

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



**“ELECTRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO CON
CHAMPIÑONES (AGARICUS BISPORUS): OPTIMIZACIÓN DE
METODOLOGÍA ELECTROANALÍTICA PARA DETERMINAR
ARSÉNICO (III)”**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO

ARTURO ALEXANDER ANDRÉS SALINAS TOBAR

Patrocinante

Directora

Dra. Verónica Arancibia Moya

Dra. Verónica Arancibia Moya

Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica

SANTIAGO – CHILE

2024

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar agradeciendo a mi familia por el amor y apoyo incondicional que siempre me han brindado. En especial a mi madre que me otorgó todas las herramientas para crecer y me enseñó que siempre hay que dar lo mejor de uno, sin importar nada. Gracias por no rendirte conmigo y preocuparte de que explotara al máximo mis capacidades, sin duda no podría haber tenido a una mejor madre. A mis hermanos Andres y Allan, les agradezco siempre estar ahí cuando más los necesitaba y ayudarme a entender que hay cosas en la vida que uno a veces no puede controlar, solo aceptar.

Agradezco enormemente a mi directora de tesis, la Dra. Verónica Arancibia Moya, por confiar en mí y recibirme en su laboratorio, sin conocerme ni haber recibido referencias previas. Le agradezco por tener muy buena disposición a ayudarme y enseñarme en cada momento, siempre entregándome al máximo sus conocimientos. Quiero destacar su calidad no solo de docente, si no como persona, lo cual me hizo sentir en un ambiente cómodo en cada momento mientras trabajé en esta investigación.

Me gustaría agradecer a mis amigos y compañeros, los cuales me apoyaron y acompañaron en todo este proceso. Mis amigos del liceo Ariel, Elías, Jonathan, Yuss y Mauri, con los cuales sé que puedo confiar incondicionalmente.

Quiero destacar a las amistades que formé en la universidad. A Yerko que fue mi primer amigo real en la facultad, Marco que en estos últimos años ha sido un pilar fundamental en mi vida. A Cote mi eterna compañera del laboratorio de inorgánica. Ernesto, Pollo, Dani y Karen que estuvieron para mí cuando fue necesario. Por último, mi compañero de laboratorio Juan José que siempre estuvo dispuesto a ayudarme.

Finalmente, quiero agradecer a Susana que en el poco tiempo que lleva en mi vida ha sido un apoyo incondicional, siempre preocupada y dispuesta a ayudarme en todo, por más mínimo que sea.

Sin ustedes este logro no habría sido posible, les agradezco eternamente por formar parte de mi vida.

Fue el destino quien me trajo aquí, pero soy yo, quien trazó mi propio camino

Jhon Marston, RDR

(1873-1911)

Esta tesis fue realizada con el apoyo de la Comisión Nacional de investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) a través del financiamiento del proyecto FONDECYT N° 1211637.

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo es el estudio y optimización de una metodología analítica para determinar As(III) y Pb(II) utilizando electrodos de carbono vítreo modificados con una disolución de Nafion y champiñones comerciales (Shiitake, *Lentinula edodes* (H-1) y Abrantes, *Agariscus bisporus* (H-2)). Estos se secaron a 50 °C durante 48 horas, luego se molieron y homogenizaron en un mortero para posteriormente mezclarlos con Nafion en diferentes proporciones. Se trabajó en una celda electroanalítica con un sistema de tres electrodos, utilizando como electrodo de trabajo el de carbono vítreo modificado (Nafion-champiñón), como electrodo de referencia el de Ag/AgCl/KCl/3molL⁻¹ y como electrodo auxiliar un alambre de platino.

Se determinó que las mejores condiciones para cuantificar arsénico son modificando el electrodo con 10 µL de mezcla Nafion 5% y champiñón Abrantes (H-2) en proporción 1 mL:1 mg (C_{ác.nitrico} 0,01 mol L⁻¹) aplicando un E_{acc} de -1,0 V (60 s). En estas condiciones se obtuvo un límite de detección de 14,2 µg L⁻¹, una sensibilidad de 54,2 µA/µg L⁻¹ (R²: 0,9944) y un rango lineal hasta 142,9 µg L⁻¹. Se validó la metodología utilizando muestras de agua potable del laboratorio dopada con 120 µg L⁻¹ de As(III) obteniendo 117 µg L⁻¹ (ER = -2,5%). Posteriormente se aplicó la metodología en la determinación de As(III) en una muestra de agua del Río Loa del sector de Lomas Huasi, la cual fue analizada previamente obteniendo una concentración de 37,9 µg L⁻¹ de As(III). Con nuestra metodología se obtuvo una concentración de 37,0 µg L⁻¹ (ER = -2,3%).

Se estudió la metodología para ser aplicada con Pb(II), pero la incorporación del champiñón en la modificación del electrodo provoca una disminución de sensibilidad hacia este analito, obteniéndose mejores resultados utilizando el electrodo modificado solamente con Nafion.

ABREVIACIONES

USEPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
EPA	Agencia de Protección Ambiental
IARC	Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer
OMS	Organización Mundial de la Salud
CE	Comunidad Europea
ASV	Voltamperometría Redisolución anódica
AdSV	Voltamperometría de adsorción
DPV	Voltamperometría Diferencial de Pulso
SWV	Voltamperometría de onda cuadrada
SPE	Screen-Printed Electrode (electrodo serigrafiado)
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
RL	Rango lineal
ER	Error relativo
RL-LH	Rio Loa Lomas Huasi
MWCNT	Multi-Walled Carbon Nanotubes
CV/Nx/Hy	Electrodo Carbono Vítreo modificado con Nafion x% y champiñón Hy.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN	15
I.1. Antecedentes sobre el arsénico	15
I.2. Antecedentes sobre el plomo	16
I.3. Técnicas electroanalíticas	17
I.4. Electrodo de trabajo de carbono vítreo	20
I.5. Electroodos modificados	20
I.6. Electroodos serigrafiados.....	21
I.7. Antecedentes del Nafion	22
I.8. Antecedentes sobre los champiñones.....	22
I.9. Muestra natural	24
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	26
II.1. Hipótesis	26
II.2. Objetivos	26
II.2.1. Objetivo general	26
II.2.2. Objetivos específicos.....	26
III. PARTE EXPERIMENTAL	28
III.1. Instrumentación.....	28
III.1.1. Aparatos y celda de trabajo	28
III.1.2. Electroodos de trabajo.....	29
III.2. Reactivos y disolventes	30
III.3. Procedimiento experimental	31
III.3.1. Modificación del electrodo de carbono vítreo.....	31
III.3.2. Medidas voltamperométricas	32

III.3.3. Optimización de metodología para determinar de As(III).....	33
III.3.4. Estudios de Pb(II).....	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
IV.1. Estudio de As(III).....	39
IV.1.1. Estudio de modificación óptima	39
IV.1.1.1. Electrodo de carbono vítreo sin modificar.....	39
IV.1.1.2. Electrodo modificado con Nafion al 0,5 y 5%	39
IV.1.1.3. Electrodo modificado con Nafion y champiñón.....	39
IV.1.2. Estudio de parámetros experimentales para optimizar la metodología utilizando electrodos modificados con Nafion-champiñón.....	41
IV.1.2.1. Estudio en función del pH de la disolución	41
IV.1.2.2. Efecto en función del potencial de acumulación	42
IV.1.2.3. Estudio en función del tiempo de acumulación	43
IV.1.2.4. Efecto de la frecuencia de la onda cuadrada.....	44
IV.1.3. Obtención de curvas de calibrado y parámetros analíticos	45
IV.1.3.1. Curva de calibrado en medio de HNO ₃	45
IV.1.3.2. Curva de calibrado en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6)	47
IV.1.4. Estudio de repetibilidad.....	48
IV.1.5. Estudio de reproducibilidad de los electrodos modificados	49
IV.1.6. Estudio de velocidad de barrido	50
IV.1.7. Validación de la metodología.....	52
IV.1.8. Estudio en presencia de interferentes	54
IV.1.9. Análisis de As(III) en una muestra de agua del río Loa	56
IV.1.10. Modificación de electrodos serigrafiados.....	57
IV.2. Estudio de Pb(II).....	59
IV.2.1. Estudio de modificación optima	59
IV.2.1.1. Electrodo de carbono vítreo sin modificar.....	59

IV.2.1.2. Electrodo modificado con Nafion al 0,5 y 5%	59
IV.2.1.3. Electrodo modificado con Nafion 0,5% y champiñón	60
IV.2.1.4. Electrodo modificado con Nafion 5% y champiñón	61
V. CONCLUSIONES	65
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	66
ANEXO I - Resultados obtenidos al realizar medidas en diferentes condiciones experimentales	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rangos de aplicación de técnicas electroanalíticas y cromatografía con detector electroquímico.....	18
Figura 2. Esquema de la Voltamperometría de <i>stripping</i> anódico y de adsorción.....	19
Figura 3. Esquema del programa de potencial y el efecto en la corriente.....	20
Figura 4. Esquema de un electrodo serigrafiado.....	21
Figura 5. Representación general de la elaboración de un electrodo serigrafiado.....	22
Figura 6. Estructura molecular del polímero Nafion.....	22
Figura 7. Potenciostato CHInstrument Modelo 800E.....	28
Figura 8. Esquema general de una celda electroanalítica.....	29
Figura 9. Tipos de Champiñones utilizados.....	31
Figura 10. Champiñones molidos para ser utilizados en la modificación del electrodo.....	32
Figura 11. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado utilizando un electrodo modificado con 10 μL de mezcla de Nafion 5%:champiñón H-2 en una relación 1:1. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.....	40
Figura 12. Gráfico corriente de pico (ip) vs pH. Tampón Britton-Robinson 0,01 mol L^{-1} ; 62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.....	42
Figura 13. (A) Voltamperogramas variando el potencial de acumulación y (B) gráfico corriente de pico (ip) vs. E_{acc} (V). HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.....	43
Figura 14. (A) Voltamperogramas variando el tiempo de acumulación y (B) gráfico corriente de pico (ip) vs. t_{acc} (s). HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; 50 Hz.....	43

Figura 15. (A) Voltamperogramas a diferentes frecuencias y (B) gráfico corriente de pico (ip) vs Frecuencia (Hz). HNO_3 0,01 mol L ⁻¹ ; 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s.....	44
Figura 16. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (ip) en función de la concentración de As(III) (restando blanco) en medio HNO_3 . $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	45
Figura 17. Curva de calibrado (rango lineal) en medio HNO_3 . $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	46
Figura 18. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (ip) en función de la concentración de As(III) (restando blanco) en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	47
Figura 19. (A) Curva de calibrado (1° rango lineal) desde 19,6 a 117,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ y (B) curva de calibrado (2° rango lineal) desde 117,6 a 318,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	47
Figura 20. (A) Gráfico corriente de pico (ip) vs. N° medida en HNO_3 y (B) tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . 32,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	49
Figura 21. (A) Gráfico corriente de pico (ip) vs. N° electrodo. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . 62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	50
Figura 22. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (ip) en función de la velocidad de barrido. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ ; 66,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III); $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	50
Figura 23. Curva de corriente de pico (ip) en función de la raíz de la velocidad de barrido. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ ; 66,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III); $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.....	51
Figura 24. Ecuación de Randles-Sevcik.....	52

Figura 25. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado con muestra dopada en medio HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ . E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	53
Figura 26. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado con muestra dopada en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	53
Figura 27. Gráfico de interferentes en señal de As(III) con diferentes iones metálicos en medio HNO ₃ y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ . 62,5 µg L ⁻¹ de As(III); 62,5 µg L ⁻¹ iones interferentes; E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	54
Figura 28. Gráfico de interferentes en señal de As(III) con diferentes compuestos orgánicos. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ ; 12,0 µg L ⁻¹ de As(III); 6,6; 19,9 y 46,2 µg L ⁻¹ interferente orgánico; E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	55
Figura 29. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado de muestra real. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L ⁻¹ ; E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	57
Figura 30. (A) Voltamperogramas de muestra dopada con electrodo serigrafado de carbono y (B) curva de calibrado. HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ ; E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 30 s; 50 Hz.....	58
Figura 31. (A) Voltamperogramas de muestra dopada con electrodo serigrafado de nanotubos de carbono y (B) curva de calibrado. HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ ; E _{acc} = -1,0 V; t _{acc} = 30 s; 50 Hz.....	58
Figura 32. Curvas de calibrado con electrodos modificados con Nafion 5% y 0,5%. HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ ; E _{acc} = -1,2 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	59
Figura 33. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion 0,5% y champiñón (H-1 y H-2) en relación 1:1. HNO ₃ 0,01 mol L ⁻¹ ; E _{acc} = -1,2 V; t _{acc} = 60 s; 50 Hz.....	60

Figura 34. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion y champiñón H-1 en relación 1:1 y 1:2. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz61

Figura 35. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion y champiñón H-2 en relación 1:1 y 1:2. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de metales en champiñones.....	32
Tabla 2. Resultados obtenidos con todos los electrodos modificados.....	40
Tabla 3. Parámetros experimentales óptimos de la metodología.....	45
Tabla 4. Parámetros analíticos de las curvas de calibrado obtenidas en HNO ₃ y tampón Britton-Robinson (pH=4,6).....	48
Tabla 5. Comparación entre electrodos modificados con Nafion 0,5% y champiñones.....	61
Tabla 6. Comparación entre electrodos modificados con Nafion 5% y champiñones.....	62

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Antecedentes sobre el arsénico

El arsénico es un elemento que se encuentra en la atmosfera, suelos, rocas, aguas naturales y organismos vivos. Es el 20 elemento más abundante en la corteza terrestre, el 40 en las aguas profundas del mar, el 12 en el cuerpo humano y su concentración en el agua natural oscila entre 0,5 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$. El arsénico inorgánico ocupa el primer lugar en la lista de contaminantes prioritarios de la USEPA debido a los efectos negativos que genera sobre la salud humana a corto y largo plazo, además está clasificado por la IARC como un agente carcinógeno. La exposición humana no ocupacional al arsénico se da principalmente por agua y alimentos, donde las concentraciones típicas en agua dulce son menores a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ y frecuentemente menores a 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Según la exposición o ingesta puede provocar pérdida de apetito, náuseas, cambios de pigmentación, engrosamiento de la piel (hiperqueratosis), alteraciones neurológicas y si la exposición es por periodos prolongados existe alguna evidencia de que el As también puede provocar cánceres de pulmón, hígado, riñón, vejiga, piel y próstata. El arsénico también se asocia a desenlaces adversos del embarazo y mortalidad infantil, debido a exposiciones en el útero y en la primera infancia. Existe una exposición ocupacional importante al arsénico en varias industrias, como la minería del cobre, la fundición de sales no ferrosos, la electrónica y la conservación de la madera [1-4].

A nivel mundial se han identificado una gran cantidad de acuíferos contaminados con este elemento, las cuales se encuentran principalmente en Argentina, Bangladesh, Chile, China, Hungría, USA, etc. En Chile, la presencia de arsénico ha sido atribuida al norte del país, específicamente a la quebrada de Camarones y al Río Loa, sin embargo, se han reportado concentraciones elevadas en la laguna Carén y Humedal de Batuco entre otros lugares. La contaminación por arsénico de las aguas subterráneas es un problema muy extendido, y hay varias

regiones en que el agua de bebida presenta importantes niveles de contaminación por arsénico. Se estima que 140 millones de personas de al menos 70 países han estado bebiendo agua con niveles de arsénico superiores al valor de referencia provisional de la OMS de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Esto concuerda con modelos estadísticos elaborados recientemente que indican que entre 94 y 220 millones de personas corren el riesgo de estar expuestas a concentraciones elevadas de arsénico en las aguas subterráneas [5-7].

A nivel nacional, el arsénico está presente principalmente en la mayoría de los ecosistemas del norte de Chile y en algunas partes de la zona central, ya sea de forma natural o por arsénico presente en fuentes de aguas superficiales por causas antrópicas, este último derivado de la actividad minera [8].

La toxicidad de las especies arsenicales decrece en el siguiente orden: arsinas > As(III) inorgánico > As(III) orgánico > As(V) inorgánico > compuestos de arsonio > As elemental. En general As(III) es más tóxico que As(V) y estas especies son más tóxicas que las orgánicas. El arsénico inorgánico ocupa el primer lugar en la lista de contaminantes prioritarios de la USEPA y también está clasificado por la IARC como carcinógeno para el ser humano [9].

1.2. Antecedentes sobre el plomo

Entre los metales pesados, el Pb es el elemento pesado tóxico más importante del medio ambiente, su uso se remonta a épocas históricas y debido a sus propiedades fisicoquímicas se dificulta abandonar su uso, a pesar de que este posea una naturaleza no biodegradable, por lo que su concentración se acumula en el medio ambiente con peligros crecientes. Este metal afecta múltiples sistemas corporales y es particularmente perjudicial para los niños pequeños. En bajas concentraciones puede causar serios problemas de salud en casi todos los órganos como el riñón, cerebro, hígado y huesos; el sistema nervioso es el objetivo más afectado. El plomo es tan tóxico que una vez que penetra en el cuerpo, causa daño a las células cerebrales y mata las neuronas, produciendo

náuseas, mareos y vómitos. Las principales fuentes de exposición son antropogénicas, tales como la fabricación de productos químicos y baterías, industrias de plástico e impresión, fundición y operaciones mineras [10-13].

Los niveles de plomo en sangre entre 25 y 60 $\mu\text{g dL}^{-1}$ dan lugar a efectos neuropsiquiátricos como retraso en los tiempos de reacción, irritabilidad y dificultad para concentrarse, así como enlentecimiento de la conducción nerviosa motora y dolor de cabeza. La anemia puede aparecer con niveles de plomo en sangre superiores a 50 $\mu\text{g dL}^{-1}$. En los adultos, el cólico abdominal, que implica paroxismos de dolor, puede aparecer con niveles de plomo en sangre superiores a 80 $\mu\text{g dL}^{-1}$. Los niveles elevados de plomo en sangre que superan los 100 $\mu\text{g dL}^{-1}$ provocan manifestaciones muy graves, como signos de encefalopatía (condición caracterizada por inflamación del cerebro) acompañada de aumento de la presión dentro del cráneo, delirio, coma, convulsiones y dolor de cabeza. Sin embargo, estas manifestaciones aparecen en niños con niveles de plomo de 70 $\mu\text{g dL}^{-1}$ o más [14,15].

El plomo orgánico es quizás más tóxico que el plomo inorgánico debido a su naturaleza liposoluble, lo que tiene consecuencias rápidas. La EPA ha establecido 1,0 mg L^{-1} como la concentración máxima permisible de Pb en aguas residuales industriales y 0,015 mg L^{-1} en el agua potable, mientras que la OMS ha fijado un valor máximo de 0,01 mg L^{-1} y la CE de 0,005 mg L^{-1} [16,17].

I.3. Técnicas electroanalíticas

Las técnicas electroanalíticas, son una buena alternativa para determinar iones metálicos, no metálicos y compuestos orgánicos debido a su rapidez, selectividad, sensibilidad, bajos límites de detección, relativa simplicidad y equipos de bajo costo comparado con otras técnicas. Por otra parte, se pueden aplicar técnicas modernas con equipos desarrollados hace más de 20 años. De estas técnicas electroanalíticas, las de *stripping* son las más sensibles debido a la combinación de una etapa de acumulación con modernas técnicas de barrido

(Voltamperometría Diferencial de Pulso o Voltamperometría de onda cuadrada). Los analitos pueden ser concentrados en un factor de 100 o 1000 veces, bajando los límites de detección en 2 o 3 órdenes de magnitud con respecto a aquellas que no tienen etapa de acumulación [18,19].

En la **Figura 1** se presenta un esquema que indica los niveles de concentración detectables de compuestos orgánicos o complejos metálicos en diferentes técnicas electroanalíticas como también en la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con detector Amperométrico.

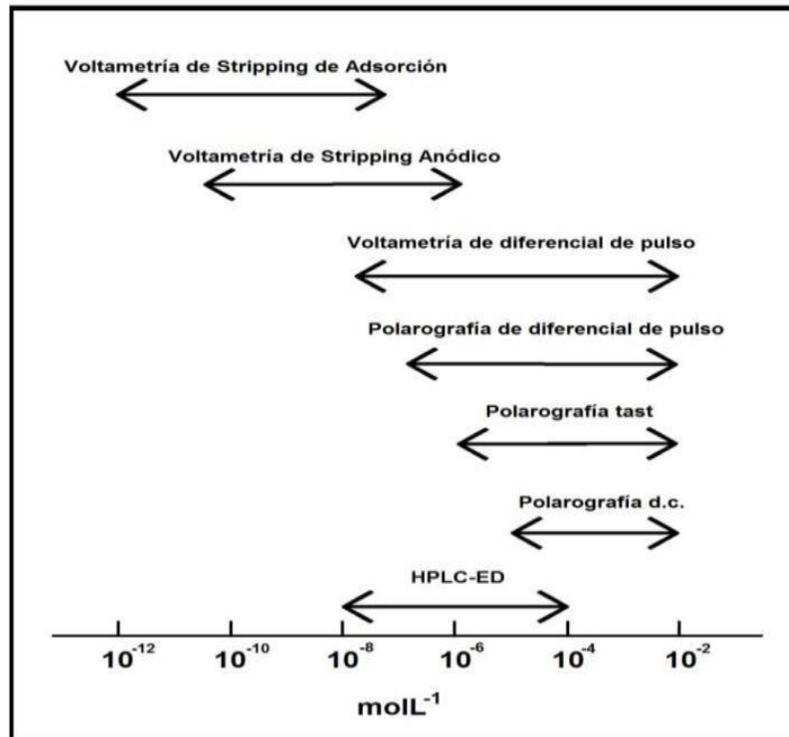


Figura 1. Rangos de aplicación de las técnicas electroanalíticas y cromatografía con detector electroquímico [20].

En las técnicas de *stripping*, la acumulación puede ocurrir por electrólisis (por ejemplo, Redisolución anódica, ASV), o por adsorción (Voltamperometría de adsorción, AdSV). La ASV ha sido la técnica más utilizada en los últimos 70 años.

Ésta permite el análisis de la mayoría de los iones metálicos cuyo potencial de reducción está dentro de la ventana de trabajo del electrodo-electrolito soporte. Sin embargo, no es adecuada para la determinación de algunos compuestos orgánicos e iones metálicos que no se reducen a amalgamas a diferencia de la AdSV que normalmente es más sensible y se alcanzan mejores límites de detección que la ASV pudiendo aplicarse a compuestos orgánicos y complejos metálicos [19-21]. En la **Figura 2** se presentan esquemas de trabajo de estas técnicas.

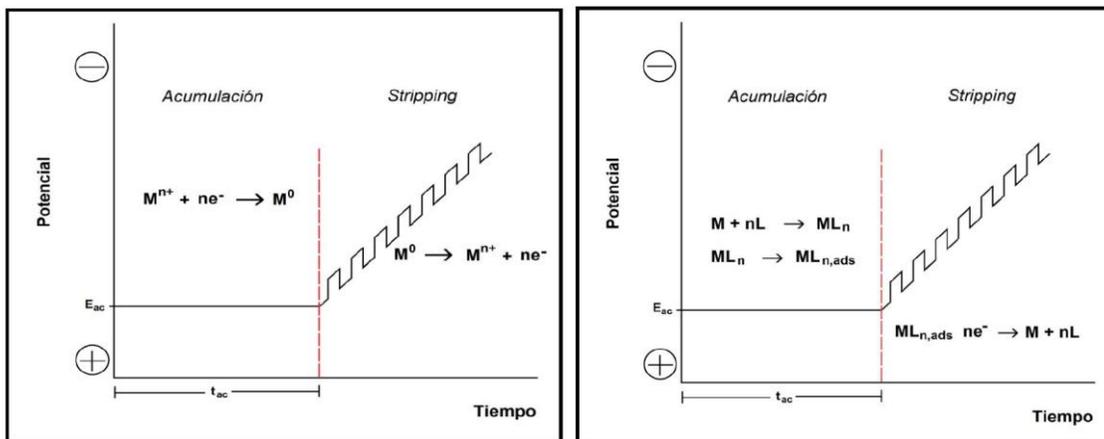


Figura 2. Esquema de la Voltamperetría de *stripping* anódico y de adsorción [21].

Luego de la etapa de adsorción es necesario realizar el barrido con una técnica sensible. Las dos más utilizadas son la Polarografía (si el electrodo de trabajo es de Hg) o Voltamperetría Diferencial de Pulso (DPV) y la Voltamperetría de onda cuadrada (SWV). La más sensible es la SWV debido a que se aplica técnicas de pulso y de corriente alterna y el voltamperograma se obtiene a una velocidad mayor. Esto se debe a que, al aplicar un potencial más negativo, la disolución que rodea al electrodo “se empobrece” en el analito, al invertir el sentido de la corriente, el analito vuelve a la disolución, aumentando la concentración y con ello la corriente en el barrido inverso. [19-22]. En la **Figura 3** se presenta un esquema con el programa de potencial y el efecto en la corriente.

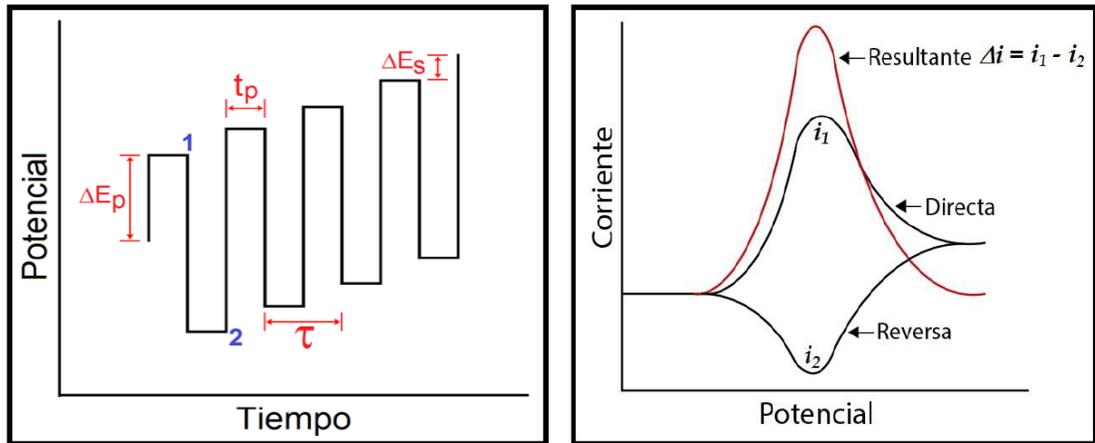


Figura 3. Esquema del programa de potencial y el efecto en la corriente [21].

I.4. Electrodo de trabajo de carbono vítreo

En 1962, a partir de resinas fenólicas, Yamada y Sato prepararon un carbón impermeable al gas al que llamaron carbón vítreo. Este carbono vidrioso tiene propiedades físicas interesantes en comparación con otros carbonos tales como, por ejemplo, carbón impregnado. Una característica importante de su método de formación es que los artefactos de carbono se pueden producir de varias formas. Además, el carbono vítreo presenta una alta resistencia a la oxidación especialmente cuando se prepara a temperaturas elevadas, lo que le otorga una mayor inercia al ataque químico en comparación de otros tipos de carbonos, como varios grafitos. Esta propiedad, junto con el tamaño de poro muy pequeño convierte al carbón vítreo en un material atractivo para la preparación de electrodos inertes [23]. El electrodo de carbono vítreo posee una amplia ventana para trabajar en electroanálisis y es económico, lo cual lo vuelve una buena alternativa para realizar estudios.

I.5. Electrodos modificados

Los electrodos modificados con ligandos son de gran importancia en la electroquímica, ya que permite tener amplias variaciones sintéticas otorgando a los electrodos mayor sensibilidad, selectividad, estabilidad y respuestas más

rápidas, ayudando a superar efectos de matriz y saturación. Se utilizan en diferentes campos para la detección de compuestos orgánicos e inorgánicos [24].

I.6. Electrodo serigrafiado

Los electrodos serigrafiados (SPEs, por *Screen-Printed Electrodes*) son sensores desechables que se construyen mediante la impresión capa por capa de un fluido viscoso o tinta en un sustrato de cerámica o plástico. El fluido se debe secar y solidificar con un tratamiento térmico y posteriormente se debe recubrir para aislar la trayectoria conductora. La configuración de estos sensores comprende un sistema de 3 electrodos (de trabajo, de referencia y auxiliar) mientras que el material del electrodo de trabajo puede ser grafito, carbono, oro, plata, platino, óxidos metálicos y nanomateriales. Además, contienen aglutinantes, polímeros, plastificantes, disolventes, aditivos, etc. Es decir, existe una amplia gama de estos sensores que permiten realizar análisis de diversos analitos de interés [25,26]. Este tipo de electrodos se han popularizado en los últimos años debido a su comodidad, ya que no es necesario conectar cada electrodo por separado, y además no se requiere una preparación previa de éste (como lavado y pulido), cada electrodo es desechable, por lo que para cada estudio se puede utilizar un electrodo nuevo. En las **Figuras 4 y 5** se presenta un esquema de estos electrodos y su preparación.

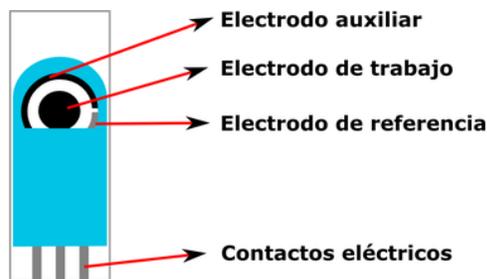


Figura 4. Esquema de un electrodo serigrafiado.



Figura 5. Representación general de la elaboración de un electrodo serigrafiado.

I.7. Antecedentes del Nafion

El Nafion es un polímero que es generado mediante la copolimerización de un comonomero de éter vinílico perfluorado con tetrafluoroetileno (TFE) [27], lo que da como resultado la estructura química presentada en la **Figura 6**.

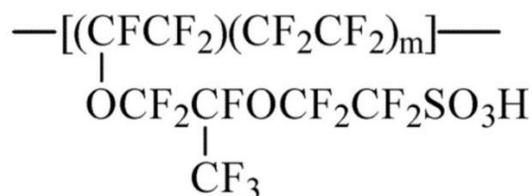


Figura 6. Estructura molecular del polímero Nafion [28].

Este polímero es utilizado por su capacidad de intercambio catiónico, al poseer sitios aniónicos en su estructura, puede incorporar iones cargados positivamente y rechazar especies cargadas negativamente, debido a esto se ha utilizado en una amplia cantidad de trabajos para modificar la superficie de electrodos junto a otras moléculas, buscando obtener métodos más sensibles y selectivos [28,29].

I.8. Antecedentes sobre los champiñones

Los champiñones han sido ampliamente estudiados debido a las estructuras que poseen, siendo los polisacáridos el componente principal de los hongos comestibles. Estos complejos polímeros, como los heteropolisacáridos, muestran variabilidad en su composición de monosacáridos, configuración anomérica, tipo de enlace y ramificación, además algunas de estas moléculas pueden presentar monosacáridos metilados naturales y también monosacáridos ácidos. Debido a

la complejidad de estas estructuras, sus moléculas se consideran una fuente interesante de estudio para ser aplicadas en áreas como la medicina y la industria. Estos cuerpos frutales carnosos y comestibles de varias especies de macrofungi pueden aparecer por debajo o por encima del suelo. Por lo tanto, para la evaluación del nivel de contaminación ambiental, generalmente se utilizan champiñones. Se ha informado que, aunque el grado de contaminación del suelo es bajo, las concentraciones de metales en algunas especies de hongos comestibles silvestres pueden ser altas [30].

En Chile existen diferentes especies de hongos en todos los ecosistemas del país, desde el desierto de Atacama hasta Tierra del Fuego. Se ha reportado que los hongos concentran metales tóxicos desde el medio ambiente dependiendo del lugar en donde crecen. Los hongos que crecen cerca de las minas y los relaves de las minas pueden enriquecerse con elementos tóxicos como Pb, Cd y As entre otros. Algunos hongos silvestres chilenos son: *Cyrtaria* spp., *Strobilurus* yellow, *Boletus granulatus*, *Chlamydomys meyenianus* (Socaire, Antofagasta), *Battarreastevenii* (Aguada de Tongoy, Huasco), *Montagnea arenaria* (Tiltill), *Agaricus bisporu* y *Agaricus arvensis* [31,32].

Borovička y col. [33] reportaron recientemente en Science of The Total Environment que la especie *Thelephora penicillata* (República Checa) concentra iones metálicas como Cd, As, Cu y Zn y el factor de acumulación es 330, 2130, 26 y 4 veces más que otros hongos de la zona [34]. Existe numerosa bibliografía donde se ha utilizado estos champiñones u hongos con fines de remediación. Sin embargo, no se ha reportado su uso en la modificación de electrodos con el fin de desarrollar metodologías analíticas para determinar iones metálicos en muestras de aguas contaminadas. El único trabajo que se ha reportado es de un micro-hongo muy especial (*Trichoderma asperellum*) [35] que se cultivó en una zona contaminada con metales y luego se utilizó para modificar un electrodo de carbono vítreo y determinar Pb y Cd.

En esta tesis se propone modificar electrodos de carbono vítreo con hongos comerciales adquiridos en un supermercado.

I.9. Muestra natural

La muestra ambiental proviene de aguas superficiales del río Loa (Norte de Chile), ya que es sabido que el As se presenta en concentraciones altas en el ambiente de la cuenca de este río. Su origen se ha relacionado con el volcanismo y el geotermalismo asociados a la cuenca, y en las últimas décadas se ha vinculado con actividades de la minería del cobre en Chuquicamata, que forman parte del proyecto minero de refinería más importante de la zona. En los sedimentos del río Loa se han evidenciado microorganismos capaces de oxidar y reducir el arsénico, favoreciendo la liberación de este y provocando eventos importantes de contaminación [36,37].

CAPITULO II: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II.1. Hipótesis

Debido a las propiedades adsorbentes de los champiñones por algunos metales tóxicos, se espera que, al utilizarlos para modificar un electrodo de trabajo, incorporándolos a la superficie de éste, exista una interacción con los analitos de estudio y se logre obtener una señal más sensible y selectiva.

II.2. Objetivos

II.2.1. Objetivo general

Desarrollar una metodología analítica sensible y selectiva en base a las técnicas voltamperométricas para determinar As(III) y Pb(II) en muestras de aguas contaminadas, utilizando el electrodo de carbono vítreo modificado con champiñones.

II.2.2. Objetivos específicos

- Estudio de As(III) y Pb(II) utilizando electrodos de carbono vítreo sin modificar, modificados con Nafion y luego modificados con Nafion-champiñón.
- Estudio del pH de la disolución, potencial y tiempo de acumulación (E_{acc} , t_{acc}).
- Optimización de los parámetros del barrido: determinación de frecuencia.
- Obtención de curvas de calibrado y determinación de parámetros analíticos: límite de detección, sensibilidad, rango lineal.
- Estudio de repetibilidad.
- Estudio de reproducibilidad.
- Estudio de interferentes.
- Estudio de velocidad de barrido.
- Validación de la metodología.
- Análisis de muestras reales.

CAPITULO III: PARTE EXPERIMENTAL

III. PARTE EXPERIMENTAL

A continuación, se presenta los instrumentos, reactivos y disolventes, además del procedimiento utilizado.

III.1. Instrumentación

III.1.1. Aparatos y celda de trabajo

Para realizar las medidas voltamperométricas se utilizó un potenciostato CHInstrument Modelo 800E software CHI852D Electrochemical Analyzer presentado en la **Figura 7**. Para ajustar pH se utilizó un pH-metro: Thermo Orion Modelo 410.



Figura 7. Potenciostato CHInstrument Modelo 800E.

Para los ensayos se utilizó una celda electroquímica con montaje para tres electrodos, siendo el electrodo de trabajo un electrodo de carbono vítreo o serigrafado modificado, un electrodo de referencia de Ag/AgCl en KCl 3 mol L⁻¹ y como electrodo auxiliar un alambre de platino, en la **Figura 8** se presenta un esquema general del sistema.

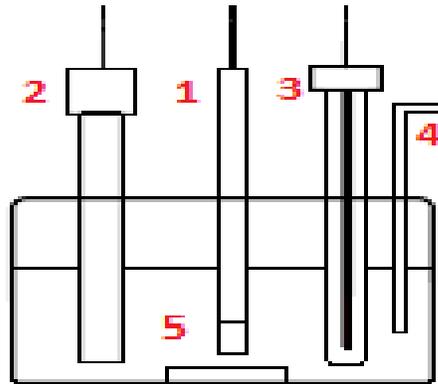


Figura 8. Esquema general de una celda electroanalítica. 1) Electrodo de trabajo (carbono vítreo modificado o serigrafiado); 2) Electrodo de referencia Ag/AgCl en KCl 3 mol L⁻¹; 3) Electrodo auxiliar de alambre de platino; 4) Cánula para el paso de argón o nitrógeno; 5) Barra magnética para agitación.

III.1.2. Electrodo de trabajo

- Electrodo de carbono vítreo 3 mm.
- Electrodo serigrafiado de carbono Dropsens DRP-C110. Electrodo de trabajo: carbono; electrodo auxiliar: carbono; electrodo de referencia: plata.
- Electrodo serigrafiado de nanotubos de carbono Dropsens DRP-110CNT. Electrodo de trabajo: carbono/MWCNT-COOH; electrodo auxiliar: carbono; electrodo de referencia: plata.

III.2. Reactivos y disolventes

- Agua calidad HPLC, d: 1,00 g mL⁻¹, Merck
- Nafion 5%, d: 0.874 g mL⁻¹, Aldrich
- Ácido nítrico (HNO₃) 65%, d:1,39 g mL⁻¹, Suprapur Merck
- Ácido bórico (H₃BO₃) d: 1,48 g mL⁻¹, Suprapur Merck
- Ácido fosfórico (H₃PO₃) 85%, d: 1,71 g mL⁻¹, Suprapur Merck
- Ácido Acético (CH₃COOH) 100%, d: 1,05 g mL⁻¹, Suprapur Merck
- Hidróxido de Sodio (NaOH), d: 1,04 g mL⁻¹, 30% m/m, Titripur Merck
- Etanol (CH₃CH₂OH), d: 0,79 g mL⁻¹, LiChrosolv Merck
- Dodecilsulfato de sodio (C₁₂H₂₅NaO₄S) 99%, Sigma
- Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CH₃(CH₂)₁₅N(Br)(CH₃)₃) 99%, Sigma
- Ácido húmico, sal sódica (C₉H₈Na₂O₄) grado técnico, Aldrich
- Patrones Certipur, Merck de 1000 mg L⁻¹
 - Arsénico (III)
 - Plomo (II)
 - Cobre (II)
 - Cromo (III)
 - Cromo (VI)
 - Mercurio (II)
 - Cadmio (II)
 - Arsénico (V)

III.3. Procedimiento experimental

III.3.1. Modificación del electrodo de carbono vítreo

El champiñón se procede a secar en estufa durante 48 horas a 50°C, después se muele y homogeniza en un mortero. Se prepara una mezcla de champiñón y Nafion, en diferentes proporciones masa de champiñón vs. mL de Nafion, la cual se deja 10 minutos en baño de ultrasonidos. A continuación, el electrodo se pule con alúmina 0,3 μm , luego se procede a limpiar, dejándolo 5 minutos en etanol y después en agua en un baño de ultrasonidos. Finalmente se coloca en la superficie del electrodo una alícuota de 5 o 10 μL de la mezcla Nafion: champiñón y se deja secando 15 minutos en la estufa a 45°C.

Este procedimiento fue utilizado también en la modificación de electrodos serigrafiados.

Los champiñones utilizados para la modificación se presentan en la **Figura 9 y 10**, además estos fueron analizados en un laboratorio de servicio obteniéndose los resultados presentados en la **Tabla 1**.

Champiñón H-1	Champiñón H-2
 <p>Setas del huerto Shiitake (<i>Lentinula edodes</i>)</p>	 <p>Abrantes Champiñón Paris (<i>Agariscus bisporus</i>)</p>

Figura 9. Tipos de Champiñones utilizados.



Figura 10. Champiñones molidos para ser utilizados en la modificación del electrodo.

Tabla 1: Concentración de metales en champiñones.

Muestra	As ($\mu\text{g/Kg}$)	Cr ($\mu\text{g/Kg}$)	Cd ($\mu\text{g/Kg}$)	Pb ($\mu\text{g/Kg}$)
H-1	380,74	3671,56	988,33	1127,69
H-2	445,35	5727,96	902,76	2629,94

III.3.2. Medidas voltamperométricas

Inicialmente antes de utilizar un electrodo modificado se realizan voltamperogramas cíclicos en el rango de potencial de 0,8 a -0,6 V durante 15 ciclos. Los estudios para ambos analitos se realizaron mediante la técnica de ASV con un barrido en el sentido anódico desde -1,2 a 0,8 V y como parámetros iniciales se aplicó un potencial de acumulación de -1,2 V durante 60 s (frecuencia 50 Hz). Se trabajó en una celda electroquímica con un volumen de 15,0 mL de electrolito soporte, utilizando ácido nítrico o tampón Britton-Robinson en una concentración de 0,01 mol L⁻¹. Se utilizó una barra magnética para agitar constantemente a 1200 rpm.

III.3.3. Optimización de metodología para determinar de As(III)

III.3.3.1. Estudio de modificación óptima del electrodo

Con el objetivo de obtener un electrodo de trabajo sensible y selectivo al As(III), se buscó en primer lugar, las condiciones óptimas para modificar el electrodo de carbono vítreo, para ello se utilizó el método univariable y se trabajó en una celda electroquímica con un volumen de 15 mL de HNO₃ 0,01 mol L⁻¹.

Inicialmente se estudió con el electrodo de carbono vítreo sin modificar, adicionando alícuotas de As(III) hasta una concentración en celda de 166,7 µg L⁻¹, luego se modificaron electrodos de carbono vítreo con una alícuota de 10 µL de Nafion al 0,5% y 5%, las mediciones se realizaron teniendo concentraciones en celda ente 0 y 142,9 µg L⁻¹ de As(III).

Finalmente se estudió el electrodo modificado con Nafion y champiñón, trabajando con concentraciones en celda de As(III) de hasta 142,9 µg L⁻¹. La búsqueda de estos parámetros óptimos fue muy extensa debido a las condiciones experimentales aplicadas en la modificación del electrodo, las cuales fueron:

1. Concentración de Nafion: 0,5 y 5 %
2. Relación Nafion:champiñón (mL; mg): 1:1 y 1:2
3. Elección del champiñón: H-1 y H-2
4. Volumen de mezcla aplicada al electrodo: 5 o 10 µL

Los procedimientos y resultados obtenidos se presentan en el **Anexo I**.

III.3.3.2. Optimización de parámetros experimentales

Luego de obtener la modificación del electrodo de carbono vítreo que proporcionara una señal de As(III) fina y de mayor corriente, se procedió a buscar los mejores parámetros experimentales. El electrodo elegido fue preparado con una alícuota de 10 µL que contenía Nafion 5% y champiñón H-2 en proporción Nafion:champiñón (mL;mg) de 1:1. Con este electrodo se realizaron estudios en

función del pH de la disolución, potencial de acumulación (E_{acc}), tiempo de acumulación (t_{acc}) y frecuencia de la onda cuadrada. Se comenzó con el estudio de pH de la disolución, para esto se agregó en una celda electroquímica 15,0 mL de tampón Britton-Robinson (pH=2,3) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, una concentración fija de $62,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y se trazaron los voltamperogramas luego de adicionar alícuotas de una disolución de NaOH al 30% m/m y de medir el pH después de cada adición.

A continuación, para el estudio de potencial de acumulación (E_{acc}), tiempo de acumulación (t_{acc}) y frecuencia de la onda cuadrada se trabajó en una celda que contenía 15,0 mL de HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ y $32,3 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). En cada estudio se utilizó un electrodo de carbono vítreo recién modificado.

III.3.3.3. Obtención curva de calibrado

Una vez obtenido el pH adecuado, E_{acc} , t_{acc} y frecuencia del barrido se procedió a realizar curvas de calibrado en ácido nítrico y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, para esto se trazaron voltamperogramas por triplicado del blanco y se repitió el proceso luego de realizar adiciones de As(III) de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Se trabajó con concentraciones de As(III) en la celda entre $19,6$ y $347,8 \mu\text{g L}^{-1}$, a partir de estas curvas se determinaron los rangos lineales, límites de detección y sensibilidad de la metodología. Se preparó un electrodo de carbono vítreo modificado para cada serie de medidas.

III.3.3.4. Estudio de repetibilidad

Se trazaron 15 voltamperogramas consecutivos para ver la variación de la corriente de pico obtenida entre cada medida. Se trabajó en una celda con un volumen de 15,0 mL de electrolito soporte y una concentración fija de $32,3 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Este estudio se realizó en ácido nítrico y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Se preparó un electrodo de carbono vítreo modificado para cada estudio.

III.3.3.5. Estudio de reproducibilidad de electrodos modificados

Se prepararon 15 electrodos modificados, los cuales se evaluaron de manera individual, se midieron inicialmente en una solución tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹ (blanco) y luego con una concentración fija en celda de 62,5 µg L⁻¹ de As(III). Se calculó el error obtenido con estos 15 electrodos preparados por el método de *drop casting*.

III.3.3.6. Estudio de velocidad de barrido

Para realizar este estudio se agregó en la celda electroquímica 15,0 mL de tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹ y 100 µL de As(III) 1,0 mg L⁻¹, obteniendo una concentración fija de 66,2 µg L⁻¹. A continuación, se trazaron voltamperogramas cíclicos a velocidades desde 16 a 400 mV s⁻¹.

III.3.3.7. Validación de la metodología

Con los estudios anteriores se obtuvo una metodología para cuantificar As(III) utilizando electrodos de carbono vítreo modificados con Nafion y champiñón.

La metodología se validó utilizando una muestra de agua potable del laboratorio la cual fue dopada con 120,0 µg L⁻¹ de As(III). Inicialmente se prepararon electrodos de carbono vítreo modificados para cada electrolito y se trabajó en una celda con un volumen de 15,0 mL considerando la alícuota inicial de la muestra, la cual corresponde a una concentración de As(III) de 12 µg L⁻¹ para HNO₃ y 20 µg L⁻¹ para el tampón Britton-Robinson (pH=4,6). Se midió por triplicado, luego se agregaron adiciones sucesivas de 100 µL de As(III) 1,0 mg L⁻¹ y se construyó la curva de calibrado.

Esta muestra dopada también se utilizó para determinar arsénico mediante electrodos serigrafados comerciales de carbono (DRP-C110) y nanotubos de carbono (DRP-110CNT), los cuales no registran señal de arsénico sin la modificación. Los electrodos fueron modificados con una alícuota de 5 µL, se trabajó en una celda con un volumen de 15,0 mL de HNO₃ 0,01 mol L⁻¹ y una concentración inicial en celda de 12 µg L⁻¹ de As(III). Se trazaron los

voltamperogramas del blanco y luego se adicionaron alícuotas de 10 μL de As(III) 10 mg L^{-1} .

III.3.3.8. Estudios interferentes

Se realizaron estudios de la presencia de iones metálicos como interferentes. Para esto se trabajó con una concentración fija en celda de 62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (la señal obtenida inicialmente se consideró el 100%), luego se adicionó una alícuota de Pb(II) , Cu(II) , Cr(VI) , Hg(II) , Cd(II) , As(V) o Cr(III) para obtener la misma concentración de As(III) (62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$) y se midió la corriente del pico de As después de cada adición. Este estudio se realizó en ácido nítrico y tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) 0,01 mol L^{-1} .

Por otro lado, se estudiaron también compuestos orgánicos, debido a que las aguas naturales a veces contienen ácido húmico y/o surfactantes, se realizaron medidas en presencia de ácido húmico, dodecilsulfato de sodio (SDS), un surfactante aniónico y bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) un surfactante catiónico. Para realizar este estudio se utilizó una muestra de agua potable del laboratorio dopada con 120,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) . Se trabajó en una celda con 15,0 mL de tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) 0,01 mol L^{-1} y se adicionó una alícuota de 1,5 mL de la muestra de agua, obteniendo una concentración de 12 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) . Posteriormente se adicionaron alícuotas de 20, 40 y 80 μL del compuesto orgánico (5000 mg L^{-1}) trazando 3 veces los voltamperogramas después de cada adición.

III.3.3.9. Análisis de una muestra de agua del Río Loa

Finalmente, se aplicó la metodología en el análisis de As(III) en una muestra del Río Loa del sector de Lomas Huasi proveniente del Norte de Chile. Esta muestra había sido analizada previamente utilizando un electrodo de pasta de carbón modificado con carragenano obteniendo un valor promedio de 37,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(III) . Cabe destacar que esta muestra fue enviada a Sernageomin (ICP-MS) donde solo podían reportar la concentración total de arsénico, la cual fue de 830

$\mu\text{g L}^{-1}$. Con el electrodo de pasta de carbón-carragenano se reportó una concentración total de arsénico de $814 \mu\text{g L}^{-1}$. Para realizar la determinación de As total es necesario reducir el As(V), con nuestra metodología se trató de realizar, pero el agente reductor en exceso interfería en las medidas.

Se utilizó el método de adición estándar para realizar la cuantificación, inicialmente se preparó un electrodo de carbono vítreo modificado y se preparó una celda con un volumen de 15 mL de tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ considerando la alícuota inicial de la muestra, la cual corresponde a una concentración de As(III) de $15,2 \mu\text{g L}^{-1}$, se midió por triplicado, luego se adicionaron alícuotas de $7 \mu\text{L}$ de As(III) 10 mg L^{-1} .

III.3.4. Estudios de Pb(II)

III.3.4.1. Preparación del electrodo de carbono vítreo modificado para análisis de Pb(II)

Con el objetivo de obtener un electrodo de trabajo sensible y selectivo para Pb(II), se buscó obtener las condiciones óptimas para modificar el electrodo de carbono vítreo, para esto se utilizó el método univariable y se trabajó en una celda electroquímica con un volumen de 15 mL de HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Inicialmente se estudió el electrodo de carbono vítreo sin modificar, adicionando alícuotas de As(III) hasta una concentración en celda de $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$, luego se modificaron electrodos de carbono vítreo con una alícuota de $10 \mu\text{L}$ de Nafion al 0,5% y 5%, se realizaron mediciones con una concentración en celda de 6,6 a $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II). A continuación, se estudió la modificación de Nafion con champiñón, para esto se modificaron electrodos con $10 \mu\text{L}$ de diferentes combinaciones, en las cuales se utilizó Nafion al 0,5% y 5% con los champiñones H1 y H2 en proporción Nafion(mL):champiñón(mg) de 1:1 y 1:2. Se realizaron medidas con una concentración en celda de 6,6 a $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II).

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Estudio de As(III)

IV.1.1. Estudio de modificación óptima

Se realizaron medidas utilizando un electrodo de carbono vítreo sin modificar, modificado solamente con Nafion y modificado con Nafion/champiñón, variando las concentraciones de éstos, además de la procedencia del champiñón.

IV.1.1.1. Electrodo de carbono vítreo sin modificar

Se adicionó As(III) en la celda, hasta obtener una concentración final de $166,7 \mu\text{g L}^{-1}$. Como resultado de estas adiciones, no se apreció ninguna señal, lo cual indica que el electrodo sin modificar no es adecuado para determinar As(III).

IV.1.1.2. Electrodo modificado con Nafion al 0,5 y 5%

Se realizaron mediciones teniendo concentraciones en celda ente 0 y $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Con ambos electrodos se obtuvo una señal base aproximadamente en 0,1 V, la cual fue aumentando al adicionar el analito. El As se detectó desde los $6,6 \mu\text{g L}^{-1}$; siendo más intensa la corriente obtenida por el electrodo con Nafion al 5%. A partir de esto, se determinó que el Nafion le otorga sensibilidad al electrodo hacia el analito, pero se obtiene una señal inestable que varía considerablemente entre medidas y una linealidad deficiente en el rango estudiado, por lo tanto, no es apto para cuantificar As. Las pruebas siguientes se hicieron realizando mezclas de Nafion con champiñones.

IV.1.1.3. Electrodo modificado con Nafion y champiñón

Se realizaron pruebas obteniéndose señales más claras y estables para el As(III) luego de adicionar el champiñón a la modificación, a partir de esto se pudo comprobar que este electrodo modificado era adecuado para realizar este estudio. Los resultados obtenidos de los estudios previos se presentan en la **Tabla 2**. Los voltamperogramas y gráficos se presentan en el **Anexo 1 (AI)**.

Tabla 2. Resultados obtenidos con todos los electrodos modificados.

Electrodo	Rango lineal (µg/L)	LD (µg/L)	LC (µg/L)	Sensibilidad	R ²
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5}	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N ₅	[6,6 - 142,9]	113,5	378,4	0,2518	0,7286
10 CV/N _{0,5} /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5} /H-1/1:2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
5 CV/N _{0,5} /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N ₅ /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5} /H-2/1:1	[19,6 - 142,9]	19,2	64,1	0,0095	0,9931
10 CV/N₅/H-2/1:1	[6,6 - 142,9]	14,2	47,3	0,0542	0,9944
10 CV/N ₅ /H-2/1:2	[6,6 - 142,9]	37,7	125,6	0,0498	0,9617

CV: carbono vítreo, N: Nafion, N/A: no aplica.

Como se aprecia en la **Tabla 2**, solamente con el champiñón H-2 se obtuvieron resultados válidos, debido a que con el champiñón H-1 las señales fueron menores o nulas. En estos estudios se determinó que los electrodos modificados sirven solo para una serie de medidas. En la **Figura 11** se presentan los mejores resultados obtenidos, los cuales corresponden al electrodo modificado con 10 µL de la mezcla de Nafion 5%:champiñón H-2 en una relación 1mL:1mg. En todos los estudios posteriores se utilizó esta modificación.

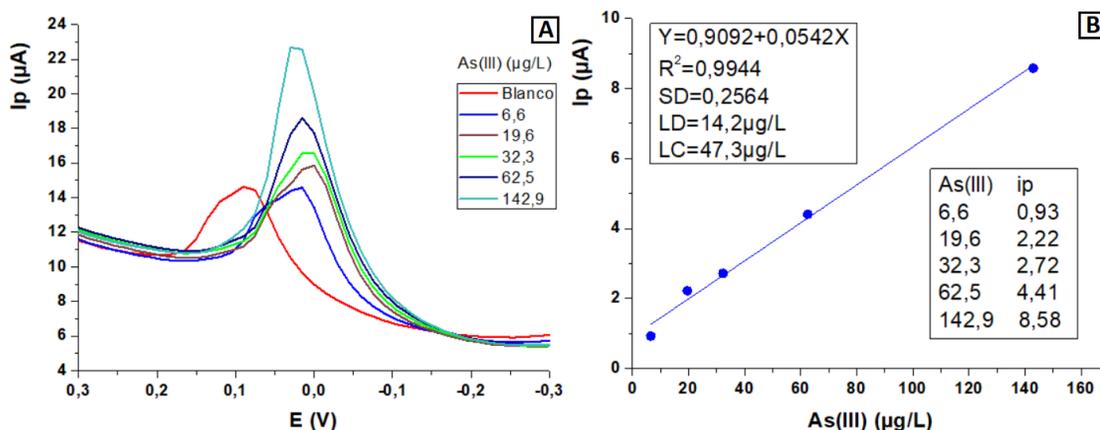


Figura 11. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado utilizando un electrodo modificado con 10 µL de mezcla de Nafion 5%:champiñón H-2 en una relación 1:1. HNO₃ 0,01 mol L⁻¹; E_{acc} = -1,2 V; t_{acc} = 60 s. 50 Hz.

La absorción de metales depende de la presencia de grupos funcionales como carboxilo, sulfonato, amina, hidroxilo, carbonilo y otros con los que pueden interactuar elementos como el arsénico. Los hongos contienen macronutrientes como minerales (potasio, fósforo, calcio, selenio), vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina, ácido fólico), proteínas y carbohidratos (polisacáridos) pudiendo interactuar con el analito de diferentes formas, por ejemplo, a través de los polisacáridos que son uno de los componentes principales de los champiñones, los cuales poseen varios grupos funcionales como carboxílicos y sulfónicos, que son capaces de formar complejos con iones metálicos [30,38,39,40].

Por lo tanto, lo que podría estar ocurriendo en la etapa de acumulación y de barrido es lo siguiente:



Como se observan diferencias en esta oxidación cuando se utilizan diferentes champiñones (H1 o H2), es probable que el As(III) se una a los grupos presentes en él.

IV.1.2. Estudio de parámetros experimentales para optimizar la metodología utilizando electrodos modificados con Nafion-champiñón

IV.1.2.1. Estudio en función del pH de la disolución

Se estudió el pH de la disolución utilizando tampón Britton-Robinson (pH=2,3), se trabajó con una concentración fija de As(III) y se varió el pH con una disolución de hidróxido de sodio. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 12**.

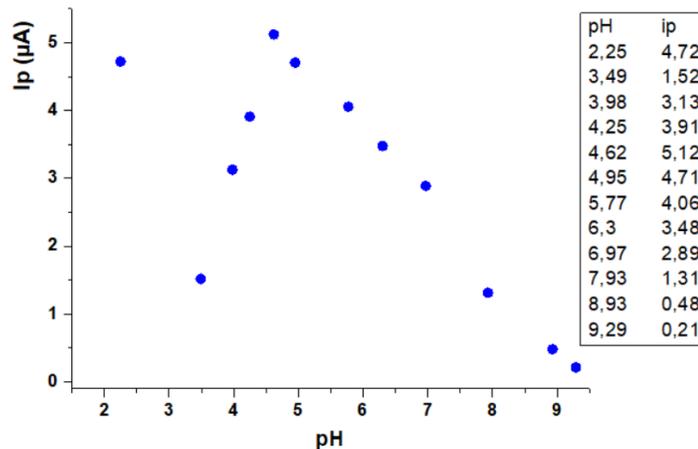


Figura 12. Gráfico corriente de pico (ip) vs pH. Tampón Britton-Robinson 0,01 mol L⁻¹; 62,5 µg L⁻¹ As(III); E_{acc} = -1,0 V; t_{acc} = 60 s; 50 Hz.

Como se puede apreciar en la Figura 12, las corrientes de pico mayores se obtienen a pH 2,3; 4,6 y 5,0; las cuales corresponden a 4,72; 5,12 y 4,71 µA respectivamente. A partir de estos resultados, se decidió utilizar como electrolito soporte el tampón Britton-Robinson ajustado a pH 4,6.

Las corrientes obtenidas en tampón son similares a las obtenidas en ácido nítrico, el cual posee un pH de 2,3 aproximadamente, por este motivo este electrólito se siguió utilizando en los estudios de optimización. En algunos estudios se realizaron medidas en ambos electrólitos a modo comparativo.

IV.1.2.2. Efecto en función del potencial de acumulación

En este estudio se trabajó con una concentración en celda fija de As(III), se dejaron todos los parámetros constantes y se varió el potencial entre 0,0 y -2,0 V. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 13**.

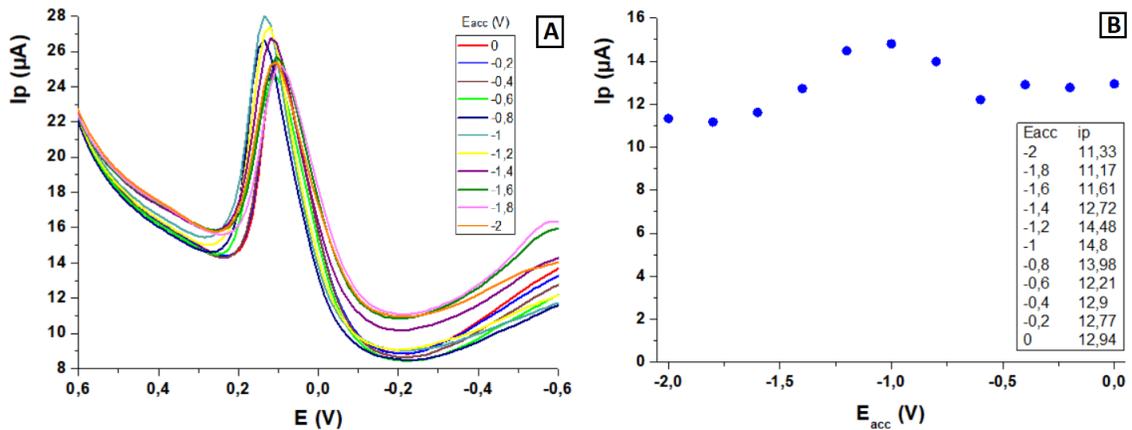


Figura 13. (A) Voltamperogramas variando el potencial de acumulación y (B) gráfico corriente de pico (i_p) vs. E_{acc} (V). HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $32,3 \mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $t_{acc} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

A partir del gráfico de la figura 13B, se puede apreciar que el pico estudiado sufre una amplia variación en el rango de estudio, observándose que el potencial de acumulación de $-1,0 \text{ V}$ es el que entrega la señal con la intensidad de corriente más alta, debido a esto se seleccionó este potencial.

IV.1.2.3. Estudio en función del tiempo de acumulación

En este estudio se trabajó con una concentración en celda fija de As(III), se dejaron todos los parámetros constantes y se varió el tiempo de acumulación entre 30 y 600 s. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 14**.

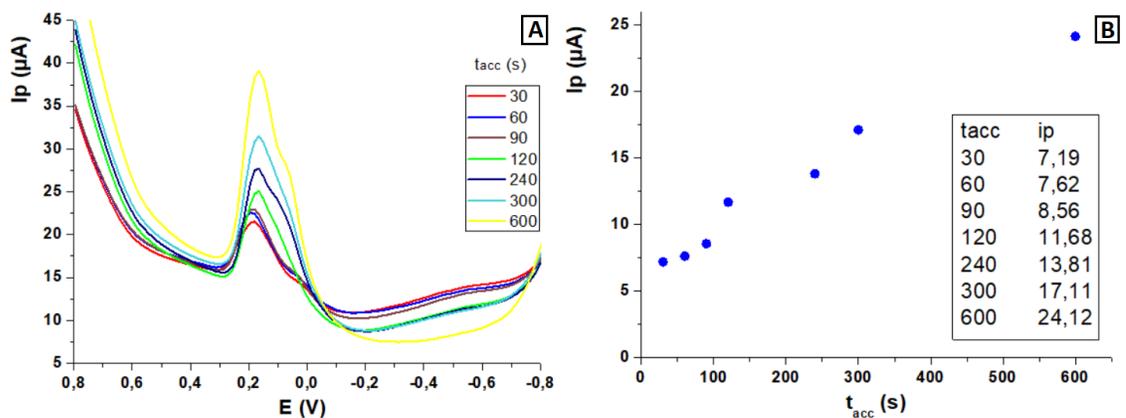


Figura 14. (A) Voltamperogramas variando el tiempo de acumulación y (B) gráfico corriente de pico (i_p) vs. t_{acc} (s). HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $32,3 \mu\text{g L}^{-1}$ As(III); $E_{acc} = -1,2 \text{ V}$; 50 Hz .

A partir de los resultados obtenidos se observa que se tiene una clara tendencia lineal a medida que aumenta el tiempo de acumulación, por lo tanto, el tiempo de 600 s es el que entrega una señal de mayor intensidad. Los estudios siguientes se realizarán con un tiempo de 30 o 60 s para no extender el tiempo de análisis, pero en caso de muestras muy diluidas este valor se podrá aumentar.

IV.1.2.4. Efecto de la frecuencia de la onda cuadrada

Se realizó el estudio en función de la frecuencia en la técnica de voltamperometría de onda cuadrada, utilizada en la etapa de barrido. Para esto se trabajó con una concentración en celda fija de As(III), se dejaron todos los parámetros constantes y se trazaron voltamperogramas a 25, 50, 75 y 90 Hz. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 15**.

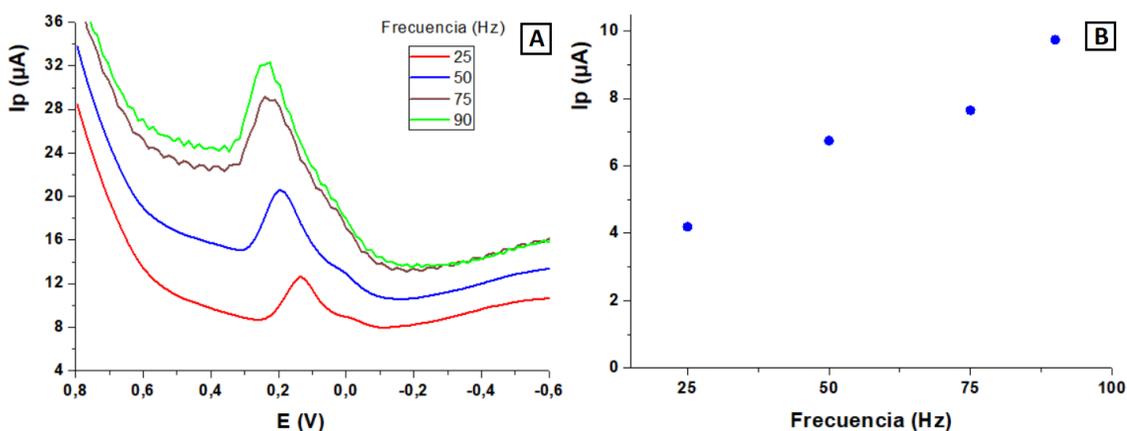


Figura 15. (A) Voltamperogramas a diferentes frecuencias y (B) gráfico corriente de pico (ip) vs Frecuencia (Hz). HNO₃ 0,01 mol L⁻¹; 32,3 μg L⁻¹ As(III); E_{acc} = -1,2 V; t_{acc} = 60 s.

Como se puede apreciar en la Figura 15, a medida que la frecuencia de la onda cuadrada aumenta, también aumenta la corriente de pico de As. Sin embargo, las señales son más anchas y con ruido de fondo. Por este motivo, el valor escogido fue de 50 Hz.

IV.1.3. Obtención de curvas de calibrado y parámetros analíticos

Se realizaron curvas de calibrado utilizando los parámetros óptimos obtenidos en los estudios anteriores, los cuales se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Parámetros experimentales óptimos de la metodología.

Parámetro	E_{acc}	t_{acc}	Frecuencia
Valor óptimo	-1.0 V	60 s	50 Hz

En la obtención de las curvas de calibrado, se trazaron voltamperogramas del blanco y luego de agregar alícuotas de As(III). A partir de las curvas se determinaron parámetros analíticos como rango lineal, sensibilidad, límite de detección y cuantificación. La curva de calibrado se construyó utilizando ácido nítrico y tampón Britton-Robinson (pH=4,6). Los resultados obtenidos se presentan en las **Figuras 16-19**.

IV.1.3.1. Curva de calibrado en medio de HNO_3

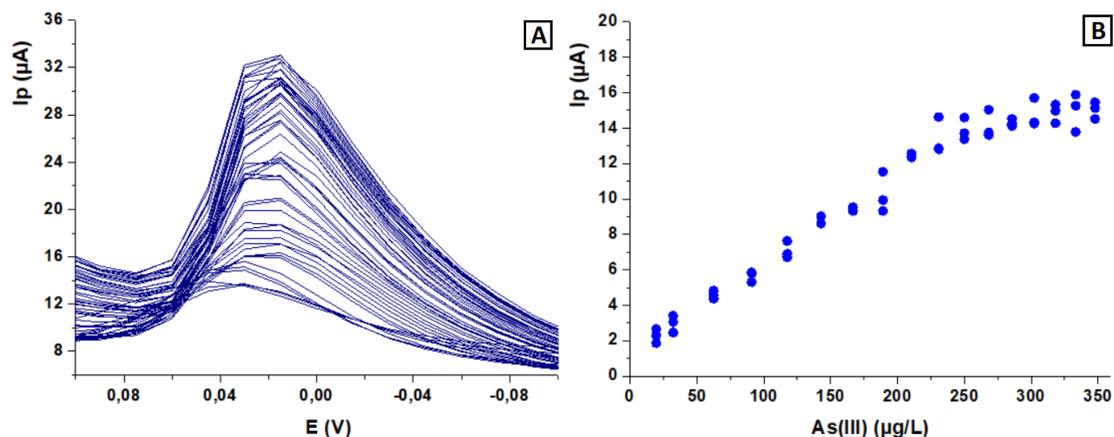


Figura 16. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (i_p) en función de la concentración de As(III) (restando blanco) en medio HNO_3 0,01 mol L^{-1} . $E_{acc} = -1,0$ V; $t_{acc} = 60$ s; 50 Hz.

A partir de la curva de la figura 16B se puede observar que la corriente de pico varía linealmente con la concentración de As(III) hasta una concentración

aproximada de $250,0 \mu\text{g L}^{-1}$, a partir de esta curva se obtuvo el rango lineal. En la **Figura 17** se presenta la curva de calibrado en el rango lineal.

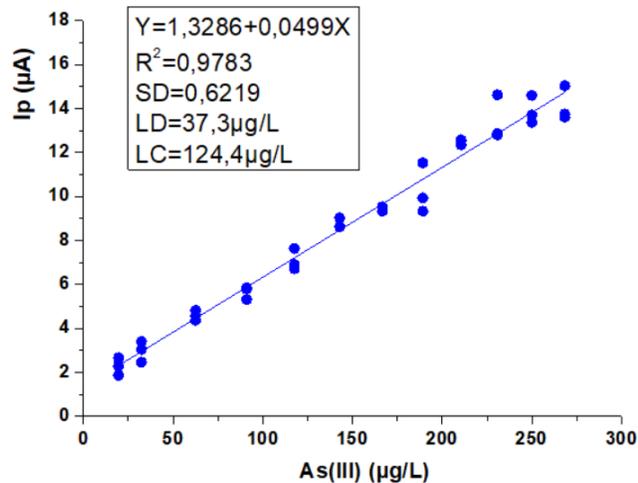


Figura 17. Curva de calibrado (rango lineal) en medio HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Para la determinación de los parámetros analíticos se utilizó la curva de calibrado obtenida de la regresión lineal, la cual se expresa mediante el modelo $y = a + bx$, donde la pendiente b , corresponde a la sensibilidad. Por otro lado, para el cálculo del LD y LC se utilizó el método aproximado de Miller, el cual presenta las siguientes ecuaciones [41].

$$LD = 3 SD / b$$

$$LC = 10 SD / b$$

Donde SD corresponde a la desviación estándar de la curva de calibrado.

La curva de calibrado obtenida en el rango lineal tiene un R^2 de 0,978, una sensibilidad de $0,0499 \mu\text{A} / \mu\text{g L}^{-1}$ y presenta un límite de detección y cuantificación de $37,3$ y $124,4 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

IV.1.3.2. Curva de calibrado en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6)

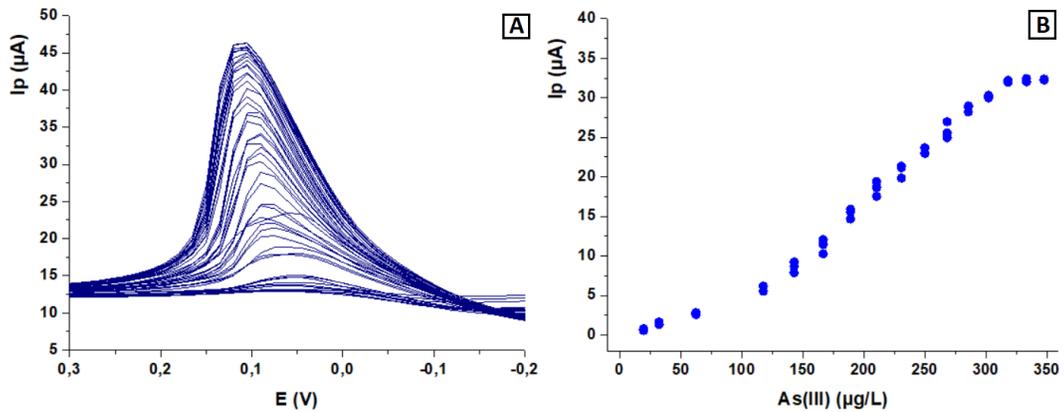


Figura 18. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (i_p) en función de la concentración de As(III) (restando blanco) en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L^{-1} . $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.

A partir de la Figura 18B se puede observar que la curva obtenida presenta dos rangos lineales, el primero desde aproximadamente 19,6 a 117,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ y el segundo desde aproximadamente 117,6 a 318,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, además se presenta una saturación aproximadamente a los 318,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, ya que la corriente de pico no varía al aumentar la concentración de As(III). En la **Figura 19** se presentan las curvas de calibrado obtenidas seleccionando ambos rangos lineales.

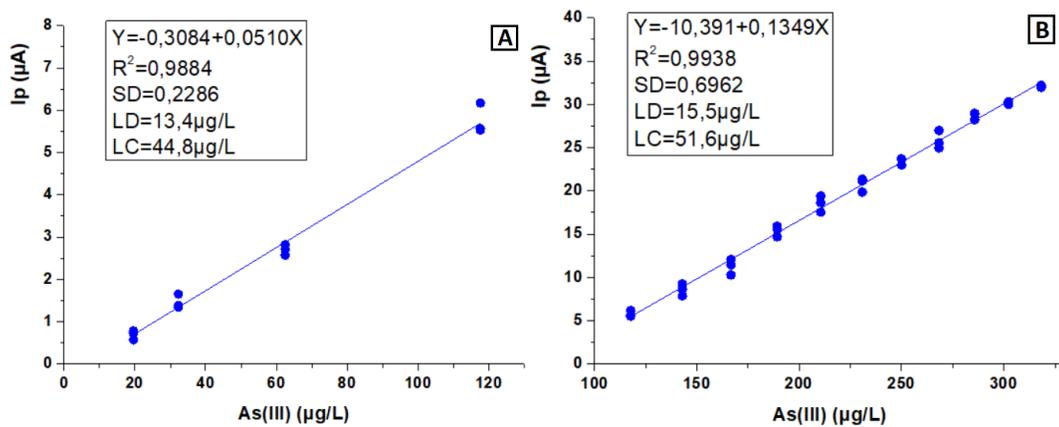


Figura 19. (A) Curva de calibrado (1° rango lineal) desde 19,6 a 117,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ y (B) curva de calibrado (2° rango lineal) desde 117,6 a 318,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ en medio tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L^{-1} . $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.

A partir de las curvas de calibrado presentadas en la Figura 19, para el 1° rango lineal se obtiene un R^2 de 0,988, un LD de $13,4 \mu\text{g L}^{-1}$ y un LC de $44,8 \mu\text{g L}^{-1}$, por otro lado, para el 2° rango lineal se obtiene un R^2 de 0,994, un LD de $15,5 \mu\text{g L}^{-1}$ y un LC de $51,6 \mu\text{g L}^{-1}$.

En la **Tabla 4** se presenta un resumen de los parámetros analíticos obtenidos con las curvas de calibrado utilizando como electrólito HNO_3 y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) en concentración $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabla 4. Parámetros analíticos de las curvas de calibrado obtenidas en HNO_3 y tampón Britton-Robinson (pH=4,6).

Medio	Rango lineal (μgL^{-1})	LD (μgL^{-1})	LC (μgL^{-1})	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{gL}^{-1}$)	R^2
HNO_3	[19,6 – 285,7]	37,3	124,4	0,0499	0,9783
Tampón pH 4,6	[19,6 - 117,6]	13,4	44,8	0,0510	0,9884
Tampón pH 4,6	[117,6 – 318,2]	15,5	51,6	0,1349	0,9938

Al comparar los resultados obtenidos en los diferentes electrolitos soporte, se puede concluir que en el rango de $117,6$ a $318,2 \mu\text{g L}^{-1}$ a pH 4,6 se obtiene una mayor linealidad, sensibilidad y los LD teóricos son muy similares.

IV.1.4. Estudio de repetibilidad

Manteniendo una concentración fija de As(III), se trazaron 15 voltamperogramas consecutivos para ver la variación de la corriente de pico obtenida entre cada uno de estos. Los resultados obtenidos para ambos electrolitos soporte se presentan en la **Figura 20**.

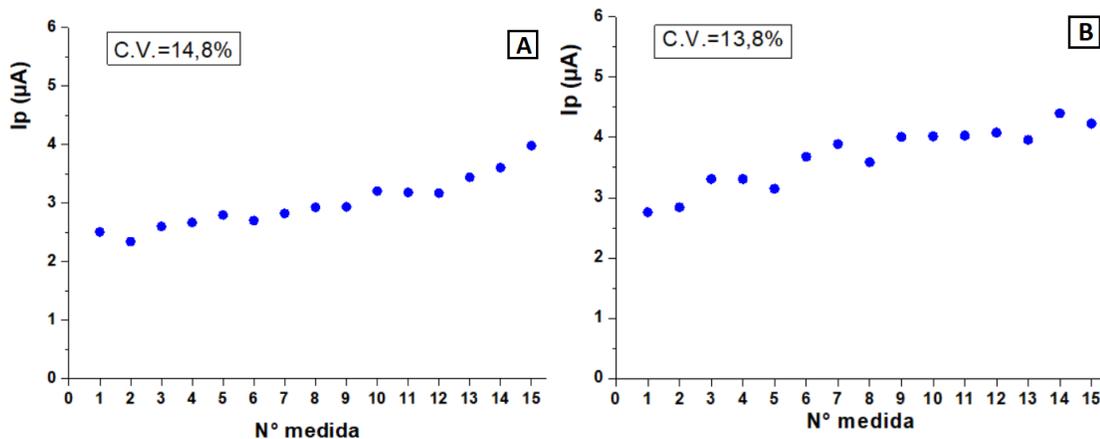


Figura 20. (A) Gráfico corriente de pico (i_p) vs. N° medida en HNO_3 y (B) tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $32,3 \mu\text{g L}^{-1} \text{As(III)}$; $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Como se puede apreciar en los gráficos de la Figura 20, en medio de HNO_3 el coeficiente de variación para la corriente de pico es de 14,8% y en presencia de tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) es ligeramente inferior (13,8%). En ambos casos se observa una tendencia a aumentar la intensidad de señal, esto puede deberse a que una cantidad de analito permanece en el electrodo luego del barrido realizado por la técnica.

IV.1.5. Estudio de reproducibilidad de los electrodos modificados

Se evaluaron electrodos modificados de manera independiente para determinar el error en la preparación de éstos. De un total de 15 electrodos se obtuvieron 8 que detectaron correctamente el arsénico, por lo tanto, se obtuvo un error de preparación del 47%, esto podría deberse a falta de homogeneidad entre el Nafion y champiñón molido. En la **Figura 21** se presentan los resultados obtenidos.

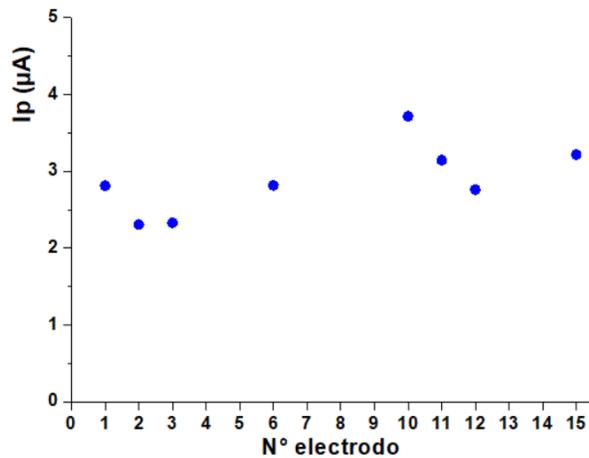


Figura 21. (A) Gráfico corriente de pico (i_p) vs. N° electrodo. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $62,5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ As(III)}$; $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

IV.1.6. Estudio de velocidad de barrido

Se estudió la velocidad de barrido, la cual es fundamental en esta técnica, para esto se realizaron voltamperometrías cíclicas con una concentración fija de As(III) y variando la velocidad. En este tipo de medición el transporte de las especies ocurre únicamente mediante difusión, ya que la disolución se mantiene en reposo y para evitar migración de los iones electroquímicamente activos se trabaja con un exceso de electrolito soporte. Los resultados se presentan en la **Figura 22**.

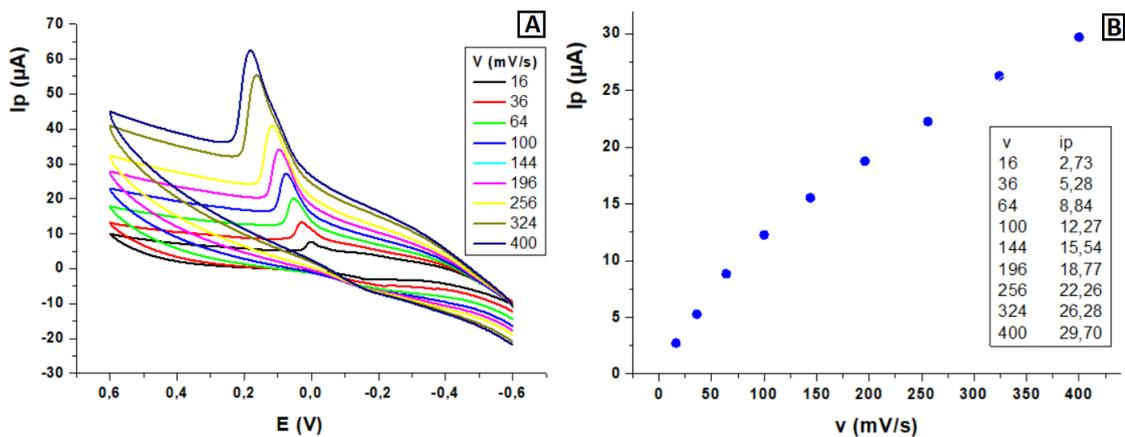


Figura 22. (A) Voltamperogramas y (B) gráfico corriente de pico (i_p) en función de la velocidad de barrido. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $66,2 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de As(III)}$; $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

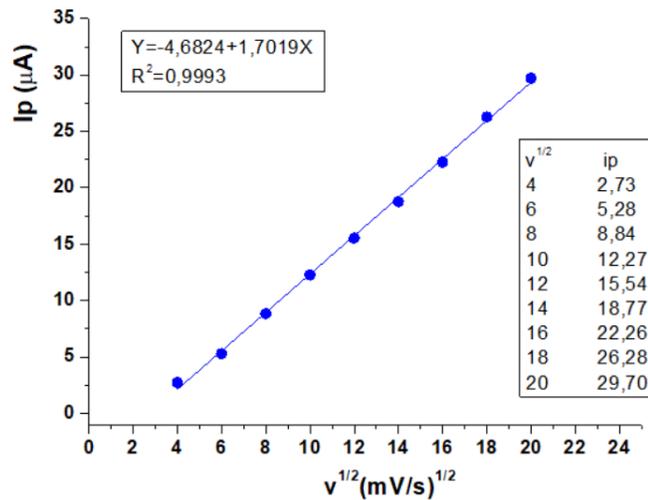


Figura 23. Curva de corriente de pico (i_p) en función de la raíz de la velocidad de barrido. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹; 66,2 µg L⁻¹ de As(III); $E_{acc} = -1,0$ V; $t_{acc} = 60$ s; 50 Hz.

Como se puede apreciar en los voltamperogramas, se detecta una señal correspondiente a la oxidación de As(0) mientras que la correspondiente reducción presenta una corriente muy baja. Si el proceso es electroquímicamente reversible, la separación entre los picos (ΔE_p) a 25°C es igual a:

$$\Delta E_p = 57/n \text{ mV}$$

Donde n corresponde al número de electrones en la reacción.

El ΔE de estas reacciones es mayor a 57 mV/n (≈ 190 a 300 mV) lo cual significa que el proceso no es reversible, si no cuasi reversible. Esta oxidación se desplaza a potenciales más positivos a medida que aumenta la velocidad de barrido, lo cual es característico en este tipo de procesos.

La ecuación de Randles-Sevcik permite describir la dependencia de la corriente máxima con la velocidad de escaneo.

$$i_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A \Gamma^*$$

n = N° electrones
 F = Cte. Faraday
 R = Cte. gases
 T = Temperatura
 v = Velocidad
 A = Área electrodo
 Γ^* = Coef. difusión

Figura 24. Ecuación de Randles-Sevcik [42].

Cuando la i_p varia linealmente con la $v^{1/2}$, se tendría un proceso difusional, lo cual se cumple al observar la figura 23, esto indica que el proceso de transferencia electrónica posee una velocidad menos rápida que si fuera reversible [42].

IV.1.7. Validación de la metodología

Utilizando los resultados obtenidos de los estudios anteriores se obtuvo una metodología para cuantificar arsénico a partir de electrodos de carbono vítreo modificados con Nafion y champiñón.

Para validar la metodología planteada, se utilizó una muestra de agua potable contaminada con $120 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Se utilizó el método de adición estándar para realizar la cuantificación. La validación se realizó utilizando HNO_3 y tampón Britton-Robinson (pH=4,6).

A continuación, en las **Figuras 25 y 26** se presentan los resultados obtenidos para ambos electrolitos soporte.

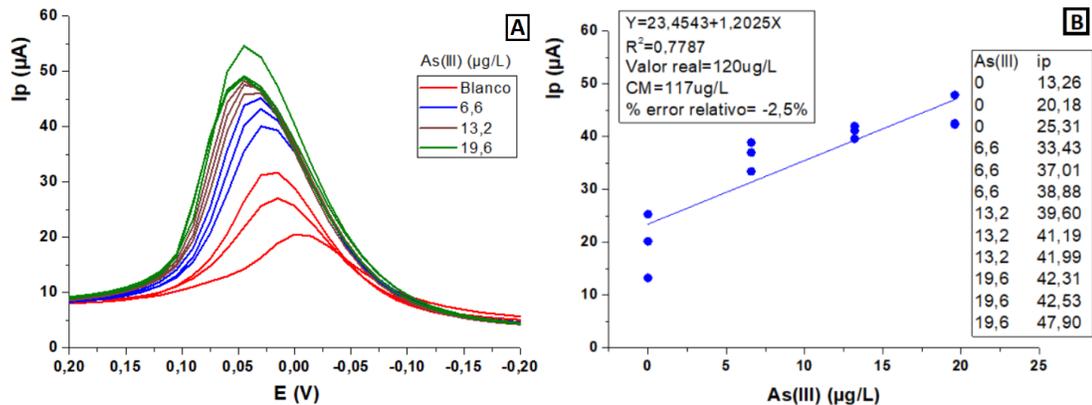


Figura 25. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado con muestra dopada en medio HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

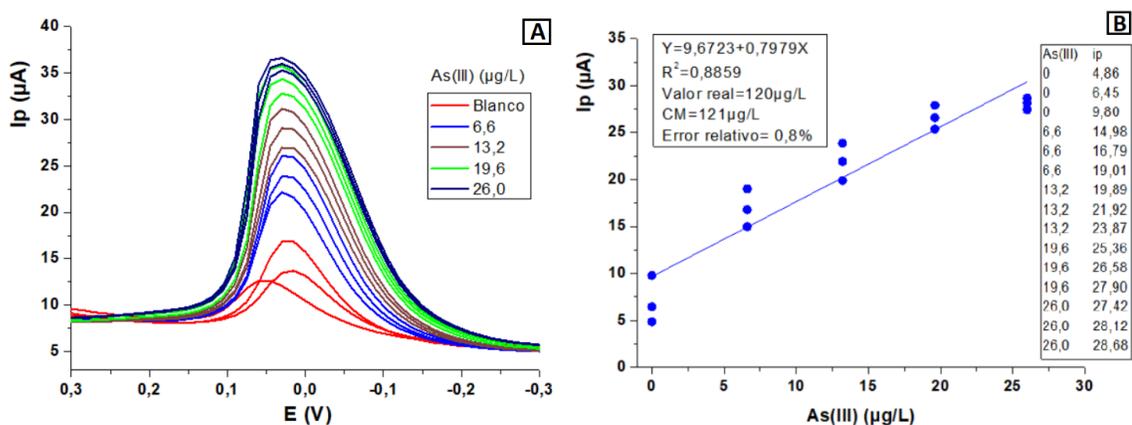


Figura 26. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado con muestra dopada en medio tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. $E_{\text{acc}} = -1,0 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Con los datos de la Figura 25 para el medio de HNO_3 y Figura 26 para el medio de tampón Britton-Robinson ($\text{pH}=4,6$); se obtiene una concentración de As(III) de 117 y $121 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, los cuales presentan un error relativo del $-2,5\%$ y $0,8\%$ (valor real = $120 \mu\text{g L}^{-1}$). A partir de estos resultados se observa que en ambos electrolitos se obtiene un error inferior al 3% , siendo éste un resultado satisfactorio que confirma que la metodología es apta para la cuantificación de As(III) .

IV.1.8. Estudio en presencia de interferentes

Los iones metálicos pueden interferir con la determinación de arsénico al interactuar con el hongo o al producir picos de reducción cuyo potencial de reducción es cercano al de oxidación del arsénico. Se investigó la posible interferencia de algunos oligoelementos añadiendo estos elementos a la solución y determinando su efecto sobre la corriente máxima de arsénico. Por otro lado, las sustancias húmicas, presentes en algunas aguas y suelos naturales, que pueden ser adsorbidas en la superficie del electrodo modificado, pueden alterar la señal, lo cual puede deberse a una competencia entre la adsorción de materia orgánica.

En el estudio de iones metálicos se trabajó con una concentración de As(III) fija en celda, la cual se consideró como 100%, luego se adicionó la alícuota de un metal obteniendo una concentración igual a la de arsénico. De esta forma se procedió a medir la corriente de pico del arsénico en presencia de los diferentes iones metálicos. Los resultados obtenidos para el medio de HNO₃ y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) se presentan en la **Figura 27**.

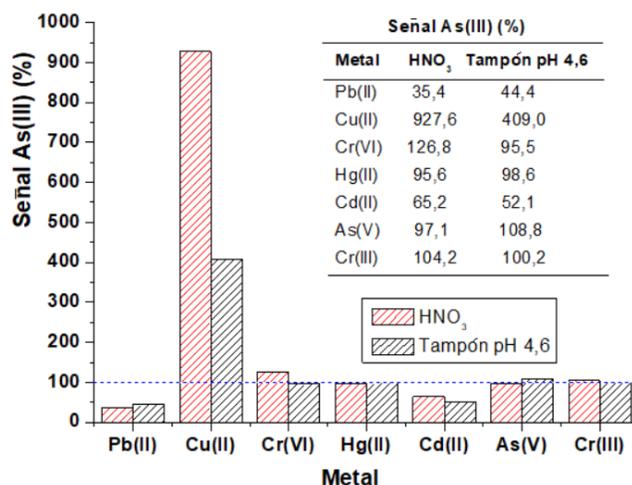


Figura 27. Gráfico de interferentes en señal de As(III) con diferentes iones metálicos en medio HNO₃ y tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹. 62,5 µg L⁻¹ de As(III); 62,5 µg L⁻¹ iones interferentes; E_{acc} = -1,0 V; t_{acc} = 60 s; 50 Hz.

En el estudio de interferentes orgánicos se trabajó con una muestra de agua potable enriquecida con As(III). Se realizó un voltamperograma para obtener la señal inicial del 100%, luego se adicionaron alícuotas del compuesto orgánico. De esta forma se procedió a medir la corriente de pico del arsénico en presencia del interferente. Los resultados se presentan en la **Figura 28**.

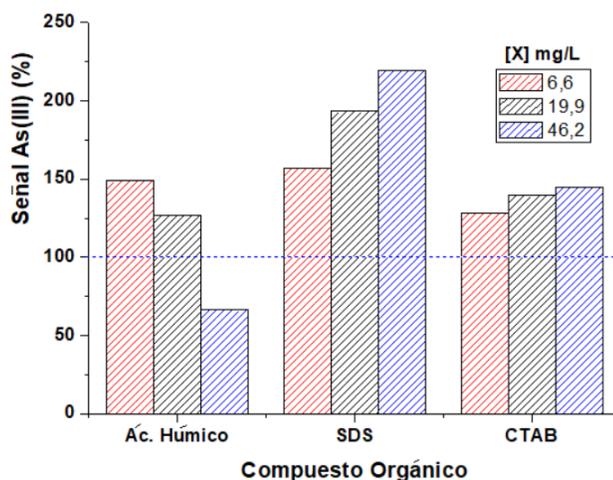


Figura 28. Gráfico de interferentes en señal de As(III) con diferentes compuestos orgánicos. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹; 12,0 µg L⁻¹ de As(III); 6,6; 19,9 y 46,2 µg L⁻¹ interferente orgánico; E_{acc} = -1,0 V; t_{acc} = 60 s; 50 Hz.

A partir de los resultados obtenidos, para el caso de los metales se observa que los iones metálicos Hg(II), As(V) y Cr(III), en ambos medios no producen una interferencia mayor al 10%. En el caso del Cr(VI) se presenta una interferencia de un 26% en medio de HNO₃, mientras que en el tampón pH 4,6 no se genera ningún cambio en la señal del As(III). Estos iones metálicos no presentan ninguna señal extra en los voltamperogramas en las condiciones de trabajo. Por otro lado, Pb(II) y Cd(II) producen una disminución en la señal del arsénico, lo cual puede deberse a que exista una competencia entre estos analitos y el arsénico, por el champiñón, existiendo una mayor interacción con ellos. Como se aprecia en los resultados obtenidos en el análisis de estos champiñones (**Tabla 1**), existe acumulación de estos iones metálicos por ellos.

Muestra	As ($\mu\text{g/Kg}$)	Cr ($\mu\text{g/Kg}$)	Cd ($\mu\text{g/Kg}$)	Pb ($\mu\text{g/Kg}$)
H-2	445,35	5727,96	902,76	2629,94

En el caso del Cu(II) se produce un aumento considerable en la intensidad de señal, debido a que en presencia de este se forma el compuesto intermetálico arseniuro de cobre (Cu_xAs_y) [43] en la etapa de acumulación, el cual es reducido en la etapa de barrido, obteniéndose una mayor sensibilidad y estabilización del As(III).

En los interferentes orgánicos, el ácido húmico a una baja concentración produce un aumento del 49% en la señal del arsénico y a medida que va aumentando su concentración comienza a disminuir la señal hasta llegar a un 66,2%. Por otro lado, el dodecilsulfato de sodio (SDS) y bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) que corresponden a surfactantes aniónicos y catiónicos respectivamente, muestran un similar desarrollo generando incrementos en el valor de la corriente de arsénico.

IV.1.9. Análisis de As(III) en una muestra de agua del río Loa

Finalmente, con la finalidad de aplicar la metodología optimizada, se realizó la determinación de As(III) en una muestra de agua del río Loa proveniente del Norte de Chile (Lomas Huasi). Se cuantificó el As(III) en la muestra a partir de la ecuación de la recta obtenida utilizando el método de adición estándar. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 29**.

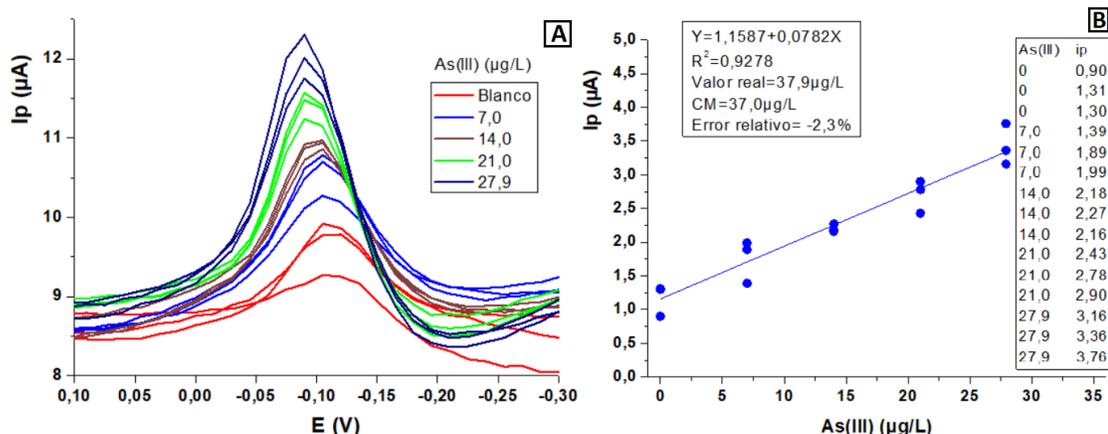


Figura 29. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) y (B) curva de calibrado de muestra real. Tampón Britton-Robinson (pH=4,6) 0,01 mol L⁻¹; E_{acc}= -1,0 V; t_{acc} = 60 s; 50 Hz.

Mediante la curva de calibrado con el método de la adición de estándar se pudo determinar que la muestra contenía 37,0 µg L⁻¹ de As(III), lo cual presenta un error relativo del -2,3% (valor real = 37,9 µg L⁻¹). Este valor obtenido es satisfactorio debido a la complejidad de la matriz.

IV.1.10. Modificación de electrodos serigrafados

Posteriormente la modificación fue aplicada a electrodos serigrafados comerciales de carbono (DRP-C110) y nanotubos de carbono (DRP-110CNT), los cuales no registran señal de arsénico sin la modificación. Se analizó una muestra de agua potable, la cual fue contaminada con 120 µg L⁻¹ de As(III). Para determinar la concentración de As(III) se utilizó la ecuación de la recta obtenida mediante el método de adición estándar. Los resultados obtenidos se presentan en las **Figuras 30 y 31**.

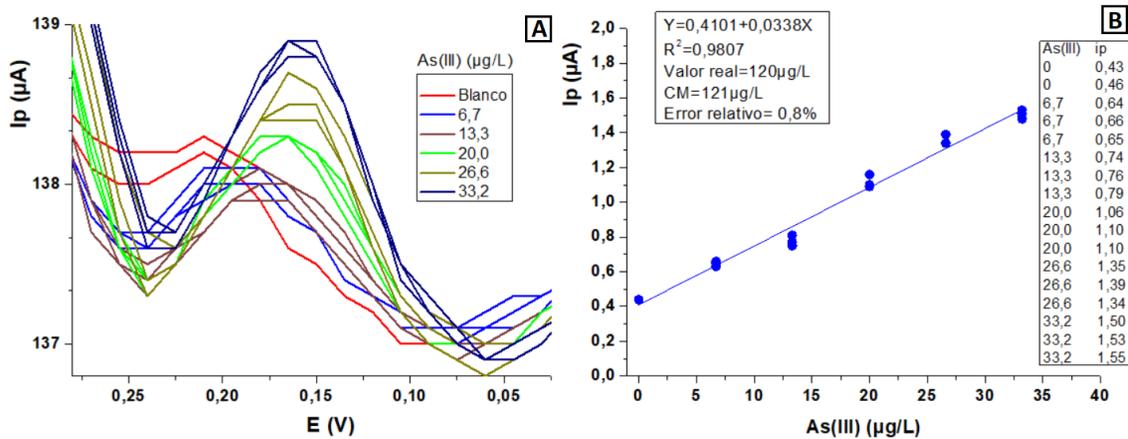


Figura 30. (A) Voltamperogramas de muestra dopada con electrodo serigrafiado de carbono y (B) curva de calibrado. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 30$ s; 50 Hz.

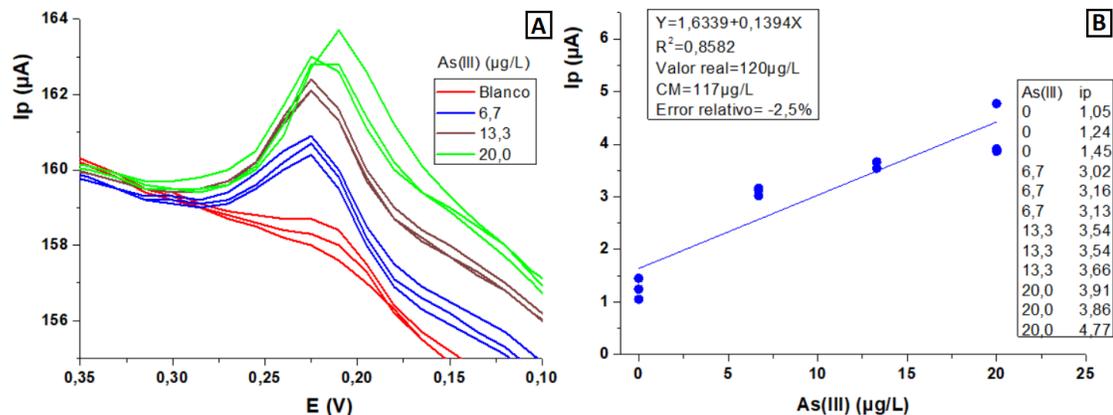


Figura 31. (A) Voltamperogramas de muestra dopada con electrodo serigrafiado de nanotubos de carbono y (B) curva de calibrado. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,0$ V; $t_{\text{acc}} = 30$ s; 50 Hz.

A partir de los resultados presentados en las figuras 30 y 31, se observa que la modificación propuesta es válida para ser utilizada en electrodos serigrafiados, se determinó una concentración de As(III) de 121 y 117 $\mu\text{g L}^{-1}$ mediante los electrodos serigrafiados de carbono y nanotubos de carbono respectivamente, a pesar de que estos electrodos presentan una sensibilidad inferior al electrodo de carbono vítreo, se obtuvo un error inferior al 3% para ambos electrodos.

IV.2. Estudio de Pb(II)

IV.2.1. Estudio de modificación óptima

Se realizaron medidas utilizando un electrodo de carbono vítreo sin modificar, modificado solamente con Nafion y modificado con Nafion/champiñón, variando las concentraciones de éstos, además de la procedencia del champiñón.

IV.2.1.1. Electrodo de carbono vítreo sin modificar

Se realizaron mediciones al adicionar alícuotas de Pb(II) en celda, hasta obtener una concentración final de $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$, como resultado de esto, se obtuvo una señal en aproximadamente $-0,6 \text{ V}$ solamente en la concentración final, a partir de esto se determinó que el electrodo de carbono vítreo no es sensible al Pb a concentraciones menores de aproximadamente $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$.

IV.2.1.2. Electrodo modificado con Nafion al 0,5 y 5%

Se realizaron mediciones teniendo concentraciones en celda entre 0 y $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II), el analito se detectó desde los $6,6 \mu\text{g L}^{-1}$, por lo tanto el Nafion le otorga sensibilidad al electrodo. Con ambos electrodos se obtuvo una señal aproximadamente en $-0,5 \text{ V}$, siendo más intensa la corriente obtenida por el electrodo con Nafion al 5%. Los resultados se presentan en la **Figura 32**.

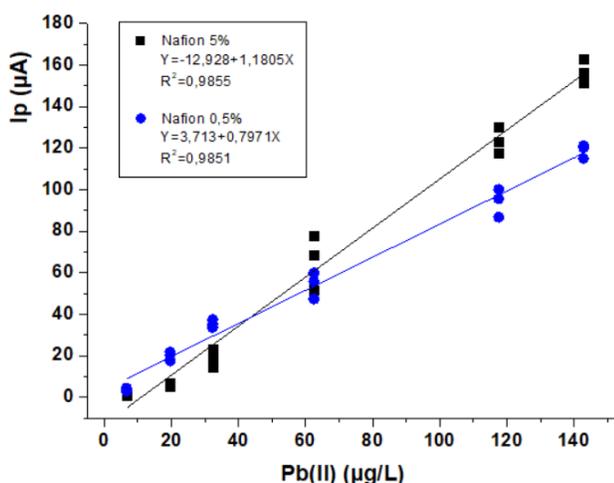


Figura 32. Curvas de calibrado con electrodos modificados con Nafion 5% y 0,5%. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

A partir de las curvas presentadas en la figura 32 se obtuvo para el Nafion 0,5% una sensibilidad de $0,7971 \mu\text{A}/\mu\text{gL}^{-1}$ y un R^2 de 0,9851, por otro lado, para el Nafion 5% se obtuvo una sensibilidad de $1,1805 \mu\text{A}/\mu\text{gL}^{-1}$ y un R^2 de 0,9855.

El aumento en la sensibilidad del electrodo modificado con Nafion hacia el plomo, concuerda con lo reportado en literatura [44]. A continuación, se realizaron medidas utilizando electrodos modificados con Nafion 0,5% y 5%, variando el tipo de champiñón entre H-1 y H-2.

IV.2.1.3. Electrodo modificado con Nafion 0,5% y champiñón

Utilizando electrodos modificados con champiñón, se realizaron medidas variando la concentración de Pb(II), los resultados se presentan en la **Figura 33**.

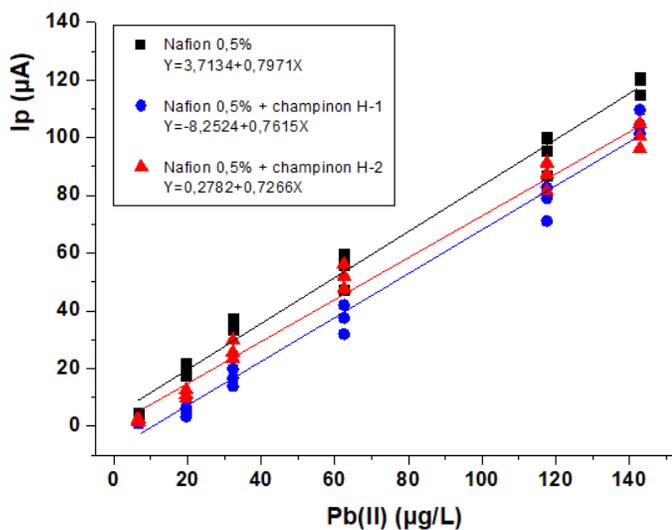


Figura 33. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion 0,5% y champiñón (H-1 y H-2) en relación 1:1. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Tabla 5. Comparación entre electrodos modificados con Nafion 0,5% y champiñones.

Electrodo modificado	R ²	Sensibilidad (μA/μgL ⁻¹)
Nafion 0,5%	0,9851	0,7971
Nafion 0,5% + champiñón H-1	0,9850	0,7615
Nafion 0,5% + champiñón H-2	0,9842	0,7266

A partir de los resultados, se observa que adicionar el champiñón a la modificación disminuye la sensibilidad levemente, por lo tanto, no hay una interacción realmente significativa con el analito.

IV.2.1.4. Electrodo modificado con Nafion 5% y champiñón

Se realizaron mediciones variando la concentración de Pb(II), para esto se utilizaron electrodos modificados con Nafion 5% y champiñón (H-1 y H-2) en relación mL:mg de 1:1 y 1:2. Los resultados se presentan en las **Figuras 34 y 35**.

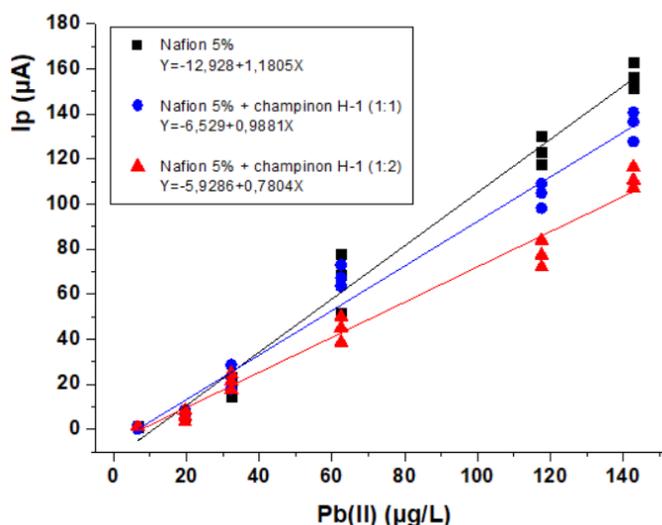


Figura 34. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion y champiñón H-1 en relación 1:1 y 1:2. HNO₃ 0,01 mol L⁻¹; E_{acc} = -1,2 V; t_{acc} = 60 s; 50 Hz.

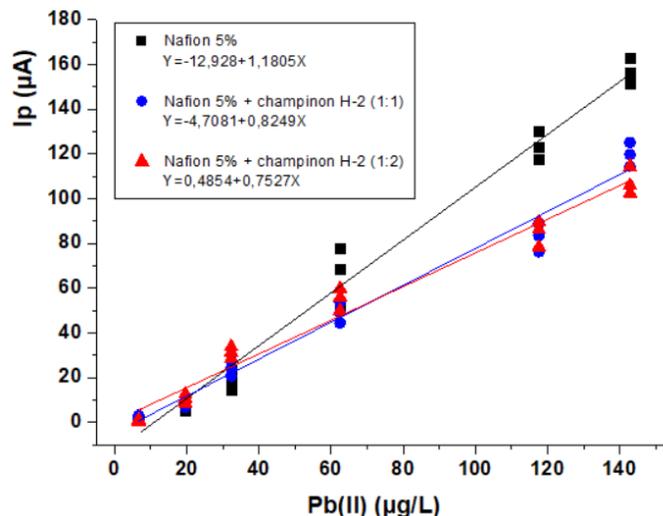


Figura 35. Curvas de calibrado de electrodos modificados con Nafion y champiñón H-2 en relación 1:1 y 1:2. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Tabla 6. Comparación entre electrodos modificados con Nafion 5% y champiñones.

Electrodo modificado	R^2	Sensibilidad ($\mu\text{A}/\mu\text{gL}^{-1}$)
Nafion 5%	0,9855	1,1805
Nafion 5% + champiñón H-1 (1:1)	0,9791	0,9881
Nafion 5% + champiñón H-2 (1:1)	0,9795	0,8249
Nafion 5% + champiñón H-1 (1:2)	0,9794	0,7804
Nafion 5% + champiñón H-2 (1:2)	0,9739	0,7527

Con los resultados obtenidos, se observa que al incluir el champiñón a la modificación el electrodo pierde sensibilidad, disminuyendo aún más al aumentar su concentración. Por lo tanto, la modificación con champiñón no es adecuada para el análisis de Pb(II).

A partir de todos los resultados obtenidos de los estudios del Pb(II), se determinó que adicionar champiñón a la modificación solo disminuye la sensibilidad del electrodo hacia el analito, obteniéndose mejores resultados utilizando la metodología con el electrodo modificado solamente con Nafion, esto puede

deberse a que el champiñón no interactúa como ligando con el plomo, en cambio estaría entregando cationes a la solución, lo cual disminuye el número de sitios activos en los que el plomo puede intercambiar iones con el Nafion, de esta manera se tendría una menor absorción traduciéndose en una corriente de pico menor. Esto demuestra que los champiñones no presentan selectividad al plomo, al contrario del arsénico, el cual genera una interacción con este “ligando natural” en el caso del champiñón H-2, obteniendo mayor selectividad y sensibilidad a este analito.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

Se comprobó satisfactoriamente la hipótesis de que las propiedades adsorbentes de los champiñones otorgan mayor sensibilidad y selectividad al incorporarlos en la superficie del electrodo, permitiendo en el caso del As realizar su cuantificación en muestras de agua potable y de río, al contrario del Pb que no presenta una interacción favorable con los champiñones.

Se cumplió parte del objetivo general, debido a que solo pudo ser optimizada y validada la metodología planteada para As, ya que no fue posible obtener una metodología nueva para Pb mediante la integración de champiñones al electrodo.

Los objetivos específicos dirigidos solamente a la metodología de As fueron cumplidos. Se optimizaron los parámetros analíticos de pH, frecuencia de la onda cuadrada, potencial y tiempo de acumulación para la metodología utilizando el electrodo de carbono vítreo. Asimismo, se obtuvo linealidad entre la corriente y/o área de pico en función de la concentración. Se validó la metodología mediante una muestra de agua potable dopada y se aplicó en una muestra real del Río Loa, obteniendo un error inferior al 3%.

Se aplicó la metodología propuesta a electrodos serigrafados comerciales de carbono y nanotubos de carbono, demostrando que la modificación es válida para ser utilizada en otros electrodos, a pesar de tener una sensibilidad inferior al electrodo de carbono vítreo se cuantificó correctamente As(III), obteniendo un error inferior al 3% para ambos electrodos.

Se demostró que los champiñones tienen la capacidad de adsorber metales tóxicos como se plantea en literatura y dependiendo del tipo, estos poseen cierta afinidad hacia algunos metales como se evidenció al comparar los champiñones.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Smedley, P. L., & Kinniburgh, D. G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied geochemistry*, 17(5), 517-568.
- [2] Mandal, B. K., & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58(1), 201-235.
- [3] Medina-Pizzali, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C. (2018). Ingesta de arsénico: impacto en la nutrición y la salud humana. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*, 35(1), 93-102.
- [4] Quansah, R., Armah, F. A., Essumang, D. K., Luginaah, I., Clarke, E., Marfoh, K., Cobbina, S.J., Nketiah-Amponsah, E., Namujju, P. B., Obiri, S. & Dzodzomenyo, M. (2015). Association of arsenic with adverse pregnancy outcomes/infant mortality: a systematic review and meta-analysis. *Environmental health perspectives*, 123(5), 412-421.
- [5] Ravenscroft, P., Brammer, H., & Richards, K. (2009). *Arsenic pollution: a global synthesis* (Vol. 28). John Wiley & Sons.
- [6] UNICEF. (2018). *Arsenic primer: guidance on the investigation & mitigation of arsenic contamination*. New York.
- [7] Podgorski, J., & Berg, M. (2020). Global threat of arsenic in groundwater. *Science* (New York, N.Y.), 368(6493), 845–850.
- [8] Ferreccio, C., & Sancha, A. M. (2006). Arsenic exposure and its impact on health in Chile. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 164-175.
- [9] Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicological sciences*, 123(2), 305-332.
- [10] Nodehi, M., Baghayeri, M., & Kaffash, A. (2022). Application of BiNPs/MWCNTs-PDA/GC sensor to measurement of TI (I) and Pb (II) using stripping voltammetry. *Chemosphere*, 301, 134701.
- [11] Wani, A., Ara, A. & Usmani, J. (2016). Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*,8(2) 55-64.

- [12] Boskabady, M., Marefati, N., Farkhondeh, T., Shakeri, F., Farshbaf, A., & Boskabady, M. H. (2018). The effect of environmental lead exposure on human health and the contribution of inflammatory mechanisms, a review. *Environment international*, 120, 404-420.
- [13] Debnath, B., Singh, W. S., & Manna, K. (2019). Sources and toxicological effects of lead on human health. *Indian Journal of Medical Specialities*, 10(2), 66.
- [14] Merrill JC, Morton JJP, Soileau SD. (2007). Metals. In: Hayes' principles and methods of toxicology. 5th ed.
- [15] Hoffman, R. S., Howland, M. A., Lewin, N. A., Nelson, L., Goldfrank, L. R., & Flomenbaum, N. (2015). *Goldfrank's toxicologic emergencies*, 10e.
- [16] Tsaridou, C., & Karabelas, A. J. (2021). Drinking water standards and their implementation—A critical assessment. *Water*, 13(20), 2918.
- [17] Timbrell, J. A. (2008). *Principles of biochemical toxicology*. CRC press.
- [18] Czae, M. Z., & Wang, J. (1999). Pushing the detectability of voltammetry: how low can we go?. *Talanta*, 50(5), 921-928.
- [19] Zuman, P. (2011). Past, present, and future of applications of electroanalytical techniques in analytical and physical organic chemistry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15, 1753-1759.
- [20] Barek, J., Fogg, A. G., Muck, A., & Zima, J. (2001). Polarography and voltammetry at mercury electrodes. *Critical reviews in analytical chemistry*, 31(4), 291-309.
- [21] Wang, J. (2000). *Analytical Electrochemistry*. 2nd ed. Wiley-VCH, New York, 60-82.
- [22] Paneli, M. G., & Voulgaropoulos, A. (1993). Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultratrace metals. *Electroanalysis*, 5(5-6), 355-373.
- [23] Ozkan, S. A., Kauffmann, J. M., & Zuman, P. (2015). *Electroanalysis in biomedical and pharmaceutical sciences: voltammetry, amperometry, biosensors, applications*. Springer.
- [24] Guadalupe, A. R., & Abruna, H. D. (1985). Electroanalysis with chemically modified electrodes. *Analytical Chemistry*, 57(1), 142-149.
- [25] Mohamed, H. M. (2016). Screen-printed disposable electrodes: Pharmaceutical applications and recent developments. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82, 1-11.

- [26] Couto, R. A. S., Lima, J. L. F. C., & Quinaz, M. B. (2016). Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. *Talanta*, 146, 801-814.
- [27] Mauritz, K. A., & Moore, R. B. (2004). State of understanding of Nafion. *Chemical reviews*, 104(10), 4535-4586.
- [28] Chen, Z., Pourabedi, Z., & Hibbert, D. B. (1999). Stripping Voltammetry of Pb (II), Cu (II), and Hg (II) at a Nafion-Coated Glassy Carbon Electrode Modified by Neutral Ionophores. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 11(13), 964-968.
- [29] Chen, P. Y., Vittal, R., Nien, P. C., & Ho, K. C. (2009). Enhancing dopamine detection using a glassy carbon electrode modified with MWCNTs, quercetin, and Nafion®. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(12), 3504-3509.
- [30] Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., Liu, N., Zhao, Y., Wang, J., & Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of mushroom polysaccharides: A mini-review. *Carbohydrate Research*, 494, 108037.
- [31] Vidal, V. E. S. (2016). *Recolección Sustentable de Hongos Silvestres Comestibles de Chile*.
- [32] García, M. Á., Alonso, J., & Melgar, M. J. (2009). Lead in edible mushrooms: levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1-3), 777-783.
- [33] Borovička, J., Braeuer, S., Walenta, M., Hršelová, H., Leonhardt, T., Sácký, J., Kaňa, A., & Goessler, W. (2022). A new mushroom hyperaccumulator: Cadmium and arsenic in the ectomycorrhizal basidiomycete *Thelephorapenicillata*. *Science of The Total Environment*, 826, 154227.
- [34] Borovička, J., Sácký, J., Kaňa, A., Walenta, M., Ackerman, L., Braeuer, S., Leonhardt, T., Hršelová, H., Goessler, W., & Kotrba, P. (2023). Cadmium in the hyperaccumulating mushroom *Thelephorapenicillata*: Intracellular speciation and isotopic composition. *Science of The Total Environment*, 855, 159002.
- [35] Dali, M., Zinoubi, K., Chrouda, A., Abderrahmane, S., Cherrad, S., & Jaffrezic-Renault, N. (2018). A biosensor based on fungal soil biomass for electrochemical detection of lead (II) and cadmium (II) by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 813, 9-19.

- [36] Herrera, V., Carrasco, C., Araneda, P., Varas, V., & Rojo, C. (2019). Riesgo ecológico potencial por arsénico en la desembocadura del río Loa, norte de Chile. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(3), 609-622.
- [37] Demergasso, C., Escudero, L., Galleguillos, P., Zepeda, V., y Chong, G. (2003). Análisis de factores microbiológicos que participan en el control de la concentración, distribución en especies y movilidad del arsénico en aguas superficiales de la región de Antofagasta. XXV Congreso Chileno de Microbiología, Antofagasta, Chile.
- [38] Sibikina, O. V., Iozep, A. A., & Moskvin, A. V. (2009). Polysaccharide complexes with metal cations: structure and application (a review). *Pharmaceutical chemistry journal*, 43(6).
- [39] Li, X., Jiang, F., Liu, M., Qu, Y., Lan, Z., Dai, X., Huang, C., Yue, X., Zhao, S., Xiaoli, P., & Zhang, C. (2022). Synthesis, characterization, and bioactivities of polysaccharide metal complexes: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(23), 6922-6942.
- [40] Domínguez-Zúñiga, L. I., Puente-Valenzuela, C. O., Estrada-Arellano, J. R., Aguirre-Acosta, E., & Aguillón-Gutiérrez, D. R. (2021). Heavy metals concentration in fungi in the metropolitan area of the Comarca Lagunera, Mexico. *Scientia fungorum*, 52.
- [41] Shrivastava, A., & Gupta, V. B. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron. Young Sci*, 2(1), 21-25.
- [42] Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of chemical education*, 95(2), 197-206.
- [43] Heyding, R. D., & Despault, G. J. G. (1960). The copper/arsenic system and the copper arsenide minerals. *Canadian Journal of Chemistry*, 38(12), 2477-2481.
- [44] Crowley, K., & Cassidy, J. (2002). Trace Analysis of Lead at a Nafion-Modified Electrode Using Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 14(15-16), 1077-1082.

ANEXO I - Resultados obtenidos al realizar medidas en diferentes condiciones experimentales

Como se mencionó anteriormente, con el objetivo de optimizar una metodología para determinar As(III) se realizaron medidas utilizando un electrodo de carbono vítreo.

Las variables experimentales al modificar el electrodo son:

- Concentración de Nafion: 0,5 y 5 %
- Relación Nafion:champiñón (mL: mg): 1:1 y 1:2
- Elección del champiñón: H1 y H2
- Volumen de mezcla aplicada al electrodo: 5 o 10 μL

Durante toda la etapa de estudio se trabajó en una celda electroquímica con 15,0 mL de ácido nítrico 0,01 mol L⁻¹, agregando alícuotas de una solución de As(III) 1,0 mg L⁻¹.

En este apartado se presentan los resultados obtenidos en la optimización de la metodología, que sin embargo no fueron los óptimos.

AI.1. Electrodo de carbono vítreo sin modificar

Se adicionó As(III) en celda, hasta obtener una concentración final de 166,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, como resultado de estas adiciones, no se apreció ninguna señal. Los voltamperogramas obtenidos se presentan en la **Figura AI.1**.

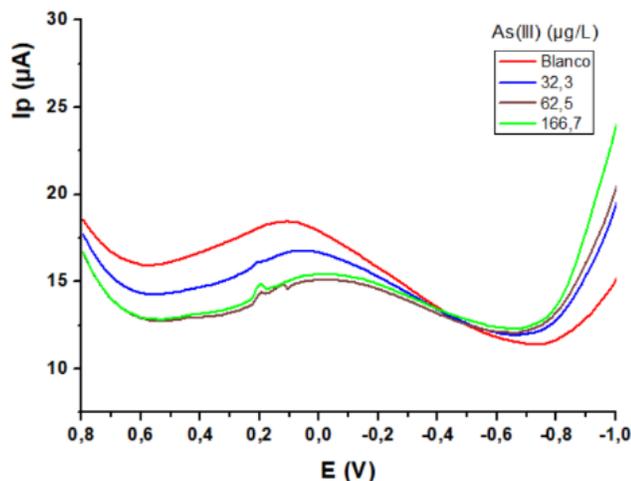


Figura A1.1. (A) Voltamperogramas en función de la concentración de As(III) utilizando electrodo sin modificación. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

A1.2. Electrodo modificado con Nafion 0,5 y 5%

Se modificaron electrodos de carbono vítreo con una alícuota de $10 \mu\text{L}$ de Nafion al 0,5% y 5%, se realizaron mediciones teniendo concentraciones en celda ente 0 y $142,9 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Con ambos electrodos se obtuvo una señal base aproximadamente en $0,1 \text{ V}$, la cual fue aumentando al adicionar el analito. Los resultados se presentan en la **Figura A1.2**.

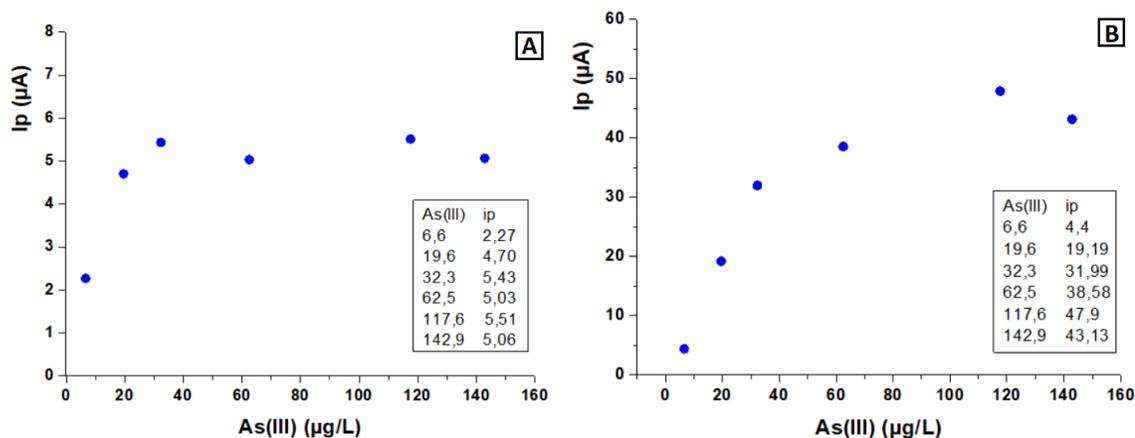


Figura A1.2. (A) Gráfico corriente de pico (i_p) vs concentración de As(III) electrodo modificado con Nafion 0,5% y (B) 5%. HNO_3 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz .

Al.3. Modificación con champiñón H-1

Al.3.1. Electrodo modificado utilizando Nafion 0,5% y champiñón

Se modificaron electrodos de carbono vítreo con una alícuota de 10 μL de una mezcla que contenía mL de Nafion 0,5% con mg de Champiñón en relación 1:1 y 1:2. Se realizaron mediciones teniendo la concentración de As(III) en celda entre 0 y 142,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Los resultados se presentan en la **Figura Al.3**.

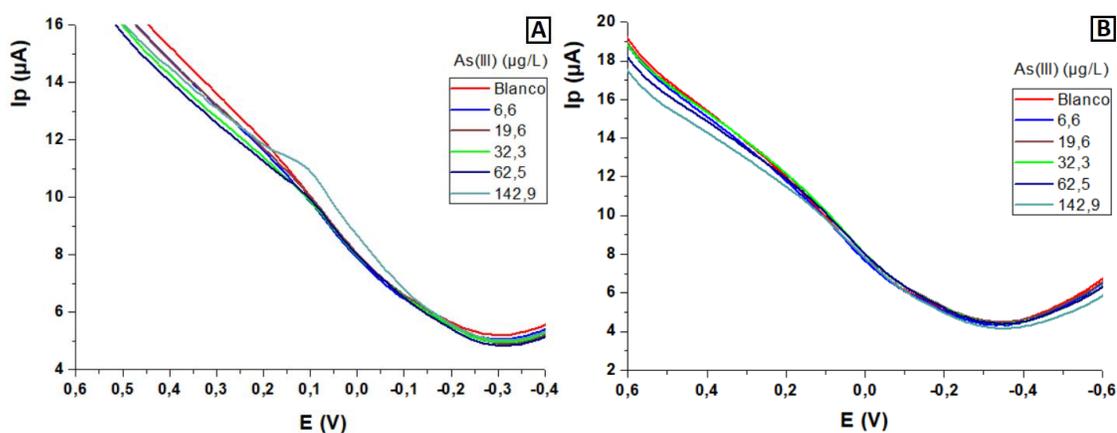


Figura Al.3. (A) Voltamperogramas utilizando electrodo modificado con 10 μL en relación Nafion 0,5%:champiñón H-1 (mL; mg): 1:1 y (B) 1:2. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2 \text{ V}$; $t_{\text{acc}} = 60 \text{ s}$; 50 Hz.

Al.3.2. Electrodo modificado con alícuota de menor volumen

Se modificó un electrodo de carbono vítreo con una alícuota de 5 μL de una mezcla Nafion 0,5% y champiñón en relación 1mL:1mg. Se realizaron mediciones con una concentración en celda entre 0 y 142,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Los resultados se presentan en la **Figura Al.4**.

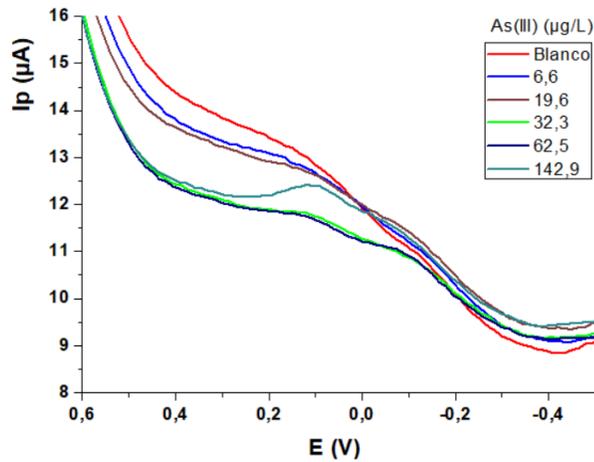


Figura AI.4. Voltamperogramas utilizando electrodo modificado con 5 μL en relación Nafion 0,5%:champiñón H-1 (mL; mg): 1:1. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.

AI.3.3. Electrodo modificado utilizando Nafion 5% y champiñón

Se modificó un electrodo de carbono vítreo con una alícuota de 10 μL de una mezcla Nafion 5% (mL)/ champiñón (mg) en relación 1:1. Se realizaron mediciones con una concentración en celda entre 0 y 142,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Los resultados se presentan en la **Figura AI.5**.

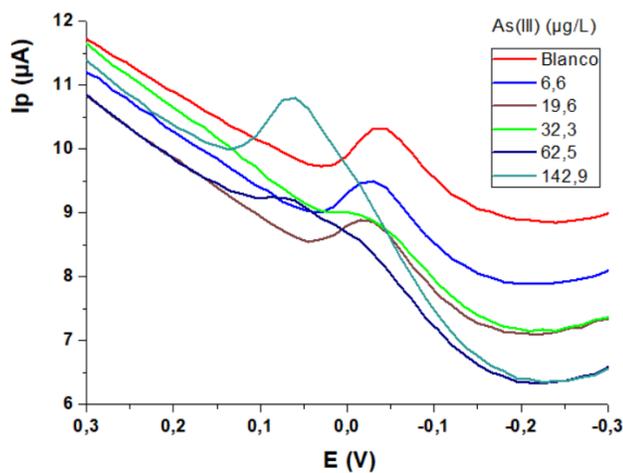


Figura AI.5. Voltamperogramas utilizando electrodo modificado con 10 μL en relación Nafion 5%:champiñón H-1 (mL; mg): 1:1. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.

Este electrodo presentó una señal a partir de los 62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), lo cual corresponde a un aumento en la sensibilidad hacia el analito al compararlo con las modificaciones anteriores que incluían este champiñón. Debido a la poca afinidad del champiñón hacia el analito, se continuaron los estudios con otro champiñón (H-2).

AI.4. Modificación con champiñón H-2

AI.4.1. Electrodo modificado con Nafion 0,5% y champiñón

Se modificó un electrodo de carbono vítreo con una alícuota de 10 μL de una mezcla Nafion 0,5% y champiñón (mL;mg) en relación 1:1. Se realizaron mediciones con una concentración en celda de 0 a 142,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Este electrodo presentó una señal en el blanco aproximadamente en 0 V, la cual aumentó su intensidad desde los 19,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), esto se debe a que la señal del analito aparece aproximadamente en 0,05 V; lo cual genera que se solapen.

Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura AI.6**.

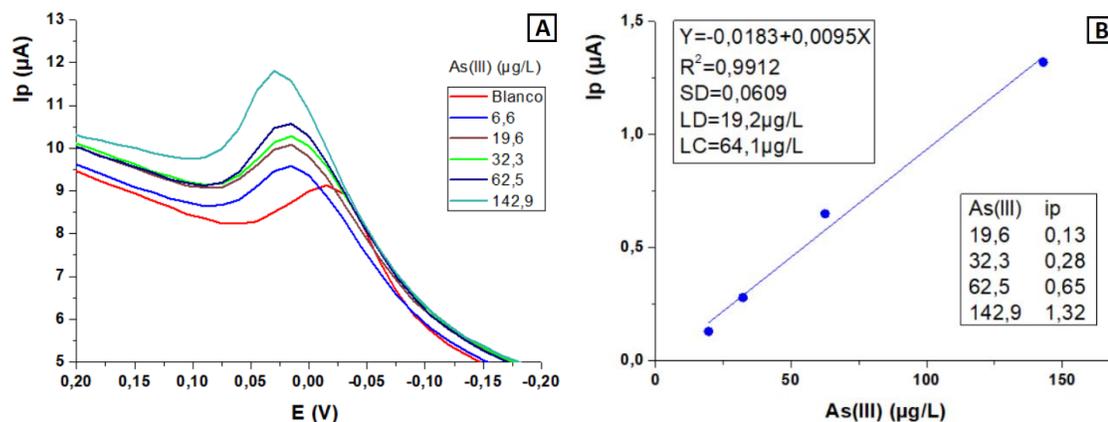


Figura AI.6. (A) Voltamperogramas y (B) curva de calibrado (restando blanco) con electrodo de carbono vítreo modificado con Nafion 0,5% y champiñón H-2 (1:1). HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.

AI.4.2. Electrodo modificado con Nafion 5% y champiñón

Se modificaron electrodos de carbono vítreo con una alícuota de 10 μL de una mezcla que contenía mL de Nafion 5% con mg de champiñón en relación 1:1 y 1:2. Se realizaron mediciones teniendo la concentración en celda de 0; 6,6; 19,6; 32,3; 62,5; 142,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura AI.7 y 8**.

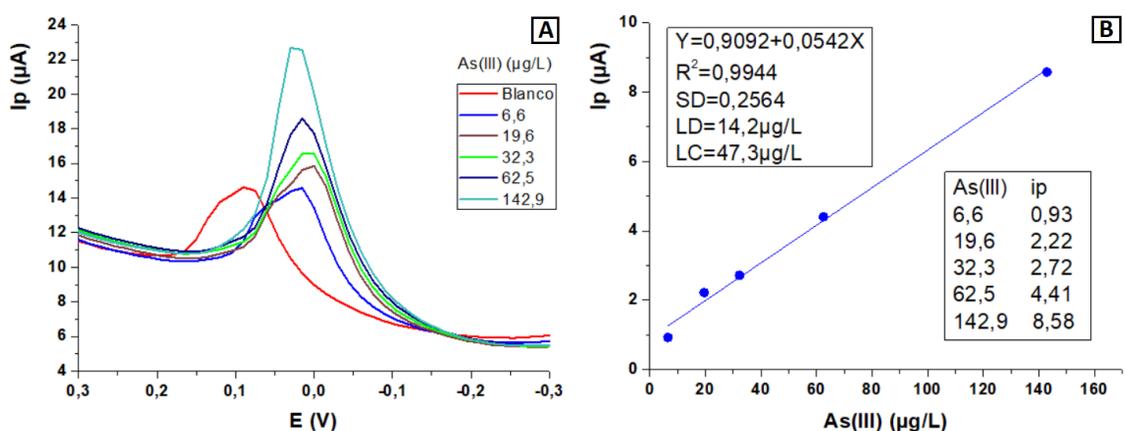


Figura AI.7. (A) Voltamperogramas y (B) curva de calibrado (restando blanco) con electrodo de carbono vítreo modificado con Nafion 5% y champiñón H-2 en relación 1:1. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.

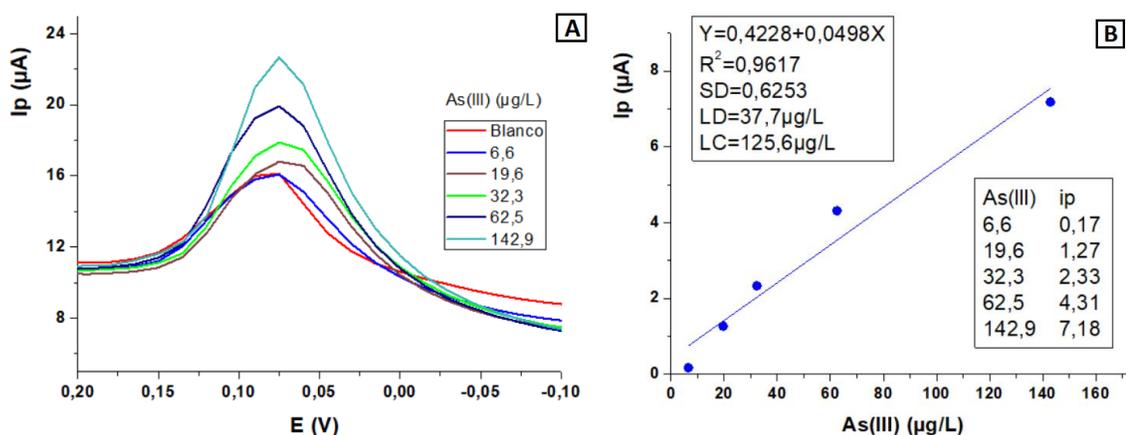


Figura AI.8. (A) Voltamperogramas y (B) curva de calibrado (restando blanco) con electrodo de carbono vítreo modificado con Nafion 5% y champiñón H-2 en relación 1:2. HNO_3 0,01 mol L^{-1} ; $E_{\text{acc}} = -1,2$ V; $t_{\text{acc}} = 60$ s; 50 Hz.

A partir de la figura Al.7 y 8, se puede observar que el analito se detectó desde los $6,6 \mu\text{g L}^{-1}$ para ambos electrodos, sin embargo, para la relación 1:1 se obtiene un mejor R^2 (0,9944), además de límites teóricos de detección ($14,2 \mu\text{g L}^{-1}$) y cuantificación ($47,3 \mu\text{g L}^{-1}$) inferiores.

Al.5. Tabla resumen modificación óptima para el electrodo

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los resultados obtenidos con las modificaciones.

Tabla **Al.1**. Resumen electrodos modificados.

Electrodo	Rango lineal ($\mu\text{g/L}$)	LD ($\mu\text{g/L}$)	LC ($\mu\text{g/L}$)	Sensibilidad	R^2
CV	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5}	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N ₅	[6,6 - 142,9]	113,5	378,4	0,2518	0,7286
10 CV/N _{0,5} /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5} /H-1/1:2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
5 CV/N _{0,5} /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N ₅ /H-1/1:1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
10 CV/N _{0,5} /H-2/1:1	[19,6 - 142,9]	19,2	64,1	0,0095	0,9931
10 CV/N₅/H-2/1:1	[6,6 - 142,9]	14,2	47,3	0,0542	0,9944
10 CV/N ₅ /H-2/1:2	[6,6 - 142,9]	37,7	125,6	0,0498	0,9617

CV: carbono vítreo, N: Nafion, N/A: no aplica.

A partir de los parámetros presentados en la tabla resumen, se seleccionó como más eficiente la modificación en el electrodo mediante una alícuota de $10 \mu\text{L}$ de una mezcla de Nafion 5% y champiñón H-2 en proporción Nafion(mL): champiñón(mg) de 1:1, con este electrodo se obtuvo el mejor LD, LC, R^2 .