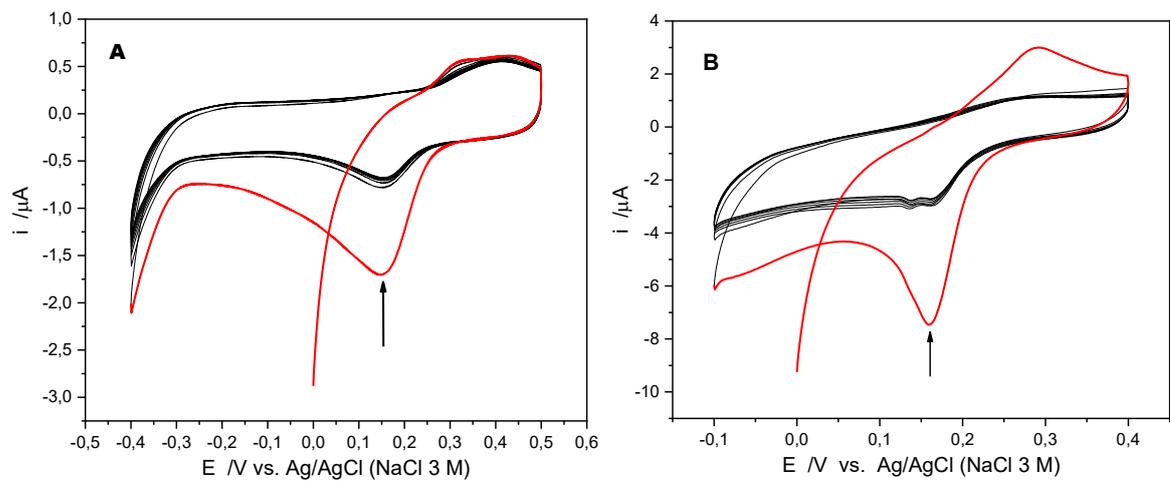


Figura 16. Electroreducción de SD sobre electrodo de Au (A) y SPAuE (B), donde (—) corresponde al primer barrido aplicado.

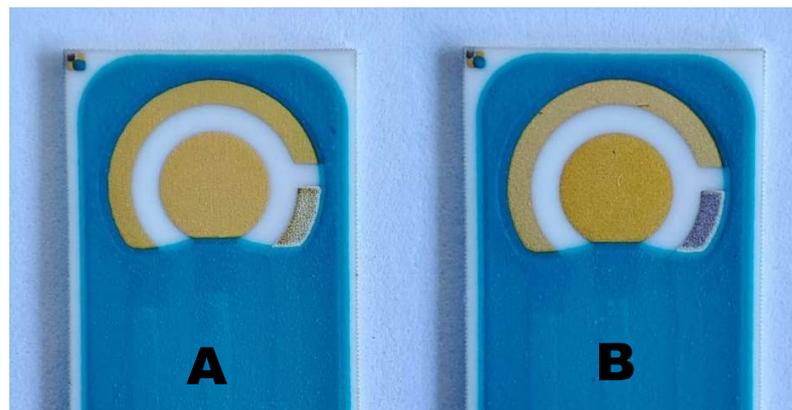


Figura 17. Imágenes de SPAuE sin modificar (A) y modificado con AB (B).

5.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS SUPERFICIES DE ORO MODIFICADAS CON AMINO-B-CICLODEXTRINAS

Para lograr la inmovilización de las amino- β CDs, posterior al injerto de AB a la superficie de oro, es necesario activar los grupos $-\text{COOH}$ terminales del arilo unido covalentemente al oro por medio de la reacción EDC+NHS. Esta etapa se denomina: **Au/AB/E+N** y **SPAu/AB/E+N**. La tercera etapa corresponde a la unión covalente de la amino- β CDs (CDs = CD7 o CD7Me), a través de la formación del enlace amida entre los $-\text{COOH}$ activados en la etapa anterior y los $-\text{NH}_2$ ubicados en el borde estrecho de las ciclodextrinas hepta-aminadas. Esta etapa queda denominada como: **Au/AB/CDs** y **SPAu/AB/CDs**. Como última etapa, se realizó el bloqueo de los $-\text{COOH}$ activados que no reaccionaron con las amino- β CDs. Este bloqueo se realizó con EtN y los electrodos se denominan: **Au/AB/CDs~EtN** y **SPAu/AB/CDs~EtN**.

La caracterización de las superficies considera entonces, un estudio en cada una de estas etapas utilizando diferentes técnicas a modo de verificar la modificación de la superficie en cada etapa y la inmovilización de las amino- β CDs.

5.2.1 Voltametría cíclica (VC)

Se estudió la presencia de una película en la superficie del electrodo de Au utilizando VC utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 1 mM en B-BR 0,1 M pH 8,0 como mediador redox, debido a que al ser una estructura molecular voluminosa (más

grande que la cavidad de las amino- β CD) y alta densidad de carga, no forma complejos de inclusión. En la **Figura 18** A y B se observan los perfiles voltamétricos del par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ sobre la superficie de Au en cada etapa de la modificación. El voltamograma cíclico de ferricianuro sobre Au (línea negra, —) muestra las señales características de un proceso redox reversible bien definido del par redox, con un ΔE_p de 77 ± 4 mV.

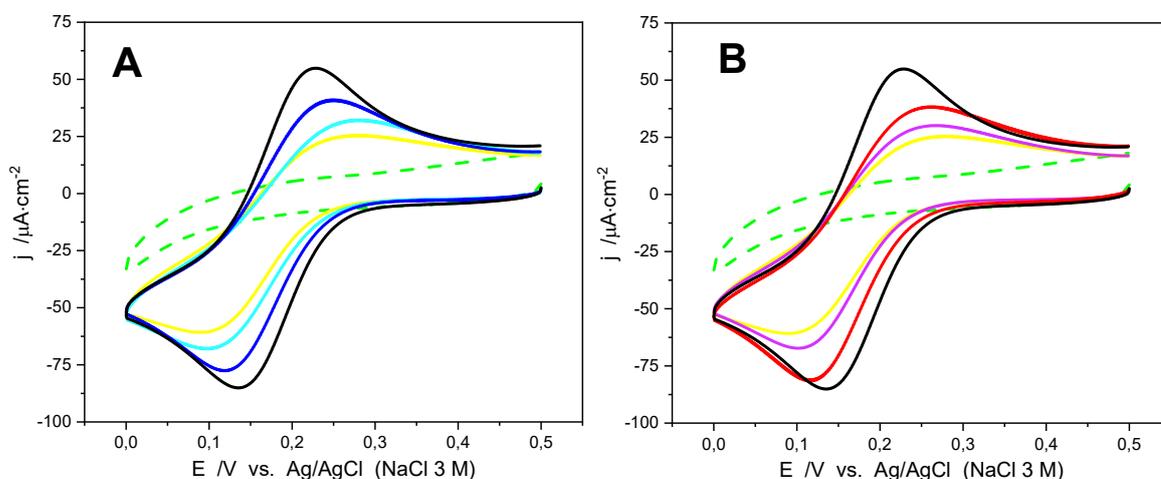


Figura 18. VC de 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, sobre superficie Au (—), Au/AB (— — —), Au/AB/E+N (—) en ambas figuras. (A): Au/AB/CD7 (—), Au/AB/CD7~EtN (—); (B): Au/AB/CD7Me (—), Au/AB/CD7Me~EtN (—). $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

Cuando la superficie es modificada con el injerto AB (Au/AB) (**Figura 18**, línea segmentada verde, — — —), se suprimen los procesos de oxidación o reducción en la misma ventana de potencial, lo que indica una velocidad muy lenta de transferencia de electrones, debido a la incorporación de una capa orgánica a la superficie de oro que bloquea entonces, la transferencia de electrones. Esta disminución de la velocidad de transferencia de electrones entre el electrodo y el mediador redox da lugar a un aumento en la separación de picos

(ΔE_p) junto con una disminución de corriente⁸⁴. Además, de acuerdo a lo descrito por *Weisser et al.*⁸⁵, es posible calcular el impedimento “**B**” que produce la superficie electródica modificada a la transferencia del par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ utilizando la ecuación 5:

$$B(\%) = \left(1 - \frac{j_{pc(mod)}}{j_{pc(Au)}}\right) \times 100 \quad (Ec. 5)$$

Donde $j_{pc(mod)}$ y $j_{pc(Au)}$ corresponde a la densidad de corriente de pico catódica del par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ sobre la superficie de Au modificada y sin modificar, respectivamente.

Los valores de los parámetros voltamétricos asociados al par redox junto al parámetro “**B**” en cada etapa de la modificación se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Parámetros voltamétricos asociados a los procesos redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ y valor de impedimento B(%).

Superficie	ΔE_p/ mV	j_{pc}/ $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$	j_{pa}/ $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$	B(%)
<i>Au</i>	77	77	57	—
<i>Au/AB</i>	—	—	—	—
<i>Au/AB/E+N</i>	128	56	16	26,9
<i>Au/AB/CD7</i>	139	63	23	17,6
<i>Au/AB/CD7Me</i>	121	64	22	17,0
<i>Au/AB/CD7~EtN</i>	109	73	40	5,5
<i>Au/AB/CD7Me~EtN</i>	116	74	36	3,4

Cuando la superficie se modifica con SD, Au/AB (**Figura 18**, línea (---)), no se observan picos en la misma ventana de potencial, lo que indica una velocidad muy lenta de transferencia de electrones, debido a la incorporación de una capa orgánica a la superficie de oro bloquea la transferencia de electrones.

Un aspecto importante por considerar es el pH con el cual fue caracterizada la superficie. Cuando el pH de la solución es mayor que el pKa de la superficie ($\text{pH} > \text{pKa}$), los grupos ácidos carboxílicos en la película Au/AB son disociados y la carga en la superficie es negativa (**Figura 19**).

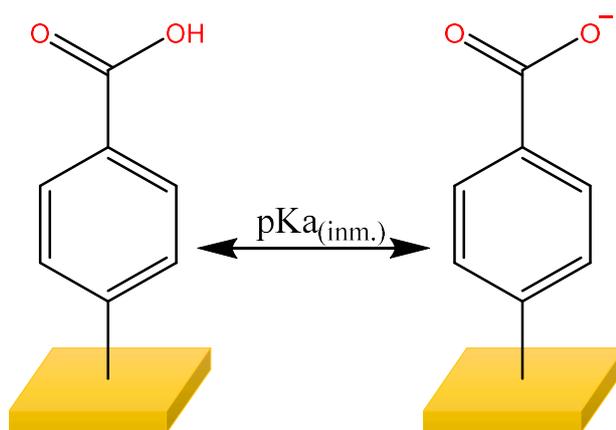


Figura 19. Equilibrio ácido-base de AB inmovilizado en Au.

*Abacioğlu y colaboradores*⁸⁶ inmovilizaron ácido benzoico (**AB**) sobre una superficie de oro vía reducción de la SD generada por síntesis orgánica a partir del *p*-ABA con el objetivo de determinar las constantes de acidez obtenidas por métodos electroquímicos y AC, y comparar estas constantes con las constantes de acidez del AB en solución ($\text{pKa} = 4,20$)⁸⁷. Ellos determinaron que el pKa de la

superficie Au/AB es en promedio 4,19, por lo que el valor no varía en comparación al AB disuelto en solución.

Por lo tanto, a pH 8,0 los grupos carboxílicos del AB se encuentran desprotonados, provocando que la película orgánica generada se encuentre cargada negativamente. La disminución de los valores de j_{pa} y j_{pc} (ver **Tabla 6**) en la superficie modificada con AB se atribuye a la incapacidad que tiene el ferricianuro de aproximarse a la superficie debido a repulsiones electroestáticas, anulando la transferencia electrónica⁸⁸.

En la segunda etapa de modificación, la superficie se hace reaccionar con EDC+NHS (Au/AB/E+N). Como se observa en la **Figura 18** se produce una recuperación parcial de la reversibilidad del proceso redox con un ΔE_p de 128 mV y un aumento de las densidades de corriente anódica y catódica, con respecto a la superficie Au/AB. Esto se debe a la neutralización de la carga negativa de la película orgánica de la superficie, al formar el éster succidimilo descrito en la **Figura 14**. De este modo, el terminal $-\text{COO}^-$ queda bloqueado, eliminando parcialmente la repulsión electroestática entre el par redox y la superficie de oro modificada.

La tercera etapa, correspondiente a la incorporación de amino- β CDs, da como resultado un subsecuente aumento de la reversibilidad del proceso redox, sin haber mayores diferencias entre las CDs estudiadas. Como se observa en la **Tabla 6**, los valores de j_{pc} y j_{pa} prácticamente no varían. De la misma manera, el impedimento calculado (17,63% para CD7 y 17,02% para CD7Me) prácticamente no varía.

En la última etapa de modificación, al realizar el bloqueo de la superficie modificada con EtN, prácticamente se recupera la reversibilidad del proceso. Esto se ve reflejado en los bajos valores de impedimento calculados para ambas CDs (5,53% para CD7~EtN y 3,42% para CD7Me~EtN).

De esta forma, como técnica de caracterización de superficies, voltametría cíclica demostró ser rápida y precisa a la hora de entregar información preliminar, permitiendo evaluar y corroborar los cambios a nivel superficial de los electrodos, en cada etapa de la modificación de una manera sencilla y confiable.

5.2.2 Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS)

Las diferentes etapas de modificación de la superficie también fueron caracterizadas por EIS. Esta es una técnica efectiva para estudiar propiedades de barrera durante el transcurso de la construcción de la superficie. Los espectros de impedancia o diagramas de Nyquist son representados por Z' vs Z'' , donde Z' (Z real) es la resistencia de doble capa y la Z'' (Z imaginaria) es la capacitancia. Estos diagramas están constituidos por una región semicircular y una región lineal. La parte semicircular a frecuencias altas representan el proceso de resistencia a la transferencia de carga que ocurre en la interface electrodo/electrolito, y la porción lineal representa al proceso de resistencia a la difusión⁸⁹. El circuito equivalente de Randles mostrado en la **Figura 20** fue seleccionado para reflejar el proceso electroquímico que ocurre en la celda

electroquímica, debido a que este describe los procesos de los electrodos cuando la cinética y la difusión son importantes⁹⁰. El circuito equivalente incluye la resistencia óhmica de la solución electrolítica (R_s), la impedancia o coeficiente de Warburg (Z_w) resultante de la difusión de los iones del seno de la solución hacia la interface, la capacitancia de la doble capa del electrodo (C_{dl}) y la resistencia a la transferencia de carga (R_{ct}), que depende de las propiedades dieléctricas y aislante de la interfaz. Esta técnica entonces, es capaz de distinguir entre los efectos de la resistencia de la solución, la carga de la doble capa, las corrientes de difusión, la cinética de transferencia de electrodos y otros procesos que tienen lugar en la interface^{91,92}.

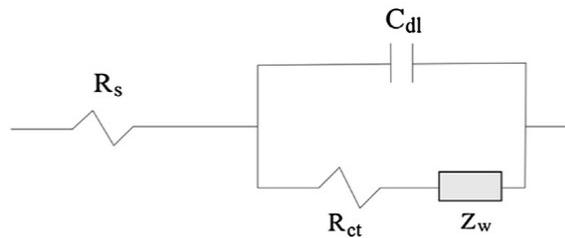


Figura 20. Circuito equivalente de Randles.

Los datos obtenidos de EIS también pueden ser representados en coordenadas polares en los diagramas de Bode, donde se representa el ángulo fase (Φ) en función del logaritmo de la frecuencia. Este tipo de gráficos muestra una gaussiana el cual corresponde al semicírculo a frecuencias más altas, y una pendiente de aproximadamente 45° que va a bajas frecuencias, en donde aparecen los efectos de transferencia de masa. Φ expresa el equilibrio entre los componentes capacitivos y resistivos en el circuito, que corresponden en los

diagramas de bode a los máximos y mínimos, respectivamente. En un sistema ideal, para una resistencia pura $\phi = 0^\circ$, para una capacitancia pura $\phi = -90^\circ$ y para mezclas, se observan valores de ϕ intermedios⁹³.

Se utilizó EIS para detectar las propiedades interfaciales para cada etapa de la modificación utilizando como mediador redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ a una concentración de 1 mM en B-BR 0,1 M pH 8,0. En la **Figura 21**, se observan los diagramas de Bode del mediador redox sobre las distintas superficies. En los casos de los electrodos modificados con amino- β CDs (\blacktriangle y \blacktriangledown), en la región de difusión a baja frecuencia se alcanzan valores menores a 45° lo cual indicaría una difusión lineal semi-infinita con contribución de difusión radial, lo cual se explicaría ya que las superficies modificadas presentan una mayor rugosidad (o menor homogeneidad) en la superficie de los electrodos, en comparación a la superficie de oro (\blacksquare). Sobre esta misma, se observa un valor de ϕ cercano a 45° lo cual indicaría una difusión lineal semi-infinita.

El primer mínimo en los diagramas de Bode para todas las superficies aparece entre 4 y 3,5 (en una zona de alta frecuencia), el cual corresponde a la R_s .

El segundo mínimo, entre 1 y 0, corresponde a la R_{ct} . En el caso del electrodo modificado Au/AB (\bullet), esta zona no logra definirse del todo presentando el segundo mínimo a valores más negativos que - 2. De todas maneras, el semicírculo en su diagrama de Nyquist (**Figura 22** (\bullet)) logra definirse.

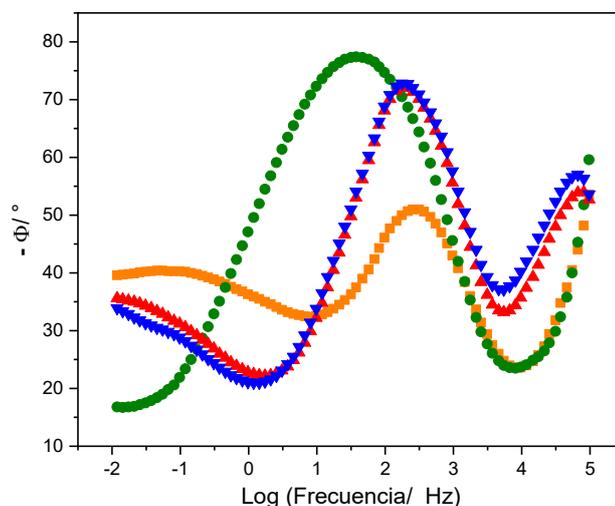


Figura 21. Diagrama de Bode de los electrodos: Au (■), Au/AB (●), Au/AB/CD7~EtN (▲), Au/AB/CD7Me~EtN (▼). 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

La **Figura 22** muestra las mediciones impedimétricas representadas en el diagrama de Nyquist para el electrodo de Au (■), Au modificado con AB (●) y Au modificado con ambas amino- β CDs (▲ y ▼). De acuerdo con lo visto en los diagramas de Bode y lo observado en este diagrama, a altas frecuencias los procesos están controlados por transferencia de carga, mientras que a baja frecuencia se observa una pendiente en los diagramas de Nyquist, indicando que este proceso está controlado por transferencia de masa. El semicírculo observado muestra la impedancia producida por el acoplamiento de la R_{ct} con la C_{dl} a altas frecuencias, y la línea recta a la Z_w observada a bajas frecuencias⁹³.

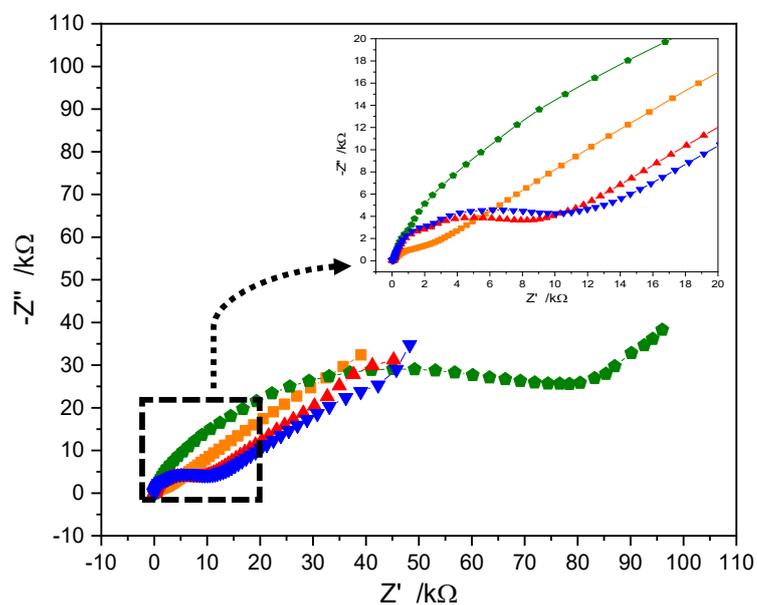


Figura 22. Diagrama de Nyquist de los electrodos: Au (■), Au/AB (●), Au/AB/CD7~EtN (▲), Au/AB/CD7Me~EtN (▼). 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0, $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

Para el diagrama de Nyquist correspondiente a la superficie de Au (**Figura 22** (■)), se observa un diminuto semicírculo y una larga línea recta, lo cual nos dice que el proceso está controlado por difusión en gran parte del proceso. Cuando se modifica la superficie con el injerto AB (**Figura 22** (●)), el radio del semicírculo es notoriamente el mayor, lo cual indica un gran bloqueo a la transferencia de carga del par redox hacia la superficie, debido a la formación de una capa orgánica. Al incluir las amino- β CDs, nuevamente el semicírculo disminuye.

Tabla 7. Valores de R_{ct} y R_s en cada etapa de la modificación utilizando $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ en B-BR 0,1 M pH 8,0. $v = 0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

Superficie	$R_{ct}/ \text{k}\Omega$
<i>Au</i>	$1,96 \pm 0,9$
<i>Au/AB</i>	$79,6 \pm 4,2$
<i>Au/AB/E+N</i>	$18,6 \pm 2,9$
<i>Au/AB/CD7</i>	$10,5 \pm 1,1$
<i>Au/AB/CD7Me</i>	$15,7 \pm 4,8$
<i>Au/AB/CD7~EtN</i>	$7,5 \pm 0,7$
<i>Au/AB/CD7Me~EtN</i>	$8,6 \pm 0,9$

Los valores de R_{ct} fueron obtenidos a partir de los semicírculos y se encuentran indicados en la **Tabla 7**. El aumento en la R_{ct} cuando se incluye la película orgánica de AB sobre el oro se produce debido a repulsión electrostática entre los grupos $-\text{COO}^-$ (**Figura 19**) y la carga negativa del par redox. Al activar estos terminales carboxílicos con la reacción EDC/NHS, se bloquean estos grupos, provocando la disminución de la repulsión electrostática, y por ende, la disminución del valor de la R_{ct} para esta superficie. Al inmovilizar amino- β CDs sobre la superficie, hay un aumento del valor de la R_{ct} con respecto a la superficie de Au debido al efecto de bloqueo de las superficies modificadas.

Al comparar los diagramas de Nyquist entre las superficies modificadas con amino- β CDs, no se aprecian grandes diferencias, solamente un leve aumento de la R_{ct} en la CDs metilada, esto debido a los grupos metoxilos ubicados en el borde ancho de la estructura generarían un mayor bloqueo en comparación a tener solamente grupos $-\text{OH}$ en el borde ancho como lo es en el

caso de la CD7. También se observa una tendencia de una menor R_{ct} en las superficies que se encuentran desactivadas con EtN. Esto se explicaría debido a que posiblemente hayan quedado moléculas activadas el tipo éster-NHS al inmovilizar las amino- β CD, las cuales provocarían una mayor repulsión debido a la carga superficial junto a un efecto bloqueo debido al tamaño de NHS. Estos efectos se eliminarían al desactivar estas especies con EtN (**Figura 23**), debido a la introducción del grupo $-OH$ que reduce aún más la carga superficial, lo que provoca una disminución en los valores de R_{ct} ^{81,89}.

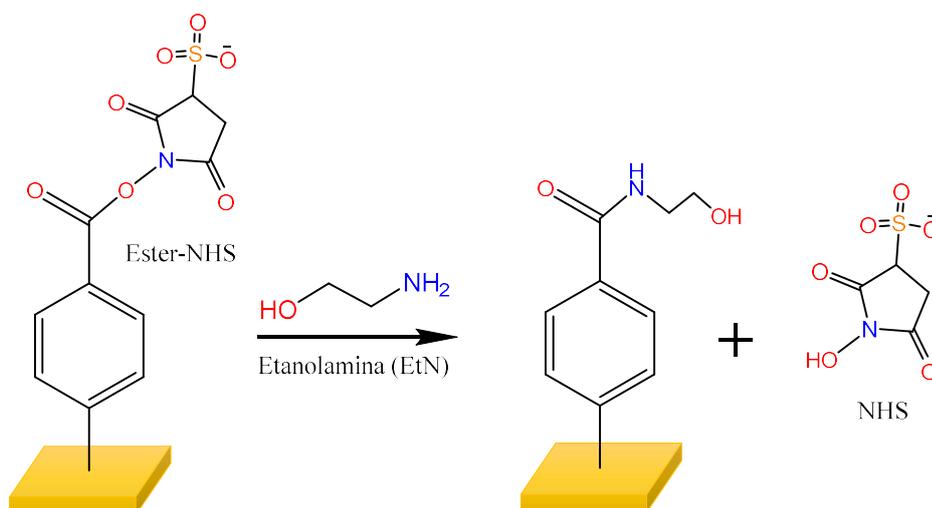


Figura 23. Desactivación del éster-NHS con EtN.

Estos resultados, sumados a los vistos por la caracterización por VC, demuestran primero, un efectivo injerto de una película orgánica de AB, ya que en ambas técnicas se observó el bloqueo a la transferencia de carga entre la superficie y la sonda redox. Y segundo, en ambas técnicas se recupera la superficie al inmovilizar las amino- β CDs al disminuir el valor de R_{ct} y el impedimento **B**.

5.2.3 Espectroscopia Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

La espectroscopía fotoelectrónica de Rayos X o por sus siglas en inglés XPS, es una técnica poderosa para la investigación de la superficie. Esta técnica es capaz de descubrir información química relacionada con la interacción de distintos elementos de reconocimiento en regiones superficiales y cercanas a la superficie del dispositivo, generalmente sin ninguna preparación previa y nula degradación de las muestras⁹⁴. La **Figura 24** recoge los espectros generales registrados de las muestras fabricadas sobre electrodos serigrafiados SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me. Los espectros son muy similares entre sí: presentan intensas señales correspondientes a oro, carbono, oxígeno y señales muy débiles correspondientes a nitrógeno. La **Tabla 8** contiene las concentraciones atómicas relativas obtenidas de dichos espectros.

Tabla 8. Concentraciones atómicas obtenidas de los espectros generales de XPS.

Superficie	Oxígeno % at.	Carbono % at.	Nitrógeno % at.	Oro % at.
<i>SPAu/AB/CD7</i>	18	68	4	10
<i>SPAu/AB/CD7Me</i>	17	73	2	8

Los resultados no muestran diferencias significativas entre las muestras estudiadas. La concentración de oro es similar en ambas muestras lo que indica que el porcentaje de recubrimiento del electrodo por las ciclodextrinas es aproximadamente el mismo en todos los casos. Es destacable el bajo porcentaje

de oro presente en las muestras, indicando que el grado de recubrimiento de la superficie de oro es mayor al reportado para superficies de oro modificadas con amino- β CDs inmovilizadas por medio de formación de monocapas autoensambladas (SAMs) de ácido 4-mercaptobenzoico (MBA)⁹⁵.

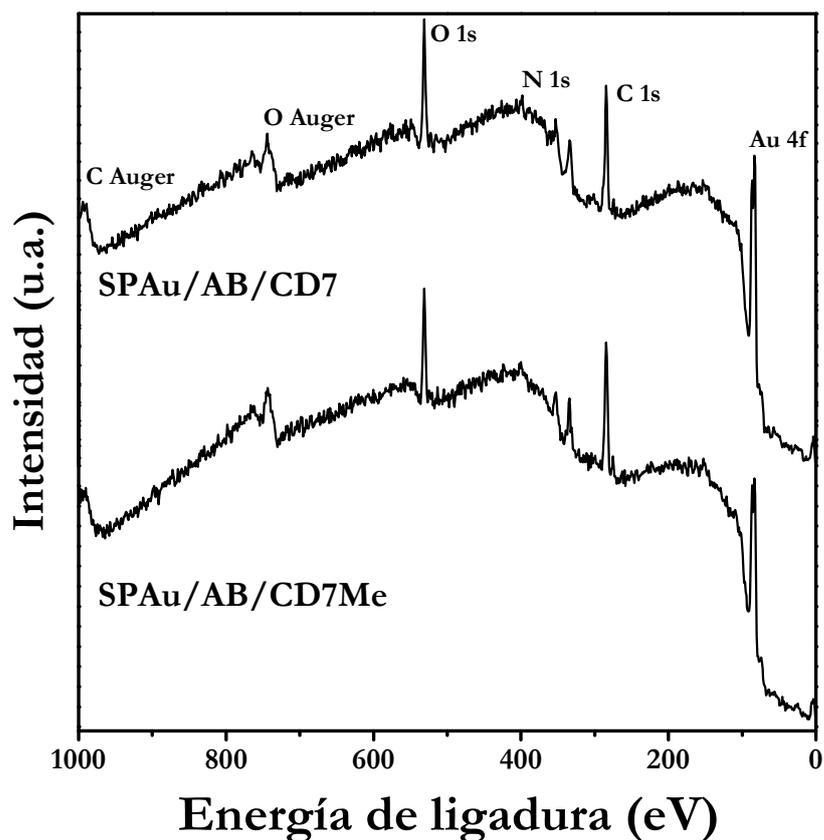


Figura 24. Espectros generales XPS de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.

También se obtuvieron los espectros de alta resolución de ambas superficies estudiadas correspondientes a los niveles electrónicos Au 4*f*, C 1*s* y al N 1*s* los cuales se muestran en las **Figuras 25, 26 y 27** respectivamente.

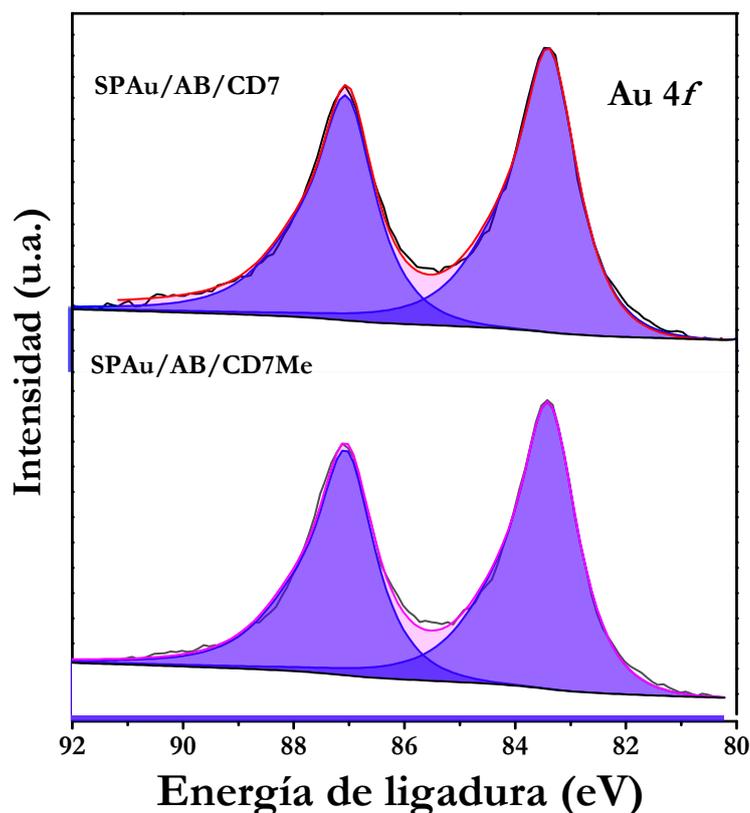


Figura 25. Espectros Au 4f de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.

Los espectros Au 4f mostraron la presencia de un doblete a 83,4 y 87,2 eV correspondiente a Au 4f_{7/2} y Au 4f_{5/2} respectivamente, con una distancia entre pico de 3,8 eV lo cual es característico para Au en estado de oxidación cero⁹⁶. Según lo recopilado por Li y colaboradores⁹⁷, la observación de un enlace Au-C es poco probable debido a que las energías de ligadura para los picos Au 4f corresponden exclusivamente a oro metálico (Au(0)) y no a su estado oxidado, por ende, no se podría tener evidencia de la formación de un enlace Au-C o Au-N=N-C. Esto es atribuido por varios autores a la baja polaridad del enlace Au-C, provocando que su señal probablemente se fusione con la señal correspondiente al enlace C-C^{35,37}.

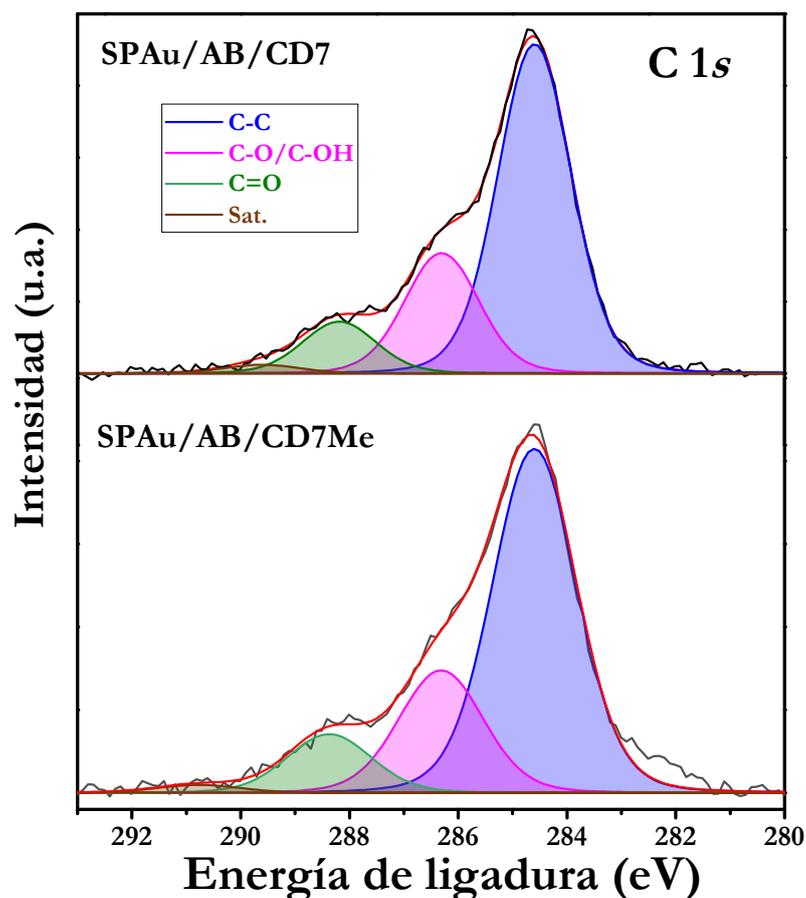


Figura 26. Espectros C 1s de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.

Los espectros C 1s mostraron la presencia de cuatro componentes situadas a 284,6 eV, 286,5 eV, 288,5 eV, and 290,3 eV que pueden asociarse, respectivamente, con la presencia de especies C-C, C-O/C-OH, O-C-O/C=O y satélite π - π^* . Los espectros son prácticamente idénticos entre sí y muy semejantes a los observados previamente en sistemas relacionados⁹⁵. La **Tabla 9** recoge la cuantificación de las diferentes contribuciones para las cuatro superficies examinadas.

Tabla 9. Concentraciones relativas de las diferentes contribuciones a los espectros C 1s

Superficie	C-C, %	C-OH/C-O, %	O-C-O/C=O, %	Satélite, %
<i>SPAu/AB/CD7</i>	65	23	10	2
<i>SPAu/AB/CD7Me</i>	64	23	11	2

Al igual que en previos estudios en ciclodextrinas inmovilizadas sobre oro⁹⁵ el espectro N 1s se ajusta a tres componentes: una situada a 398,9 eV, característica de enlaces amina, otra a 399,9 eV, correspondiente a enlaces amida, y una tercera a 401,9 eV que corresponde a nitrógeno cuaternario.

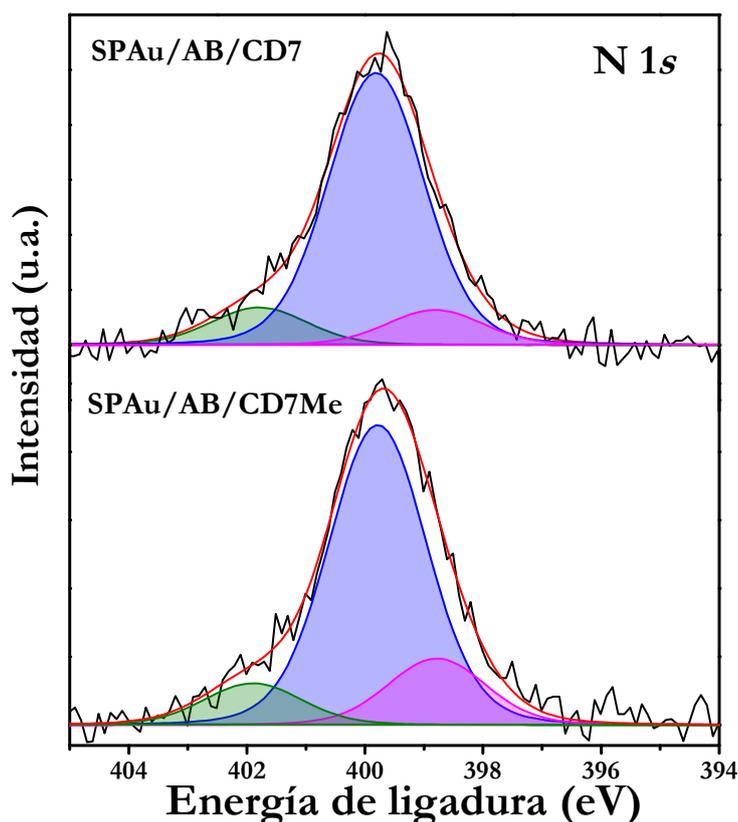


Figura 27. Espectros N 1s de las superficies SPAu/AB/CD7 y SPAu/AB/CD7Me.

La presencia de enlaces amida es una prueba definitiva del anclaje de las ciclodextrinas a la superficie del electrodo de oro gracias a la unión covalente de algunos de los grupos amino presentes en las amino- β CDs con el grupo carboxílico del ácido benzoico ensamblado al oro. La presencia de nitrógeno cuaternario ha sido también observada en trabajos previos⁹⁵ y no existe una clara explicación que justifique de modo inequívoco su presencia. Las contribuciones respectivas de cada componente se recogen en la **Tabla 8**. De acuerdo con los datos presentados, la concentración de enlaces amida es significativamente mayor en comparación a la concentración entregada por las otras contribuciones de nitrógeno, por lo que se puede afirmar que las amino- β CDs estudiadas se logran inmovilizar de modo efectivo sobre la superficie de oro de los electrodos serigrafados mediante la formación de enlaces amida.

Tabla 10. Concentraciones relativas de las diferentes contribuciones a los espectros N 1s.

Superficie	-NH₂, %	O=NH, %	(NH₃)⁺, %
<i>SPAu/AB/CD7</i>	11	78	11
<i>SPAu/AB/CD7Me</i>	17	73	10

Los resultados muestran que no hay diferencias significativas en el comportamiento de las amino- β CDs metiladas, al menos en el ámbito que se puede estudiar mediante XPS, respecto de aquellas no metiladas. Finalmente, los datos sugieren que el procedimiento de inmovilización de las amino- β CDs sobre los electrodos de oro ha sido más exitoso en el caso de los electrodos SPAuE dada la mayor concentración de enlaces amida encontrados sobre estas

muestras. Si bien no se puede encontrar evidencia de la formación del enlace Au-C, la confirmación de la presencia de los otros grupos funcionales asociados a la construcción de la superficie modificada y lo visto por EIS y VC, son evidencias suficientes para confirmar la presencia de una película orgánica de AB en la superficie de oro.

5.2.4 Angulo de Contacto (AC)

De acuerdo con lo ya descrito en los puntos anteriores, la inmovilización de las aminos- β CDs queda prácticamente confirmada. Sin embargo, hasta ahora no se ha logrado establecer una diferencia entre CD7 y CD7Me. Para demostrar esa diferencia, se realizaron medidas de ángulo de contacto en donde se depositó una gota de agua Milli-Q de 2 μ L sobre cada una de las superficies de los electrodos serigrafiados, SPAuE, antes y después de cada etapa de la modificación, y se determinaron los valores de ángulo de contactos (θ) de las superficies mencionadas. En la **Figura 28** se muestran las imágenes de la gota de agua Milli-Q depositada sobre los distintos SPAuEs y los valores de θ se registraron en la **Tabla 11**.

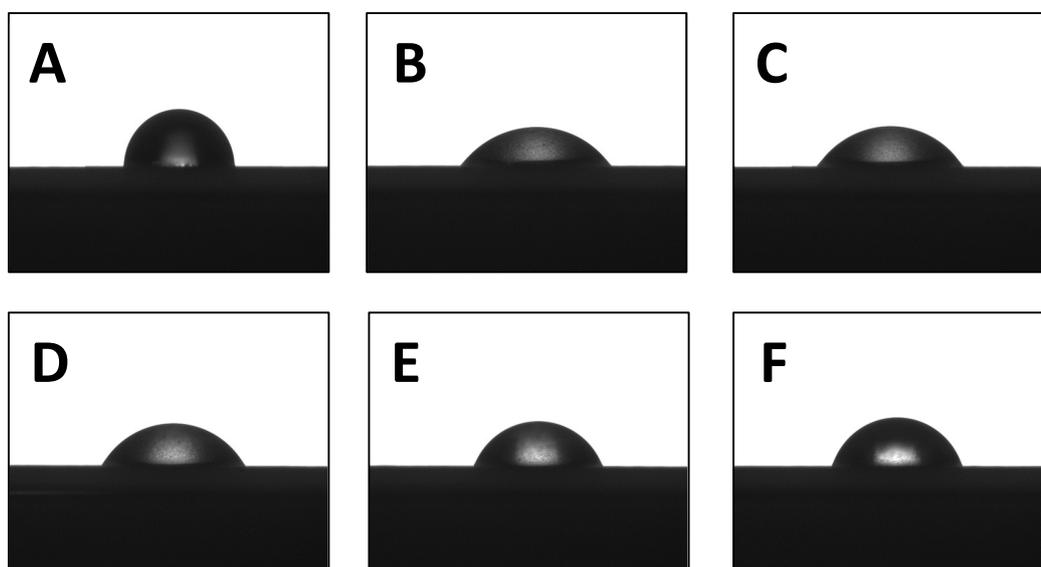


Figura 28. Caracterización de las superficies por ángulo de contacto. Imágenes de 2 μ L de agua Milli-Q sobre las superficies: SPAu (A), SPAu/AB (B), SPAu/CD7 (C), SPAu/CD7~EtN (D), SPAu/CD7Me (E), SPAu/CD7Me~EtN (F).

Se puede observar que la forma de la gota de agua depositada en las superficies SPAu y SPAu/AB (**Figura 28 A y B** respectivamente) varía considerablemente. El ángulo de contacto para la superficie SPAu sin modificar arroja un valor de θ de $82,2^\circ \pm 0,3^\circ$, lo cual está de acuerdo con el valor obtenido por *Zina y colaboradores* en una superficie de oro ($81^\circ \pm 1^\circ$)⁹⁸. Al modificar la superficie con AB y generar la película orgánica, el valor de θ decae significativamente ($48,9^\circ \pm 0,9^\circ$). Esto puede ser explicado por la presencia del grupo –COOH terminal expuesto hacia el aire, le confiere un carácter mucho más hidrofílico a la superficie comparada con la de SPAu^{81,99,100}. A partir de este último resultado se puede concluir que las moléculas de AB unidas covalentemente a la superficie de oro están efectivamente orientadas con el grupo ácido carboxílico hacia el aire.

Tabla 11. Valores de θ medidos al depositar una gota de 2 μ L de agua Milli-Q sobre las distintas superficies de oro.

	Superficie	$\theta / ^\circ$
A	SPAu	$82,2 \pm 0,3$
B	SPAu/AB	$48,9 \pm 0,9$
C	SPAu/AB/CD7	$53,9 \pm 0,6$
D	SPAu/AB/CD7~EtN	$58,2 \pm 0,5$
E	SPAu/AB/CD7Me	$66,5 \pm 0,3$
F	SPAu/AB/CD7Me~EtN	$70,5 \pm 0,4$

La **Figura 28 C→F** muestra las imágenes de la gota de agua sobre las superficies SPAu/AB/CDs (**C** y **E** sin EtN, **D** y **F** con EtN), donde los valores de θ se encuentran tabulados en la **Tabla 11 C→F**. Estos valores dan cuenta de la diferencia que hay entre las superficies que están modificadas con CD7 (-OH) y las que se encuentran modificadas con CD7Me (-OMe), pues se observan valores mayores de θ para esta última, independientemente si las superficies se encuentran con EtN. Los grupos metoxilos ubicados en el borde ancho de la cavidad de CD7Me (**Figura 8B**) inmobilizadas otorgan una hidrofobicidad mayor a la superficie debido a la naturaleza apolar que poseen estos grupos en comparación a los grupos hidroxilos de CD7.

De esta manera, se demuestra una diferencia de hidrofobicidad entre las 2 amino- β CDs inmobilizadas en las superficies de los electrodos serigrafados.

5.2.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizó la técnica de microscopía de barrido electrónico (SEM) con el objetivo de detectar diferencias en la morfología de las superficies de electrodos SPAu sin modificar con respecto a las superficies de SPAu modificadas con AB post reacción de electroreducción de SD (SPAu/AB) e inmovilización de una CDs (SPAu/AB/CD7). La superficie SPAu presentarían micropartículas de oro esféricas de diámetro de entre 1 a 2 μm , con distribución irregular incrustadas en un material oscuro menos conductor el cual corresponde a la base del sustrato del electrodo¹⁰¹ (**Figura 29 A, A'**). Al incorporar la película orgánica de AB a la superficie del electrodo serigrafiado de oro (**Figura 29 B y B'**) prácticamente no se observa una alteración de la superficie, sólo se podría mencionar una menor definición de los bordes de los gránulos de oro en contraste a las imágenes observadas para la superficie de SPAu. Esta “suavización” en los bordes de los gránulos presentes en la superficie daría cuenta de la deposición de moléculas de AB en estos espacios o surcos disponibles en la superficie del electrodo serigrafiado (SPAuE). La inmovilización de CD7 en la superficie tampoco altera la superficie (**Figura 29 C y C'**). Para obtener más información sobre los elementos químicos presentes en la superficies de estos electrodos se podría realizar en un futuro y de manera complementaria a SEM, la técnica de EDX¹⁵.

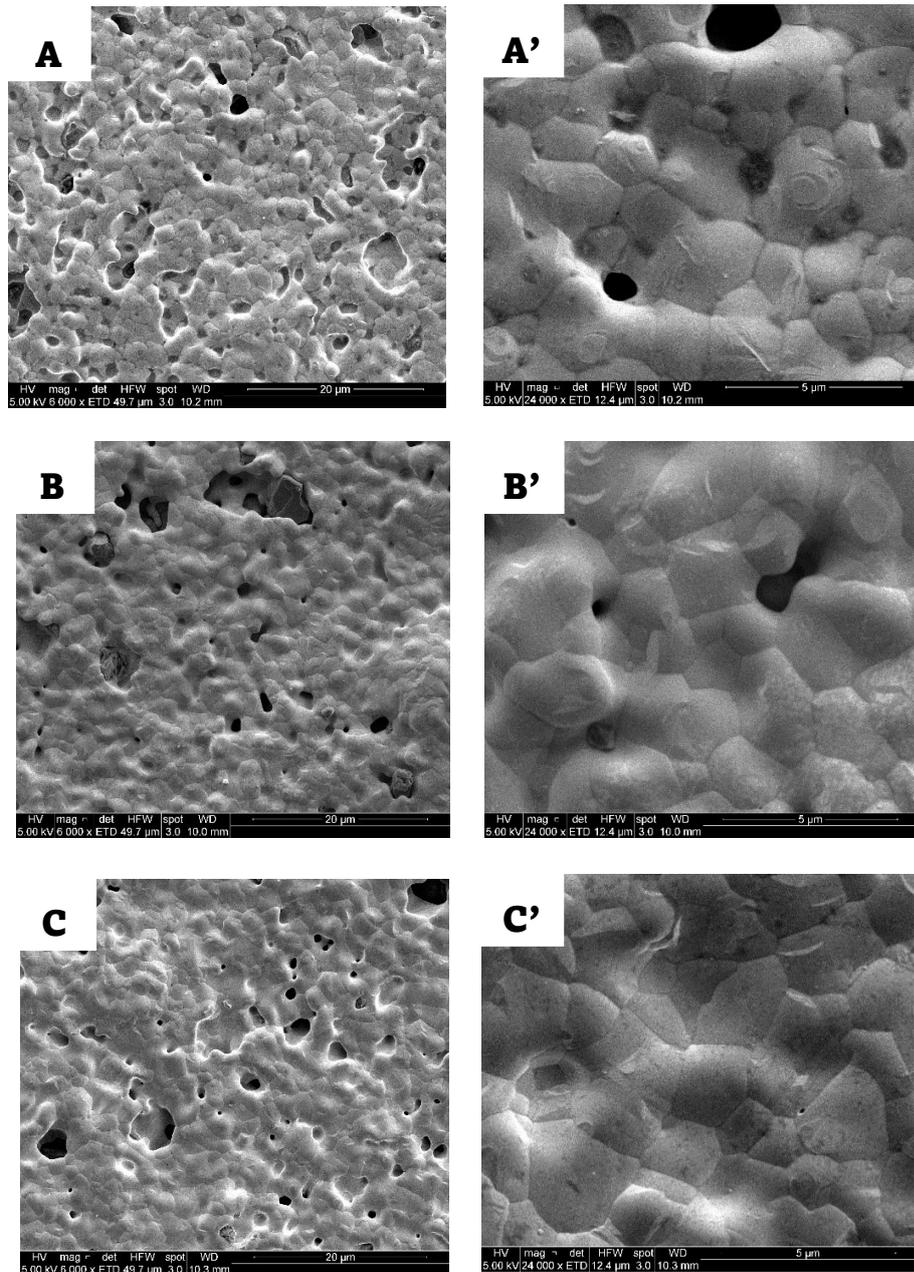


Figura 29. Imágenes SEM de SPAu (A, A'), SPAu/AB (B, B') y SPAuE/AB/CD7 (C, C') con magnificación de 6000 (A, B, C) y 24000 (A', B', C').

5.2.6 Microscopia de Fuerza Atómica (AFM)

Al día de hoy, la técnica AFM es también uno de los métodos más utilizados a la hora de analizar y comparar la topografía de un electrodo y las transformaciones que va teniendo este durante las distintas etapas de modificación¹⁰². Las imágenes 2D y 3D de AFM (**Figura 30**), muestran visualmente las diferentes rugosidades relacionadas a la superficie de oro de los electrodos serigrafiados sin modificar (SPAu), y modificados con AB por electroreducción de SD (SPAu/AB) y con CD7 inmovilizado (SPAu/AB/CD7). Se utilizó la raíz de la media cuadrática de las rugosidades (RMS roughness o Sq) y la Sq media (Sa) como indicadores para el análisis de rugosidad¹⁰³, así como la visualización de las imágenes en un área de 100 μm x 100 μm . El valor de Sa de la superficie SPAu fue de 674 nm, lo que es consecuente con el resultado obtenido por *Corrigan y colaboradores*¹⁰⁴, que reportaron un valor de Sa de 712 nm para un SPAu (modelo C223AT, DropSens). Ellos además concluyen que la rugosidad obtenida es esperable debido a que la superficie fue formada por la deposición de partículas de oro suspendidas en una tinta, lo que se traduce en una superficie razonablemente lisa con huecos aislados y regiones elevadas en la escala de los micrómetros. Similares resultados fueron obtenidos con los electrodos SPAu usados en esta tesis, como se muestra en la **Figura 30 A y A'**.

Los resultados mostrados en la **Tabla 12**, son consecuentes con los resultados obtenidos en la caracterización electroquímica (secciones 5.2.1 y 5.2.2), puesto que el electrodo SPAu sin modificar presenta una mayor rugosidad debido a las imperfecciones y surcos propios del electrodo, lo que se traduce en

una mayor área electroactiva disponible. Luego el electrodo pierde rugosidad al ser depositado una multicapa o película orgánica de AB, llenando estos surcos, traducido en la suavización de la superficie mostrado en las imágenes SEM de la sección 5.2.5. Finalmente, la superficie “recupera” área al ser inmovilizado CD7.

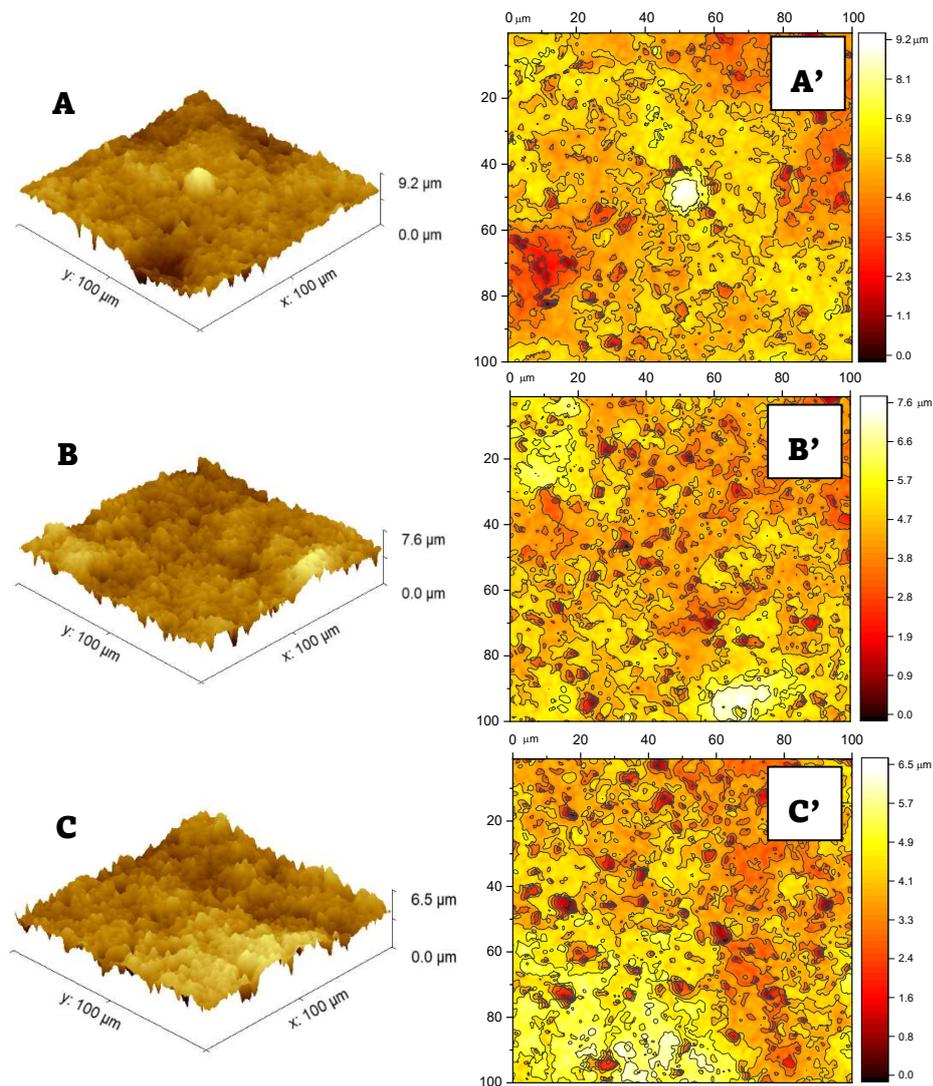


Figura 30. Imágenes AFM de las superficies SPAu (A, A'), SPAu/AB (B, B') y SPAu/AB/CD7 (C, C'). Imágenes topográficas 3D (A, B, C). Imágenes topográficas 2D (A', B', C').

Tabla 12. Valores de los parámetros de rugosidad de las distintas superficies

Superficie	Sq /nm	Sa /nm
SPAu	881 ± 1	676 ± 2
SPAu/AB	799 ± 10	598 ± 11
SPAu/AB/CD7	826 ± 11	633 ± 11

5.3 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE LOS ANALITOS FRENTE A LOS ELECTRODOS MODIFICADOS

Con el objetivo de establecer los parámetros analíticos en la metodología de la determinación de los pesticidas propuestos, primero se evaluó el comportamiento electroquímico que muestran estos pesticidas sobre los electrodos de oro modificados y sin modificar. Se evaluaron los límites de potencial y el efecto del pH, para definir los parámetros para realizar el estudio con las diferentes superficies. Se evaluó el comportamiento anódico y catódico de ambos analitos en buffer fosfato (B-F) y Britton Robinson (B-BR), por medio de VC y VPD al variar el pH (los límites de pH se indican en la **Tabla 5**).

5.3.1 Caracterización de propanil (3,4-DPA)

En la **Figura 31 A y B**, se muestran los voltamogramas cíclicos de 3,4-DPA sobre un electrodo de Au en B-F 0,1 M y B-BR 0,1 M a pH 5,0. En línea segmentada (---) se observa el voltamograma de Au en las mismas condiciones en ausencia de 3,4-DPA, donde se aprecia la señal correspondiente a la oxidación de oro entre 0,9 y 1,3 V, la que se reduce en el barrido inverso con un máximo en 0,6 V.

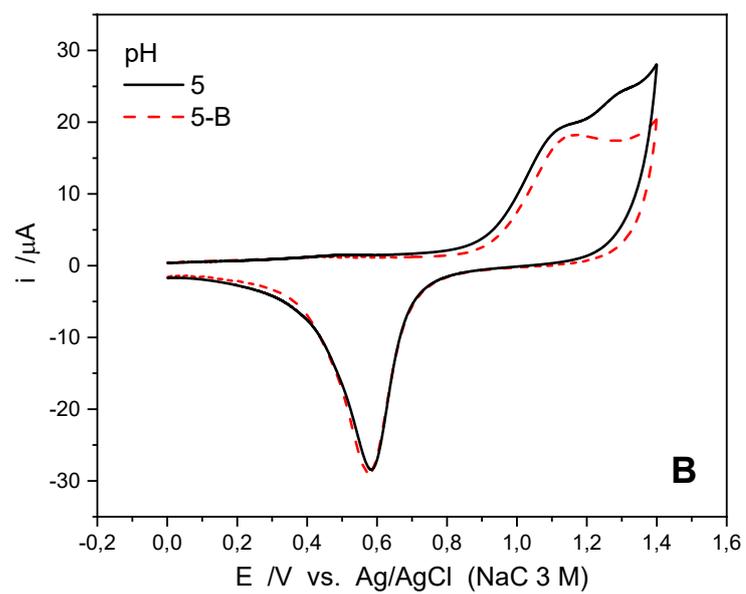
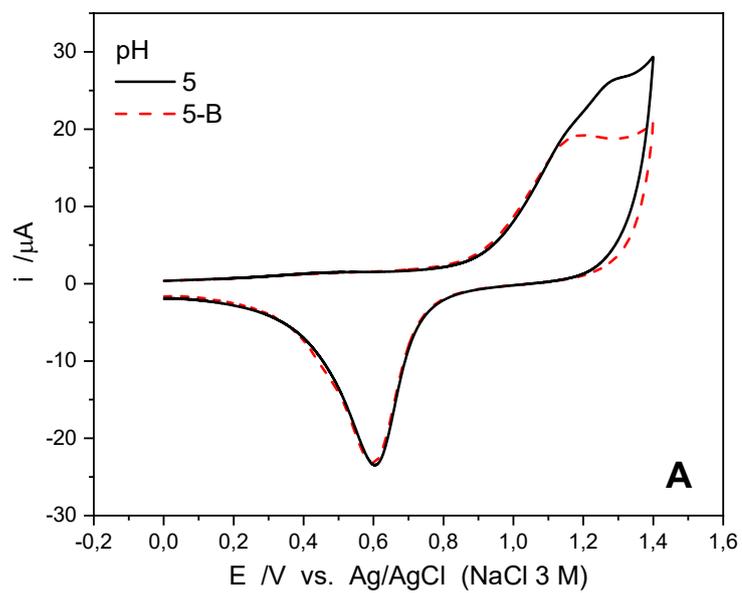


Figura 31. Voltamogramas cíclicos de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y B-BR 0,1 M (B) a pH 5, sobre un electrodo de Au.

En línea continua (—) se observa en $\sim 1,3$ V una señal de oxidación irreversible para 3,4-DPA, la que está asociada al átomo de nitrógeno de la amida presente en esta molécula^{50,105}. Esta señal tiende a desplazarse a potenciales más positivos, al ir tornándose más ácida la solución, provocando que esta señal se separe de la señal de oxidación del oro (**Figura 32 A y B**). Este efecto se aprecia en forma más clara en los voltamogramas de pulso diferencial (**Figura 33 A y B**). En éstos se ve claramente que ambas señales de oxidación, tanto del oro como de 3,4-DPA, se desplazan a potenciales más positivos a medida que disminuye el pH, logrando distinguirse una señal de la otra a un pH 5,0 (—) como se aprecia en el voltamograma de la **Figura 33 A y B**. No es recomendable aumentar más la acidez del medio ya que 3,4-DPA se mantiene estable en un intervalo de pH de entre 5,0 y 9,0¹⁰⁶.

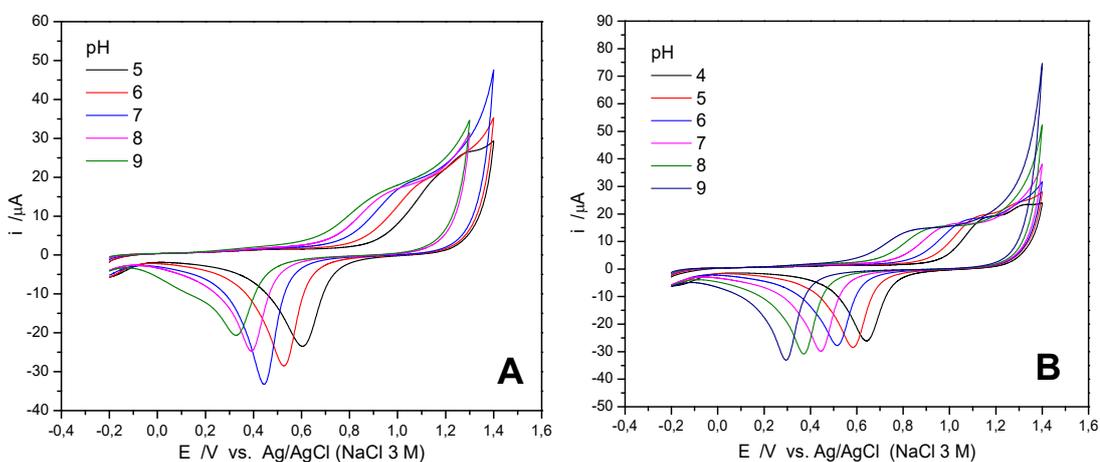


Figura 32. Voltamogramas cíclicos de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y B-BR 0,1 M (B) a distintos valores de pH, sobre un electrodo de Au.

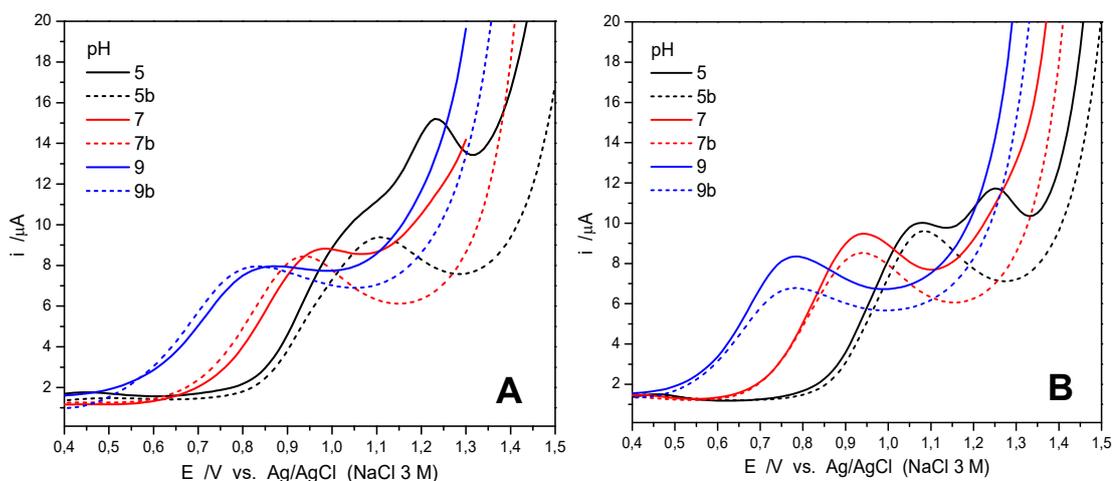


Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial de 3,4-DPA 0,3 mM en B-F 0,1 M (A) y en B-BR 0,1 M (B) a distintos valores de pH, sobre un electrodo de Au (Las líneas segmentadas en VPD corresponden al blanco).

Tomando en cuenta estos resultados, se estableció B-BR a pH 5,0 como medio para trabajar este pesticida, puesto que la molécula de 3,4-DPA se mantiene estable, y la señal de oxidación de este pesticida se distingue de la señal de oxidación del oro.

Por consiguiente, para realizar la curva de calibración según lo descrito en la sección 4.4, se utilizó B-BR 0,1 M pH 5,0 con un potencial fijo de +1,25 V.

5.3.2 Caracterización de paraquat (PQ)

De la misma manera que para 3,4-DPA, se realizó un estudio de pH para PQ. En la **Figura 34** se observa los voltamogramas cíclicos y de pulso diferencial de 0,5 mM de PQ en B-BR 0,1 M a distintos valores de pH. Se puede apreciar un pronunciado crecimiento de corriente al final del barrido de reducción el cual está asociado a la reacción electroquímica de evolución de hidrógeno (o HER por sus siglas en ingles). Esta reacción impide observar los procesos redox propios del PQ a pH neutros, afectando puntualmente al segundo proceso de reducción ($PQ^+ \rightarrow PQ^0$), mientras que, al tornar el pH más alcalino, esta reacción se desplaza hacia potenciales más negativos, favoreciendo la visualización de los procesos redox del PQ. Esto es debido a que la HER está asociada a la reacción de reducción del protón ($2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$) a pHs ácido-neutro el cual es un proceso que requiere un menor gasto energético en comparación a la reacción de disociación del agua ($2H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 + 2OH^-$) que ocurre a pH alcalinos¹⁰⁷. Esta disociación del agua en la interfaz del metal produce una barrera de energía adicional para la HER, provocando que la velocidad de reacción dependa de factores adicionales (interacción del agua y sus productos de disociación con el entorno electroquímico en la interfase metal-electrolito)¹⁰⁸.

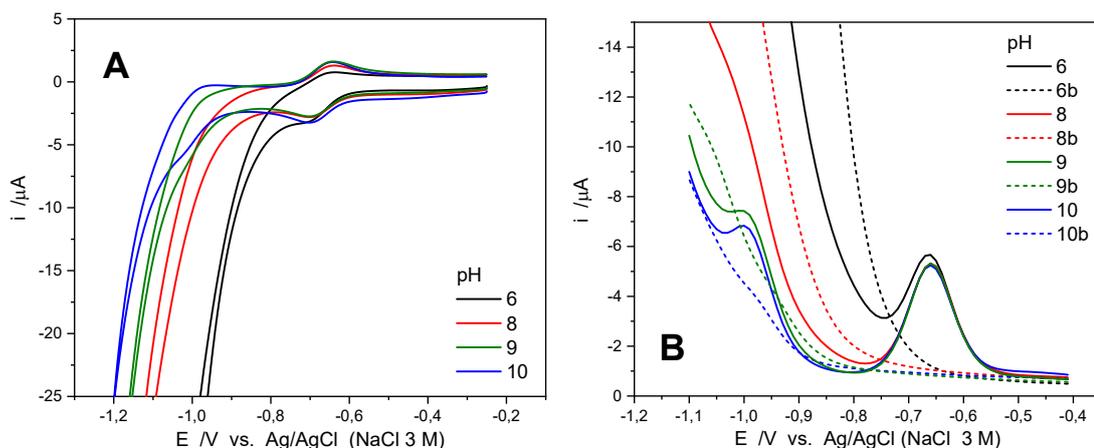


Figura 34. Voltamograma cíclico (A) y de pulso diferencial (B) de PQ 0,5 mM en B-BR 0,1 M a pH 6(—), 8(—), 9(—), 10(—) en electrodo de Au. (líneas segmentadas corresponden al blanco a cada pH)

En la **Figura 34 B** se puede apreciar que en condiciones pseudo alcalinas (pH 9 y 10) se presentan 2 picos de reducción, el primero con un máximo en $-0,66$ V y el segundo a $-1,00$ V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(3\text{M})}$, los cuales están asociados al par redox^{109,110}. El mecanismo de reacción se presenta en la **Figura 35**.

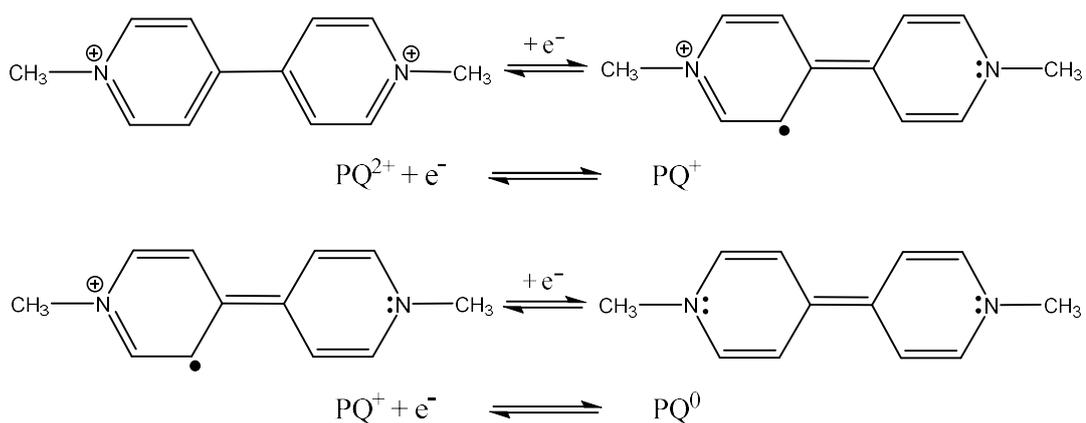


Figura 35. Mecanismo redox del PQ.

Entonces, considerando el mecanismo anterior, las señales observadas en la **Figura 34 B** corresponden a los procesos reversibles asociados a las transferencias monoelectrónicas de los pares PQ^0/PQ^+ y PQ^+/PQ^{2+} . El potencial de cada uno de estos procesos no depende del pH, por lo tanto, ambas señales pueden ser usadas para la determinación de PQ en condiciones de pseudo alcalinidad. Teniendo en cuenta que los dos procesos electroquímicos se observan a pH superior a 8,0 y que buffer fosfato es solución tampón hasta pH 8,0¹¹¹, este estudio de pH sólo se realizó con B-BR.

Hasta ahora, queda claro que al aumentar la alcalinidad en la solución se logra apreciar ambos procesos de reducción del PQ, pero... ¿Es necesario considerar el segundo proceso de reducción para detectar y cuantificar este pesticida? *Kim y colaboradores*¹¹² determinaron la constante de asociación (K_a) de PQ en cucurbit[7]urilo (CB7) el cual es un compuesto macrocíclico que posee una cavidad interna capaz de alojar moléculas hidrofóbicas cuyo tamaño es similar al de β CD. Lo interesante del trabajo de *Kim y colaboradores*, es que ellos además comparan los resultados obtenidos con respecto a un estudio anterior donde se obtuvo la K_a del complejo β CD-PQ¹¹³ (**Tabla 13**).

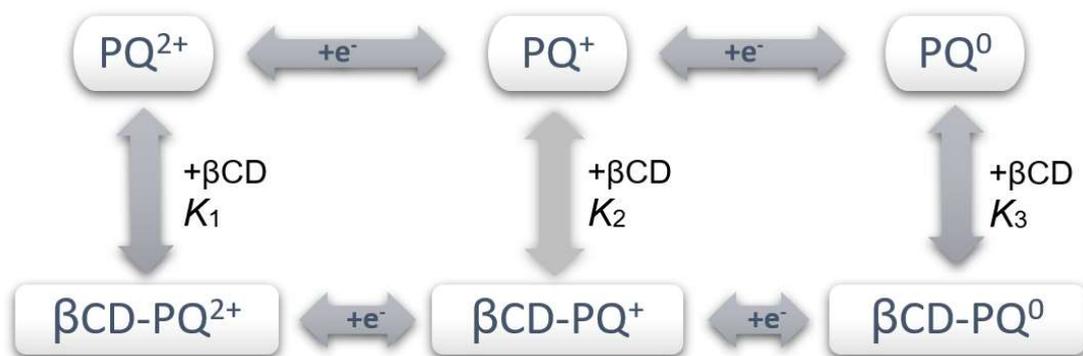


Figura 36. Equilibrio electroquímico en la formación del complejo de inclusión entre PQ y βCD .

Tabla 13. Constantes de asociación (K_a) de los diferentes complejos de inclusión entre PQ y los macrociclos (βCD y CB7).

Macrociclo	Constante de asociación (M^{-1})			Ref.
	K_1	K_2	K_3	
CB7	$2,0 \times 10^5$	$8,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^2$	112
βCD	0	30	$1,4 \times 10^3$	113

Ellos determinaron que PQ en su estado natural (PQ^{2+}) no es capaz de formar un complejo de inclusión con βCD , pero si lo hace con los CB7, debido a que estos macrociclos son más afines a moléculas que se encuentran cargadas. Caso contrario ocurre con la molécula de PQ totalmente reducida (PQ^0), dando a entender que βCD es más afín a moléculas que se encuentran en estado neutro.

Por lo tanto, para realizar la curva de calibrado según lo indicado en la sección 4.4, se utilizó B-BR 0,1 M a pH 10, a un potencial fijo de $-1,0$ V para el sistema en batch, y $-0,8$ V para el sistema en flujo debido a que los SPAuE poseen integrado su propio electrodo de referencia Ag, el cual desplaza los potenciales a valores menos negativos en comparación al electrodo de referencia Ag/AgCl.

5.3.3 Estudio de parámetros analíticos en sistema batch

Detección mediante Titulación Amperométrica de 3,4-DPA

Con lo concluido anteriormente por VPD, se utilizó B-BR 0,1 M pH 5,0 y se seleccionó un potencial fijo de $+1,25$ V vs Ag/AgCl_(3M) para la determinación amperométrica de 3,4-DPA. Como se mencionó en la sección 4.4, este experimento fue realizado en un sistema clásico de 3 electrodos utilizando Au (CHI 101) como electrodo de trabajo. Primero se agregó a la celda 10 mL de B-BR purgado previamente con N₂ por 15 min. Luego se agregaron a la celda alícuotas de 50 μ L de una solución stock de 5 mM de 3,4-DPA (1,25 mL del stock 3,4-DPA 20 mM + 0,25 mL de EtOH + 3,5 mL de B-BR 0,1 M pH 5,0 (70:30 Buffer/EtOH)) cada 50 segundos, obteniéndose un intervalo de concentración en la celda de 25 μ M a 145 μ M como lo detalla la **Tabla 14**.

Tabla 14. Valores de concentración de 3,4-DPA en la celda.

n	Tiempo adición s	Alícuota μL	V_{celda} Celda μL	$[\text{3,4-DPA}]_t$ μM
0	—	—	10000	0
1	950	50	10050	24,88
2	1000	50	10100	49,51
3	1050	50	10150	73,89
4	1100	50	10200	98,04
5	1150	50	10250	121,95
6	1200	50	10300	145,63

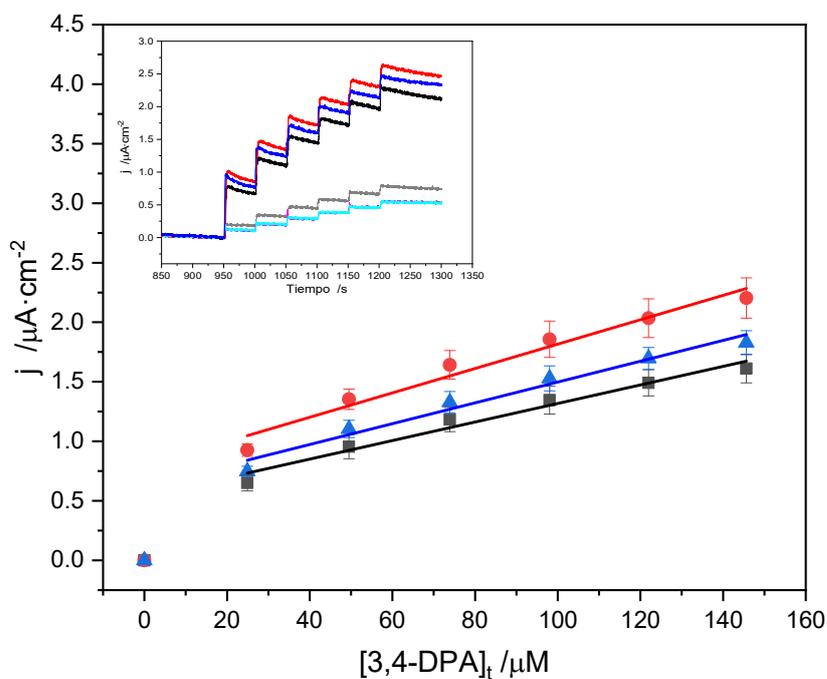


Figura 37. Curva de calibración de 3,4-DPA (25 - 145 μM), obtenida a partir de los amperogramas (figura superior insertada) realizadas por TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR 0,1 M pH 5,0. Los amperogramas de menor densidad de corriente corresponden a los blancos (solamente B-BR/EtOH 70:30) de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—).

En la **Figura 37**, se observa la relación densidad de corriente versus concentración de 3,4-DPA para la superficie de Au y Au modificada con cada amino- β CD, obtenidas a partir de los amperogramas que se muestran adjuntos en la misma figura. De los amperogramas se aprecia que las densidades de corriente para las superficies de oro modificadas con amino- β CDs fueron levemente mayores con respecto a la superficie de Au (sin modificar), lo que se traduce en valores cercanos de sensibilidad entre los electrodos, como se observa en la **Tabla 15**. La sensibilidad en las distintas superficies de oro se obtuvo del valor de la pendiente de la curva de calibración utilizando todos los puntos de esta, en todo el intervalo de concentración propuesto.

Los límites de detección y cuantificación (LoD y LoQ, respectivamente) se obtuvieron al utilizar la ecuación 3 y 4 descrita en la sección 0, y la reproducibilidad se obtuvo al medir la diferencia de densidad de corriente entre los “escalones” de los amperogramas, a una concentración específica, en 3 electrodos diferentes, de cada superficie¹¹⁴.

Tabla 15. Parámetros analíticos obtenidos a partir de las TA de 3,4-DPA.

Superficie	Sensibilidad		Repro.	LoD	LoQ
	$\text{nA} \cdot \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$	r	CV%	μM	μM
<i>Au</i>	$7,5 \pm 0,7$	0,985	4,2	0,82	2,47
<i>Au/AB/CD7~EtN</i>	$9,5 \pm 0,7$	0,983	4,2	0,23	0,71
<i>Au/AB/CD7Me~EtN</i>	$8,3 \pm 0,7$	0,986	4,7	0,38	1,15

En la **Tabla 15** se resumen los parámetros analíticos de 3,4-DPA obtenidos mediante TA en un sistema de 3 electrodos, donde el electrodo de trabajo corresponde a Au sin modificar y modificado con amino- β CDs. Los valores de LoD para las superficies modificadas con amino- β CDs son entre 2 y 3 veces más bajos que la superficie de Au, y la superficie Au/AB/CD7~EtN es la que presenta el menor valor de LoD, aunque se mantienen en el mismo orden de magnitud. Los resultados indican que no hay una dependencia de la respuesta de corriente con la funcionalización en el borde ancho de las CDs, es decir, el resultado es relativamente similar si se usa CD7 o CD7Me, lo cual es interesante teniendo en cuenta los valores de K_a encontrados en literatura (K_a 3,4-DPA/ β CD = 590 M⁻¹, K_a 3,4-DPA/Me- β CD = 1138 M⁻¹)¹⁰⁵ y los obtenidos en estudios previos (K_a 3,4-DPA/ β CD = 563 M⁻¹, K_a 3,4-DPA/Me- β CD = 1531 M⁻¹)¹¹⁵. Aunque a partir de estos resultados se infiere que 3,4-DPA forma de manera más eficiente el complejo de inclusión con las CDs que se encuentran metiladas en el borde estrecho de la cavidad, este efecto de los grupos -CH₃ en el borde ancho de la CD no se transfiere a la superficie.

De todas maneras, hay un pequeño aumento en la sensibilidad y se obtienen valores un poco menores de LoD para este analito con las superficies modificadas en comparación a la superficie de Au.

Tabla 16. Sensores electroquímicos reportados para la para la determinación de 3,4-DPA.

Superficie	Técnica	LoD	Rango Lineal	Ref.
<i>GCE/NiOxNPs</i>	VPD	0,05 μM	0,1 – 80 μM	116
<i>TCP-CPE*</i>	VPD	1,53 μM	5 – 177 μM	117
<i>SPCE/rGO-AuNPs**</i>	VBL	0,54 μM	2,15 – 128,7 μM	68
<i>CPE/NiOPc/GO**</i>	FIA-TA	20 μM	50 – 1000 μM	118
<i>Au/MBA/CDs~EtN</i>	TA	0,33 – 0,51 μM	10 – 138 μM	119
<i>Au/AB/CD7~EtN</i>	TA	0,23 μM	25 – 145 μM	Este trabajo
<i>Au/AB/CD7Me~EtN</i>		0,38 μM		

*Linuron y ** Diuron son herbicidas de anilina, similares estructuralmente al propanil.

En la **Tabla 16** se muestran los parámetros analíticos de algunos compuestos de la familia de los herbicidas de anilina, obtenidos en distintos tipos de superficies y de 3,4-DPA obtenidos en esta tesis. Al comparar los parámetros analíticos de este trabajo con los parámetros analíticos obtenidos en la literatura, se pueden observar valores muy similares tanto del LoD como en los rangos lineales, siendo el LoD de este trabajo solamente superado por la superficie de carbono vitro (GCE) modificada con nanopartículas de óxido de níquel (NiOxNPs), probablemente debido a que los autores realizaron un tratamiento de los datos que obtuvieron de VPD por medio un algoritmo avanzado de procesamiento de señales. Los resultados son satisfactorios y prometedores, por consiguiente, este compuesto macrocíclico podría incluso presentar una buena afinidad hacia moléculas con estructura similar a la del 3,4-DPA, con

posibilidades de medir en simultáneo a esta familia de herbicidas de anilina o presentar una respuesta electroquímica hacia estos.

Detección Amperométrica de PQ

De acuerdo con lo concluido en la caracterización de PQ, se utilizó B-BR 0,1 M pH 10,0 y se fijó un potencial constante de $-1,0$ V vs Ag/AgCl_(3M) para las superficies de Au modificadas y sin modificar, para la detección amperométrica de PQ. En forma análoga a lo realizado con 3,4-DPA, a una celda electroquímica se añadió previamente 10 mL de B-BR y se añadieron también alícuotas de 50 μ L de una solución stock de 8 mM de PQ (1,6 mL del stock PQ 20 mM + 2,4 mL de B-BR 0,1 M pH 10,0) cada 50 segundos, obteniéndose un intervalo de concentración en la celda de 40 μ M a 308 μ M como lo detalla la **Tabla 17**.

Tabla 17. Valores de concentración de PQ en la celda.

n	Tiempo adición segundos	Alícuota μ L	V _{celda} Celda μ L	[PQ] _t μ M
0	–	–	10000	0
1	200	50	10050	39,80
2	250	50	10100	79,21
3	300	50	10150	118,23
4	350	50	10200	156,86
5	400	50	10250	195,12
6	450	50	10300	233,01
7	500	50	10350	270,53
8	550	50	10400	307,69

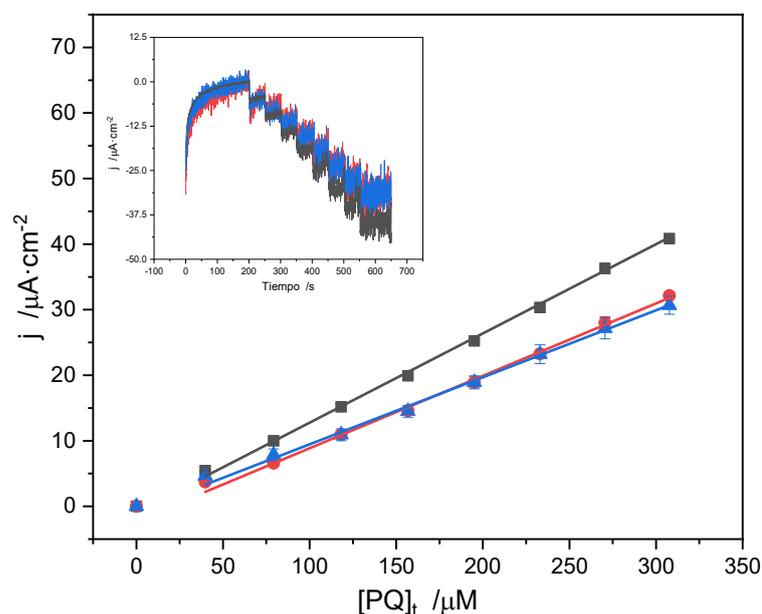


Figura 38. Curva de calibración de PQ (40 - 308 μM), obtenida a partir de los amperogramas (inserto) realizados por TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR 0,1 M pH 10,0.

En la **Figura 38** se observa la relación de corriente en función de la concentración de PQ desde 40 μM a 308 μM para la superficie de Au y las superficies modificadas con amino- βCDs (Au/AB/CD7 y Au/AB/CD7Me) obtenidas de los amperogramas mostrados en el inserto (esquina superior izquierda). No se graficaron las medidas de los blancos porque no se apreciaron cambios en las corrientes al añadir alícuotas de B-BR. Se puede apreciar que las corrientes de los amperogramas presentan un mayor ruido si se compara con los amperogramas obtenidas para el proceso de oxidación de 3,4-DPA. Esto puede ser atribuido al potencial utilizado, ya que este es cercano al potencial donde comienza la HER, el cual ocasionaría las interferencias. Los valores de

sensibilidad de cada superficie y los otros parámetros analíticos se resumen en la **Tabla 18**. La sensibilidad, al igual que en el caso anterior, fue obtenida del valor de la pendiente de la curva de calibración.

Tabla 18. Parámetros analíticos obtenidos a partir de las TA de PQ.

Superficie	Sensibilidad	r	Repro.	LoD	LoQ
	nA·μM ⁻¹ cm ⁻²		CV%	μM	μM
<i>Au</i>	0,14 ± 0,01	0,999	2,9	0,17	0,52
<i>Au/AB/CD7~EtN</i>	0,11 ± 0,01	0,998	3,0	0,27	0,82
<i>Au/AB/CD7Me~EtN</i>	0,10 ± 0,01	0,999	1,8	0,37	1,12

De acuerdo con estos resultados, si bien la incorporación de este elemento de reconocimiento molecular a la superficie de oro genera una respuesta lineal en función del aumento de la concentración de PQ, el electrodo de Au presenta una mejor sensibilidad a la hora de detectar este pesticida, además de presentar un nivel de ruido mucho menor en comparación a las superficies modificadas. Esto podría ser causa de un desplazamiento del pico de reducción de PQ⁺ como también un desplazamiento del potencial en donde ocurre la HER a valores más positivos, en los electrodos modificados con amino-βCDs. Lo interesante de los resultados es que, comparando nuestros valores de sensibilidad y LoD con los obtenidos por otros autores utilizando otras modificaciones (**Tabla 19**), se puede apreciar que se encuentran en el orden de magnitud de los μM, abriendo la posibilidad de proponer esta modificación para el diseño de sistemas portátiles.

Tabla 19. Sensores electroquímicos reportados para la determinación de PQ.

Superficie	Técnica	LoD	Rango Lineal	Ref.
<i>Papel/AgNP</i>	SWV	0,80 μM	3 – 100 μM	110
<i>GCE/AuNPs/MoS₂/BN</i>	VPD	0,07 μM	0,1 – 100 μM	120
<i>GCE-RDE/PVP-GNs/Cu₂O</i>	VPD	0,26 μM	1 – 200 μM	121
<i>GCE/AuNCs-CS (MIP)</i>	VPD	2,30 fM	10 ⁻¹⁴ – 10 ⁻¹⁰ M	122
<i>Au</i>	SWV	0,08 μM	0,14 – 2,8 μM	123
<i>SPCE-CNT/Nafion</i>	VPD	0,17 μM	0,54 – 4,3 μM	67
<i>Au/AB/CD₇~EtN</i>	TA	0,27 μM	40 – 308 μM	Este Trabajo
<i>Au/AB/CD₇Me~EtN</i>		0,37 μM		

5.3.4 Estudio de parámetros analíticos en sistema de flujo continuo

En cuanto a los SPEs, se ha dicho a lo largo de esta tesis que el uso de estos electrodos se hace cada vez más extendido a la hora de preparar un sensor de afinidad electroquímica, debido a su principal característica: el ser desechable, lo cual simplifica su uso y también se evitan problemas de ensuciamiento. Además, utilizan pequeñas cantidades de volúmenes de muestra, y son económicos, debido a que pueden ser producidos en masa⁷⁹. La inmovilización de amino- β CDs sobre este tipo de dispositivos ya ha quedado demostrada, así que se planteó evaluar la funcionalidad de esta nueva plataforma para detectar PQ y 3,4-DPA. Para ello, se utilizó una celda de acrílico específica para un sistema FIA (**Figura 15**) en donde tanto el buffer como los patrones de concentración de los analitos inyectados pasan a la superficie de los electrodos de los SPAuE bajo un flujo continuo.

Detección amperométrica por sistema FIA de paraquat

Para realizar este estudio, se aplicó un potencial fijo de $-0,8$ V vs Ag, con un tiempo de estabilización de 150 segundos, se utilizó un volumen de inyección de $400 \mu\text{L}$ para cada concentración, con un caudal de $1,47$ mL/min (valor de 300 en la bomba). Cabe precisar que al ser un sistema FIA, no se tomaron alícuotas de una solución patrón como en la metodología anterior. En este caso, se prepararon los puntos para cada concentración haciendo diluciones con B-BR $0,1$ M pH $10,0$ a partir de la solución stock 20 mM de PQ, desde $100 \mu\text{M}$ hasta $1300 \mu\text{M}$, las cuales fueron cargadas e inyectadas cada 150 segundos posterior al tiempo de estabilización, como se muestra en el amperograma inserto en la

Figura 38.

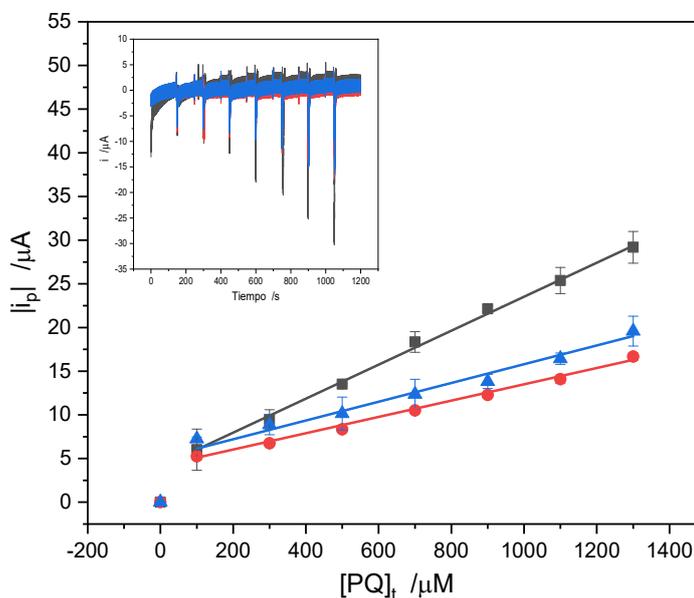


Figura 39. Curva de calibración de PQ ($100 - 1300 \mu\text{M}$), obtenida a partir de los amperogramas (inserto) realizados por FIA-TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en B-BR $0,1$ M pH $10,0$.

En la **Figura 39** se muestra la dependencia de la corriente (en valor absoluto) obtenida de los amperogramas realizados por FIA-TA con la concentración de PQ inyectada. De la misma manera que ocurrió para la determinación de PQ por TA, se aprecia que la pendiente de la curva de calibración o sensibilidad es mayor para la superficie de Au. Esto podría atribuirse a que el PQ⁰ formado en el segundo proceso de reducción queda adsorbido en la superficie electródica, debido a la formación del doble enlace central en la molécula, que la convierte en molécula apolar⁵⁷. Esto dejaría más disponible la molécula de PQ⁰ en la superficie de Au, en comparación a las superficies modificadas con amino-βCDs, donde primero se debe formar el complejo de inclusión con los derivados aminados de βCD. Los valores de parámetros analíticos con mostrados en la **Tabla 20**. Los valores de LoD son mucho mayores que aquellos obtenidos por medio de la técnica de TA al utilizar electrodos de disco de oro (**Tabla 18**).

Tabla 20. Parámetros analíticos obtenidos a partir de FIA-TA de PQ.

Superficie	Sensibilidad		Repro.	LoD	LoQ
	$\mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$	<i>r</i>	CV%	μM	μM
<i>SPAu</i>	19,5 ± 0,3	0,999	8,2	23	71
<i>SPAu/AB/CD7~EtN</i>	9,3 ± 0,3	0,997	5,0	58	177
<i>SPAu/AB/CD7Me~EtN</i>	10,7 ± 0,7	0,991	9,3	52	160

Es probable que la respuesta del electrodo esté afectada porque la metodología utiliza mediciones en flujo continuo donde el analito está unos segundos interactuando con las superficies de los SPAuE. En ese breve tiempo PQ^{2+} debe ser capaz de reducirse a su forma neutra e incluirse en la cavidad interna de las amino- β CDs y la formación de un complejo de inclusión del tipo anfitrión-huésped es un equilibrio dinámico, que depende directamente de la interacción de ambas partes, por lo que la cinética de formación del complejo podría estar afectando en la detección.

Detección amperométrica por sistema FIA de propanil

Se realizó la detección amperométrica de 3,4-DPA usando el mismo sistema FIA-TA utilizado para PQ, solo que esta vez se aplicó un potencial fijo de 1,115 V vs Ag y un tiempo de estabilización de 1200 segundos, manteniendo el volumen de inyección y el caudal. Se prepararon los puntos para cada concentración haciendo diluciones con una solución 90:10 de B-BR 0,1 M pH 5,0/acetona, a partir de la solución stock 60 mM de 3,4-DPA (en acetona también), desde 50 μ M hasta 1600 μ M, los cuales fueron cargados e inyectados cada 50 segundos posterior al tiempo de estabilización, como se muestra en los siguientes amperogramas (**Figura 40**).

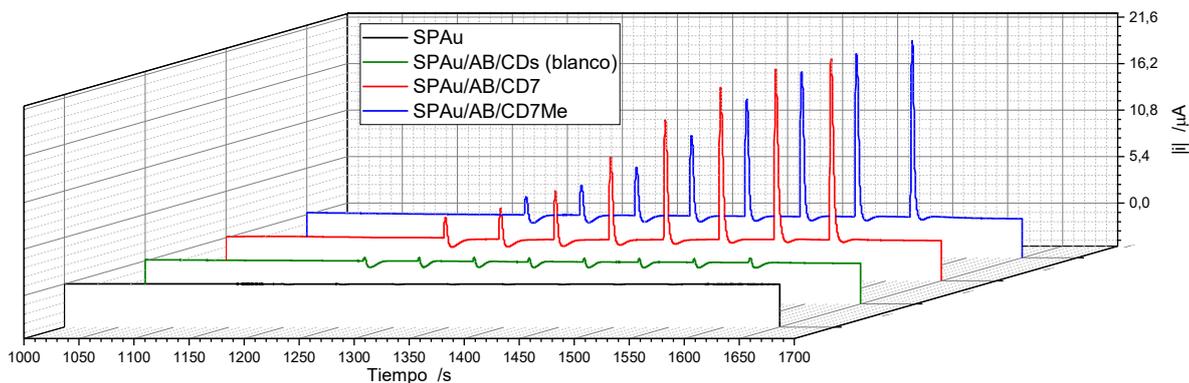


Figura 40. Amperogramas de 3,4-DPA, realizados por FIA-TA, de las superficies de Au (—), Au/AB/CDs~EtN (blanco) (—), Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—), en solución 90:10 B-BR 0,1 M pH 5,0/acetona.

En esta figura se observa que no hay respuesta del analito con el SPAu mientras que utilizando los SPAu modificados se observa una importante respuesta de corriente en función de la concentración, aunque no se observa una diferencia entre CD7 y CD7Me. A partir de las corrientes obtenidas de los amperogramas y conociendo las concentraciones utilizadas en cada punto de inyección, se obtuvo el gráfico de dependencia de corriente versus concentración de 3,4-DPA representado en la **Figura 41**.

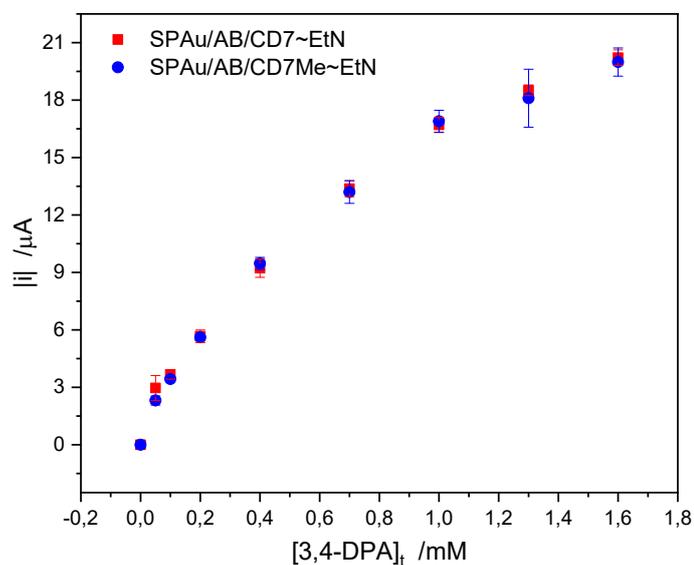


Figura 41. Relación i vs [3,4-DPA] obtenida a partir de FIA-TA.

Como se observa en la **Figura 41**, hay una dependencia lineal de la corriente en el intervalo de concentraciones menores (50 – 700 μM) con una tendencia a alcanzar un plató o una respuesta constante de corriente en el intervalo de concentraciones más altas (1000 – 1600 μM), lo cual podría indicar una saturación de la superficie. Se obtuvieron los valores de LoD y LoQ (**Tabla 21**) utilizando el intervalo lineal a concentraciones bajas (50 μM a 700 μM) de la curva de calibrado, como se indica en la **Figura 42**.

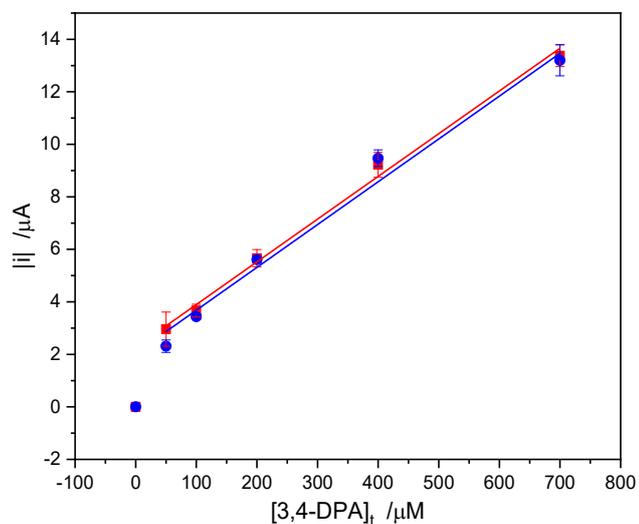


Figura 42. Curva de calibración de 3,4-DPA (50 – 700 μM) obtenida a partir de los amperogramas obtenidas por FIA-TA, de las superficies Au/AB/CD7~EtN (—) y Au/AB/CD7Me~EtN (—) en solución 90:10 de B-BR 0,1 M pH 5,0/acetona.

Tabla 21. Parámetros analíticos obtenidos a partir de FIA-TA de 3,4-DPA.

<i>Superficie</i>	Sensibilidad	r	LoD	LoQ
	$\mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1}$		μM	μM
<i>SPAu</i>	-	-	-	-
<i>SPAu/AB/CD7~EtN</i>	$16,3 \pm 0,6$	0,998	3,2	9,8
<i>SPAu/AB/CD7Me~EtN</i>	$16,3 \pm 1,2$	0,993	3,3	9,9

Nuevamente los valores de los parámetros analíticos obtenidos para este tipo de plataforma son mayores con respecto a los electrodos de Au, lo cual se atribuyó a la técnica utilizada. La notoria respuesta al utilizar los SPAuE modificados con amino- β CDs indica que la inmovilización de este elemento de reconocimiento molecular favorece la detección de este analito en solución

debido a la formación de un complejo de inclusión del tipo anfitrión-huésped. También los resultados muestran que no hay una dependencia de la respuesta con respecto a la funcionalización de la amino- β CD (es decir, grupos $-\text{CH}_3$ en el borde ancho de la estructura) inmovilizada en la superficie, mismo efecto que se observó en la determinación amperométrica de 3,4-DPA utilizando los electrodos de Au modificados.

Si se observa la **Tabla 16**, podemos encontrar el trabajo realizado por *Wong y colaboradores*¹¹⁸, donde determinan Diuron, un herbicida de anilida al igual que 3,4-DPA, por medio de un electrodo de pasta de carbono modificado con complejos organometálicos y óxido de grafeno usando FIA-TA. Al comparar los parámetros analíticos obtenidos por los autores con nuestro trabajo, se puede apreciar que ambos electrodos presentan una respuesta lineal en un intervalo de concentraciones muy similar, aunque con nuestro electrodo modificado se obtiene un límite de detección más bajo.

Por lo tanto, la gran ventaja de usar esta plataforma para la detección de este tipo de pesticidas sería precisamente la capacidad de formar complejos de inclusión con una familia de compuestos orgánicos en específico¹²⁴, como por ejemplo, los herbicidas de anilida, o también otros contaminantes como lo son los COPs, que también son estructuralmente similares.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, se puede confirmar que las amino- β CDs pueden incluir en su cavidad moléculas hidrofóbicas que posean un tamaño adecuado, mientras que pueden formar complejos de inclusión de manera parcial con ciertos segmentos apolares presente en las moléculas hidrofílicas o derechamente excluirlas.

Una manera de mejorar el rendimiento de detección de contaminantes que posean una pobre capacidad para formación de complejos de inclusión sería aumentar el tipo de interacciones entre la superficie y el analito. Un ejemplo de esto es el trabajo de *Junthip y colaboradores*⁵⁹, los cuales sintetizaron un polímero de CDs aniónico e insoluble en agua entrecruzando β CDs y ácido cítrico con el objetivo de remover PQ en aguas residuales. Este polímero a pH pseudo alcalino posee un buen rendimiento de adsorción, debido a que hay 3 tipos de interacciones: la formación de un complejo de inclusión β CDs-PQ, el atrapamiento en red entre el polímero y el PQ, y principalmente por interacciones electroestáticas de 2 cargas opuestas, ósea entre el PQ^{2+} en solución y el anión carboxilato generado a partir de la ionización del ácido cítrico entrecruzado en el polímero insoluble a pH pseudo alcalino.

Es claro que nuestros electrodos serigrafados modificados con amino- β CDs alcanzan valores de límite de detección en el orden de los μ M para ambos analitos propuestos, que son valores más altos que los obtenidos con técnicas clásicas para la detección de ambos pesticidas están en el

orden de “nM” (**Tabla 1**). Sin embargo, el uso de pesticidas es cada vez más restringido porque el abuso de ellos tiene un gran impacto ambiental, por lo que se hace necesario el poder dar un diagnóstico rápido que permita una eficiente fiscalización. Por lo mismo, existe una necesidad urgente de la transición de las técnicas tradicionales basadas en laboratorio a pruebas miniaturizadas, más económicas y rápidas, en donde se prioriza la detección de los contaminantes¹²⁵. La electroreducción de sales de diazonio, el cual une covalentemente grupos arilos a la superficie de oro de los SPAuE, facilita la inmovilización de las ciclodextrinas, permitiendo detectar pesticidas de uso global como lo son PQ y 3,4-DPA, aunque aún se deben realizar más investigaciones que permitan abordar los principales desafíos, como lo es la detección selectiva de múltiples analitos y el poder realizar esta detección en matrices complejas.

6. CONCLUSIONES

- De acuerdo con la estrategia propuesta, las amino- β CDs son capaces de inmovilizarse a la superficie por medio de un enlace amida gracias a la película orgánica de AB injertada a la superficie de oro por electroreducción de SD.
- En definitiva, la presencia de los distintos componentes que constituyen la construcción supramolecular de las superficies modificadas fue verificada satisfactoriamente por las técnicas de caracterización de superficies. Es decir, se observaron cambios en cada una de las etapas de modificación y particularmente se confirmó la presencia de un enlace amida por medio de XPS, confirmando la inmovilización de las amino- β CD en la superficie electródica de oro.
- Finalmente se obtuvieron los principales parámetros analíticos para los herbicidas PQ y 3,4-DPA al usar los SPAuE modificados con amino- β CD por medio de FIA-TA. Los límites de detección y cuantificación son del orden de los " μ M" al igual que la mayoría de las plataformas electroquímicas desarrolladas para la detección de estos herbicidas encontradas en la literatura.

Presentaciones en Congresos

TITULO	CONGRESO	LUGAR/FECHA
<p style="text-align: center;">DETERMINACIÓN DE PARAQUAT EN SOLUCIÓN ACUOSA A TRAVÉS DE ELECTRODOS SERIGRAFIADOS DE ORO MODIFICADOS CON AMINO-β-CICLODEXTRINAS</p> <p style="text-align: center;">(ORAL)</p> <p style="text-align: center;"><i>Martín Pérez Pereira, José F. Marco, Claudia Yáñez</i></p>	<p>VIII SIMPOSIO DE ELECTROQUÍMICA (SiELEC 2022)</p>	<p>CHILE, LOS ANDES, DEL 23 AL 25 DE NOVIEMBRE DEL 2022</p>
<p style="text-align: center;">DETERMINATION OF PARAQUAT IN WATER USING β- CYCLODEXTRINS MODIFIED GOLD SCREEN-PRINTED ELECTRODES FROM DIAZONIUM SALT ELECTROGRAFTING</p> <p style="text-align: center;">(POSTER)</p> <p style="text-align: center;"><i>Martín Pérez Pereira, José F. Marco, Claudia Yáñez</i></p>	<p>XXIV International Symposium on Advances in Extraction Technologies & XV Encuentro de Química Analítica y Ambiental</p> <p style="text-align: center;">(XXIV-ExTech & XV-EQAA)</p>	<p>CHILE, IQUIQUE, DEL 18 AL 21 DE OCTUBRE DEL 2022</p>
<p style="text-align: center;">INMOVILIZACION DE AMINO-β- CICLODEXTRINAS SOBRE SUPERFICIES DE ORO MODIFICADAS CON SALES DE DIAZONIO PARA LA DETECCION ELECTROQUÍMICA DE PROPANIL</p> <p style="text-align: center;">(POSTER)</p> <p style="text-align: center;"><i>Martín Pérez Pereira, Ana Méndez- Torres, Fabiana Gutiérrez, José F. Marco, Claudia Yáñez</i></p>	<p>XXXIII JORNADAS CHILENAS DE QUÍMICA 2020</p>	<p>CHILE, PUERTO VARAS, DEL 7 AL 10 DE ENERO DEL 2020</p>

7. REFERENCIAS

- (1) Wang, J. *Electrochemical Sensors for Environmental Monitoring :A Review of Recent Technology*; 1995.
- (2) Štajnbaher, D.; Zupančič-Kralj, L. Multiresidue Method for Determination of 90 Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables Using Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1015* (1–2), 185–198. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01211-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01211-1).
- (3) Hulanicki, A.; Geab, S.; Ingman, F. Chemical Sensors Definitions and Classification. *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63* (9), 1247–1250. <https://doi.org/10.1351/pac199163091247>.
- (4) Brett, C. M. A. Novel Sensor Devices and Monitoring Strategies for Green and Sustainable Chemistry Processes. *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79* (11), 1969–1980. <https://doi.org/10.1351/pac200779111969>.
- (5) Yáñez-Sedeño, P.; Campuzano, S.; Pingarrón, J. M. Electrochemical (Bio)Sensors: Promising Tools for Green Analytical Chemistry. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2019**, *19*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.01.004>.
- (6) Baranwal, J.; Barse, B.; Gatto, G.; Broncova, G.; Kumar, A. Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. *Chemosensors* **2022**, *10* (9). <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>.
- (7) Suresh, R. R.; Lakshmanakumar, M.; Jayalatha, J. B. B. A. Fabrication of Screen-Printed Electrodes: Opportunities and Challenges. *J. Mater. Sci.* **2021**, *56* (15), 8951–9006. <https://doi.org/10.1007/s10853-020-05499-1>.
- (8) Luttge, R. Chemical and Biological Sensors at Component and Device Level. *Microfabr. Ind. Appl.* **2011**, 179–198. <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-1582-1.00006-X>.
- (9) Gong, W.; Liang, G.; He, Z.; Zhen, J. Environmental Technology & Innovation Development of the Screen-Printed Electrodes: A Mini Review on the Application for Pesticide Detection. *Environ. Technol. Innov.* **2022**, *28*, 102922. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102922>.
- (10) Veerapandian, S.; Kim, W.; Jung, S.; Jeong, U.; Kim, J.; Jo, Y. Printable Inks and Deformable Electronic Array Devices. *Nanoscale Horizons* **2022**, *7*, 663–681. <https://doi.org/10.1039/d2nh00089j>.
- (11) Hetemi, D.; Noël, V.; Pinson, J. Grafting of Diazonium Salts on Surfaces: Application to Biosensors. *Biosensors* **2020**, *10* (4), 1–32. <https://doi.org/10.3390/bios10010004>.
- (12) Hu, G.; Kang, J.; Ng, L. W. T.; Zhu, X.; Howe, R. C. T.; Jones, C. G.; Hersam, M. C.; Hasan, T. Functional Inks and Printing of Two-Dimensional Materials Guohua. *Chem. Soc. Rev* **2018**, *47*, 3265–3300. <https://doi.org/10.1039/c8cs00084k>.

- (13) Zhang, S.; Wright, G.; Yang, Y. Materials and Techniques for Electrochemical Biosensor Design and Construction. *Biosens. Bioelectron.* **2000**, *15* (5–6), 273–282. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(00\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(00)00076-2).
- (14) Hart, J. P.; Crew, A.; Crouch, E.; Honeychurch, K. C.; Pemberton, R. M. Some Recent Designs and Developments of Screen-Printed Carbon Electrochemical Sensors/Biosensors for Biomedical, Environmental, and Industrial Analyses. *Anal. Lett.* **2004**, *37* (5), 789–830. <https://doi.org/10.1081/AL-120030682>.
- (15) Albalawi, I.; Hogan, A.; Alatawi, H.; Alsefri, S.; Moore, E. A Novel Comparative Study for Simultaneous Determination of Cd (II) and Pb (II) Based on Ruthenium Complex-Nanoparticles-Nafion Modified Screen-Printed Gold Electrode. *Sensors Actuators B Chem.* **2023**, *380*, 133273. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.133273>.
- (16) Kokkinos, C.; Economou, A.; Prodromidis, M. I. Electrochemical Immunosensors: Critical Survey of Different Architectures and Transduction Strategies. *TrAC - Trends Anal. Chem. Anal. Chem.* **2016**, *79*, 88–105. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.020>.
- (17) Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (21), 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p>.
- (18) Pinalli, R.; Pedrini, A.; Dalcanale, E. Biochemical Sensing with Macrocyclic Receptors. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47* (18), 7006–7026. <https://doi.org/10.1039/c8cs00271a>.
- (19) Harada, A.; Takashima, Y.; Nakahata, M. Supramolecular Polymeric Materials via Cyclodextrin-Guest Interactions. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47* (7), 2128–2140. <https://doi.org/10.1021/ar500109h>.
- (20) Del Valle, E. M. M. Cyclodextrins and Their Uses: A Review. *Process Biochem.* **2004**, *39* (9), 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9).
- (21) Hedges, A. *Cyclodextrins: Properties and Applications*; Crown Point, Indiana USA, **2009**. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746275-2.00022-7>.
- (22) Ibrahim, A. S. S.; Al-Salamah, A. A.; El-Toni, A. M.; El-Tayeb, M. A.; Elbadawi, Y. B. Immobilization of Cyclodextrin Glucanotransferase on Aminopropyl-Functionalized Silica-Coated Superparamagnetic Nanoparticles. *Electron. J. Biotechnol.* **2013**, *16* (6). <https://doi.org/10.2225/vol16-issue6-fulltext-8>.
- (23) Bustos, E.; Manríquez, J.; Juaristi, E.; Chapman, T. W.; Godínez, L. A. Electrochemical Study of β -Cyclodextrin Binding with Ferrocene Tethered onto a Gold Surface via PAMAM Dendrimers. *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19* (5), 1010–1016. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000500028>.

- (24) Jiang, C.; Moraes Silva, S.; Fan, S.; Wu, Y.; Alam, M. T.; Liu, G.; Justin Gooding, J. Aryldiazonium Salt Derived Mixed Organic Layers: From Surface Chemistry to Their Applications. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, *785*, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.11.043>.
- (25) Ocaña, C.; Hayat, A.; Mishra, R. K.; Vasilescu, A.; del Valle, M.; Marty, J. L. Label Free Aptasensor for Lysozyme Detection: A Comparison of the Analytical Performance of Two Aptamers. *Bioelectrochemistry* **2015**, *105*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2015.05.009>.
- (26) Dyke, C. A.; Tour, J. M. Overcoming the Insolubility of Carbon Nanotubes Through High Degrees of Sidewall Functionalization. *Chem. - A Eur. J.* **2004**, *10* (4), 812–817. <https://doi.org/10.1002/chem.200305534>.
- (27) Maldonado, S.; Smith, T. J.; Williams, R. D.; Morin, S.; Barton, E.; Stevenson, K. J. Surface Modification of Indium Tin Oxide via Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Cations. *Langmuir* **2006**, *22* (6), 2884–2891. <https://doi.org/10.1021/la052696l>.
- (28) Allongue, P.; Henry de Villeneuve, C.; Cherouvrier, G.; Cortès, R.; Bernard, M. C. Phenyl Layers on H-Si(1 1 1) by Electrochemical Reduction of Diazonium Salts: Monolayer versus Multilayer Formation. *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *550–551*, 161–174. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(03\)00076-7](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(03)00076-7).
- (29) Pinson, J.; Podvorica, F. Attachment of Organic Layers to Conductive or Semiconductive Surfaces by Reduction of Diazonium Salts. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34* (5), 429–439. <https://doi.org/10.1039/b406228k>.
- (30) Allongue, P.; Delamar, M.; Desbat, B.; Fagebaume, O.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Savéant, J. M. Covalent Modification of Carbon Surfaces by Aryl Radicals Generated from the Electrochemical Reduction of Diazonium Salts. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (1), 201–207. <https://doi.org/10.1021/ja963354s>.
- (31) D'Amours, M.; Bélanger, D. Stability of Substituted Phenyl Groups Electrochemically Grafted at Carbon Electrode Surface. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (20), 4811–4817. <https://doi.org/10.1021/jp027223r>.
- (32) Betelu, S.; Tijunelyte, I.; Boubekour-Lecaque, L.; Ignatiadis, I.; Ibrahim, J.; Gaboreau, S.; Berho, C.; Toury, T.; Guenin, E.; Lidgi-Guigui, N.; Félidj, N.; Rinnert, E.; Chapelle, M. L. D. La. Evidence of the Grafting Mechanisms of Diazonium Salts on Gold Nanostructures. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120* (32), 18158–18166. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b06486>.
- (33) Ghilane, J.; Delamar, M.; Guilloux-Viry, M.; Lagrost, C.; Mangeney, C.; Hapiot, P. Indirect Reduction of Aryldiazonium Salts onto Cathodically Activated Platinum Surfaces: Formation of Metal-Organic Structures. *Langmuir* **2005**, *21* (14), 6422–6429. <https://doi.org/10.1021/la050401y>.

- (34) Laforgue, A.; Addou, T.; Bélanger, D. Characterization of the Deposition of Organic Molecules at the Surface of Gold by the Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Cations. *Langmuir* **2005**, *21* (15), 6855–6865. <https://doi.org/10.1021/la047369c>.
- (35) Lyskawa, J.; Bélanger*, D. Direct Modification of a Gold Electrode with Aminophenyl Groups by Electrochemical Reduction of in Situ Generated Aminophenyl Monodiazonium Cations. *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 4755–4763. <https://doi.org/10.1021/cm060752d>.
- (36) Liu, G.; Böcking, T.; Gooding, J. J. Diazonium Salts: Stable Monolayers on Gold Electrodes for Sensing Applications. *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *600* (2), 335–344. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.09.012>.
- (37) Liu, G.; Liu, J.; Bo, T.; Eggers, P. K.; Gooding, J. J. The Modification of Glassy Carbon and Gold Electrodes with Aryl Diazonium Salt: The Impact of the Electrode Materials on the Rate of Heterogeneous Electron Transfer. *Chem. Phys.* **2005**, *319*, 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2005.03.033>.
- (38) El-Gendy, K.; Mosallam, E.; Ahmed, N.; Aly, N. Determination of Glyphosate Residues in Egyptian Soil Samples. *Anal. Biochem.* **2018**, *557*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.07.004>.
- (39) Giordano, A.; Richter, P.; Ahumada, I. Determination of Pesticides in River Water Using Rotating Disk Sorptive Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Talanta* **2011**, *85* (5), 2425–2429. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.087>.
- (40) Pegoraro, C. N.; Wannaz, E. D. Occurrence of Persistent Organic Pollutants in Air at Different Sites in the Province of Córdoba, Argentina. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, *26* (18), 18379–18391. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05088-z>.
- (41) López-Paz, J. L.; Catalá-Icardo, M. Analysis of Pesticides by Flow Injection Coupled with Chemiluminescent Detection: A Review. *Anal. Lett.* **2011**, *44* (1–3), 146–175. <https://doi.org/10.1080/00032719.2010.500788>.
- (42) Zhang, L.; Gionfriddo, E.; Acquaro, V.; Pawliszyn, J. Direct Immersion Solid-Phase Microextraction Analysis of Multi-Class Contaminants in Edible Seaweeds by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1031*, 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.066>.
- (43) Castro, G.; Pérez-Mayán, L.; Rodríguez-Cabo, T.; Rodríguez, I.; Ramil, M.; Cela, R. Multianalyte, High-Throughput Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for the Sensitive Determination of Fungicides and Insecticides in Wine. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, *410* (3), 1139–1150. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0724-9>.

- (44) Jiang, Y.; Ma, P.; Li, X.; Piao, H.; Li, D.; Sun, Y.; Wang, X.; Song, D. Application of Metal-Organic Framework MIL-101(Cr) to Microextraction in Packed Syringe for Determination of Triazine Herbicides in Corn Samples by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1574*, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.09.008>.
- (45) Zheng, Q. qi; Lu, Y. chao; Ye, Z. zhong; Ping, J. feng; Wu, J.; Ying, Y. bin. An Anti-Passivation Ink for the Preparation of Electrodes for Use in Electrochemical Immunoassays. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **2018**, *19* (9), 726–734. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1700510>.
- (46) Duarte, E. H.; Casarin, J.; Sartori, E. R.; Tarley, C. R. T. Highly Improved Simultaneous Herbicides Determination in Water Samples by Differential Pulse Voltammetry Using Boron-Doped Diamond Electrode and Solid Phase Extraction on Cross-Linked Poly(Vinylimidazole). *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, *255*, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.021>.
- (47) Goswami, A.; Jiang, J.-Q. Simultaneous Quantification of Gabapentin, Sulfamethoxazole, Terbutryn, Terbutylazine and Diuron by UV-Vis Spectrophotometer. *Biointerface Res. Appl. Chem.* **2018**, *8* (1), 3111–3117.
- (48) Hirakawa, Y.; Yamasaki, T.; Harada, A.; Iwasa, S.; Narita, H.; Miyake, S. Development of an Immunosensor Based on Surface Plasmon Resonance for Simultaneous Residue Analysis of Three Pesticides -Boscalid, Clothianidin, and Nitenpyram- in Vegetables. *Anal. Sci.* **2018**, *34* (5), 533–539. <https://doi.org/10.2116/analsci.17P487>.
- (49) Waris, K. H.; Lee, V. S.; Mohamad, S. Pesticide Remediation with Cyclodextrins: A Review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28* (35), 47785–47799. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15434-9>.
- (50) Garrido, E. M.; Lima, J. L. F. C.; Delerue-Matos, C.; Borges, F.; Silva, A. M. S.; Brett, A. M. O. Electrochemical Oxidation of Propanil and Related N-Substituted Amides. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *434* (1), 35–41. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)00817-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)00817-0).
- (51) Kanawi, E.; Van Scoy, A. R.; Budd, R.; Tjeerdema, R. S. Environmental Fate and Ecotoxicology of Propanil: A Review. *Toxicol. Environ. Chem.* **2016**, *98* (7), 1–16. <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1133816>.
- (52) Chen, Z.; Schäffer, A. The Fate of the Herbicide Propanil in Plants of the Littoral Zone of the Three Gorges Reservoir (TGR), China. *J. Environ. Sci. (China)* **2016**, *48*, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.01.026>.
- (53) Vaz-Moreira, I.; Narciso-da-rocha, C.; Lopes, A. R.; Carvalho, G.; Lobo-da-Cunha, A.; Whitman, W. B.; Snauwaert, C.; Vandamme, P.; Manaia, C. M.; Nunes, O. C. *Oryzisolibacter Propanilivorax* Gen. Nov., Sp. Nov., a Propanildegrading Bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2017**, *67* (10), 3752–3758. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002184>.

- (54) Horgan, F. G.; Ramal, A. F.; Bernal, C. C.; Villegas, J. M.; Stuart, A. M.; Almazan, M. L. P. Applying Ecological Engineering for Sustainable and Resilient Rice Production Systems. *Procedia Food Sci.* **2016**, *6*, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.002>.
- (55) Flaherty, R. J.; Nshime, B.; Delamarre, M.; Dejong, S.; Scott, P.; Lantz, A. W. Chemosphere Cyclodextrins as Complexation and Extraction Agents for Pesticides from Contaminated Soil. *Chemosphere* **2013**, *91* (7), 912–920. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.005>.
- (56) Nasir, T.; Herzog, G.; Hébrant, M.; Despas, C.; Liu, L.; Walcarius, A. Mesoporous Silica Thin Films for Improved Electrochemical Detection of Paraquat. *ACS Sensors* **2018**, *3* (2), 484–493. <https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00920>.
- (57) Sivagnanam, U.; Palaniandavar, M. Selective Inclusion of Methylviologen by β -Cyclodextrin: Effect of Cyclodextrins on the Electrochemistry of Methylviologen. *J. Electroanal. Chem.* **1992**, *341* (1–2), 197–207. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(92\)80484-L](https://doi.org/10.1016/0022-0728(92)80484-L).
- (58) Draoui, K.; Denoyel, R.; Chgoura, M.; Rouquerol, J. Adsorption of Paraquat on Minerals. A Thermodynamic Study. *J. Therm. Anal. Calorim.* **1999**, *58* (3), 597–606. <https://doi.org/10.1023/a:1010152411288>.
- (59) Junthip, J. Water-Insoluble Cyclodextrin Polymer Crosslinked with Citric Acid for Paraquat Removal from Water. *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* **2019**, *56* (6), 555–563. <https://doi.org/10.1080/10601325.2019.1586444>.
- (60) Bergamini, M. F.; Santos, D. P.; Zanoni, M. V. B. Determination of Isoniazid in Human Urine Using Screen-Printed Carbon Electrode Modified with Poly-L-Histidine. *Bioelectrochemistry* **2010**, *77* (2), 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.07.010>.
- (61) Bergamini, M. F.; Santos, D. P.; Zanoni, M. V. B. Electrochemical Behavior and Voltammetric Determination of Pyrazinamide Using a Poly-Histidine Modified Electrode. *J. Electroanal. Chem.* **2013**, *690*, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2012.11.032>.
- (62) Biscay, J.; Costa Rama, E.; González García, M. B.; Julio Reviejo, A.; Pingarrón Carrazón, J. M.; García, A. C. Amperometric Fructose Sensor Based on Ferrocyanide Modified Screen-Printed Carbon Electrode. *Talanta* **2012**, *88*, 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.013>.
- (63) Tsochatzis, E. D.; Tzimou-Tsitouridou, R.; Menkissoglu-Spiroudi, U.; Karpouzas, D. G.; Papageorgiou, M. Development and Validation of an HPLC-DAD Method for the Simultaneous Determination of Most Common Rice Pesticides in Paddy Water Systems. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2012**, *92* (5), 548–560. <https://doi.org/10.1080/03067310903229943>.

- (64) Muñoz de la Peña, A.; Mahedero, M. C.; Bautista-Sánchez, A. Monitoring of Phenylurea and Propanil Herbicides in River Water by Solid-Phase-Extraction High Performance Liquid Chromatography with Photoinduced-Fluorimetric Detection. *Talanta* **2003**, *60* (2–3), 279–285. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00072-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00072-9).
- (65) Rial-Otero, R.; Cancho-Grande, B.; Perez-Lamela, C.; Simal-Gándara, J.; Arias-Estévez, M. Simultaneous Determination of the Herbicides Diquat and Paraquat in Water. *J. Chromatogr. Sci.* **2006**, *44* (9), 539–542. <https://doi.org/10.1093/chromsci/44.9.539>.
- (66) Yao, F.; Liu, H.; Wang, G.; Du, L.; Yin, X.; Fu, Y. Determination of Paraquat in Water Samples Using a Sensitive Fluorescent Probe Titration Method. *J. Environ. Sci.* **2013**, *25* (6), 1245–1251. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60124-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60124-7).
- (67) Chuntib, P.; Themsirimongkon, S.; Saipanya, S.; Jakmune, J. Sequential Injection Differential Pulse Voltammetric Method Based on Screen Printed Carbon Electrode Modified with Carbon Nanotube/Nafion for Sensitive Determination of Paraquat. *Talanta* **2017**, *170*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.073>.
- (68) Shams, N.; Lim, H. N.; Hajian, R.; Yusof, N. A.; Abdullah, J.; Sulaiman, Y.; Ibrahim, I.; Huang, N. M.; Pandikumar, A. A Promising Electrochemical Sensor Based on Au Nanoparticles Decorated Reduced Graphene Oxide for Selective Detection of Herbicide Diuron in Natural Waters. *J. Appl. Electrochem.* **2016**, *46* (6), 655–666. <https://doi.org/10.1007/s10800-016-0950-4>.
- (69) Xu, X.; Makaraviciute, A.; Pettersson, J.; Zhang, S. L.; Nyholm, L.; Zhang, Z. Revisiting the Factors Influencing Gold Electrodes Prepared Using Cyclic Voltammetry. *Sensors Actuators, B Chem.* **2019**, *283*, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.008>.
- (70) Tkac, J.; Davis, J. J. An Optimised Electrode Pre-Treatment for SAM Formation on Polycrystalline Gold. *J. Electroanal. Chem.* **2008**, *621* (1), 117–120. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.04.010>.
- (71) Carvalhal, R. F.; Freire, R. S.; Kubota, L. T. Polycrystalline Gold Electrodes: A Comparative Study of Pretreatment Procedures Used for Cleaning and Thiol Self-Assembly Monolayer Formation. *Electroanalysis* **2005**, *17* (14), 1251–1259. <https://doi.org/10.1002/elan.200403224>.
- (72) Monteiro, M. C. O.; Koper, M. T. M. Alumina Contamination through Polishing and Its Effect on Hydrogen Evolution on Gold Electrodes. *Electrochim. Acta* **2019**, *325*, 134915. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.134915>.
- (73) Hamelin, A.; Martins, A. Cyclic Voltammetry at Gold Single-Crystal Surfaces. Part 1. Behaviour at Low-Index Faces. *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *407*, 1–11. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(95\)04499-X](https://doi.org/10.1016/0022-0728(95)04499-X).

- (74) Hamelin, A. Cyclic Voltammetry at Gold Single-Crystal Surfaces. Part 1. Behaviour at Low-Index Faces. *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *407* (1–2), 1–11. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(95\)04499-X](https://doi.org/10.1016/0022-0728(95)04499-X).
- (75) Burke, L. D.; Buckley, D. T.; Morrissey, J. A. Novel View of the Electrochemistry of Gold. *Analyst* **1994**, *119*, 841–845.
- (76) Yang, S.; Hetterscheid, D. G. H. Redefinition of the Active Species and the Mechanism of the Oxygen Evolution Reaction on Gold Oxide. *ACS Catal.* **2020**, *10* (21), 12582–12589. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c03548>.
- (77) Ahrens, P.; Zander, M.; Hasse, U.; Wulff, H.; Jeyabharathi, C.; Kruth, A.; Scholz, F. Electrochemical Formation of Gold Nanoparticles on Polycrystalline Gold Electrodes during Prolonged Potential Cycling. *ChemElectroChem* **2018**, *5* (6), 943–957. <https://doi.org/10.1002/celec.201700745>.
- (78) Oesch, U.; Janata, J. Electrochemical Study of Gold Electrodes with Anodic Oxide Films—I. Formation and Reduction Behaviour of Anodic Oxides on Gold. *Electrochim. Acta* **1983**, *28* (9), 1237–1246. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(83\)85011-7](https://doi.org/10.1016/0013-4686(83)85011-7).
- (79) Taleat, Z.; Khoshroo, A.; Mazloum-Ardakani, M. Screen-Printed Electrodes for Biosensing: A Review (2008-2013). *Microchim. Acta* **2014**, *181* (9–10), 865–891. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1181-1>.
- (80) Tsai, T. C.; Liu, C. W.; Wu, Y. C.; Ondevilla, N. A. P.; Osawa, M.; Chang, H. C. In Situ Study of EDC/NHS Immobilization on Gold Surface Based on Attenuated Total Reflection Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (ATR-SEIRAS). *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2019**, *175* (July 2018), 300–305. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.12.009>.
- (81) Mousavisani, S. Z.; Raoof, J. B.; Turner, A. P. F.; Ojani, R.; Mak, W. C. Label-Free DNA Sensor Based on Diazonium Immobilisation for Detection of DNA Damage in Breast Cancer 1 Gene. *Sensors Actuators, B Chem.* **2018**, *264*, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.152>.
- (82) Kaur, A.; Kapoor, S.; Bharti, A.; Rana, S.; Chaudhary, G. R.; Prabhakar, N. Gold-platinum Bimetallic Nanoparticles Coated 3-(Aminopropyl)Triethoxysilane (APTES) Based Electrochemical Immunosensor for Vitamin D Estimation. *J. Electroanal. Chem.* **2020**, *873*, 114400. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114400>.
- (83) Desimoni, E.; Brunetti, B. Data Treatment of Electrochemical Sensors and Biosensors. *Environ. Anal. by Electrochem. Sensors Biosens.* **2015**, 1137–1151. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1301-5_18.
- (84) Cui, H.; Chen, L.; Dong, Y.; Zhong, S.; Guo, D.; Zhao, H.; He, Y.; Zou, H.; Li, X.; Yuan, Z. Molecular Recognition Based on an Electrochemical Sensor of per(6-Deoxy-6-Thio)-Beta-Cyclodextrin Self-Assembled Monolayer Modified Gold Electrode. *J. Electroanal. Chem.* **2015**, *742*, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2015.01.031>.

- (85) Weisser, M.; Nelles, G.; Wohlfart, P.; Wenz, G.; Mittler-Neher, S. Immobilization Kinetics of Cyclodextrins at Gold Surfaces. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100* (45), 17893–17900. <https://doi.org/10.1021/jp961547w>.
- (86) Abacıoğlu, G.; Üstündağ, Z.; Demirci, S.; İsbir, A. A. Surface PKa Determination of Benzoic Acid Modified Gold Electrode by Electrochemical and Contact Angle Measurement Methods. *MANAS J. Eng.* **2014**, *2* (1), 3–15.
- (87) Baranton, S.; Bélanger, D. Electrochemical Derivatization of Carbon Surface by Reduction of in Situ Generated Diazonium Cations. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (51), 24401–24410. <https://doi.org/10.1021/jp054513+>.
- (88) Cheng, Q.; Brajter-Toth, A. Selectivity and Sensitivity of SelfAssembled Thioctic Acid Electrodes. *Anal. Chem.* **1992**, *64* (17), 1998–2000. <https://doi.org/10.1021/ac00041a041>.
- (89) Hayat, A.; Barthelmebs, L.; Marty, J. L. Electrochemical Impedimetric Immunosensor for the Detection of Okadaic Acid in Mussel Sample. *Sensors Actuators, B Chem.* **2012**, *171–172*, 810–815. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.05.075>.
- (90) Choudhary, Y. S.; Jothi, L.; Nageswaran, G. *Electrochemical Characterization*; Elsevier Inc., **2017**; Vol. 2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00002-9>.
- (91) Li, N.; Chow, A. M.; Ganesh, H. V. S.; Ratnam, M.; Brown, I. R.; Kerman, K. Diazonium-Modified Screen-Printed Electrodes for Immunosensing Growth Hormone in Blood Samples. *Biosensors* **2019**, *9* (3), 88. <https://doi.org/10.3390/bios9030088>.
- (92) Brett, C. M. A. Electrochemical Impedance Spectroscopy in the Characterisation and Application of Modified Electrodes for Electrochemical Sensors and Biosensors. *Molecules* **2022**, *27* (5). <https://doi.org/10.3390/molecules27051497>.
- (93) Lasia, A. *Electrochemical Impedance Spectroscopy and Its Applications*; Springer New York Heidelberg Dordrecht London, **2014**. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8933-7>.
- (94) Mazzotta, E.; Rella, S.; Turco, A.; Malitesta, C. XPS in Development of Chemical Sensors. *RSC Adv.* **2015**, *5* (101), 83164–83186. <https://doi.org/10.1039/c5ra14139g>.
- (95) Méndez-Torres, A. M.; Sandoval-Altamirano, C.; Sánchez-Arenillas, M.; Marco, J. F.; Yáñez, C. Amino β -Cyclodextrins Immobilized on Gold Surfaces: Effect of Substituents on Host-Guest Interactions. *Electrochim. Acta* **2018**, *282*, 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.06.049>.
- (96) Sheet, D.; Bera, A.; Jana, R. D.; Paine, T. K. Oxidizing Ability of a Dioxygen-Activating Nonheme Iron(II)-Benzilate Complex Immobilized on Gold Nanoparticles. *Inorg. Chem.* **2019**, *58* (8), 4828–4841. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b03288>.

- (97) Li, H.; Kopiec, G.; Müller, F.; Nyßen, F.; Shimizu, K.; Ceccato, M.; Daasbjerg, K.; Plumeré, N. Spectroscopic Evidence for a Covalent Sigma Au-C Bond on Au Surfaces Using ¹³C Isotope Labeling. *JACS Au* **2021**, *1* (3), 362–368. <https://doi.org/10.1021/jacsau.0c00108>.
- (98) Zina, F.; Nooredeen, N. M.; Azzouzi, S.; Ali, M. Ben; Abbas, M. N.; Errachid, A. Novel Sensitive Impedimetric Microsensor for Phosphate Detection Based on a Novel Copper Phthalocyanine Derivative. *Anal. Lett.* **2018**, *51* (3), 371–386. <https://doi.org/10.1080/00032719.2017.1322096>.
- (99) Yunus, M. H.; Yusof, N. A.; Ismail, S.; Md Noor, S. S.; Mohammad, F.; Sulaiman, Y.; Ahmad Raston, N. H.; Abdullah, J.; Soleiman, A. A. Surface-Enhanced Carboxyphenyl Diazonium Functionalized Screen-Printed Carbon Electrode for the Screening of Tuberculosis in Sputum Samples. *Nanomaterials* **2022**, *12* (15). <https://doi.org/10.3390/nano12152551>.
- (100) Yunus, M. H.; Yusof, N. A.; Raston, N. H. A.; Noor, S. S. M.; Sulaiman, Y.; Abdullah, J. A Novel Amperometric Aptamer-Antibody Sandwich Assay for the Detection of Tuberculosis with Diazonium Electrografted Enhanced Modified Electrode. *IEEE Sens. J.* **2021**, *21* (20), 22442–22449. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2021.3108778>.
- (101) Revenga-Parra, M.; Villa-Manso, A. M.; Briones, M.; Mateo-Martí, E.; Martínez-Periñán, E.; Lorenzo, E.; Pariente, F. Bioelectrocatalytic Platforms Based on Chemically Modified Nanodiamonds by Diazonium Salt Chemistry. *Electrochim. Acta* **2020**, 357. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136876>.
- (102) Aghaei, F.; Seifati, S. M.; Nasirizadeh, N. Development of a DNA Biosensor for the Detection of Phenylketonuria Based on a Screen-Printed Gold Electrode and Hematoxylin. *Anal. Methods* **2017**, *9* (6), 966–973. <https://doi.org/10.1039/c6ay02853e>.
- (103) Moscoso, R.; Abarca, S.; Yáñez, C.; Squella, J. A. MWCNT Bucky paper Disc Films as Alternative to the Drop Casting Method to Modify Electrode Surfaces. *Electrochim. Acta* **2023**, *443*, 141984. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.141984>.
- (104) Butterworth, A.; Blues, E.; Williamson, P.; Cardona, M.; Gray, L.; Corrigan, D. K. SAM Composition and Electrode Roughness Affect Performance of a DNA Biosensor for Antibiotic Resistance. *Biosensors* **2019**, *9* (22). <https://doi.org/10.3390/bios9010022>.
- (105) Garrido, E. M.; Lima, J. L. F. C.; Delerue-Matos, C.; Borges, F.; Silva, A. M. S.; Piedade, J. A. P.; Oliveira Brett, A. M. Electrochemical and Spectroscopic Studies of the Oxidation Mechanism of the Herbicide Propanil. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51* (4), 876–879. <https://doi.org/10.1021/jf025957v>.
- (106) European Food Safety Authority. Conclusion on the Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Active Substance Propanil. *EFSA J.* **2011**, *9* (3), 2085. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2085>.

- (107) Strmcnik, D.; Lopes, P. P.; Genorio, B.; Stamenkovic, V. R.; Markovic, N. M. Design Principles for Hydrogen Evolution Reaction Catalyst Materials. *Nano Energy* **2016**, *29*, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2016.04.017>.
- (108) Goyal, A.; Koper, M. T. M. The Interrelated Effect of Cations and Electrolyte PH on the Hydrogen Evolution Reaction on Gold Electrodes in Alkaline Media. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2021**, *60* (24), 13452–13462. <https://doi.org/10.1002/anie.202102803>.
- (109) Mhammedi, M. A. E.; Bakasse, M.; Chtaini, A. Electrochemical Studies and Square Wave Voltammetry of Paraquat at Natural Phosphate Modified Carbon Paste Electrode. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *145* (1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.054>.
- (110) Deroco, P. B.; Junior, D. W.; Kubota, L. T. Silver Inkjet-Printed Electrode on Paper for Electrochemical Sensing of Paraquat. *Chemosensors* **2021**, *9* (4). <https://doi.org/10.3390/chemosensors9040061>.
- (111) (En Linea) Mistry, S. *Pharmaceutical Buffers*. <https://solutionpharmacy.in/pharmaceutical-buffers/>. [Revisado el 05/01/2022]
- (112) Kim, H. J.; Jeon, W. S.; Ko, Y. H.; Kim, K. Inclusion of Methylviologen in Cucurbit[7]Uril. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99* (8), 5007–5011. <https://doi.org/10.1073/PNAS.062656699>.
- (113) Matsue, T.; Kato, T.; Akiba, U.; Osa, T. Inclusion, Solubilization, and Stabilization of Two-Electron Reduced Species of Methyl Viologen By Cyclodextrins. *Chem. Lett.* **1985**, *14* (12), 1825–1828. <https://doi.org/10.1246/cl.1985.1825>.
- (114) Zeng, J.; Wei, W.; Wu, L.; Liu, X.; Liu, K.; Li, Y. Fabrication of Poly(Toluidine Blue O)/Carbon Nanotube Composite Nanowires and Its Stable Low-Potential Detection of NADH. *J. Electroanal. Chem.* **2006**, *595* (2), 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.07.014>.
- (115) Yañez, C.; Pérez, M. Estudio Electroquímico de La Complejación de Propanil Con Ciclodextrinas y Curcubiturilos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, **2020**. <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/175285>.
- (116) Zolgharnein, J.; Shariatmanesh, T.; Babaei, A. Simultaneous Determination of Propanil and Monalide by Modified Glassy Carbon Electrode with Nickel Oxide Nanoparticles, Using Partial Least Squares Modified by Orthogonal Signal Correction and Wavelet Packet Transform. *Sensors Actuators, B Chem.* **2014**, *197*, 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.003>.
- (117) Dordević, J.; Papp, Z.; Guzsvány, V.; Švancara, I.; Trtić-Petrović, T.; Purenović, M.; Vytřas, K. Voltammetric Determination of the Herbicide Linuron Using a Tricresyl Phosphate-Based Carbon Paste Electrode. *Sensors* **2012**, *12* (1), 148–161. <https://doi.org/10.3390/s120100148>.

- (118) Wong, A.; Sotomayor, M. D. P. T. Determination of Carbofuran and Diuron in FIA System Using Electrochemical Sensor Modified with Organometallic Complexes and Graphene Oxide. *J. Electroanal. Chem.* **2014**, *731*, 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.08.025>.
- (119) Méndez-Torres, A. M.; Yañez, C. Estudio Comparativo de Las Capacidades de Inclusión de Derivados Amino- β -Ciclodextrinas Inmovilizados Sobre Superficies de Oro, Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, **2021**. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/188967>.
- (120) Zhang, J.; Lin, Z.; Qin, Y.; Li, Y.; Liu, X.; Li, Q.; Huang, H. Fabricated Electrochemical Sensory Platform Based on the Boron Nitride Ternary Nanocomposite Film Electrode for Paraquat Detection. *ACS Omega* **2019**, *4* (19), 18398–18404. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02658>.
- (121) Ye, X.; Gu, Y.; Wang, C. Fabrication of the Cu₂O/Polyvinyl Pyrrolidone-Graphene Modified Glassy Carbon-Rotating Disk Electrode and Its Application for Sensitive Detection of Herbicide Paraquat. *Sensors Actuators, B Chem.* **2012**, *173*, 530–539. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.07.047>.
- (122) Shan, X.; de Dieu Habimana, J.; Ji, J.; Sun, J.; Pi, F.; Zhang, Y.; Sun, X. A Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor Based on Au Nanocross-Chitosan Composites for Detection of Paraquat. *J. Solid State Electrochem.* **2019**, *23* (4), 1211–1220. <https://doi.org/10.1007/s10008-018-04192-3>.
- (123) De Souza, D.; Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A. Electroanalytical Determination of the Herbicide Paraquat in Natural Water and Commercial Tea Samples with Gold Electrodes Obtained from Recordable Compact Disc. *Anal. Lett.* **2005**, *38* (2), 331–341. <https://doi.org/10.1081/AL-200045163>.
- (124) Velusamy, V.; Palanisamy, S.; Kokulnathan, T.; Chen, S. W.; Yang, T. C. K.; Banks, C. E.; Pramanik, S. K. Novel Electrochemical Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Decorated Graphene- β -Cyclodextrin Composite for Trace-Level Detection of Antibiotic Drug Metronidazole. *J. Colloid Interface Sci.* **2018**, *530*, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.06.056>.
- (125) García-Miranda Ferrari, A.; Rowley-Neale, S. J.; Banks, C. E. Screen-Printed Electrodes: Transitioning the Laboratory in-to-the Field. *Talanta Open* **2021**, *3*, 100032. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100032>.