

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**



**“Inmovilización de 7-amino- $\beta$ -ciclodextrinas  
utilizando derivados de ácido pireno-1-carboxílico.  
Aplicación en la detección electroquímica del  
Paraquat”**

**Memoria para optar al Título Profesional de Químico:**

**XIMENA LILIANA ROJAS MORA**

**Profesora Patrocinante: Dra. Soledad Viviana Bollo Dragnic**

**Directora de Memoria: Dra. Claudia Andrea Yáñez Soto**

**Santiago de Chile, 2024**

***Con mucho cariño para Esperanza mi mamá y Cristian mi hermano, por su apoyo y amor incondicional.***

Agradecimientos al proyecto Fondecyt 1200592 por el financiamiento para desarrollar esta memoria de título.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a mi mamá Teresa y a mi hermano Cristian, quienes me permitieron tener una buena educación superior y me han ayudado incondicionalmente durante todo este proceso para cumplir mis sueños. A mi familia en Cusco, mis abuelos Hipólito y Lucila quienes preguntaban de vez en cuando << ¿Cómo va la universidad?, ¿ya estás trabajando? ¿Cómo va la tesis?>>, y me brindaron palabras de aliento cuando replicaba << me falta poco, paso a paso>>, por quererme mucho haciéndome comidas ricas. A mis abuelos que están en el cielo, quienes guían mi camino para ser una mejor persona Miguel y Leonidas, los echo de menos.

Agradezco también a mis amigos que conocí en la Universidad, los que hicieron que el ambiente de estudio sea más entretenido, por su ayuda, buenas vibras y siempre estar para cuando los necesite Raúl, Lorena y Sandy. A la selección de basquetbol de la facultad de ciencias químicas por darme esa inspiración, ganas de seguir intentándolo y desestresarme.

A mis compañeros de laboratorio de electroquímica “Los Wow’s” por hacer el ambiente agradable y ayudarme en todo momento, por las pláticas interminables de conocimiento, los almuerzos y los asados, Raúl, Martin, Alex, Karen, Javier, Andrés y los Sebas.

Finalmente, agradecer a la Dra. Claudia Yáñez, por aceptarme en su laboratorio, tenerme paciencia y entregarme mucho conocimiento sobre la electroquímica.

## ABREVIATURAS

7 $\beta$ CD	7amino $\beta$ ciclodextrina
7 $\beta$ CD/Dp/MWCNT	Compósito de nanotubos de carbono, derivados de pireno y ciclodextrinas
APC	Ácido pireno 1-carboxílico
APA	Ácido pireno acético
APB	Ácido pireno butírico
CD	Ciclodextrina
Cp	Compósito
Dp	Derivados de pireno (ácido pireno acético, ácido pireno butírico y pireno)
EDC	Clorhidrato de N-etil-N-(3-metilaminopropil) carbodiimida
Epc	Energía potencial de pico de reducción
GCE	Electrodo de trabajo de carbono vítreo
Ipc	Intensidad de corriente catódica
MWCNT	Nanotubos de carbono de multipared
MWCNT/GCE	Electrodo de carbono vítreo modificado con nanotubos de carbono multipared
NHS	N-hidroxisuccinimida
P	Pireno
t <sub>ac</sub>	Tiempo de acumulación
VC	Voltametría cíclica
VPD	Voltametría de pulso diferencial
X/MWCNT	Compósito de nanotubos de carbono y derivados de pireno
$\Delta E_p$	Diferencia de energía potencial de pico de reducción y oxidación.

## RESUMEN

En la presente memoria de título, se reportan los resultados de dos estrategias electroquímicas de modificación de electrodos: una denominada *Bottom-up* y la otra “compósito”, aplicadas a superficies de electrodos de carbono vítreo (GCE) previamente modificados con nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y 7-amino- $\beta$ -ciclodextrinas ( $7\beta$ CD) inmovilizadas con derivados de pireno (Dp); los cuales son ácido pireno acético (APA), ácido pireno butírico (APB) y pireno (P).

Utilizando los electrodos modificados con  $7\beta$ CD, se determina el comportamiento electroquímico de pesticida paraquat (PQ) en medio acuoso. Se utilizan técnicas electroquímicas como voltametría cíclica (VC) y voltametría de pulso diferencial (VPD) para evaluar dicho comportamiento utilizando los electrodos modificados. Se establecieron las condiciones experimentales óptimas, considerando la variación del pH de la solución, el tiempo de acumulación, la concentración de PQ y la velocidad de barrido. Además, se lleva a cabo un análisis de la modificación de la superficie a través de espectroscopia de Raman para corroborar la formación de una amida de  $7\beta$ CD (-NH<sub>2</sub>) con Dp (-COOH).

Se compara la respuesta de intensidad de corriente de PQ utilizando VDP en diversas superficies, como GCE, MWCNT/GCE y  $7\beta$ CD/Dp/MWCNT/GCE. Se observa que los electrodos con  $7\beta$ CD inmovilizada por APA ( $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE) destacan al mostrar una mayor intensidad de corriente en comparación con otras superficies modificadas. Esto sugiere que el electrodo modificado  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE permite la formación un complejo de inclusión entre  $7\beta$ CD y PQ, mejorando así la respuesta electroquímica. Sin embargo, las otras modificaciones tales como  $7\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE y  $7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE presentan un apantallamiento en la superficie del electrodo, disminuyendo su intensidad de corriente.

## SUMMARY

In the present thesis, the results of two electrochemical strategies for electrode modification are reported: one known as Bottom-up and the other as "composite", which are applied to the surface of a previously modified GCE with carbon nanotubes (MWCNT) and 7-amino- $\beta$ -cyclodextrins (7 $\beta$ CD). Whose immobilization is assisted through the use of pyrene derivatives (Dp), specifically pyrene acetic acid (APA), pyrene butyric acid (APB) and pyrene (P).

Using the electrodes modified with 7 $\beta$ CD, the electrochemical behavior of the pesticide paraquat (PQ) in aqueous medium is determined. Electrochemical techniques such as cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) are used to evaluate this behavior using modified electrodes. Optimal experimental conditions were established, considering the variation of the solution pH, accumulation time, PQ concentration, and sweep rate. Additionally, a surface modification analysis is carried out through Raman spectroscopy to corroborate the formation of a 7 $\beta$ CD amide (-NH<sub>2</sub>) with Dp (-COOH).

The current intensity response of PQ using DPV is compared on various surfaces, such as GCE, MWCNT/GCE, and 7 $\beta$ CD/Dp/MWCNT/GCE. It is observed that electrodes with 7 $\beta$ CD immobilized by APA (7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE) stand out by showing a higher current intensity compared to other modified surfaces. This suggests that the modified electrode 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE allows the formation of an inclusion complex between 7 $\beta$ CD and PQ, thereby improving the electrochemical response. However, other modifications such as 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE and 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE exhibit shielding on the electrode surface, decreasing their current intensity.

## ÍNDICE

1	INTRODUCCION .....	15
2	OBJETIVOS DE LA MEMORIA.....	23
2.1	Objetivo general.....	23
2.2	Objetivos Específicos.....	23
3	MATERIALES Y METODOS .....	24
3.1	Reactivos y solventes .....	24
3.1.1	Soluciones .....	24
3.2	Equipos.....	24
3.2.1	Equipos de uso general .....	24
3.2.2	Sistema electroquímico computacional .....	25
3.2.3	Sistema Espectroscópico de Raman .....	25
3.3	Metodología .....	26
3.3.1	Preparación de soluciones .....	26
3.3.2	Preparación de los electrodos de trabajo .....	26
3.3.3	Estrategia <i>Botton up</i> . Inmovilización de 7-amino- $\beta$ -Ciclodextrina (7 $\beta$ CD) a nanotubos de carbono de multipared (MWCNT), mediante derivados de pireno 27	
3.3.4	Estrategia mediante preparación de “compósito” .....	28
3.3.5	Caracterización electroquímica.....	29
3.3.5.1	Voltimetría cíclica utilizando ferricianuro de potasio .....	29
3.3.6	Voltimetría cíclica de Paraquat.....	31
3.3.7	Voltimetría de pulso diferencial de paraquat .....	32
3.3.8	Caracterización mediante Espectroscopia de Raman .....	32
3.3.9	Pesticida. Evaluación electroquímica de Paraquat.....	33
4	RESULTADOS Y DISCUSION.....	35



4.1	Caracterización de las superficies de GCE modificados con nanotubos de carbono (MWCNT) y 7- $\beta$ -ciclodextrinas (7 $\beta$ CD) inmovilizadas por derivados de pireno.....	35
4.1.1	Voltametría cíclica .....	35
4.1.1.1	Estrategia <i>Botton up</i> : optimización del tiempo de acumulación ( $t_{ac}$ ) de ácido pireno acético (APA) .....	36
4.1.1.1.1	Evaluación del mediador redox en superficies modificadas con 7- $\beta$ -ciclodextrinas (7 $\beta$ CD) .....	39
4.1.1.2	Estrategia de “compósito”: Evaluación del mediador redox en superficies modificadas con 7 $\beta$ CD .....	41
4.1.2	Espectroscopia Raman.....	43
4.1.2.1	Estrategia <i>Botton up</i> .....	44
4.1.2.2	Estrategia “compósito” .....	47
4.2	Comportamiento electroquímico de Paraquat (PQ) en Buffer Britton-Robinson 0,1 M en electrodo de carbono vítreo (GCE) y nanotubos de carbono de multipared sobre GCE (MWCNT/GCE).....	50
4.2.1	Voltametría cíclica: Electrodo GCE.....	50
4.2.2	Efecto de pH.....	50
4.2.3	Efecto de la velocidad de barrido.....	52
4.2.4	Efecto de concentración de Paraquat.....	56
4.2.4.1	Electrodo GCE .....	56
4.2.4.2	Electrodo MWCNT/GCE.....	57
4.2.5	Optimización de tiempo de acumulación de Paraquat.....	59
4.3	Evaluación del comportamiento electroquímico de Paraquat (PQ) sobre superficies modificadas por voltametría de pulso diferencial .....	61
4.3.1	Estrategia “compósito”: Tiempo de acumulación de Paraquat (PQ) en las superficies modificadas .....	62

4.3.2	Estrategia <i>Botton-up</i> .....	66
5	CONCLUSION .....	68
6	REFERENCIAS.....	69

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Parámetros de los sistemas reversibles, irreversibles y quasi-reversible. .....	31
<b>Tabla 2.</b> Parámetros optimizados de Espectroscopia Raman en diferentes superficies. Poder de Laser: High. ....	33
<b>Tabla 3.</b> Valores de $I_{pc}$ , $E_{pc}$ y $\Delta E_p$ obtenidos de VC de ferricianuro de potasio variando el tiempo de acumulación de APA (5 mM). Superficie APA/MWCNT. Estrategia Botton up. ....	38
<b>Tabla 4.</b> Valores de $E_{pc}$ , $I_{pc}$ y $\Delta E_p$ obtenidos de la voltametría cíclica de ferricianuro de potasio. ....	40
<b>Tabla 5.</b> Valores de $E_{pc}$ , $I_{pc}$ y $\Delta E_p$ obtenidos de la VC de ferricianuro de potasio en superficies modificadas. ....	42
<b>Tabla 6.</b> Intensidad de señales D, G, y la razón $I_D / I_G$ de MWCNT, DP/MWCNT y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT. Estrategia Botton-up. ....	46
<b>Tabla 7.</b> Intensidad de señales D, G, y la razón $I_D / I_G$ de MWCNT, DP/MWCNT y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT. Estrategia compósito. ....	49
<b>Tabla 8.</b> Ecuaciones de la recta en superficie GCE para PQ. ....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales componentes de un sensor.....	16
<b>Figura 2.</b> Estructura de las ciclodextrinas (CDs); n=6, 7 u 8.....	16
<b>Figura 3.</b> (A) estructura nativa de la $\beta$ -ciclodextrina. (B) complejo de inclusión anfitrión-huésped. (C) sitios hidrofóbicos (interior) e hidrofílicos (exterior) de la ciclodextrina. ....	17
<b>Figura 4.</b> Estructura de amino 7 $\beta$ CD. ....	18
<b>Figura 5.</b> Estructura del ácido pireno 1-carboxílico (APC). ....	18
<b>Figura 6.</b> SWCNT y MWCNT.....	20
<b>Figura 7.</b> Estrategia Botton Up de inmovilización de 7 $\beta$ CD sobre superficies modificadas con derivados de pireno (Dp). ....	21
<b>Figura 8.</b> Estrategia Drop Casting del compuesto sobre superficie GCE. ....	21
<b>Figura 9.</b> Paraquat.....	22
<b>Figura 10.</b> Mecanismo electroquímico redox de PQ.....	22
<b>Figura 11.</b> Esquema de reacción con EDC-NHS al grupo carboxílico.....	27
<b>Figura 12.</b> VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato + KCl (0,5 M), pH 8, sobre superficie APA/MWCNT/GCE a diferentes tiempos de acumulación de APA (5 mM). Superficie MWCNT/GCE (línea punteada). Velocidad de barrido 100 mV/s. ....	37
<b>Figura 13.</b> Gráfico de $I_{pc}$ vs $t_{ac}$ para ferricianuro (1mM), sobre superficie APA/MWCNT/GCE ( $\blacktriangle$ ). ....	38
<b>Figura 14.</b> Estrategia Botton-up. VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato KCl (0,5 M) en superficies GCE ( $\text{—}$ ), MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ). ....	40
<b>Figura 15.</b> Estrategia de “compósito”. VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato KCl (0,5 M) en superficies GCE ( $\text{—}$ ), MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ), 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE ( $\text{—}$ ). ....	42

<b>Figura 16.</b> Espectros Raman de superficie GCE modificados: MWCNT/GCE (—), APA/MWCNT (—), APB/MWCNT (—), P/MWCNT (—), 7βCD/APA/MWCNT (—), 7βCD/APB/MWCNT (—), 7βCD/P/MWCNT (—). Estrategia Botton-up, 532 nm.....	45
<b>Figura 17.</b> Espectros Raman de superficie GCE modificados: MWCNT/GCE (—), APA/MWCNT (—), APB/MWCNT (—), P/MWCNT (—), 7βCD/APA/MWCNT (—), 7βCD/APB/MWCNT (—), 7βCD/P/MWCNT (—). Estrategia “compósito”, medida a 532 nm. ....	48
<b>Figura 18.</b> Voltamogramas cíclicos, medido en electrodo GCE de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M. Blanco (— —) pH 3 (—), pH 7 (—) y pH 11 (—). Velocidad de barrido: 100 mV/s. ....	51
<b>Figura 19.</b> Relación de potencial de pico vs pHs, medido en electrodo GCE de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M a pH 3,7 y 11. Velocidad de barrido: 100 mV/s. ....	52
<b>Figura 20.</b> Voltamogramas cíclicos de PQ (0,5 mM) sobre GCE en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M a pH 3, 7 y 11 a diferentes velocidades de barrido (mV/s). ....	53
<b>Figura 21.</b> Dependencia del potencial de pico (E <sub>pc</sub> ) con el logaritmo de la velocidad de barrido en una solución de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 3(■), pH 7 (●) y pH 11(▲). ....	54
<b>Figura 22.</b> Relación logarítmica entre i <sub>pc</sub> y la velocidad de barrido para una solución de concentración PQ (5 mM) en solución tampón B-R 0,1M. pH 3 (■), pH 7 (●) y pH 11 (▲). ....	55
<b>Figura 23.</b> Voltamograma cíclico, medido en electrodo GCE a diferentes concentraciones de PQ en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (— —), 0,05 (—), 0,1 (—), 0,25 (—), 0,5(—), 1(—), 2 (—) mM. Velocidad de barrido, 100 mV/s. ....	57
<b>Figura 24.</b> Voltamograma cíclico de PQ a diferentes concentraciones sobre MWCNT/GCE en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (— —), 0,05 (—), 0,1 (—), 0,25 (—), 0,5(—), 1(—), 2 (—) mM. Velocidad de barrido, 100 mV/s. ....	58
<b>Figura 25.</b> Curva de corriente versus concentración de PQ sobre superficies GCE (■) y MWCNT/GCE (●). ....	59

**Figura 26.** Voltamogramas cíclicos de PQ (0,5 mM) sobre MWCNT/GCE a diferentes tiempos de acumulación en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (—), 1 (—), 5 (—), 15 (—) y 30(—) minutos. Velocidad de barrido, 100 mV/s. .... 60

**Figura 27.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (0,5 mM) sobre MWCNT/GCE en solución tampón B-R 0,1M a pH 11 a tiempo de acumulación de 1 minuto de PQ. .... 62

**Figura 28.** Tiempo de acumulación de PQ (0,5 mM) en solución tampón B-R 0,1 M a pH 11 sobre electrodos GCE (■) y modificados MWCNT/GCE (●), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (▲), 7βCD/APB/MWCNT/GCE (▼) y 7βCD/P/MWCNT/GCE (◆). .... 63

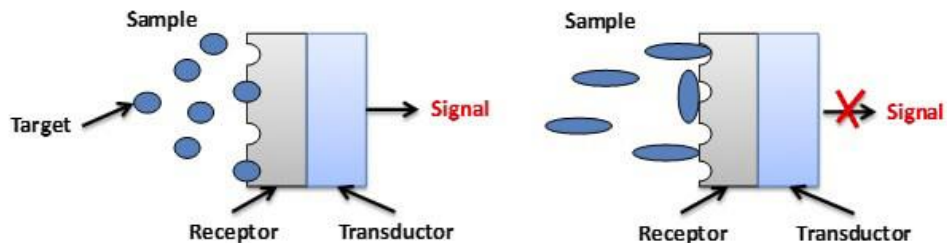
**Figura 29.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11 sobre electrodos GCE (—), MWCNT/GCE (—), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—) y 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—). Tiempo de acumulación de 1 minuto. Estrategia “compósito” ..... 65

**Figura 30.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11. En electrodos GCE (—), MWCNT/GCE (—), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—) y 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—). Tiempo de acumulación de 1 minuto. Estrategia Botton up. .... 67

## 1 INTRODUCCION

En la actualidad, existen diferentes metodologías y técnicas para el análisis y cuantificación de analitos de interés, entre las que se pueden mencionar: Cromatografía Líquida con Espectrometría de Masa (LC-MS), Cromatografía Líquida de Alto Desempeño (HPLC), LC-MS cuadrupolo, Extracción en Fase Sólida con HPLC, Cromatografía Gaseosa con Detección de ionización a la llama (GC-FID), GC con Detección de Captura Electrónica (EDC), HPLC con Detección de ultravioleta (UV) y HPLC con Detección de fluorescencia. Si bien estas técnicas pueden proporcionar una alta selectividad y sensibilidad, en algunos casos presentan alta complejidad operativa, consumo de reactivos, tiempo prolongado de análisis, alto costo, etc. <sup>1</sup>. Una alternativa a estas metodologías son los sensores electroquímicos, con un análisis simple, rápido y eficaz, cuyo equipamiento es de menor costo comparado con los asociados a las técnicas antes mencionadas <sup>2</sup>. Un sensor electroquímico, es un dispositivo autónomo capaz de suministrar información analítica de la muestra en tiempo real, por ende, son ideales para uso en campo. Además, se pueden acoplar a otros instrumentos analíticos como HPLC, electroforesis capilar, entre otros. Los sensores electroquímicos se destacan también por pertenecer a la “Química Verde”, ya que no utilizan grandes cantidades de solventes orgánicos que contaminan el medio ambiente <sup>3</sup>.

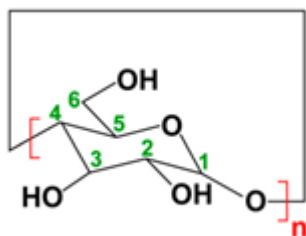
En general los sensores electroquímicos están formados por un receptor (físico, químico o biológico) y un transductor (conductimétrico, potenciométrico o amperométrico). El receptor es un elemento de reconocimiento molecular o iónico, el cual interactúa con un componente específico de la muestra y el transductor es un elemento instrumental que da una señal procesada de la interacción (Figura 1) <sup>4</sup>. Se puede utilizar un receptor como sensor si este determina de manera selectiva un analito <sup>5</sup>.



**Figura 1.** Principales componentes de un sensor.

Existen receptores de reconocimiento molecular específicos como calixareno <sup>6</sup>, cucurbituril <sup>7</sup> y ciclodextrina (CD) <sup>8</sup>, entre otros, que son capaces de formar complejos de inclusión con un analito específico (orgánico, inorgánico o biológico) que provocan una mayor solubilidad y estabilidad del analito, mejorando el desempeño del sensor mediante el reconocimiento molecular del receptor.

A lo largo de los años, las CDs han ganado mayor relevancia, debido a que pueden ser producidas en forma industrial a menor costo y también por su versatilidad al momento de modificarlas ampliando sus aplicaciones. Las CDs se utilizan en la industria farmacéutica, industria alimentaria, industria química, catálisis, biotecnología, agricultura, cosmética e higiene, medicina, industria textil y medioambiente <sup>9</sup>. Las CDs son oligosacáridos cíclicos, obtenidos por degradación enzimática del almidón, formado por unidades de D-glucopiranosas, unidos mediante enlaces  $\alpha$  (1,4)-glucosídicos (Figura 2) <sup>10</sup>.

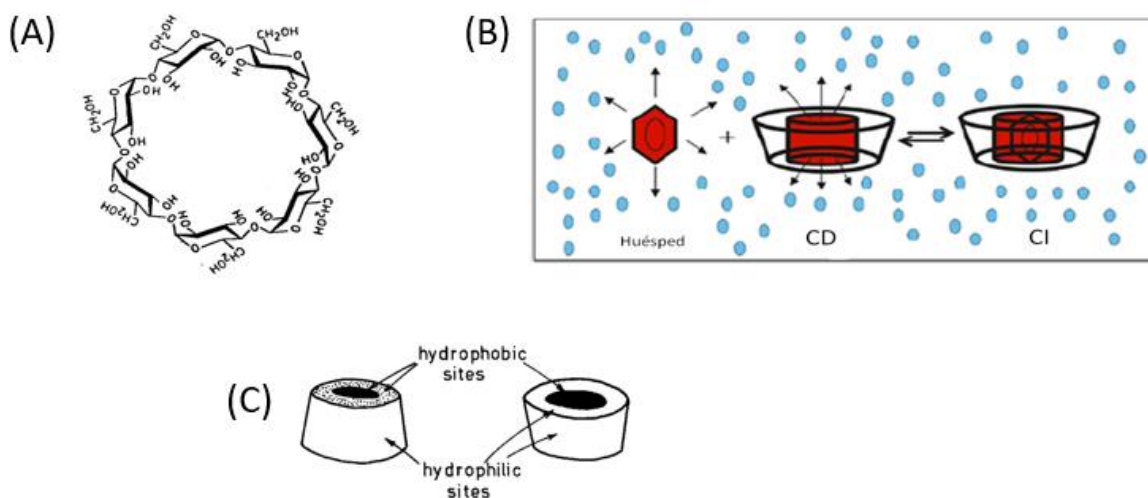


**Figura 2.** Estructura de las ciclodextrinas (CDs);  $n=6, 7$  u  $8$ .

Las CDs nativas más conocidas son la  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  quienes presentan 6, 7 y 8 unidades de glucopiranosas, respectivamente. La más utilizada es  $\beta$ -CD (Figura 3A) debido a su baja solubilidad comparada con  $\alpha$  y  $\gamma$ , por ende, su fácil separación por



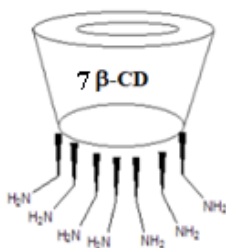
precipitación <sup>11</sup>. Las CDs presentan una estructura de cono truncado en forma de rosquilla o corona, que posee grupos hidroxilos altamente reactivos que están situados en los bordes del anillo. Además, posee una cavidad interior hidrofóbica, que en presencia de una molécula huésped hidrofóbica forma un complejo de inclusión de tipo anfitrión-huésped (Figura 3B), donde se generan interacciones de tipo no covalentes, como enlaces de hidrógeno, fuerzas de van Der Waals, interacciones hidrofóbicas o hidrofílicas, entre otras; y una superficie externa hidrofílica, lo que hace que las CDs sean solubles en agua (Figura 3C) <sup>12</sup>.



**Figura 3.** (A) estructura nativa de la  $\beta$ -ciclodextrina. (B) complejo de inclusión anfitrión-huésped. (C) sitios hidrofóbicos (interior) e hidrofílicos (exterior) de la ciclodextrina.

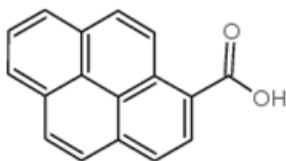
Los hidroxilos del borde ancho y del borde estrecho pueden ser modificados por grupos funcionales como tosilatos, amidas, aminas, entre otras <sup>13</sup>. Esta modificación proporciona una mejor solubilidad y una mayor enantioselectividad que las ciclodextrinas nativas <sup>14</sup>. Además, estas modificaciones permiten la inmovilización de las CDs sobre superficies, lo que constituye un aspecto fundamental para aplicación en sensores electroquímicos. Los métodos comúnmente utilizados para inmovilizar las moléculas receptoras son por, principalmente, adsorción, unión covalente y atrapamiento en geles <sup>14</sup>. Se han investigado varias estrategias para la inmovilización de CDs en distintas superficies como, por ejemplo, ciclodextrina

glucanotransferasa en nanopartículas superparamagnéticas recubiertas de sílice funcionalizadas con aminopropilo <sup>15</sup>, unión de  $\beta$ -ciclodextrina con ferroceno anclado a una superficie de oro mediante dendrímeros de poliamidoamina <sup>16</sup>, entre otros. En el grupo de investigación de electroquímica, se ha trabajado en la inmovilización de derivados aminados de  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ CD) sobre superficies de oro y carbono mediante la formación de enlaces covalentes. En estos derivados, el grupo -OH del carbono 6 ha sido reemplazado por grupos -NH<sub>2</sub>, pudiendo tener de 1 a 7 grupos amino en posición 6. En la Figura 4, se muestra en forma esquemática el derivado con 7 grupos amino (7 $\beta$ CD), que corresponde a heptakis-(6-amino-6-desoxi)  $\beta$ CD.



**Figura 4.** Estructura de amino 7 $\beta$ CD.

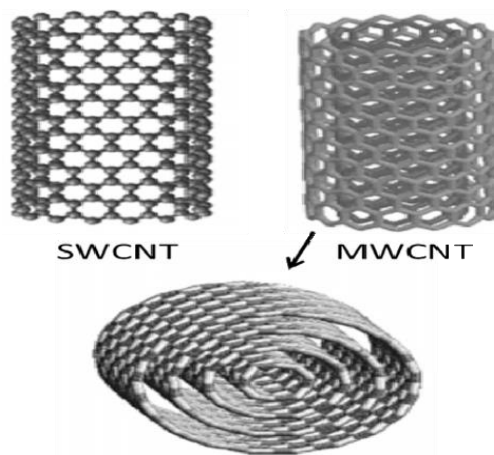
Una alternativa para inmovilizar 7 $\beta$ CD es utilizar derivados de ácido pireno carboxílico (APC) (Figura 5), que pueden ser utilizados como plataforma de inmovilización sobre superficies electródicas, debido a las propiedades electrónicas del pireno, el cual es un hidrocarburo aromático policíclico que tiene electrones  $\pi$  conjugados <sup>17</sup>.



**Figura 5.** Estructura del ácido pireno 1-carboxílico (APC).

El grupo pireno presenta interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$  con grupos que tengan esta misma característica como, por ejemplo, los materiales derivados de carbono (grafeno y nanotubos de carbono) y el grupo carboxílico permite enlazar covalentemente 7 $\beta$ CD mediante un enlace para la formación de una amida. Un ejemplo de esto es el estudio realizado por <sup>18</sup> donde, utilizan APC para inmovilizar L-Cisteína mediante un enlace covalente de los grupos -COOH (APC) y -NH<sub>2</sub> (L-Cisteína), esta interacción es activada por clorhidrato de N-etil-N-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS).

La ventaja de trabajar con nanomateriales basados en carbono es que presentan buenas propiedades electrónicas, térmicas, gran área superficial, resistencia mecánica y buena estabilidad química <sup>19</sup>. Desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono (CNT, carbon nanotubes) por parte de lijima <sup>20</sup>, se han desarrollado una gran cantidad de estudios en diversas áreas como sensores, material de almacenamiento de energía, entre otras <sup>21</sup>. Se encuentran nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT) (Figura 6). Estos últimos son muy utilizados por su gran área de superficie específica, sus propiedades fisicoquímicas, su alta sensibilidad en los sensores electroquímicos, la abundancia de estos y su bajo costo <sup>22</sup>. Los MWCNT constan de varias decenas de capa de grafito formando tubos concéntricos con una separación entre capas adyacentes de  $\sim 0,34$  nm, diámetros de  $\sim 1$  nm y una gran relación longitud/diámetro. Los MWCNT tienen una estructura cilíndrica donde cada átomo de carbono está unido a otros tres mediante hibridación  $sp^2$ . Estos a su vez, pueden ser conductores o semiconductores dependiendo de sus parámetros estructurales <sup>23</sup>.

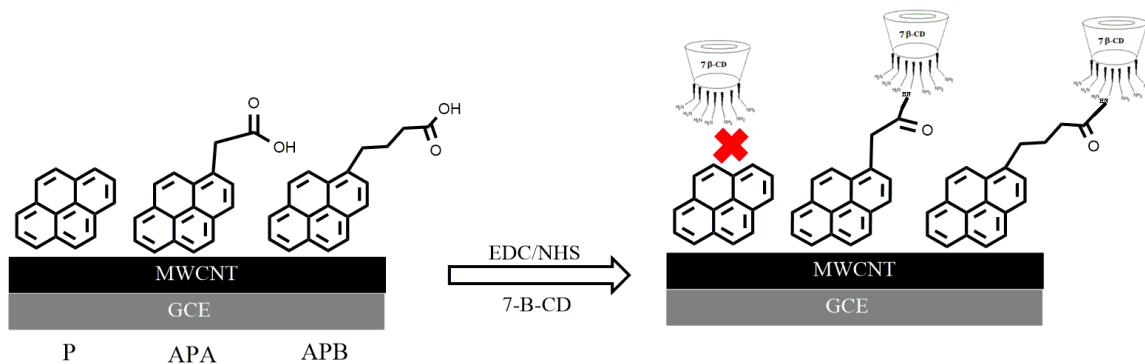


**Figura 6.** SWCNT y MWCNT.

De esta manera,  $7\beta$ CD podría ser inmovilizada sobre nanotubos de carbono haciendo uso de derivados de ácido pireno carboxílico como son ácido pireno acético (APA) y ácido pireno butírico (APB) siguiendo los procedimientos similares al planteado por Zhao <sup>18</sup>.

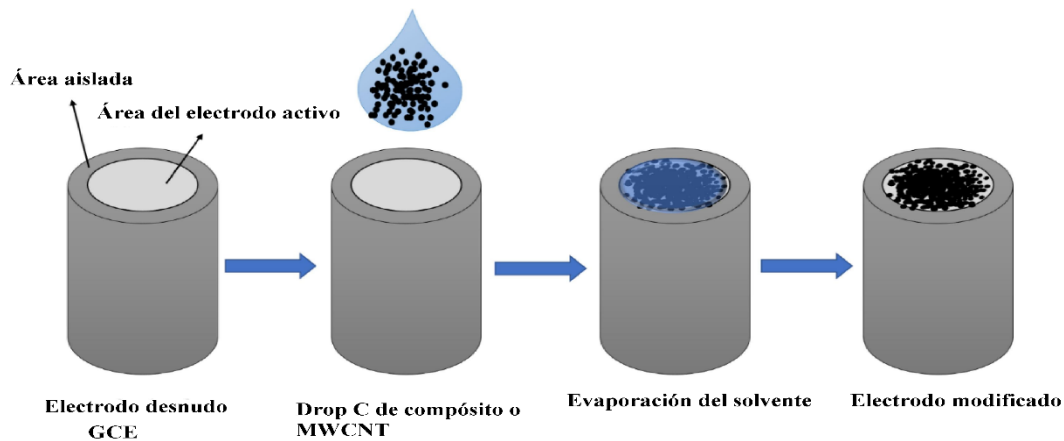
En este estudio, se utilizarán dos estrategias para la inmovilización de  $7\beta$ CD en la superficie de MWCNT: una es por *Bottom-up* <sup>24</sup> y la otra por depósito del “compósito” por *Drop Casting* <sup>25</sup>. La estrategia por *Bottom-up* (Figura 7) consiste en modificar la superficie de carbono vítreo (GCE) con MWCNT utilizando la técnica de *Drop casting*, mediante la cual se deposita la dispersión de MWCNT en el electrodo de trabajo, obteniendo un electrodo modificado con MWCNT. Posteriormente, se adicionan en forma consecutiva los derivados del pireno (Dp) y  $7\beta$ CD sobre la plataforma formada por MWCNT, utilizando la metodología de Dip Coating.

Los tiempos de inmersión son optimizados para obtener la mayor adición de DP y  $7\beta$ CD sobre la superficie del electrodo.



**Figura 7.** Estrategia Bottom Up de inmovilización de 7βCD sobre superficies modificadas con derivados de pireno (Dp).

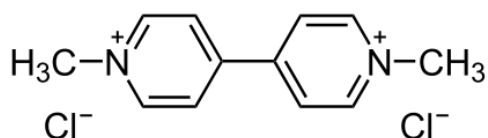
La estrategia de “compósito” por *Drop casting* (Figura 8) consiste en preparar un material de MWCNT con Dp, luego incorporar 7βCD y una suspensión de este material será depositado en la superficie GCE por la técnica de *drop casting*. El procedimiento será optimizado siguiendo el protocolo de Posha y Zhao <sup>18, 26</sup>.



**Figura 8.** Estrategia *Drop Casting* del compuesto sobre superficie GCE.

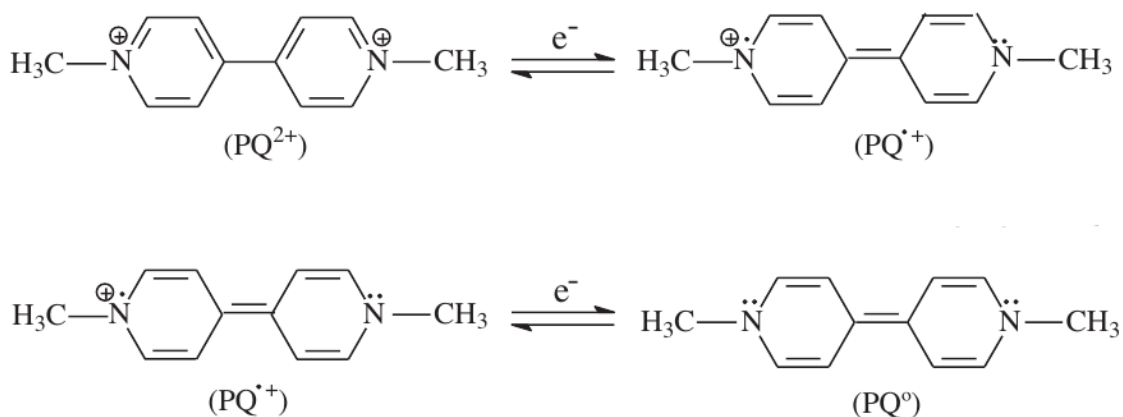
Para verificar la modificación del electrodo en cada etapa se utilizarán las técnicas de voltametría cíclica (VC) y Voltametría de Pulso Diferencial (VPD). Además, se utilizará Espectrometría Raman para caracterizar la inmovilización.

El comportamiento de los electrodos modificados será evaluado para la determinación de paraquat (Dicloruro de 1,1-dimetil-4,4-bipiridilo) (Figura 9). Este pesticida pertenece a la familia de los viológenos, es electroquímicamente activo presentando un comportamiento reversible<sup>27, 28</sup>, están prohibidos en Europa debido a que son altamente tóxicos, persistentes en el agua y en la tierra; no existen antídotos para la intoxicación<sup>29</sup>. En Latinoamérica estos pesticidas son utilizados para controlar la maleza en entornos agrícolas y no agrícolas, como el algodón, maíz y soya<sup>30</sup>. En julio del 2021, la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (EPA) solicitó métodos de mitigación para reducir los riesgos asociados del paraquat con el fin de asegurar la salud humana y proteger el medio ambiente.



**Figura 9.** Paraquat.

Se ha informado que la reducción de PQ (Figura 10) es un proceso en dos pasos<sup>28</sup>, donde los nitrógenos cuaternarios cargados positivamente se reducen. La reacción involucra dos pasos de transferencia electrónica, al ser una molécula simétrica el primer nitrógeno presenta una menor energía potencial, al cambiar de entorno el segundo nitrógeno requiere una mayor energía por ende aumento de energía potencial.



**Figura 10.** Mecanismo electroquímico redox de PQ.

## 2 OBJETIVOS DE LA MEMORIA

### 2.1 Objetivo general

Desarrollar un electrodo modificado con nanotubos de carbono (MWCNT) y 7-amino- $\beta$ -ciclodextrinas ( $7\beta$ CDs) unidas mediante derivados de pireno (Dp) utilizando la técnica de *Bottom-up* y preparación previa de un compósito, para la detección de paraquat.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Optimizar el tiempo de acumulación de ácido pireno acético (APA) por la estrategia de *Bottom-up*, sobre la superficie de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT/GCE).
2. Caracterizar los electrodos modificados con  $7\beta$ CD inmovilizadas con derivados de pireno (Dp) mediante voltametría cíclica (VC) utilizando ferricianuro de potasio como mediador redox y comparando con el electrodo no modificado (GCE), junto con espectroscopia Raman para las dos estrategias (*Bottom-up* y “compósito”).
3. Determinar el comportamiento electroquímico de paraquat (PQ) en solución acuosa variando pH, concentración y velocidad de barrido, sobre los electrodos GCE, MWCNT/GCE mediante voltametría cíclica (VC), estrategia “compósito”.
4. Evaluar el comportamiento electroquímico de paraquat (PQ) utilizando electrodos modificados con  $7\beta$ CD con diferentes inmovilizadores de derivados de pireno (Dp) sobre los electrodos  $7\beta$ CD/Dp/MWCNT/GCE y determinar el tiempo de acumulación óptimo de PQ mediante voltametría de pulso diferencial (VPD), para ambas estrategias.

## 3 MATERIALES Y METODOS

### 3.1 Reactivos y solventes

Se utiliza nanotubos de carbono multi pared (MWCNT) (Metrohm), heptakis-(6-amino-6-deoxy)- $\beta$ -Ciclodextrina heptahidrocloride ( $\beta$ CD-7NH<sub>2</sub>) (Arachem), ácido 1-pirenobutírico, 97%, ácido 1-pirenocarboxílico 97%, pireno  $\geq$ 99%, 1,3-dioxolano, Paraquat, 1-etil-3(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) adquiridos en Sigma-Aldrich; fosfato de potasio dibásico, fosfato de potasio monobásico, agua Milli-Q (18,2 M $\Omega$ -cm), ácido ortofosfórico, hidróxido de sodio, etanol absoluto 99,8%, metanol 99,8%, ácido acético glacial, ácido bórico y cloruro de potasio adquiridos en Merck.

#### 3.1.1 Soluciones

Solución tampón fosfato 0,1M y KCl 0,05 M a pH 7,4; solución tampón Britton-Robinson (0,1 M) y solución de electrolito cloruro de potasio (0,5 M).

### 3.2 Equipos

#### 3.2.1 Equipos de uso general

Balanza de precisión Precisa 40 SM-200 (sensibilidad 0,01 mg), balanza granataria PJ Precisa Junior 500C (sensibilidad 1 mg), medidor de pH Oaklon pH700, sistema purificador de agua Mili-Q Ultra-Pure Water System, sonicador Bransonic Branson 2210, agitador magnético, centrifuga.



### **3.2.2 Sistema electroquímico computacional**

Celda electroquímica (10 mL) compuesta de un electrodo de trabajo de carbón vítreo (GCE), electrodo de referencia Ag/AgCl y electrodo auxiliar de alambre de platino. Analizador voltamétrico BAS CV-50W. Sistema Computacional BIOANALYTICAL SYSTEMS CV-50W versión 7.4 para adquisición y tratamiento de datos.

### **3.2.3 Sistema Espectroscópico de Raman**

Espectrómetro Raman Advantage 532 DeltaNu. Sistema computacional nuSpec DeltaNu, 2009.

### 3.3 Metodología

#### 3.3.1 Preparación de soluciones

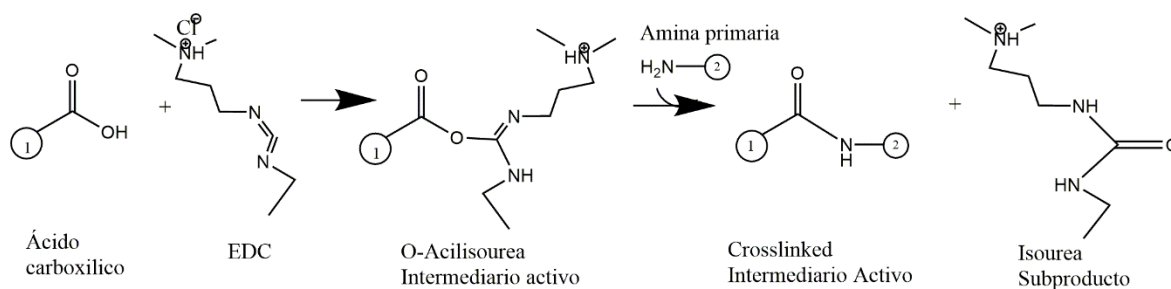
- A. Tampón fosfato 0,05 M (PBS):** En un matraz aforado de 100 mL se disuelve 0,43 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 0,27 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en agua desionizada. Se obtiene una solución a pH 7,4.
- B. Tampón fosfato 0,1 M:** En un matraz aforado de 250 mL se disuelve 0,48 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 3,05 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  en agua desionizada. Se obtiene una solución a pH 8,0.
- C. Tampón fosfato con cloruro de potasio 0,5M (KCl):** En un matraz aforado de 200 mL se disuelve 7,45 g de KCl en tampón fosfato 0,1 M a pH 8.
- D. Tampón Britton-Robinson 0,1 M (B-R):** En un matraz aforado de 1 L se disuelve 6,18 g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 7,9 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 85% y 5,7 mL de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  al 100% con agua desionizada. Antes de aforar se sonifica por 10 minutos para eliminar microburbujas y, por último, se ajusta al pH deseado se adiciona NaOH o HCl.
- E. Stock Paraquat:** Se disuelve aproximadamente 25,7 mg de paraquat en 5 mL de agua desionizada, obteniendo un stock de concentración 20 mM.

#### 3.3.2 Preparación de los electrodos de trabajo

Previo a la modificación con nanotubos de carbono o el compósito se procede a pulir el electrodo de carbón vítreo (GCE) con alúmina 0,3  $\mu\text{m}$  y 0,05  $\mu\text{m}$  respectivamente, entre los pulidos se lava con abundante agua Milli-Q.

### 3.3.3 Estrategia *Bottom up*. Inmovilización de 7-amino- $\beta$ -Ciclodextrina (7 $\beta$ CD) a nanotubos de carbono de multipared (MWCNT), mediante derivados de pireno

Para inmovilizar 7 $\beta$ CD en MWCNT, se utilizará derivados de pireno (Dp) como ácido pireno acético (APA), ácido pireno butírico (APB) y pireno (P). Se emplea la reacción de EDC y NHS al grupo carboxílico de DP para que generen un buen grupo saliente que permita el enlace de 7 $\beta$ CD (Figura 10).



**Figura 11.** Esquema de reacción con EDC-NHS al grupo carboxílico.

El procedimiento de *Bottom Up* se lleva a cabo de la siguiente manera:

Se prepara una dispersión de MWCNT con el agente dispersante 1,3-dioxolano <sup>31</sup>. Se pesa 3 mg de MWCNT en un eppendorf y se le agrega 1 mL de 1,3-dioxolano, el cual se coloca en baño de ultrasonido por 3 ciclos de 5 minutos.

Se extrae una alícuota de 5  $\mu$ L de la dispersión anterior y se deposita en los electrodos de trabajo de carbono vítreo (GCE) previamente pulidos con alúmina de diámetros 0,3 y 0,05  $\mu$ m respectivamente. Por último, se deja secar 5 minutos para que el solvente se evapore y obtener un electrodo modificado con MWCNT (MWCNT/GCE).

Posteriormente, se introduce el electrodo MWCNT/GCE en una solución de Dp (5mM) por 5 minutos (*Dip Coating*), en el cual ocurre una interacción  $\pi$ - $\pi$  de los grupos aromáticos. Se extrae el electrodo de la solución, se enjuaga con agua y se

introduce en una solución de clorhidrato de N-etil-N-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) (1:1) (200mM:50mM) por 20 minutos para la activación del grupo carboxílico del Dp. Por último, se realiza la inmersión del electrodo en una solución de 3 mM de 7βCD en PBS 0,05 M a pH 7,4 por 60 minutos para la inmovilización de 7βCD. El electrodo modificado con 7βCD se denomina 7βCD/Dp/MWCNT/GCE.

### **3.3.4 Estrategia mediante preparación de “compósito”**

Se pesa 26 mg de MWCNT y 26 mg de un derivado de pireno (5mM) en 20 mL de etanol. Se sonifica por 1 hora, seguido por una agitación de 250 rpm por 24 horas a temperatura ambiente. El sólido se separa por centrifugación con 2 lavados con agua entre cada centrifugación. El sólido se vierte en un recipiente y se seca a 50°C durante toda la noche, obteniendo Dp/MWCNT.

Para activar la zona de grupos carboxílicos de los derivados de pireno, se pesa 1 mg de Dp/MWCNT y se agrega 1 mL de EDC/NHS (1:1) (200 mM/50 mM) en milli-Q gota a gota, se agita por 60 minutos a 1000 rpm para asegurar una buena dispersión. Posteriormente, se lava con agua milli-Q y se centrifuga para eliminar los grupos no unidos y se obtiene \*Dp/MWCNT activado para formar un enlace covalente con 7βCD, el cual se dispersa con 7βCD (3mM) en 1mL de metanol. Finalmente, se sonica 30 minutos hasta obtener una buena dispersión, de la cual se extrae una alícuota de 5 μL de la dispersión y se deposita en los electrodos de trabajo de carbono vítreo previamente pulidos con alúmina de diámetros 0,3 y 0,05 μm, respectivamente. Se deja secar en estufa a 50°C por 5 minutos, se repite dos veces más hasta llegar a 15 μL total y se obtiene un electrodo modificado con 7βCD/Dp/MWCNT.

### 3.3.5 Caracterización electroquímica

#### 3.3.5.1 Voltametría cíclica utilizando ferricianuro de potasio

La técnica de voltametría cíclica (VC) entrega información cualitativa y rápida sobre los procesos termodinámicos redox, de reacción cinética y de transferencia de electrones.<sup>32</sup>

Los electrodos modificados son caracterizados mediante voltametría cíclica (VC) utilizando ferricianuro de potasio como mediador redox. Este experimento es ampliamente estudiado y sencillo que permite validar la operación del instrumento<sup>33</sup>. Este par redox presenta un  $\Delta E_p$  cercano a 65 mV siendo característico de un proceso reversible en la superficie de GCE que corresponde a la reacción del par ferricianuro/ferrocianuro.

Se utiliza una solución de 1 mM de ferricianuro en buffer 0,5 M KCl y 0,1 M buffer fosfato pH 8, y se analiza el comportamiento en los diferentes electrodos modificados, por triplicado. Antes de cada medición se burbujea con N<sub>2</sub> extra puro por 10 minutos. El parámetro  $\Delta E_p$  nos permite evaluar los procesos de transferencia electrónica.

Las reacciones que ocurren en la superficie del electrodo se pueden clasificar en tres sistemas, estas son: reversible, irreversible y qua-reversible.

- **Sistema reversible**

La reacción ocurre a una velocidad suficientemente alta como para establecer un equilibrio dinámico en la interfaz electrodo/solución.

En el caso de un proceso con comportamiento reversible controlado por difusión, se satisface la siguiente relación:

$$(1) \quad i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}$$

Y para procesos controlados por adsorción, se tiene:

$$(2) \quad i_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot v$$

En donde, C = concentración (mol/cm<sup>3</sup>); A = área del electrodo (cm<sup>2</sup>); D<sub>0</sub> = coeficiente de difusión (cm<sup>2</sup>/s); V = velocidad de barrido (V/s); n = número de electrones; i<sub>p</sub>= intensidad de pico (A)

Al establecer una relación logarítmica y posteriormente aplicar el operador diferencial a las ecuaciones respecto a la velocidad de barrido, es posible determinar el valor de la pendiente para el proceso en análisis. El proceso controlado por difusión está dado por:

$$(3) \quad \log I_p = \log k + \frac{1}{2} \log v$$

$$(4) \quad \frac{\partial \log I_p}{\partial \log v} = 0,5$$

En consecuencia, cuando se observa un valor de pendiente de 0,5 en la ecuación 4, se puede inferir que el proceso en cuestión está controlado por difusión.

Aplicando el mismo desarrollo a la ecuación 2 se obtiene una pendiente de 1, indicando que el proceso está controlado por adsorción.

- **Sistema irreversible**

El voltamograma de un sistema irreversible muestra una semi-reacción, ya sea anódica o catódica, el cual se desplaza con el aumento de la velocidad de barrido. La velocidad de transferencia de carga es lenta.

Se disponen de las siguientes ecuaciones (5 y 6) para el comportamiento irreversible. Dichas ecuaciones describen los procesos controlados por difusión y adsorción, respectivamente.

$$(5) \quad i_p = 2,99 \times 10^5 \cdot n(\alpha \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C^0 \cdot v^{1/2}$$

$$(6) \quad i_p = 2,99 \times 10^5 \cdot n(\alpha \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C^0 \cdot v$$

En donde,  $n$  = número de electrones transferidos finales;  $n_a$  = número de electrones transferidos antes de la etapa determinante;  $\alpha$ =coeficiente de transferencia.

- **Sistema quasi-reversible**

La irreversibilidad aumenta al aumentar la velocidad de barrido, mientras que se observa una disminución de la corriente de pico catódica en relación con la corriente de pico anódica. La ecuación (1 y 2) también se aplica en este caso

Para evaluar qué sistema controla el proceso de la reacción en la superficie del electrodo, se deben cumplir ciertos parámetros.

**Tabla 1.** Parámetros de los sistemas reversibles, irreversibles y quasi-reversible.

<b>Sistema reversible</b>	<b>Sistema irreversible</b>	<b>Sistema qua-reversible</b>
$I_p \propto v^{1/2}$	$I_p \propto v^{1/2}$	$I_p$ aumenta con $v^{1/2}$
$E_p$ independiente de $v$	$E_p$ depende de $v$	$E_p$ aumenta con $v$
$ I_{pa}/I_{pc} =1$	-	$ I_{pa}/I_{pc}  \neq 1$

### 3.3.6 Voltimetría cíclica de Paraquat

Para realizar el estudio de Paraquat (PQ), se prepara una solución de trabajo de concentración 0,5 mM PQ en buffer Britton-Robinson 0,1 M a pH 7. Se mide y se evalúa la reducción de PQ a distintos valores de pH y velocidad de barrido, ajustando tanto parámetros generales como específicos. El pH se ajusta mediante la adición de NaOH.

Se estudia también distintas concentraciones de PQ y tiempos de acumulación en las superficies GCE y MWCNT/GCE por triplicado.

### 3.3.7 Voltametría de pulso diferencial de paraquat

El estudio se realiza mediante voltametría de pulso diferencial (VPD) con una solución de PQ a una concentración de 0,5 mM en tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11. La solución de trabajo se burbujea con N<sub>2</sub> ultra puro durante 10 minutos antes de cada medición. Para determinar las condiciones de trabajo de VPD, se evalúa la primera señal de reducción de PQ, modificando parámetros generales y específicos para obtener una señal bien definida y reproducible por triplicado.

### 3.3.8 Caracterización mediante Espectroscopia de Raman

La espectroscopia Raman es una técnica que proporciona información química y estructural de casi cualquier compuesto (inorgánico y orgánico) <sup>34</sup>. Por ser un método no destructivo es empleado en materiales basados en carbono.

El estudio por espectroscopia Raman tiene como objetivo evidenciar las modificaciones superficiales de MWCNT, Dp/MWCNT y la inmovilización de 7βCD con Dp.

Se vierte en papel aluminio cantidades pequeñas de MWCNT, Dp/MWCNT (compósito) y para las dispersiones se toma una alícuota, la cual se deposita en el electrodo de trabajo GCE y se deja secar por 10 minutos. Para los electrodos modificados por la estrategia *Bottom-up*, se deja secar después de las inmersiones en las soluciones de Dp y 7βCD. Se utiliza el software (o programa) nuSpec DeltaNu y un láser de longitud de onda 532 nm, con los siguientes parámetros para cada superficie:



**Tabla 2.** Parámetros optimizados de Espectroscopia Raman en diferentes superficies. Poder de Laser: High.

Superficie	Integración	Nº de espectros adquiridos
MWCNT	6	150
P/MWCNT (Cp)	6	150
APA/MWCNT (Cp)	6	150
APB/MWCNT (Cp)	6	150
7 $\beta$ CD/P/MWCNT (Cp)	4	200
7 $\beta$ CD/APA/MWCNT (Cp)	4	200
7 $\beta$ CD/APB/MWCNT (Cp)	4	200
P/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	6	150
APA/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	6	150
APB/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	6	150
7 $\beta$ CD/P/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	4	200
7 $\beta$ CD/APA/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	6	150
7 $\beta$ CD/APB/MWCNT ( <i>Botton-up</i> )	4	200

### 3.3.9 Pesticida. Evaluación electroquímica de Paraquat

En este trabajo de memoria de título se estudia paraquat como analito modelo mediante las técnicas electroquímicas de voltametría cíclica (VC) y voltametría de pulso diferencial (VPD).

Se evalúa el electrodo GCE en tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 3, 7 y 11 a diferentes velocidades de barrido en un rango de concentración de 0,05mM-2mM de PQ por VC.

El electrodo MWCNT/GCE, se evalúa en tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 7 a diferentes tiempos de acumulación de 0,5 mM de PQ con velocidad de barrido de 100 mV/s por VC.

Los electrodos GCE, MWCNT/GCE y los modificados con  $7\beta$ CD inmovilizadas con los derivados de pireno ( $7\beta$ CD /Dp/MWCNT/GCE), se evalúan en tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11 a diferentes tiempos de acumulación de 0,5 mM de PQ con velocidad de barrido de 100 mV/s por VPD.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Caracterización de las superficies de GCE modificados con nanotubos de carbono (MWCNT) y 7- $\beta$ -ciclodextrinas (7 $\beta$ CD) inmovilizadas por derivados de pireno.

La inmovilización de 7 $\beta$ CD, se realiza por dos estrategias *Botton-up* y “compósito” (Cp). El procedimiento experimental se describe en el punto 3.3.3 y 3.3.4.

El electrodo GCE es modificado con MWCNT y se denomina **MWCNT/GCE**. Esta última al ser modificada con derivados de pireno (DP) como ácido pireno acético (APA), ácido pireno butírico (APB) y pireno (P), se denominan **APA/MWCNT/GCE**, **APB/MWCNT/GCE** y **P/MWCNT/GCE**, respectivamente. Continuando con la modificación, se activa los grupos carboxílicos de DP con EDC y NHS para la inmovilización de 7 $\beta$ CD, las superficies se denominan **7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE**, **7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE** y **7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE**.

La caracterización de las superficies se realiza utilizando las técnicas de voltametría cíclica (VC) y Espectroscopia Raman de modo de verificar la inmovilización de 7 $\beta$ CD.

#### 4.1.1 Voltametría cíclica

Los electrodos modificados por ambas estrategias se caracterizan electroquímicamente utilizando 1 mM de ferricianuro de potasio disuelto en tampón fosfato KCl (0,5 M) pH 8 como mediador redox.

La reversibilidad del sistema ferricianuro/ferrocianuro se ve alterada por las propiedades electrónicas de MWCNT y por el diámetro interno de la cavidad de 7 $\beta$ CD. Ferricianuro de potasio al tener una alta densidad de carga y presenta una estructura voluminosa, no formaría un complejo de inclusión con 7 $\beta$ CD, dado que

el diámetro de la cavidad es menor al de la molécula, lo que nos permite evaluar indirectamente la presencia de 7βCD <sup>35</sup>.

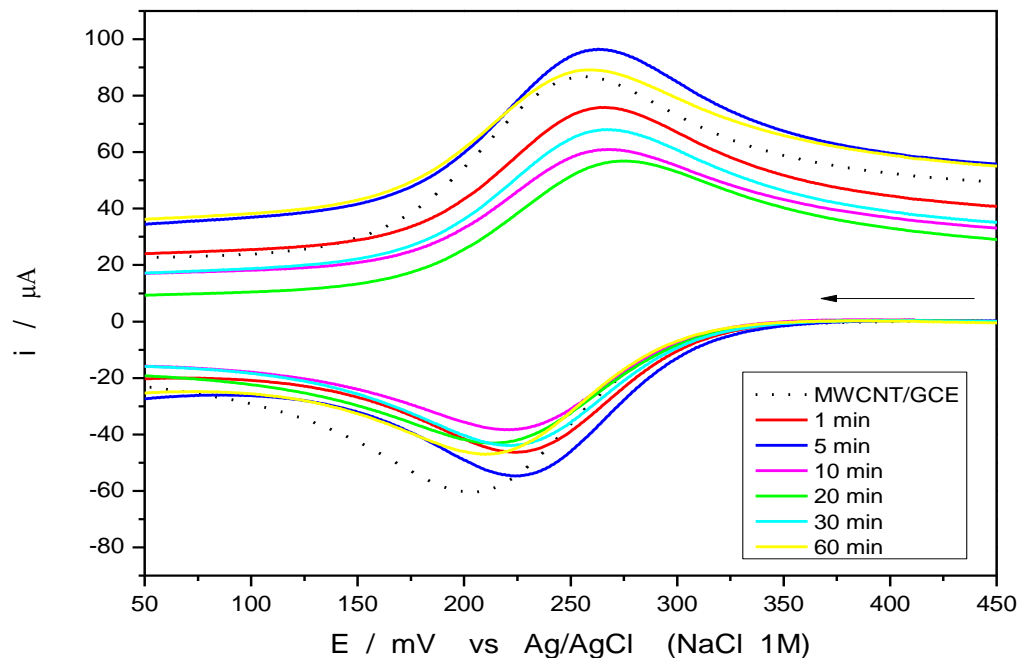
#### **4.1.1.1 Estrategia *Bottom up*: optimización del tiempo de acumulación ( $t_{ac}$ ) de ácido pireno acético (APA)**

La modificación de la superficie MWCNT/GCE se realiza con APA a diferentes  $t_{ac}$  de APA con el procedimiento *Dip Coating*.

Según la literatura, el reactivo APA es soluble en etil éter y cloroformo <sup>36</sup>. Sin embargo, dada su toxicidad y volatilidad a temperatura ambiente, estos solventes no resultan adecuados para su uso. Por lo tanto, se opta por el uso de solventes más polares como etanol observando que los reactivos APA, APB y P (5 mM) se solubilizan en dicho solvente. Además, al ser menos volátil resulta adecuado para la modificación de las superficies.

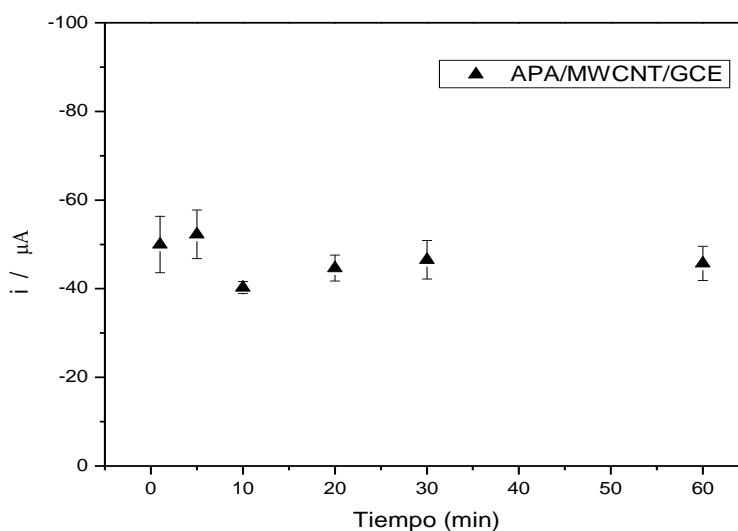
En la Figura 12, se observa el voltamograma cíclico del ferricianuro de potasio sobre la superficie APA/MWCNT/GCE y MWCNT/GCE a diferentes  $t_{ac}$  de APA (5mM), mostrando las señales reversibles características del par redox ferricianuro/ferrocianuro en ambas superficies. El electrodo MWNCT/GCE presenta una señal de reducción a 202 mV con una intensidad máxima de -62  $\mu$ A ( $\Delta E_p$  de 53 mV). Por otro lado, sobre el electrodo APA/MWCNT/GCE, el voltamograma presenta un  $E_{pc}$  de 222 mV, un  $\Delta E_p$  de 44 mV y un valor de  $I_{pc}$  de 49,9  $\mu$ A al primer minuto de acumulación. En la tabla 3 se resumen los valores de  $I_{pc}$ ,  $\Delta E_p$  y  $E_{pc}$  para 5, 10, 20, 30 y 60 minutos de acumulación.

Al comparar los parámetros electroquímicos de las superficies de MWCNT/GCE y APA/MWCNT/GCE, se observa que esta última experimenta un desplazamiento a potenciales más positivos, lo que se traduce en una variación de 20 mV, una disminución de  $I_{pc}$  de 12  $\mu$ A y un cambio en  $\Delta E_p$ . Por lo anterior, es posible afirmar que el electrodo APA/MWCNT/GCE experimenta una modificación en su superficie.



**Figura 12.** VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato + KCl (0,5 M), pH 8, sobre superficie APA/MWCNT/GCE a diferentes tiempos de acumulación de APA (5 mM). Superficie MWCNT/GCE (línea punteada). Velocidad de barrido 100 mV/s.

En la figura 13 se representa la variación de  $I_{pc}$  vs  $t_{ac}$  y se observa un aumento leve de  $I_{pc}$  hasta los 5 minutos; sin embargo, decrece a los 10 minutos y permanece más o menos estable hasta los 60 minutos de acumulación, lo que podría atribuirse a la saturación de la superficie del electrodo con APA.



**Figura 13.** Gráfico de  $I_{pc}$  vs  $t_{ac}$  para ferricianuro (1mM), sobre superficie APA/MWCNT/GCE (▲).

El valor de potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) experimenta un leve desplazamiento hacia los potenciales negativos a medida que aumenta el  $t_{ac}$  sin obtener un cambio significativo, al igual que  $\Delta E_p$  (Tabla 3).

**Tabla 3.** Valores de  $I_{pc}$ ,  $E_{pc}$  y  $\Delta E_p$  obtenidos de VC de ferricianuro de potasio variando el tiempo de acumulación de APA (5 mM). Superficie APA/MWCNT. Estrategia *Bottom up*.

$t_{ac}$ (min)	$I_{pc}$ ( $\mu A$ )	$E_{pc}$ (mV)	$\Delta E_p$ (mV)
1	-49,9 ± 6,4	222 ± 2	44 ± 3
5	-52,3 ± 5,5	220 ± 5	46 ± 10
10	-40,3 ± 1,3	219 ± 3	49 ± 7
20	-44,6 ± 2,9	218 ± 5	50 ± 10
30	-46,5 ± 4,3	219 ± 3	48 ± 6
60	-45,7 ± 3,9	211 ± 2	48 ± 6

En la Tabla 3 se observa que a medida que aumenta el tiempo de acumulación no existen diferencias significativas entre los parámetros electroquímicos. Sin

embargo, el  $t_{ac}$  de APA de 5 minutos supone que el área activa del electrodo no llega a saturarse, siendo una condición esencial para la construcción del electrodo modificado. Esto, considerando además que el sistema exhibe el mayor valor de  $I_{pc}$  a dicho tiempo. Por lo anterior, el  $t_{ac}$  de 5 minutos será aplicado para los derivados de pireno APB y P en las etapas posteriores del estudio.

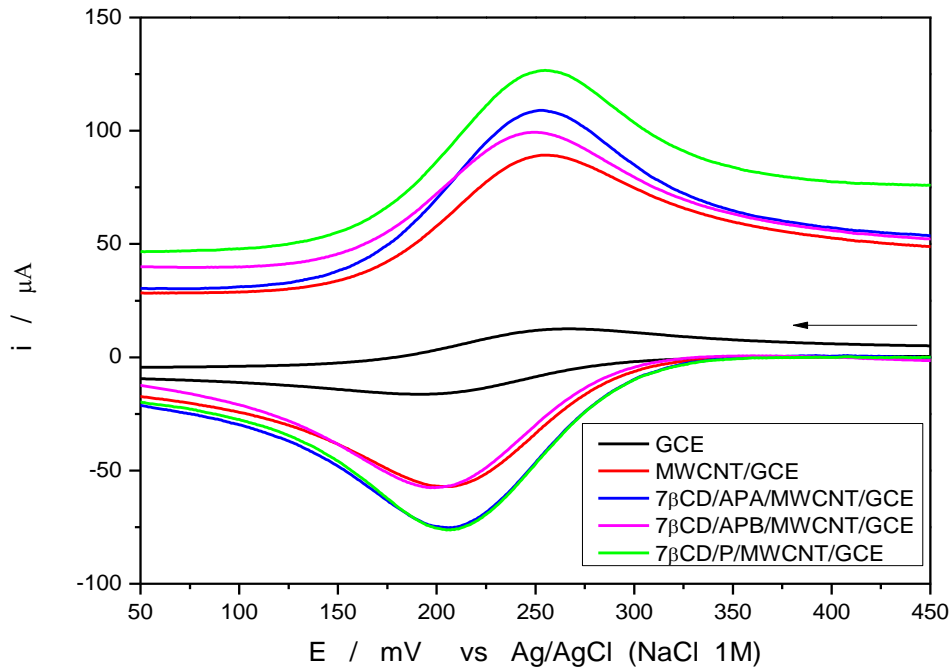
#### **4.1.1.1.1 Evaluación del mediador redox en superficies modificadas con 7- $\beta$ -ciclodextrinas (7 $\beta$ CD)**

Posteriormente a la optimización de ácido pireno acético (APA), se procede con la activación de los derivados de pireno (Dp) para la posterior inmovilización de 7 $\beta$ CD. La activación de los grupos carboxílicos de los derivados de pireno se realiza con EDC y NHS, metodología previamente descrita en el punto 3.3.3. Luego de la activación se procede con la inmovilización de la 7- $\beta$ -CD utilizando una solución de 3 mM en PBS 0,05 M a pH 7,4.

En la figura 14 se observa el perfil voltamétrico del par redox ferricianuro/ferrocianuro sobre las superficies GCE, MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE. En la respuesta de GCE (—), se muestra el comportamiento ideal reversible del par redox, con un  $I_{pc}$  de 15,6  $\mu$ A  $E_{pc}$  de 193 mV y un  $\Delta E_p$  de 71 mV.

Cuando la superficie GCE es modificada con MWCNT (—), se observa un aumento importante en la intensidad de la corriente debido al aumento de área activa del electrodo modificado con MWCNT, con un  $I_{pc}$  de -62  $\mu$ A,  $E_{pc}$  de 202 mV y un  $\Delta E_p$  de 53 mV.

En el caso de las superficies modificadas con 7 $\beta$ CD inmovilizadas con Dp (—, —, —), se observa que la señal  $I_{pc}$  es igual o mayor por 15  $\mu$ A respecto al  $I_{pc}$  del electrodo MWCNT/GCE.



**Figura 14.** Estrategia Botton-up. VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato KCl (0,5 M) en superficies GCE (—), MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE (—).

Respecto a  $E_{pc}$  y  $\Delta E_p$  no tienen una diferencia significativa entre los electrodos modificados con  $7\beta$ CD/Dp/MWCNT/GCE y MWCNT/GCE. Se resumen los valores de  $I_{pc}$ ,  $E_{pc}$  y  $\Delta E_p$  en la tabla 4.

**Tabla 4.** Valores de  $E_{pc}$ ,  $I_{pc}$  y  $\Delta E_p$  obtenidos de la voltametría cíclica de ferricianuro de potasio.

Superficie	$I_{pc}$ ( $\mu$ A)	$E_{pc}$ (mV)	$\Delta E_p$ (mV)
GCE	$-15,6 \pm 0,1$	$195 \pm 2$	$71 \pm 4$
MWCNT/GCE	$-62 \pm 3$	$202 \pm 3$	$53 \pm 3$
$7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE	$-77 \pm 7$	$206 \pm 1$	$47 \pm 1$
$7\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE	$-64 \pm 2$	$198 \pm 1$	$52 \pm 1$
$7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE	$-76 \pm 3$	$207 \pm 2$	$45 \pm 4$



Estos resultados son algo contradictorios, ya que el ferricianuro no formaría un complejo de inclusión con  $7\beta$ CD debido a su estructura, por lo que se esperaría una disminución de  $I_{pc}$  de las superficies modificadas. Siendo así se podría afirmar que las superficies no están modificadas adecuadamente. Por lo que es necesario evaluar la estructura de las superficies modificadas mediante otra técnica como Raman.

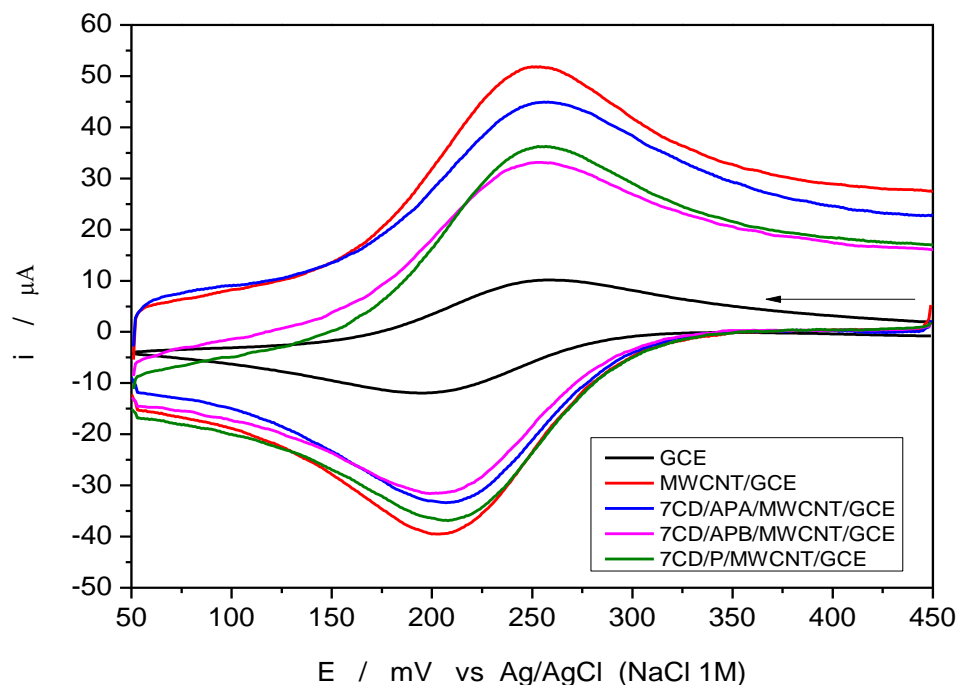
#### **4.1.1.2 Estrategia de “compósito”: Evaluación del mediador redox en superficies modificadas con $7\beta$ CD**

Sobre la superficie GCE se deposita el “compósito” mediante la técnica de *Drop Casting*, cuya metodología está descrita en el punto 3.3.4.

En la Figura 15, se observa la respuesta de los electrodos GCE, MWCNT/GCE,  $7\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE frente a ferricianuro de potasio. En la respuesta de GCE (—), se observa el comportamiento reversible del par redox, con un  $I_{pc}$  de  $13,5 \mu\text{A}$ , un  $E_{pc}$  de  $193 \text{ mV}$  y un  $\Delta E_p$  de  $62 \text{ mV}$ .

En el caso de la superficie MWCNT/GCE (—), la señal  $I_{pc}$  es más intensa a comparación de la superficie GCE, donde presenta un  $I_{pc}$  de  $-38,3 \mu\text{A}$ , un  $E_{pc}$  de  $207 \text{ mV}$  y un  $\Delta E_p$  de  $40 \text{ mV}$ .

En el caso de las superficies modificadas con el “compósito”  $7\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE (—, —, —), se observa una leve disminución de  $I_{pc}$  comparado con el electrodo MWCNT/GCE, donde las variaciones son  $2,8 \mu\text{A}$ ,  $5 \mu\text{A}$  y  $1,3 \mu\text{A}$ , respectivamente; lo que indica un impedimento en la formación del complejo de inclusión de ferricianuro y  $7\beta$ CD.



**Figura 15.** Estrategia de “compósito”. VC de ferricianuro de potasio (1 mM) en tampón fosfato KCl (0,5 M) en superficies GCE (—), MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE (—).

Comparando los electrodos de  $7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE con el MWCNT/GCE, el valor de  $I_{pc}$  es menor, mientras que los valores de  $E_{pc}$  no presentan variaciones relevantes, sin embargo, el valor de  $\Delta E_p$  varía levemente. Se resumen los valores de  $I_{pc}$ ,  $E_{pc}$  y  $\Delta E_p$  en la tabla 5.

**Tabla 5.** Valores de  $E_{pc}$ ,  $I_{pc}$  y  $\Delta E_p$  obtenidos de la VC de ferricianuro de potasio en superficies modificadas.

Superficie	$I_{pc}$ ( $\mu$ A)	$E_{pc}$ (mV)	$\Delta E_p$ (mV)
GCE	$-13,5 \pm 0,1$	$193 \pm 2$	$62 \pm 3$
MWCNT/GCE	$-38,3 \pm 1,3$	$207 \pm 3$	$40 \pm 5$
$7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE	$-35,5 \pm 0,2$	$208 \pm 3$	$43,7 \pm 2,1$
$7\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE	$-32,9 \pm 1,2$	$199 \pm 2$	$47,3 \pm 2,5$
$7\beta$ CD/P/MWCNT/GCE	$-37 \pm 1$	$206 \pm 3$	$46 \pm 4$

Al comparar las superficies de MWCNT/GCE y 7CD/Cp/MWCNT/GCE de las dos estrategias *Bottom-up* y “compósito”, obtenemos una disminución de intensidad de corriente y  $\Delta E_p$ , lo que se le atribuye a la dispersión generada en la superficie del electrodo.

Estos resultados están en congruencia con lo discutido anteriormente, se obtiene una disminución de  $I_{pc}$  de las superficies 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE en comparación al electrodo MWCNT/GCE, lo cual nos indica indirectamente la presencia de 7 $\beta$ CD. Sin embargo, es necesario evaluar la estructura de las superficies modificadas mediante Raman.

#### 4.1.2 Espectroscopia Raman

La Espectroscopia Raman, se utiliza para confirmar la formación de enlaces y la construcción de la superficie de MWCNT/GCE en presencia de diferentes inmovilizadores de derivados de pireno (DP) para el anclaje de 7-amino- $\beta$ -ciclodextrinas (7 $\beta$ CD).

El espectro Raman de MWCNT presenta 3 bandas importantes, las cuales son, las bandas D, G y G'. Las señales descritas son 1350, 1590 y 2690  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente; esta última señal presenta una banda extremadamente débil.<sup>37</sup>

La banda D nos indica la distorsión o defecto estructural de la superficie de los nanotubos. La banda G se relaciona con las vibraciones tangenciales de los átomos de carbono de hibridación  $sp^2$ , representa la estructura cristalina de los nanotubos. La banda G' (sobretono de D) nos indica el defecto superficial del nanotubo. Las bandas D y G' están relacionadas con los átomos de carbono de hibridación  $sp^3$  (C–C) y la G está asociada a los dobles enlaces aromáticos (C=C).

Se evalúan las bandas D, G y su razón  $I_D / I_G$  de las superficies de los electrodos formados por: MWCNT, DP/MWCNT y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT.

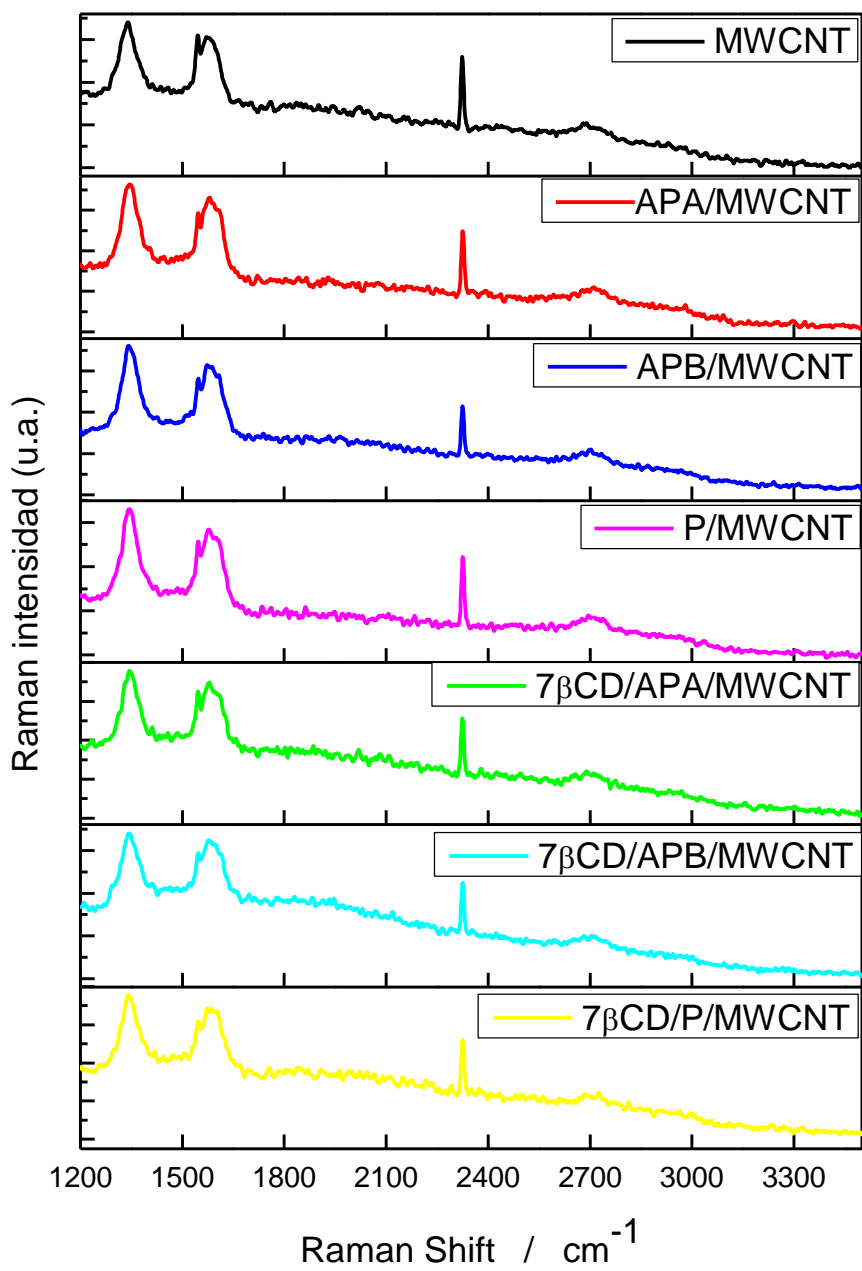
Todas las superficies presentan cinco señales, las cuales tres son características de la estructura de MWCNT y dos sobretonos en  $1550\text{ cm}^{-1}$  y  $2300\text{ cm}^{-1}$  correspondientes al oxígeno y nitrógeno, respectivamente <sup>38</sup>.

#### 4.1.2.1 Estrategia *Botton up*

Las mediciones Raman se realizan con MWCNT y con 6 electrodos, un electrodo de MWCNT con APA (APA/MWCNT), un electrodo de MWCNT con APB (APB/MWNCT), un electrodo de MWCNT con P (P/MWCNT), un electrodo de MWCNT con APA y  $7\beta\text{CD}$  ( $7\beta\text{CD}/\text{APA}/\text{MWCNT}$ ), un electrodo de MWCNT con APB y  $7\beta\text{CD}$  ( $7\beta\text{CD}/\text{APB}/\text{MWCNT}$ ), y un electrodo con MWCNT con P y  $7\beta\text{CD}$  ( $7\beta\text{CD}/\text{P}/\text{MWCNT}$ ). Para los electrodos modificados con MWCNT, DP y  $7\beta\text{-CD}$  se utilizaron soluciones de concentración  $3\text{mg/mL}$  en 1,3-dioxolano,  $5\text{ mM}$  en etanol y  $3\text{ mM}$  en PBS  $0,05\text{M}$  a pH  $7,4$ , respectivamente. La modificación se realizó con el mismo procedimiento descrito en la metodología en los puntos 3.3.3 y 3.3.4

En la figura 16, se presentan los espectros Raman medidos en la superficie MWCNT, DP/MWCNT/GCE y  $7\beta\text{CD}/\text{DP}/\text{MWCNT}$  con longitud de onda de excitación de  $532\text{ nm}$  a temperatura ambiente.

Las bandas de MWCNT (—) son D, G y G' a  $1340$ ,  $1572$  y  $2679\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Al modificar la superficie con DP/MWCNT (—, —, —) y  $7\beta\text{CD}/\text{DP}/\text{MWCNT}$  (—, —, —), se observa que no hay cambios significativos en los desplazamientos de las señales Raman. Sin embargo, es posible adquirir información acerca del número de defectos al analizar la relación de intensidades entre las bandas D y G ( $I_D / I_G$ ).



**Figura 16.** Espectros Raman de superficie GCE modificados: MWCNT/GCE (—) APA/MWCNT (—), APB/MWCNT (—), P/MWCNT (—), 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT (—) 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT (—), 7 $\beta$ CD/P/MWCNT (—). Estrategia Botton-up, 532 nm.

Los valores de intensidad (unidades arbitrarias, u. a.) de las bandas D, G, y la razón  $I_D / I_G$  para las muestras preparadas se exponen en la tabla 6.

**Tabla 6.** Intensidad de señales D, G, y la razón  $I_D / I_G$  de MWCNT, DP/MWCNT y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT. Estrategia *Bottom-up*.

Material	$I_D$ (u.a.)	$I_G$ (u.a.)	$I_D / I_G$
MWCNT	83	69	1,20
APA/MWCNT	118	107	1,10
APB/MWCNT	138	109	1,26
P/MWCNT	117	97	1,20
7 $\beta$ CD/APA/MWCNT	109	91	1,19
7 $\beta$ CD/APB/MWCNT	76	62	1,23
7 $\beta$ CD/P/MWCNT	74	59	1,25

Como se puede apreciar en la tabla 6, la razón  $I_D / I_G$  para MWCNT tiene un valor de 1,20 al igual que P/MWCNT a diferencia de APA/MWCNT y APB/MWCNT que presentan una menor y mayor proporción que MWCNT, respectivamente; existiendo un defecto superficial de su estructura. En la comparación de MWCNT y DP/MWCNT, se observa que en esta última ocurre un aumento de intensidad de las bandas D y G.

Por otro lado, la razón  $I_D / I_G$  para MWCNT y 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT es similar. Sin embargo, se puede ver un aumento de intensidad de las bandas D y G de este último. En cambio, 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT presentan levemente una mayor razón y menor intensidad en las bandas D y G que MWCNT.

Con los datos obtenidos por espectroscopia Raman, se puede decir que no se logra una adecuada inmovilización de 7 $\beta$ CD utilizando la técnica de *Bottom-up*, lo que es concordante con los resultados de la VC.

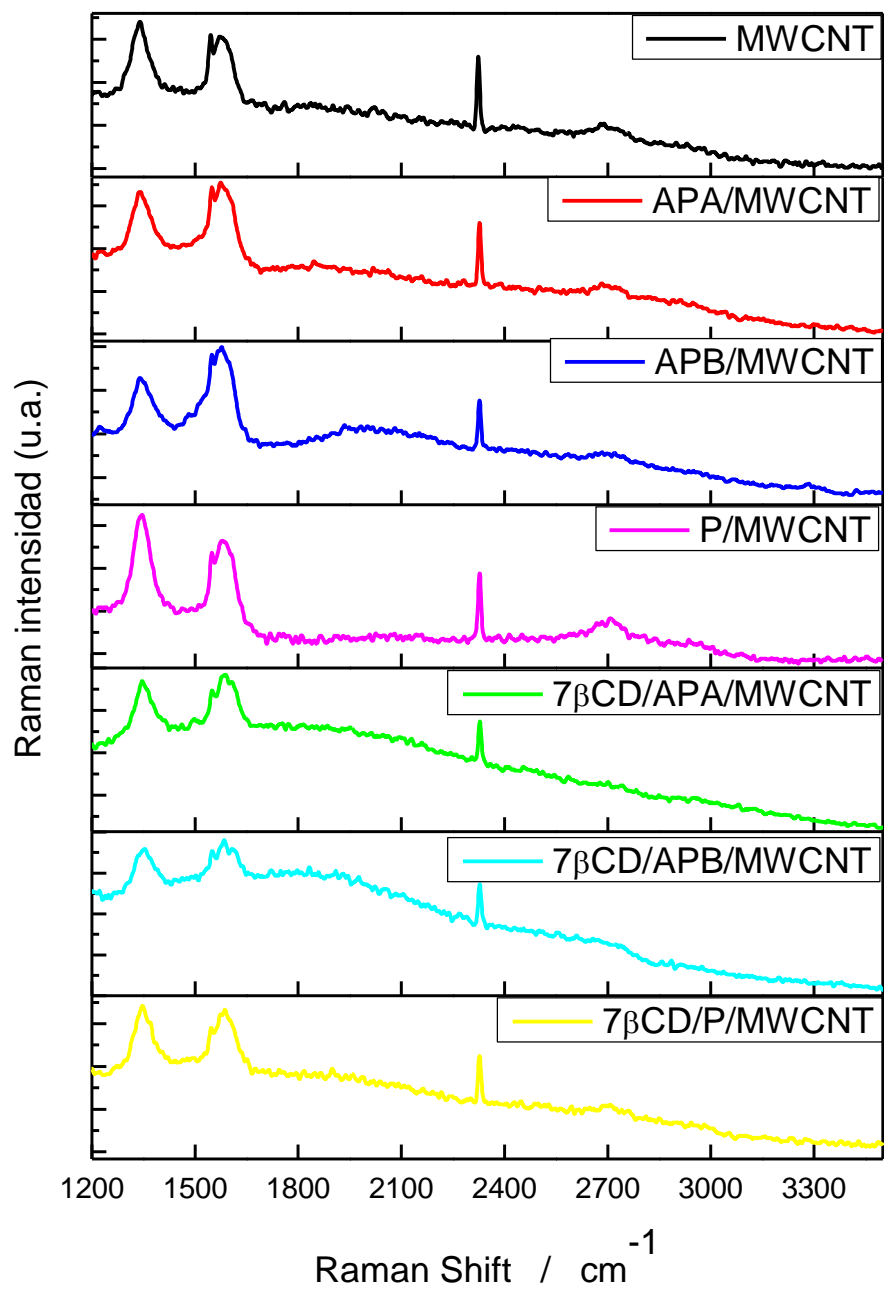
#### 4.1.2.2 Estrategia “compósito”

Las mediciones Raman se realizan con MWCNT, DP/MWCNT y 3 electrodos, 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT, 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT. La modificación se realizó con el mismo procedimiento de la metodología en el punto 3.3.4.

En la figura 17, se observa los espectros Raman de MWCNT y X/MWCNT con longitud de onda de excitación de 532 nm a temperatura ambiente.

Las bandas características de MWCNT (—) son D, G y G' a 1340, 1572 y 2679  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Al modificar la superficie con DP/MWCNT (—, —, —), se observa que no hay cambios significativos en los desplazamientos de bandas.

Sin embargo, en la superficie 7 $\beta$ CD/P/MWCNT (—), se puede apreciar que hay un ligero cambio en los desplazamientos de bandas en comparación a las bandas de MWCNT. También, en las superficies 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT (—) y 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT (—), se observa un leve ensanchamiento de la banda G y dos señales a 1585  $\text{cm}^{-1}$  y 1610  $\text{cm}^{-1}$ , que se atribuyen a los enlaces  $\text{sp}^2$  (C=C) y al enlace amida (entre los grupos de  $-\text{NH}_2$  y los ácidos carboxílicos de APA y APB), respectivamente<sup>39</sup>. Por otra parte, la banda G' desaparece.



**Figura 17.** Espectros Raman de superficie GCE modificados: MWCNT/GCE (—) APA/MWCNT (—), APB/MWCNT (—), P/MWCNT (—),  $7\beta$ CD/APA/MWCNT (—)  $7\beta$ CD/APB/MWCNT (—),  $7\beta$ CD/P/MWCNT (—). Estrategia “compósito”, medida a 532 nm.



Los valores de intensidad (u.a.) de D y G y la razón  $I_D / I_G$  para las superficies modificadas se exponen en la siguiente tabla 7.

**Tabla 7.** Intensidad de señales D, G, y la razón  $I_D / I_G$  de MWCNT, DP/MWCNT y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT. Estrategia compósito.

Material	$I_D$ (u.a.)	$I_G$ (u.a.)	$I_D / I_G$
MWCNT	83	69	1,20
APA/MWCNT	85	108	0,79
APB/MWCNT	96	163	0,59
P/MWCNT	136	117	1,16
7CD/APA/MWCNT	90	83	1,08
7CD/APB/MWCNT	65	64	1,02
7CD/P/MWCNT	85	78	1,09

En la tabla 7, se establece que la razón  $I_D / I_G$  de MWCNT es 1,20 y mediante la modificación disminuye significativamente, obteniendo valores menores a la unidad y un cambio de intensidades de las bandas D y G para APA/MWCNT y APB/MWCNT. El cambio de las intensidades de las bandas D y G se debe al cambio de su diámetro o quiralidad del material <sup>40</sup>. Por otro lado, para P/MWCNT la razón disminuye levemente y las intensidades de las bandas D y G aumentan.

Al respecto de la razón  $I_D / I_G$  de MWCNT, 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT y 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT, estas dos últimas son inferiores a MWCNT debido al cambio en la geometría provocado por la unión de nuevos grupos funcionales de 7 $\beta$ CD inmovilizadas con DP. Las intensidades D y G varían levemente.

De acuerdo con los resultados obtenidos por espectroscopia Raman, se puede afirmar que hay una modificación de los electrodos 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT y 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT, debido al ensanchamiento de la banda G y la nueva señal en 1610  $\text{cm}^{-1}$ . Esto concuerda con los datos obtenidos en la razón  $I_D / I_G$ .

## 4.2 Comportamiento electroquímico de Paraquat (PQ) en Buffer Britton-Robinson 0,1 M en electrodo de carbono vítreo (GCE) y nanotubos de carbono de multipared sobre GCE (MWCNT/GCE)

### 4.2.1 Voltametría cíclica: Electrodo GCE

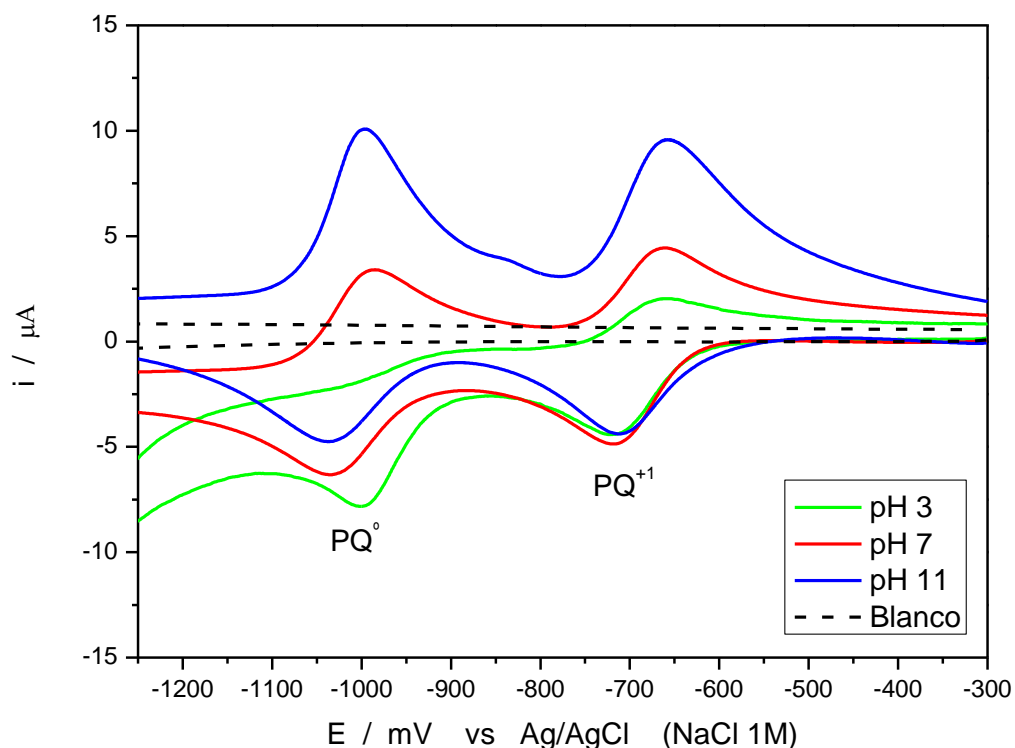
El estudio de la señal de reducción y oxidación electroquímica de Paraquat (PQ) sobre el electrodo GCE fue realizado en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a diferentes pHs. Una vez establecidas las condiciones experimentales de trabajo se realiza el estudio del comportamiento electroquímico de PQ sobre las superficies de MWCNT/GCE y  $7\beta$ CD/DP/MWCNT, se modifican parámetros generales como específicos de la voltametría cíclica (VC), evaluando el efecto de pH y velocidad de barrido. Se mantiene un tiempo de acumulación de 1 minuto para todas las medidas.

### 4.2.2 Efecto de pH

Se realiza el estudio del comportamiento redox de PQ de concentración 0,5 mM en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M sobre GCE a temperatura ambiente, a diferentes pHs.

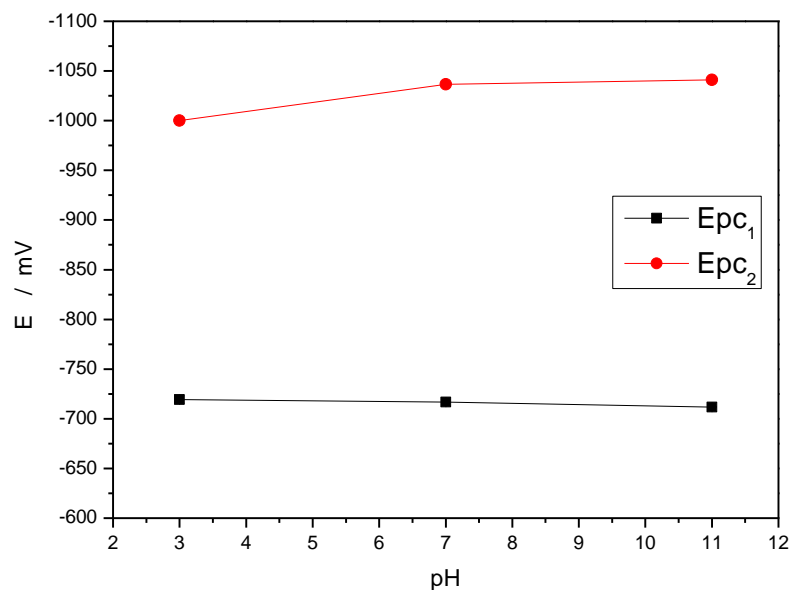
En la Figura 18, se observa el voltamograma de PQ a pH 3, 7 y 11 en un rango de potencial de -300 a -1300 mV. A pH 3 (—), se evidencian dos señales de reducción, la primera a -719 mV ( $E_{pc1}$ ) y la segunda a -1000 mV ( $E_{pc2}$ ) y una señal de oxidación ( $PQ^{+2}$ ). La oxidación descrita por la reacción  $PQ^0 \rightarrow PQ^{+1}$  presenta un comportamiento irreversible mientras que la reacción  $PQ^{+1} \leftrightarrow PQ^{+2}$  es de carácter reversible o quasi-reversible. Por otro lado, a pH 7 (—) y 11 (—), se observa el proceso redox propio de PQ, con dos señales de reducción de PQ para pH 7 a -717 mV y -1037 mV, y a pH 11 se observan a -712 mV y -1041 mV. También, se observan dos señales de oxidación para ambos pHs. Estos resultados supondrían

que a pH 7 y 11 el proceso redox es reversible o quasi-reversible, siendo necesaria la evaluación de los criterios de reversibilidad descritos en la tabla 1 donde, los resultados se resumen en el punto 4.2.3.



**Figura 18.** Voltamogramas cíclicos, medido en electrodo GCE de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M. Blanco (— —) pH 3 (—), pH 7 (—) y pH 11 (—). Velocidad de barrido: 100 mV/s.

En la figura 19, se observa la relación del potencial de pico de reducción de PQ a pH 3, 7 y 11. La reducción de  $PQ^{+2} \rightarrow PQ^{+1}$  ( $E_{pc1}$ ) no es dependiente del pH. Sin embargo, la reducción de  $PQ^{+1} \rightarrow PQ^0$  depende ligeramente del pH en medio ácido, con un cambio del potencial hacia valores menos negativos, obteniendo una variación de 39 mV entre pH 7 y pH 3. En la figura 10, se puede observar el mecanismo electroquímico redox de PQ.

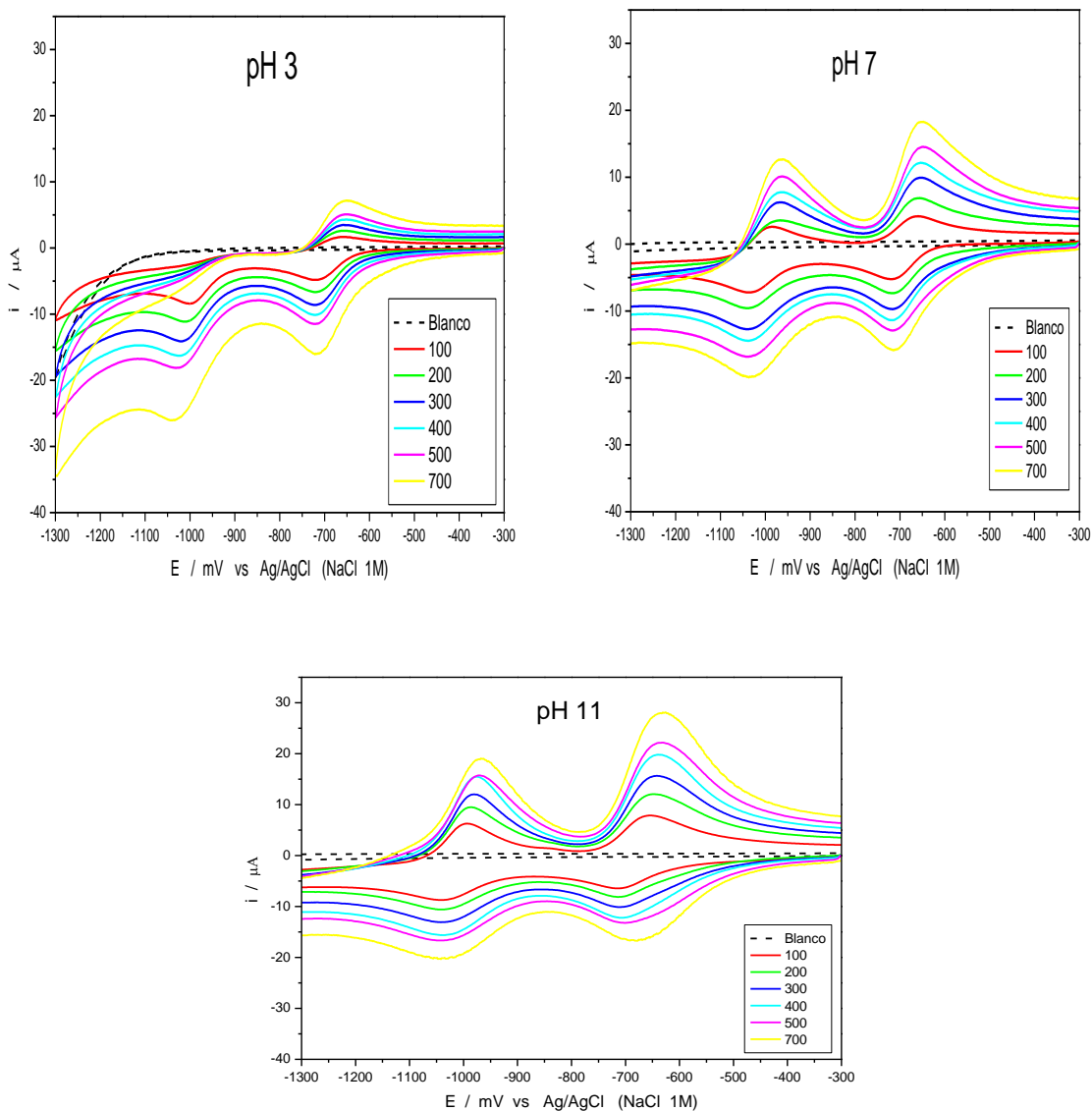


**Figura 19.** Relación de potencial de pico vs pHs, medido en electrodo GCE de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M a pH 3,7 y 11. Velocidad de barrido: 100 mV/s.

#### 4.2.3 Efecto de la velocidad de barrido

Mediante VC, se evalúa el comportamiento de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 3, 7 y 11 sobre el electrodo GCE.

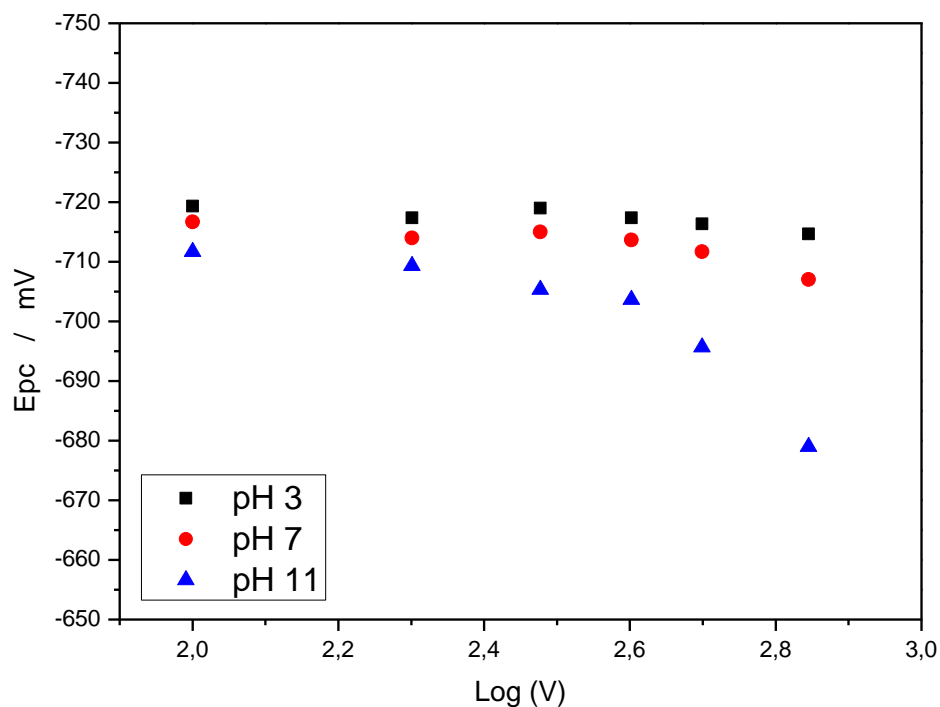
En la figura 20 se muestran voltamogramas cíclicos de PQ a diferentes velocidades de barrido en un rango de potencial -300 a -1300 mV.



**Figura 20.** Voltamogramas cíclicos de PQ (0,5 mM) sobre GCE en solución tampón Britton- Robinson 0,1 M a pH 3, 7 y 11 a diferentes velocidades de barrido (mV/s).

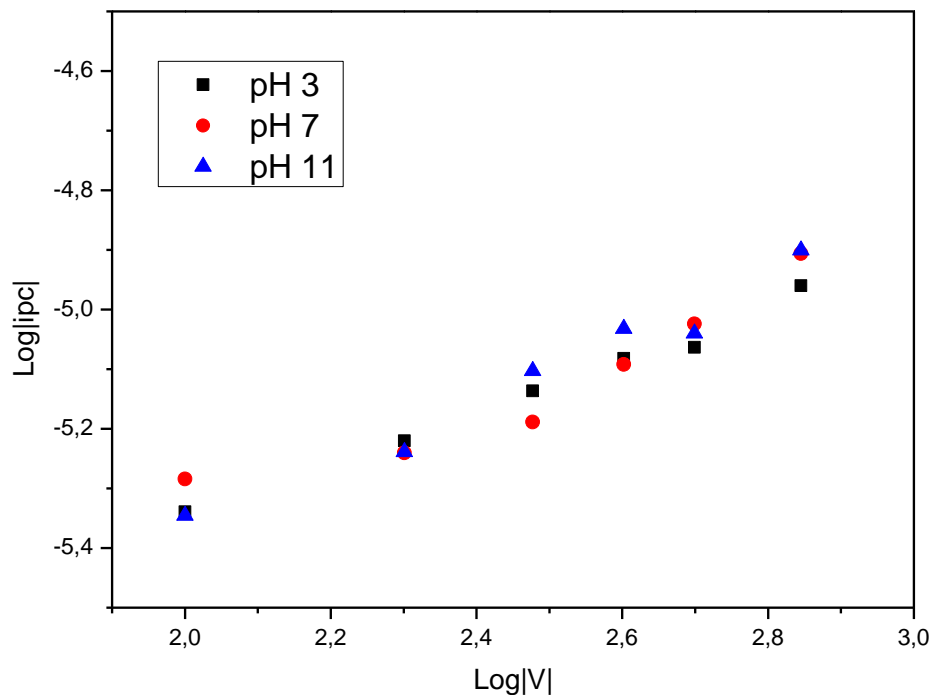
En la figura 21, se observa el efecto de la velocidad de barrido sobre  $E_{pc}$  de la primera reducción de PQ a pH 3, 7 y 11. A pH 3 (■) y pH 7 (●), el valor de  $E_{pc}$  es prácticamente independiente de la velocidad de barrido (con una ligera disminución a las velocidades altas), lo que está asociado a procesos reversibles según lo

descrito en la tabla 1. A pH 11 (▲) el valor de  $E_{pc}$  disminuye a medida que aumenta la velocidad de barrido, lo que está asociado a un proceso cuasi-reversible.



**Figura 21.** Dependencia del potencial de pico ( $E_{pc}$ ) con el logaritmo de la velocidad de barrido en una solución de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 3(■), pH 7 (●) y pH 11(▲).

En la figura 22, se observa la dependencia logarítmica entre la intensidad de corriente de pico ( $I_{pc}$ ) y la velocidad de barrido a pH 3 (■), pH 7 (●) y pH 11(▲). En los diferentes pHs, la intensidad de corriente ( $I_{pc}$ ) de la primera reducción de PQ aumenta a medida que la velocidad de barrido incrementa con pendientes cercanas a 0,5, lo que indica que los procesos están controlados por difusión.



**Figura 22.** Relación logarítmica entre  $i_{PC}$  y la velocidad de barrido para una solución de concentración PQ (5 mM) en solución tampón B-R 0,1M. pH 3 (■), pH 7 (●) y pH 11 (▲).

El análisis de regresión lineal para la relación entre  $\log(i_{pc})$  y  $\log(v)$ , se observa en la tabla 8.

**Tabla 8.** Ecuaciones de la recta en superficie GCE para PQ.

pH	Ecuación	R
3	$\log i_{pc} = 0,433 \log v - 0,211$	0,9948
7	$\log i_{pc} = 0,422 \log v - 0,221$	0,9424
11	$\log i_{pc} = 0,519 \log v - 0,400$	0,9843

De acuerdo con los resultados expuestos para pH 3 y 7 la reacción  $PQ^{+2} \leftrightarrow PQ^{+1}$  son procesos reversibles, debido a que el Epc es independiente de la velocidad de barrido. Sin embargo, para la reacción  $PQ^0 \rightarrow PQ^{+1}$  a pH 3 el proceso es irreversible. Para pH 11 es un proceso quasi-reversible, debido a que el Epc si depende de la velocidad de barrido. Debido a esto, el pH de trabajo elegido es 7.

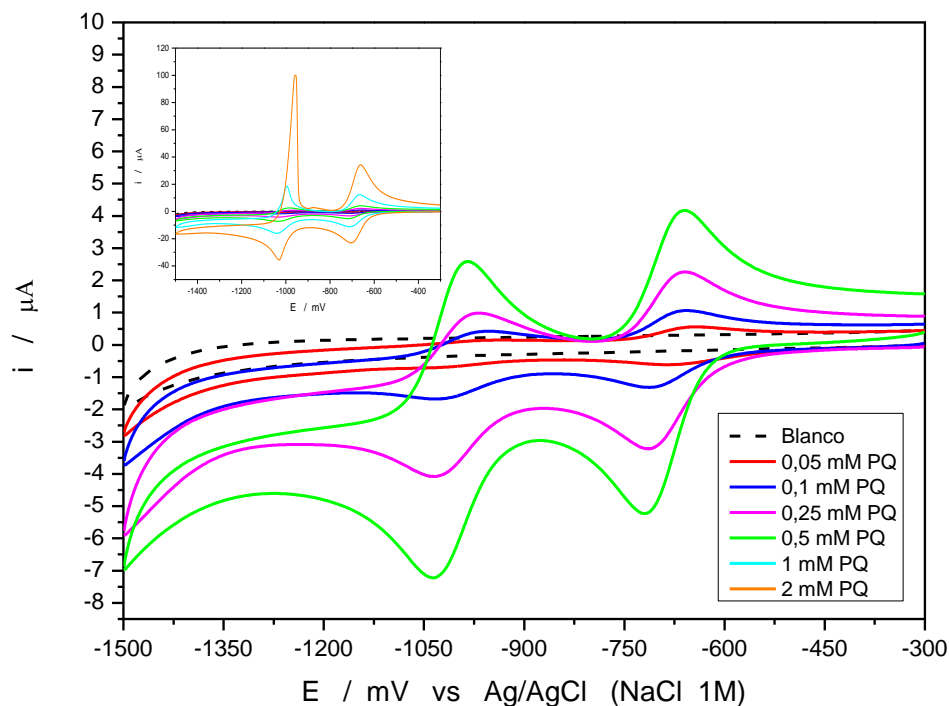
#### **4.2.4 Efecto de concentración de Paraquat**

##### **4.2.4.1 Electrodo GCE**

Mediante la técnica VC y las condiciones preestablecidas para la superficie GCE, se procede a modificar la concentración de PQ en el rango de 0,05 mM a 2 mM en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 7 con velocidad de barrido 100 mV/s.

En la figura 23, se muestra los voltamogramas cíclicos a diferentes concentraciones de PQ. Se observan dos señales de reducción y dos señales de oxidación de PQ, a concentraciones bajas de 0,05-0,5 mM y a concentraciones mayores a 1 mM, hay un aumento de intensidad en las señales de reducción de PQ. Sin embargo, la reacción de oxidación de  $PQ^0 \rightarrow PQ^{+1}$  presenta un efecto de adsorción.





**Figura 23.** Voltamograma cíclico, medido en electrodo GCE a diferentes concentraciones de PQ en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (---), 0,05 (—), 0,1 (—), 0,25 (—), 0,5 (—), 1 (—), 2 (—) mM. Velocidad de barrido, 100 mV/s.

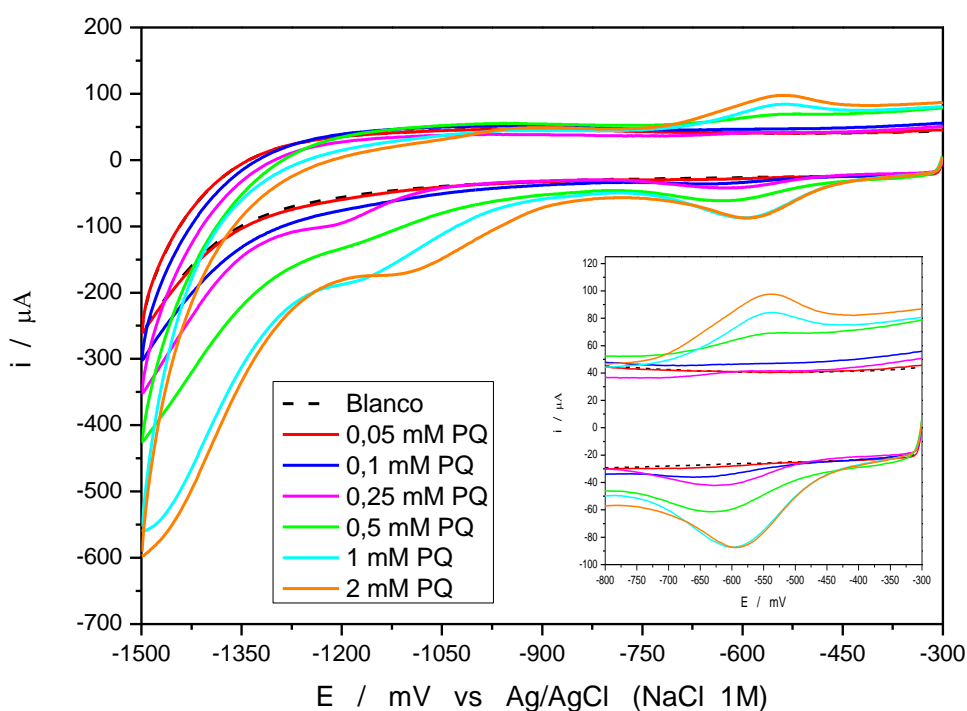
#### 4.2.4.2 Electrodo MWCNT/GCE

Mediante VC, se evalúa la respuesta de PQ a diferentes concentraciones sobre MWCNT/GCE en solución tampón Britton-Robinson 0,1M a pH con una velocidad de barrido 100 mV/s.

En la figura 24, se muestra los voltamogramas cíclicos a diferentes concentraciones de PQ en la superficie MWCNT/GCE. No se observan señales de reducción ni oxidación con una concentración baja (0,05 mM de PQ). Para concentraciones de 0,1 a 0,25 mM de PQ, se observa una señal de reducción de  $PQ^{+2}$  a  $PQ^{+1}$ . Para concentraciones de 0,5 a 2,0 mM de PQ, se observa una señal de reducción y una

de oxidación. Sin embargo, la segunda señal de reducción de PQ se ve afectada al presentar una baja o nula intensidad de corriente. Este suceso se atribuye a la reducción del hidrógeno, el cual ocurre a potenciales mayores a -1000 mV, impidiendo así la oxidación de  $PQ^0$  a  $PQ^{+1}$  41.

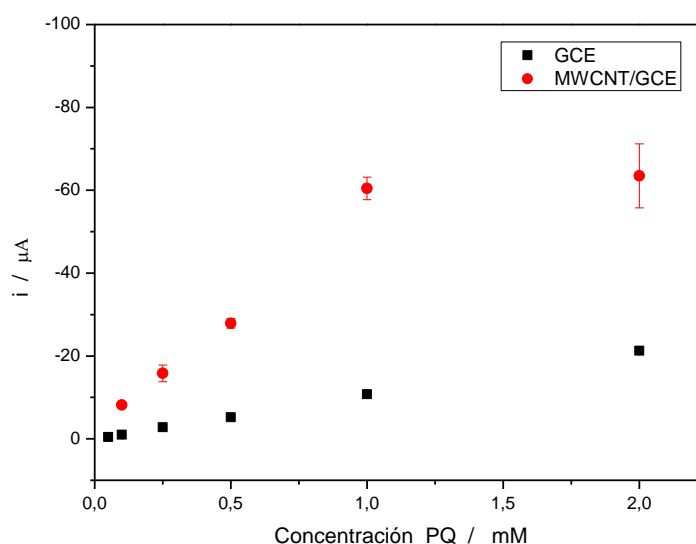
Por otro lado, al comparar el electrodo GCE con MWCNT/GCE, este último presenta una mayor sensibilidad y selectividad para la reacción  $PQ^{+2} \leftrightarrow PQ^{+1}$  tanto para la reducción como la oxidación.



**Figura 24.** Voltamograma cíclico de PQ a diferentes concentraciones sobre MWCNT/GCE en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (---), 0,05 (—), 0,1 (—), 0,25 (—), 0,5 (—), 1 (—), 2 (—) mM. Velocidad de barrido, 100 mV/s.

Al relacionar  $I_{pc1}$  con diferentes concentraciones de PQ en ambas superficies GCE y MWCNT/GCE, como se observa en la figura 25, el comportamiento es lineal para la superficie GCE en todo el rango de concentración y para la superficie de MWCNT/GCE es lineal en el rango de concentraciones de 0,1 mM - 1 mM de PQ,

por sobre esta última concentración de PQ la superficie se satura y el  $I_{pc}$  permanece constante. Además, se observa un aumento en el coeficiente de variación para una concentración de 2 mM de PQ. Cabe destacar que se obtiene una intensidad de corriente considerablemente mayor cuando se utiliza MWCNT/GCE.



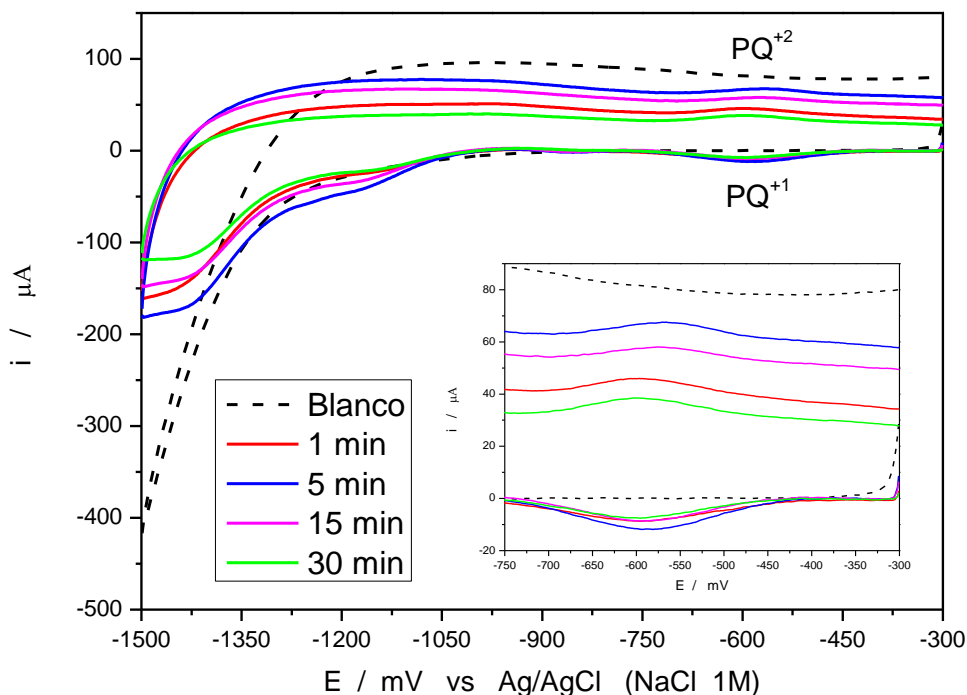
**Figura 25.** Curva de corriente versus concentración de PQ sobre superficies GCE (■) y MWCNT/GCE (●).

Con estos resultados se determinó la concentración de trabajo en el electrodo MWCNT/GCE. Como se observa en la figura 24, a concentración 0,05 mM de PQ no hay señal y en la figura 25 por sobre 1mM de PQ hay saturación del electrodo. Por lo tanto, la concentración elegida de trabajo es de 0,5 mM de PQ.

#### 4.2.5 Optimización de tiempo de acumulación de Paraquat

Para evaluar el tiempo de acumulación de 0,5 mM PQ sobre la superficie de MWCNT/GCE manteniendo los parámetros previamente descritos, se emplea voltametría cíclica (VC)

En la figura 26, se muestran los voltamogramas cíclicos obtenidos a diferentes tiempos de acumulación de PQ. Se observa una señal de reducción y otra de oxidación que corresponden a  $PQ^{+2}$  y  $PQ^{+1}$ , las cuales no presentan cambios significativos en la intensidad de corriente al incrementar el tiempo acumulado de PQ.



**Figura 26.** Voltamogramas cíclicos de PQ (0,5 mM) sobre MWCNT/GCE a diferentes tiempos de acumulación en solución tampón B-R 0,1M a pH 7. Blanco (---), 1 (—), 5 (—), 15 (—) y 30 (—) minutos. Velocidad de barrido, 100 mV/s.

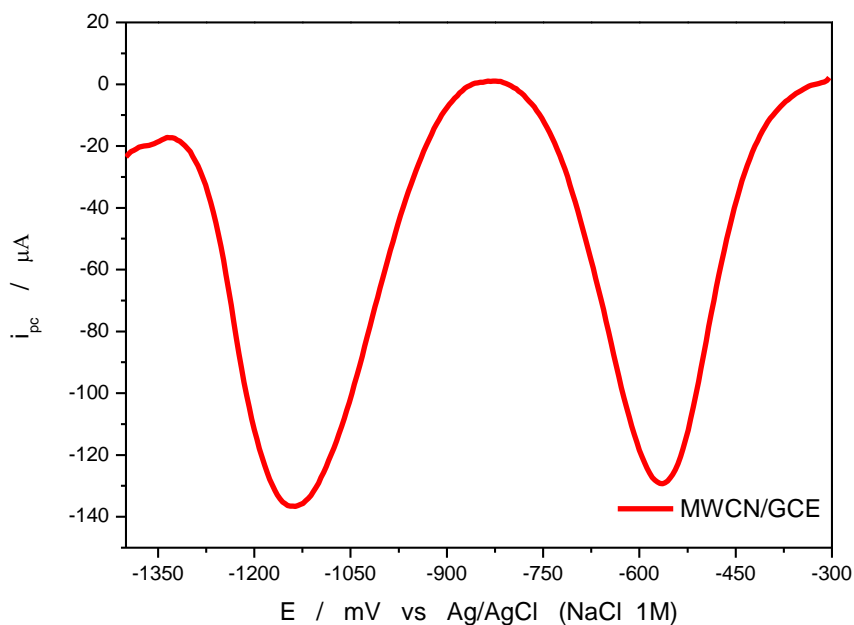
Cuando se utilizan los electrodos modificados con  $7\beta$ CD bajo la misma condición de pH que el electrodo MWCNT/GCE, se observa una señal de baja intensidad; sin embargo, al cambiar el pH a 11, los valores de intensidad de corriente son mayores en comparación con el pH 7. No obstante, VC no resulta apropiada considerando que no se obtienen señales claras con una adecuada intensidad.

### 4.3 Evaluación del comportamiento electroquímico de Paraquat (PQ) sobre superficies modificadas por voltametría de pulso diferencial

Se utilizan los electrodos modificados con 7 $\beta$ CD bajo la misma condición de pH que el electrodo MWCN/GCE, sin embargo, se observa una baja intensidad de corriente. Por lo tanto, se realiza la modificación de pH realizando el estudio a pH 11, siendo posible observar señales más intensas en comparación con el pH 7.

Con el objetivo de obtener mejores señales de reducción de PQ, mitigando la señal causada por el hidrógeno, se emplea la técnica de voltametría de pulso diferencial (VPD). Se evalúan los límites de potencial a una concentración de 0,5 mM de PQ en tampón B-R 0,1 M a pH 11 y también, el comportamiento en los electrodos modificados con 7 $\beta$ CD en ambas estrategias de “compósito” y *Botton-up*.

En la figura 27, se muestra el voltamograma de pulso diferencial de la superficie MWCNT/GCE que, comparado con la técnica de voltametría cíclica (VC) mostrada anteriormente, presenta señales bien definidas para la reducción de PQ.



**Figura 27.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (0,5 mM) sobre MWCNT/GCE en solución tampón B-R 0,1M a pH 11 a tiempo de acumulación de 1 minuto de PQ.

#### **4.3.1 Estrategia “compósito”: Tiempo de acumulación de Paraquat (PQ) en las superficies modificadas**

La respuesta electroquímica de PQ a diferentes tiempos de acumulación sobre las superficies GCE, MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE se realiza a través de VPD.

En la Figura 28, se observa la primera intensidad de corriente catódica ( $I_{pc1}$ ) vs  $t_{ac}$  del PQ (0,5 mM) en las superficies GCE, MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE. En el caso de GCE (■), se observa que el valor de  $I_{pc}$  es de -12,8  $\mu$ A y no varía al aumentar el  $t_{ac}$  del PQ.

En el caso de MWCNT/GCE (●), se observa que al primer minuto de acumulación de PQ se obtiene una intensidad de corriente de -127,8  $\mu$ A, y, a partir de los 5 a 30 minutos de acumulación, se estabiliza con un valor de  $I_{pc}$  de -167,3  $\mu$ A.

En el caso de 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (▲), se observa una señal con una intensidad ligeramente mayor de -174,2  $\mu$ A a los 5 minutos. No obstante, no muestra un efecto considerable con los otros tiempos de acumulación.

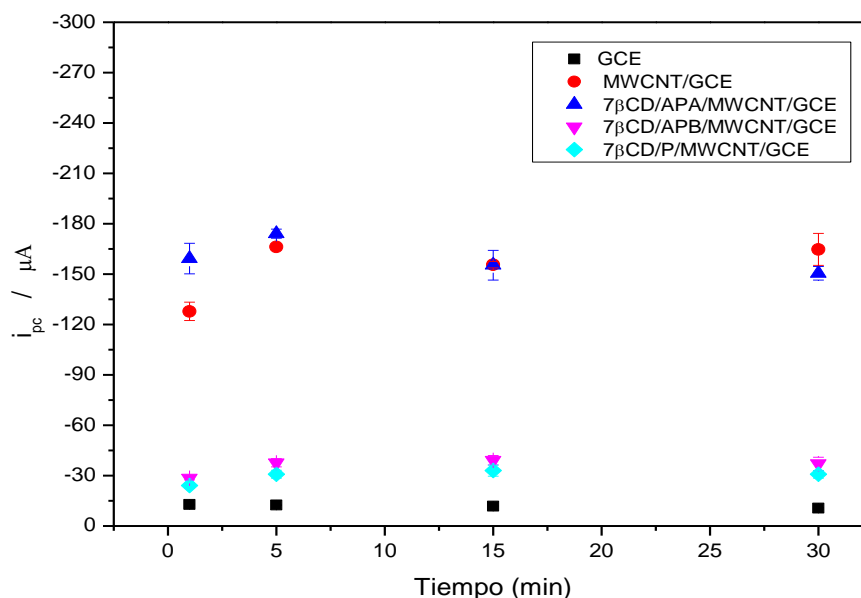
En el caso de 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE (▼) y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE (◆), presenta una estabilidad de  $I_{pc}$  desde los 5 a 30 minutos de acumulación. Al comparar el  $I_{pc1}$  de ambas superficies, la superficie 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE es la que presenta menor corriente, esto se debe al apantallamiento del grupo pireno sobre la superficie MWCNT lo que impide obtener una mayor intensidad de corriente; sin embargo, hay espacios disponibles donde PQ interacciona con la superficie de MWCNT, del cual se observa esta menor corriente. Además, como se observa en la figura 7 no existe un anclaje de 7 $\beta$ CD con el pireno.

De acuerdo con los resultados de Espectroscopía Raman mostrados anteriormente, se logra inmovilizar 7 $\beta$ CD utilizando APA y APB sobre MWCNT/GCE. No obstante,

sólo con el electrodo que utiliza APA como inmovilizador se obtienen intensidades de corriente comparables con el electrodo MWCNT/GCE. La intensidad de corriente que se obtiene con 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE es apenas ligeramente superior al electrodo 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE.

Este efecto de intensidad de corriente puede atribuirse al hecho de que el inmovilizador APB presenta una cadena más larga de carbono que APA, lo que dificulta la transferencia de electrones, lo que resulta en una disminución significativa de la intensidad de corriente observada durante el proceso de reducción de PQ.

La formación de complejo de inclusión entre el analito PQ y 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE, se muestra favorecida al primer minuto de tiempo de acumulación de PQ con una mayor intensidad de corriente,  $i_{pc1}$ , al compararla con la superficie MWCNT/GCE. Sin embargo, a mayor tiempo de acumulación de PQ la superficie se satura y no presenta cambios significativos en el  $i_{pc1}$ .



**Figura 28.** Tiempo de acumulación de PQ (0,5 mM) en solución tampón B-R 0,1 M a pH 11 sobre electrodos GCE (■) y modificados MWCNT/GCE (●), 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (▲), 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE (▼) y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE (◆).

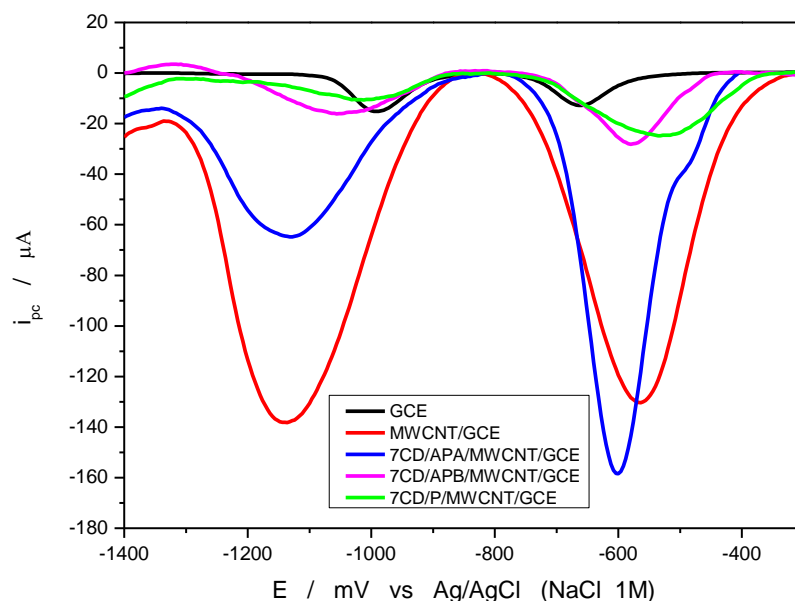
En la figura 29, se observa los voltamogramas de pulso diferencial a los 60 segundos de acumulación de PQ (0,5 mM) en solución tampón B-R 0,1 M a pH 11. En el caso GCE, se observa que la primera señal de PQ a -660 mV presenta una intensidad de corriente catódica ( $I_{pc1}$ ) de -12,8  $\mu$ A, la cual es baja en comparación a los electrodos modificados. Sin embargo, la segunda intensidad de corriente catódica ( $I_{pc2}$ ) presenta similitudes con los electrodos modificados 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE.

Con el electrodo MWCNT/GCE, se observa que la primera señal ( $I_{pc1}$ ) es considerablemente intensa ( $I_{pc1} = -127,8 \mu$ A) comparándola con la superficie GCE, 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE. Además, se muestra un desplazamiento a los potenciales más positivos ( $E_{pc1} = -576$  mV) en comparación a la superficie GCE.

En el caso de 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE, se observa una señal de mayor intensidad,  $I_{pc1} = -159,3 \mu$ A, comparado con todas las superficies modificadas y GCE; además, presenta un desplazamiento hacia los potenciales más negativos con un  $E_{pc1}$  de -601 mV, comparado con la superficie MWCNT/GCE, 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE.

Cuando se utiliza la superficie 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE, se observa un bajo valor de corriente ( $I_{pc1} = -28,4 \mu$ A) y un  $E_{pc1}$  de -572 mV que se asemeja al  $E_{pc1}$  de la superficie MWCNT/GCE. Valores ligeramente menores se obtienen con el electrodo 7 $\beta$ CD/P/MWCNT/GCE, observándose un  $I_{pc1}$  de -24  $\mu$ A y un desplazamiento hacia los potenciales menos negativos con un  $E_{pc1}$  de -543 mV, siendo el valor más bajo en comparación con todos los electrodos modificados.





**Figura 29.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (0,5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11 sobre electrodos GCE (—), MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (—),  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (—) y  $7\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE (—). Tiempo de acumulación de 1 minuto. Estrategia “compósito”.

Al analizar el comportamiento de PQ en las condiciones ya mencionadas anteriormente y un tiempo de acumulación seleccionado de 60 segundos, podemos decir que la superficie GCE presenta el mayor valor de potencial de pico de reducción comparado con las superficies MWCNT/GCE y  $7\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE.

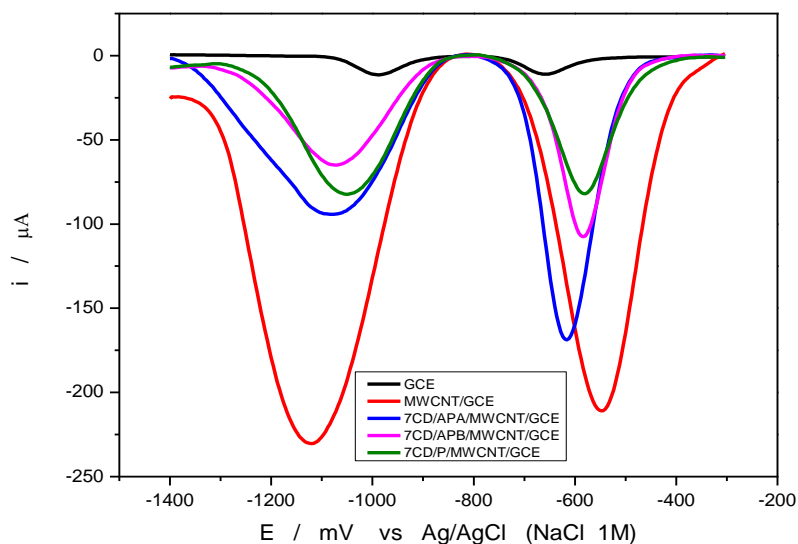
El incremento en la intensidad de corriente guarda una relación directa con la cantidad de especie electro-activa disponible para reaccionar en la superficie del electrodo. En este contexto, la presencia de  $7\beta$ CD con el inmovilizador APA en MWCNT/GCE presenta una influencia positiva en la respuesta electroquímica del sistema, sugiriendo que el inmovilizador con cadena corta favorece la inmovilización de  $7\beta$ CD y que se produce un aumento del analito PQ debido a la formación de complejos de inclusión.

### 4.3.2 Estrategia *Bottom-up*

Para comparar los resultados de los electrodos generados mediante compuesto con los preparados utilizando la estrategia *Bottom-up*, se evalúa el comportamiento de PQ (0,5 mM) utilizando VPD en las mismas condiciones de pH y tiempo de acumulación.

En la figura 30, se observa el voltamograma de pulso diferencial de PQ (0,5 mM) sobre las superficies GCE, MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/DP/MWCNT/GCE. En la superficie GCE, se observan dos señales pertenecientes a la reducción de PQ, con un  $I_{pc1}$  de -10,4  $\mu$ A.

En la superficie MWCNT/GCE, se observa claramente señales muy intensas, la primera reducción con un valor de  $I_{pc1}$  de -216,1  $\mu$ A. Esto sugiere que, cuando se utiliza la técnica de *Bottom-up* para inmovilizar sobre MWCNT utilizando un derivado de pireno, resulta un efecto de apantallamiento en la superficie de MWCNT sin que se forme un complejo de inclusión (PQ y 7 $\beta$ CD) en las superficies 7 $\beta$ CD/APA/MWCNT/GCE y 7 $\beta$ CD/APB/MWCNT/GCE.



**Figura 30.** Voltamograma de pulso diferencial de PQ (5 mM) en solución tampón Britton-Robinson 0,1 M a pH 11. En electrodos GCE (—), MWCNT/GCE (—), 7βCD/APA/MWCNT/GCE (—), 7βCD/APB/MWCNT/GCE (—) y 7βCD/P/MWCNT/GCE (—). Tiempo de acumulación de 1 minuto. Estrategia *Bottom up*.

Las estrategias de modificación muestran resultados diferentes. Por un lado, la estrategia de “compósito” resulta ser adecuada para la inmovilización de 7βCD cuando se utiliza APA, pero no cuando se utiliza APB. La superficie 7βCD/APA/MWCNT/GCE fue la única que presentó un mayor valor de intensidad de corriente del primer pico de reducción con 60 segundos de tiempo de acumulación, lo que sugiere una favorable disposición de las cavidades de 7βCD para su interacción con PQ.

Por otro lado, la estrategia de *Bottom-up*, no mostró ser adecuada para la inmovilización de acuerdo con los resultados de la caracterización con ferricianuro de potasio (1mM) por VC como por Raman.

## 5 CONCLUSION

- Se logró la caracterización de ambas estrategias (*Botton-up* y “compósito”) por las técnicas de voltametría cíclica y Espectroscopía de Raman.
- Las condiciones experimentales óptimas para la realización del estudio electroquímico de paraquat (PQ) sobre las superficies GCE y MWCNT/GCE son BR pH 11 a una concentración de PQ de 0,5 mM y velocidad de barrido de 100 mV/s.
- Se determinó que, para la estrategia “compósito”, el tiempo de acumulación óptimo de PQ para el electrodo  $7\beta\text{CD}/\text{APA}/\text{MWCNT}/\text{GCE}$  es de 60 segundos, evidenciado por una mayor intensidad de corriente en comparación con la superficie MWCNT/GCE. En contraste, los electrodos  $7\beta\text{CD}/\text{APB}/\text{MWCNT}/\text{GCE}$  y  $7\beta\text{CD}/\text{P}/\text{MWCNT}/\text{GCE}$  exhiben un apantallamiento en la superficie, inhibiendo la señal de intensidad de corriente y resultando en valores menores en estas mismas condiciones.
- La estrategia de *Botton-up*, no resultó ser adecuada para la inmovilización de  $7\beta\text{CD}$  sobre MWCNT utilizando derivados de pireno como agentes inmovilizantes.

## 6 REFERENCIAS

- (1) Chamjangali, M. A.; Kouhestani, H.; Masdarolomoor, F.; Daneshinejad, H. 2015. A voltammetric sensor based on the glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotube/poly(pyrocatechol violet)/bismuth film for determination of cadmium and lead as environmental pollutants. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 384-393. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.04.058>.
- (2) Guo, Y.; Chen, Y.; Zhao, Q.; Shuang, S.; Dong, C. 2011. Electrochemical Sensor for Ultrasensitive Determination of Doxorubicin and Methotrexate Based on Cyclodextrin-Graphene Hybrid Nanosheets. *Electroanalysis*, 23 (10), 2400-2407. DOI: <https://doi.org/10.1002/elan.201100259>.
- (3) Moretto, L. M.; Kalcher, K. 2014. *Environmental analysis by electrochemical sensors and biosensors*; Springer.
- (4) Alegret, S.; Valle, M.; Merkoçi, A. *Sensores electroquímicos: introducción a los quimiosensores y biosensores : curso teórico-práctico*; Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona, 2004.
- (5) Fernández Blanco, Á. 2017. Enhebrando moléculas. Química supramolecular con pseudorrotaxanos.
- (6) Galán Montano, M. d. I. H. 2008. Estructuras dendriméricas basadas en calixarenos: síntesis y estudio de sus propiedades de fotoisomerización y de complejación.
- (7) Márquez, C.; Hudgins, R. R.; Nau, W. M. 2004. Mechanism of Host-Guest Complexation by Cucurbituril. *Journal of the American Chemical Society*, 126 (18), 5806-5816. DOI: 10.1021/ja0319846.
- (8) Cid-Samamed, A.; Rakmai, J.; Mejuto, J. C.; Simal-Gandara, J.; Astray, G. 2022. Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*, 384, 132467. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132467>.
- (9) Radu, C.-D.; Parteni, O.; Ochiuz, L. 2016. Applications of cyclodextrins in medical textiles — review. *Journal of Controlled Release*, 224, 146-157. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.12.046>.
- (10) Haji, A.; Bahtiyari, M. İ. 2021. Chapter 14 - Natural compounds in sustainable dyeing and functional finishing of textiles. In *Green Chemistry for Sustainable Textiles*, Ibrahim, N., Hussain, C. M. Eds.; Woodhead Publishing; pp 191-203.
- (11) Moriwaki, C.; Mangolim, C. S.; Ruiz, G. B.; de Morais, G. R.; Baesso, M. L.; Matioli, G. 2014. Biosynthesis of CGTase by immobilized alkalophilic bacilli and crystallization of beta-cyclodextrin: Effective techniques to investigate cell immobilization and the production of cyclodextrins. *Biochemical Engineering Journal*, 83, 22-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.12.004>.
- (12) Várnai, B.; Grabarics, M.; Szakács, Z.; Pagel, K.; Malanga, M.; Sohajda, T.; Béni, S. 2021. Structural characterization of fondaparinux interaction with per-6-amino-beta-cyclodextrin: An NMR and MS study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 197, 113947. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113947>.
- (13) Emert, J.; Breslow, R. 1975. Modification of the cavity of beta-cyclodextrin by flexible capping. *Journal of the American Chemical Society*, 97 (3), 670-672.

- (14) Eastburn, S. D.; Tao, B. Y. 1994. Applications of modified cyclodextrins. *Biotechnology Advances*, 12 (2), 325-339. DOI: [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(94\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0734-9750(94)90015-9).
- (15) Ibrahim, A. S.; Al-Salamah, A. A.; El-Toni, A. M.; El-Tayeb, M. A.; Elbadawi, Y. B. 2013. Immobilization of cyclodextrin glucanotransferase on aminopropyl-functionalized silica-coated superparamagnetic nanoparticles. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16 (6), 10-10.
- (16) Bustos, E.; Manríquez, J.; Juaristi, E.; Chapman, T. W.; Godínez, L. A. 2008. Electrochemical study of  $\beta$ -Cyclodextrin binding with ferrocene tethered onto a gold surface via PAMAM dendrimers. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19, 1010-1016.
- (17) Jaiswal, K. K.; Kumar, V.; Vlaskin, M. S.; Nanda, M. 2021. Impact of pyrene (polycyclic aromatic hydrocarbons) pollutant on metabolites and lipid induction in microalgae *Chlorella sorokiniana* (UUIND6) to produce renewable biodiesel. *Chemosphere*, 285, 131482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131482>.
- (18) Zhao, G.; Liu, G. 2019. Synthesis and characterization of a single-walled carbon nanotubes/l-cysteine/Nafion-ionic liquid nanocomposite and its application in the ultrasensitive determination of Cd(II) and Pb(II). *Journal of Applied Electrochemistry*, 49 (6), 609-619. DOI: 10.1007/s10800-019-01309-y.
- (19) Aragay, G.; Pons, J.; Merkoçi, A. 2011. Recent Trends in Macro-, Micro-, and Nanomaterial-Based Tools and Strategies for Heavy-Metal Detection. *Chemical Reviews*, 111 (5), 3433-3458. DOI: 10.1021/cr100383r.
- (20) Iijima, S. 1991. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354 (6348), 56-58. DOI: 10.1038/354056a0.
- (21) Chen, Y.; Guo, Z.; Das, R.; Jiang, Q. 2020. Starch-based carbon nanotubes and graphene: preparation, properties and applications. *ES Food & Agroforestry 2* (4), 13-21.
- (22) Popov, V. N. 2004. Carbon nanotubes: properties and application. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 43 (3), 61-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mser.2003.10.001>.
- (23) Andrade Guel, M. L.; López López, L. I.; Sáenz Galindo, A. 2012. Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43, 9-18.
- (24) Mackus, A. J. M.; Merckx, M. J. M.; Kessels, W. M. M. 2019. From the Bottom-Up: Toward Area-Selective Atomic Layer Deposition with High Selectivity. *Chemistry of Materials*, 31 (1), 2-12. DOI: 10.1021/acs.chemmater.8b03454.
- (25) Kaliyaraj Selva Kumar, A.; Zhang, Y.; Li, D.; Compton, R. G. A mini-review: 2020. How reliable is the drop casting technique? *Electrochemistry Communications*, 121, 106867. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2020.106867>.
- (26) Posha, B.; Kuttoth, H.; Sandhyarani, N. 2019. 1-Pyrene carboxylic acid functionalized carbon nanotube-gold nanoparticle nanocomposite for electrochemical sensing of dopamine and uric acid. *Microchimica Acta*, 186 (10), 672. DOI: 10.1007/s00604-019-3783-0.
- (27) Vilaplana, J.; Azon, A.; Romaguera, C. 63.331. 2021. Paraquat (Dichloride, Methosulfate). *Dictionary of Contact Allergens: Chemical Structures, Sources, and References*, 1443.

- (28) Deroco, P. B.; Wachholz Junior, D.; Kubota, L. T. 2021. Silver Inkjet-Printed Electrode on Paper for Electrochemical Sensing of Paraquat. *Chemosensors*, 9 (4), 61.
- (29) Smith, P.; Heath, D.; Fishman, A. P. Paraquat. 1976. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 4 (4), 411-445. DOI: 10.1080/10408447609164020.
- (30) Riches, C. R.; Bernal, E. V. 2002. Agricultural and Biological Diversity in Latin America: Implications for Development, Testing, and Commercialization of Herbicide-Resistant Crops. *Weed Technology*, 16 (1), 200-214. (consulta: 04/05/2022).JSTOR.
- (31) Moscoso, R.; Carbajo, J.; Squella, J. A. 2014. 1,3-Dioxolane: A green solvent for the preparation of carbon nanotube-modified electrodes. *Electrochemistry Communications*, 48, 69-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2014.08.019>.
- (32) Macedo, J. F. d. 2020. Estudo eletroquímico dos efeitos de líquidos iônicos apróticos e próticos em eletrodos modificados.
- (33) Silva-Tapia, F.; Olguín-Curiel, K. A. 2017. Instrumentación electroquímica en los laboratorios del ITESO: estado actual y perspectiva a futuro.
- (34) Domingo, C. 2011. Técnicas de espectroscopía Raman aplicadas en conservación.
- (35) Perez, M. 2023. *Determinación de pesticidas en aguas a través de electrodos serigrafados de oro modificados con amino-β-ciclodextrinas inmovilizadas a partir de electrografting de sales de diazonio*. Santiago, Chile:Universidad de Chile – Facultad de ciencias Químicas y Farmaceuticas. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/195783>
- (36) Lide, D. R. *CRC handbook of chemistry and physics*; CRC press, 2004.
- (37) Martínez, B. T. P.; Cepeda, L. F.; Hernández, E. H.; Aguilar, N. V. P. 2016. Modificación superficial de nanotubos de carbono mediante un plasma de CO<sub>2</sub>. *Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*, 73 (573), 55-59.
- (38) Hispania, M. *Caracterización de materiales de carbono con Espectroscopía Raman*. [en línea] <[https://www.metrohm.com/es\\_es/applications/bw-tek-applikationen/410000059-B.html](https://www.metrohm.com/es_es/applications/bw-tek-applikationen/410000059-B.html)> (consulta:16/01/2024)
- (39) Mendez, A. 2021. *Estudio comparativo de las capacidades de inclusión de derivados amino-β-ciclodextrinas inmovilizados sobre superficies de oro*. Santiago, Chile:Universidad de Chile – Facultad de ciencias Químicas y Farmaceuticas. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/188967>
- (40) Jorio, A.; Saito, R. 2021. Raman spectroscopy for carbon nanotube applications. *Journal of Applied Physics*, 129 (2).
- (41) Chuntib, P.; Themsirimongkon, S.; Saipanya, S.; Jakmune, J. 2017. Sequential injection differential pulse voltammetric method based on screen printed carbon electrode modified with carbon nanotube/Nafion for sensitive determination of paraquat. *Talanta*, 170, 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.073>.