



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

MÁSTER EN CIENCIAS ANALÍTICAS Y BIOANALÍTICAS

Trabajo Fin de Máster

**"DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN MUESTRAS
MEDIOAMBIENTALES UTILIZANDO DIFERENTES PLATAFORMAS
ELECTRÓDICAS"**

Realizado por **D^a. MARTA CUELLAS DÍAZ**

Dirigido por el catedrático de Química Analítica del Departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Oviedo **D. AGUSTÍN COSTA GARCÍA**

Julio 2015, Oviedo.

Índice

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Detectores electroquímicos miniaturizados | 1 |
| 1.1.1. <i>Electrodos serigrafados</i> | 1 |
| 1.1.2. <i>Fabricación de electrodos serigrafados</i> | 4 |
| 1.2. Nanoestructuración de electrodos serigrafados | 5 |
| 1.2.1. <i>Nanoestructuración de electrodos serigrafados con nanopartículas metálicas</i> | 7 |
| 1.2.2. <i>Nanoestructuración híbrida de electrodos serigrafados con nanomateriales de carbono</i> | 9 |
| 1.3. Análisis de Arsénico | 16 |
| 1.3.1. <i>Necesidad del análisis de arsénico en agua</i> | 17 |
| 1.4. Detección electroquímica de arsénico | 18 |
| 1.4.1. <i>Detección electroquímica de arsénico con electrodos de oro</i> | 18 |
| 1.4.2. <i>Detección electroquímica de arsénico con electrodos modificados con nanopartículas de oro</i> | 19 |
| 1.4.3. <i>Detección electroquímica de arsénico con electrodos serigrafados</i> | 19 |
| 1.5. Objetivos | 20 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 2.1. Equipos y materiales | 21 |
| 2.1.1. <i>Instrumentación</i> | 21 |
| 2.1.2. <i>Electrodos</i> | 21 |
| 2.2. Reactivos y disoluciones | 21 |
| 2.2.1. <i>Reactivos utilizados para la elección del medio electrolítico</i> | 21 |
| 2.2.2. <i>Reactivos utilizados para la nanoestructuración de los electrodos serigrafados</i> | 22 |
| 2.2.3. <i>Reactivos utilizados para el estudio de interferencias</i> | 23 |
| 2.2.4. <i>Reactivos utilizados en el análisis de arsénico</i> | 23 |
| 2.2.5. <i>Reactivos generales</i> | 23 |
| 2.3. Métodos y procedimientos analíticos | 24 |
| 2.3.1. <i>Nanoestructuración con nanopartículas de oro</i> | 24 |
| 2.3.2. <i>Nanoestructuración con nanotubos de carbono</i> | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.3. Nanoestructuración con nanofibras de carbono..... | 24 |
| 2.3.4. Nanoestructuración con óxido de grafeno..... | 25 |
| 2.3.5. Nanoestructuración híbrida | 25 |
| 2.3.6. Fundamento del sensor electroquímico | 25 |
| 2.3.7. Análisis de arsénico en agua de grifo y agua embotellada..... | 26 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 27 |
| 3.1. Caracterización del proceso electroquímico del arsénico sobre diferentes plataformas electródicas..... | 27 |
| 3.1.1. Comportamiento del arsénico sobre diferentes plataformas electródicas... 27 | |
| 3.1.2. Estudio del control del proceso | 28 |
| 3.2. Determinación de arsénico utilizando electrodos serigrafiados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro | 29 |
| 3.2.1. Optimización de las condiciones de medida y de la superficie electródica... 29 | |
| 3.2.3. Estudio del comportamiento analítico | 40 |
| 3.3. Determinación de arsénico en aguas..... | 43 |
| 3.3.1. Determinación de arsénico en agua de grifo | 43 |
| 3.3.2. Determinación de arsénico en agua embotellada | 44 |
| 4. CONCLUSIONES..... | 47 |
| ANEXO A..... | 48 |
| BIBLIOGRAFÍA | 52 |

Abreviaturas

| | |
|------------|---|
| A | Área del electrodo |
| AA | Ácido ascórbico |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| As | Arsénico |
| ASV | Voltamperometría de redisolución anódica |
| AuNPs | Nanopartículas de oro |
| C | Concentración |
| CCA | Arsenato cromado de cobre |
| CIIC | Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer |
| CNFs | Nanofibras de carbono |
| CNTs | Nanotubos de carbono |
| CVD | Deposición química de vapor |
| D | Coefficiente de difusión |
| DHHS | Departamento de Salud y Servicios Humanos |
| DMF | Dimetilformamida |
| DPV | Voltamperometría diferencial de pulso |
| EPA | US Environmental Protection Agency |
| i_p | Intensidad de corriente de pico |
| INCAR | Instituto Nacional del Carbón |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry |
| MWCNT | Nanotubos de carbono de pared múltiple |
| MWCNT-COOH | Nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos carboxilos. |
| n | Número de electrones intercambiados |
| NPs | Nanopartículas |

| | |
|-----------|--|
| MNPs | Nanopartículas metálicas |
| GO | Óxido de grafeno |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| r-GO | Oxido de grafeno reducido |
| SPCNFnAuE | Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con nanofibras de carbono y nanopartículas de oro |
| SPCGOnAuE | Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con óxido de grafeno y nanopartículas de oro |
| SPCNTnAuE | Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con nanotubos de carbono y nanopartículas de oro |
| SPEs | Electrodos serigrafiados |
| SWCNT | Nanotubos de carbono de pared simple |
| SWV | Voltamperometría de onda cuadrada |
| THF | Tetrahidrofurano |
| t_{dep} | Tiempo de deposición |
| UPD | Underpotential Deposition |
| v | Velocidad de barrido |

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Detectores electroquímicos miniaturizados

Desde el descubrimiento de la Electroquímica a mitad del siglo XIX hasta la actualidad, el electrodo como herramienta analítica ha sufrido numerosos cambios. Inicialmente, los electrodos consistían en una barra de algún material metálico tal como el oro, platino o zinc. Posteriormente, con el desarrollo de las técnicas voltamperométricas, se fabricaron electrodos tales como el electrodo goteante de mercurio y sus variantes, electrodos metálicos (de oro o platino) y electrodos de carbono, principalmente de pasta y carbono vítreo, siendo todos ellos conocidos como electrodos convencionales. La utilización de estos electrodos como detectores electroquímicos no permiten llevar a cabo muchas de las aplicaciones del análisis actual debido a sus propiedades inherentes (elevado tamaño, alto precio, necesidad de celda externa de gran volumen, etc.). Por ello, y debido a dichas propiedades, estos electrodos difícilmente serán herramientas válidas para desarrollar dispositivos analíticos demandados en el siglo XXI. Fue a finales del siglo XX cuando se inició una tendencia a la miniaturización y la simplificación de la instrumentación analítica con la finalidad de usar volúmenes pequeños de reactivos y muestras^[1].

En la actualidad, cada vez es más necesario el desarrollo de pequeños dispositivos de análisis que sean tanto de bajo coste como portátiles, selectivos, fiables, de fácil manejo y que requieran volúmenes pequeños de muestra que permitan llevar a cabo análisis químicos en campos tales como el medio ambiente, agroalimentario o clínico. Para ello, se han desarrollado nuevas tecnologías para el diseño de detectores electroquímicos que permitan cumplir las expectativas mencionadas. De esta forma, dichos detectores presentan un papel fundamental ya que, además de cumplir dichas características, proporcionan una señal eléctrica que posteriormente puede ser tratada de una forma sencilla, se disponen en forma de dispositivos cuya fabricación y producción es relativamente fácil y de bajo coste, y se caracterizan por ser dispositivos desechables y robustos así como por proporcionar tiempos de respuesta relativamente cortos y amplios rangos de linealidad.

Cabe decir que, actualmente, entre los detectores electroquímicos miniaturizados más utilizados se encuentran los electrodos serigrafiados, los cuales son considerados también como transductores ideales para el desarrollo de (bio)sensores electroquímicos^[2].

1.1.1. *Electrodos serigrafiados*

En los últimos años, el empleo de electrodos serigrafiados (SPEs), o también denominados de película gruesa o "*thick-film*", como detectores electroquímicos o como transductores en la fabricación de (bio)sensores electroquímicos ha tenido un creciente interés debido a las características y ventajas que presentan los mismos

frente a otras herramientas analíticas, permitiendo así su empleo en gran variedad de aplicaciones electroquímicas de distintos ámbitos. Entre las ventajas y características que presentan los SPEs se pueden destacar:

- **Bajo coste:** Debido a la automatización del proceso de producción de los SPEs, una vez diseñadas correctamente las máscaras y escogidas las tintas del serigrafiado, se pueden producir tarjetas serigrafiadas a gran escala, permitiendo así reproducir con gran precisión los tamaños y geometrías de los mismos, y en consecuencia, abaratando los costes de producción.
- **Carácter desechable:** Como consecuencia de la producción en masa de estos electrodos con un coste relativamente bajo, pueden ser desechados después de cada análisis. Esto resulta de gran importancia cuando se va a llevar a cabo el análisis de muestras complejas, ya que éstas podrían degradar la superficie electródica tras la realización de una sola medida de las mismas.
- **Pequeño tamaño:** Debido a que estos dispositivos son de pequeño tamaño, el volumen de muestra requerido para llevar a cabo un análisis es muy pequeño lo cual es una ventaja. Otra de las ventajas que presentan los SPEs es que, a pesar de su pequeño tamaño, el propio electrodo hace la función de celda electroquímica ya que posee los electrodos de trabajo, auxiliar y de referencia en el mismo dispositivo, lo cual implica que no se requiere de la utilización de una celda externa para la realización del análisis.
- **Portabilidad:** Debido al pequeño tamaño que presentan los SPEs, son dispositivos portátiles que pueden ser manejados y transportados fácilmente, permitiendo así llevar a cabo determinaciones *in situ* en el lugar del análisis sin necesidad de transportar las muestras a analizar al laboratorio.
- **Flexibilidad del diseño:** Además de disponer de diferentes diseños comerciales, se pueden fabricar diversos tipos de electrodos serigrafiados con diferentes diseños y geometrías para el electrodo de trabajo, todo ello en función de la utilidad que se le quiera dar a los mismos. La gran variedad de tintas de serigrafiado permite combinar distintos materiales electródicos en la misma celda electrolítica, pudiendo así utilizar electrodos de oro, de platino, de carbono, de plata o de plata/cloruro de plata en la misma. La diversidad de materiales electródicos^[3] es una gran ventaja de estos electrodos ya que permiten obtener electrodos serigrafiados basados en carbono, metálicos, recubiertos por una película, o incluso modificados con sustancias biológicas (enzimas, ADN, etc.) durante la fabricación de los mismos. Además, el proceso de producción de los electrodos serigrafiados también se puede adaptar a distintos soportes, de tal manera que la naturaleza de la tarjeta soporte donde

va a quedar impresa la celda y los electrodos puede variar desde materiales poliméricos o plásticos hasta materiales cerámicos o alúmina.

- **Fácil integración con circuitos electrónicos:** Estos dispositivos se conectan directamente al equipo de medida, con lo cual, no es necesario el tratamiento de la señal generada puesto que se obtiene directamente una señal eléctrica.
- **Posibilidad de pretratamientos y modificaciones:** Debido a las distintas geometrías que presentan los electrodos serigrafiados así como los diferentes materiales electródicos que se emplean para la fabricación de los mismos, se puede llevar a cabo la modificación de la superficie de éstos con distintos materiales. Esta modificación se puede llevar a cabo por adsorción de nanomateriales o de material biológico (ADN, proteínas, etc), por adición de membranas, etc. Esto es otra de las ventajas que presentan estos electrodos ya que permite mejorar las propiedades de los mismos, pudiéndolos utilizar así en numerosas aplicaciones en distintos ámbitos tales como el medioambiental (para la determinación de metales pesados), agroalimentario (para el análisis composicional de alimentos), forense (para la determinación de arsénico o atropina) y clínico (para la determinación de biomarcadores de la enfermedad celíaca o del cáncer de próstata).

Sin embargo, a pesar de presentar numerosas ventajas, el principal inconveniente de estos electrodos es la baja reproducibilidad de los mismos en la producción, pudiéndose producir así diferencias entre los distintos lotes de producción como consecuencia del proceso de fabricación de éstos. En la actualidad el proceso de fabricación de los SPEs está bastante controlado, aunque se pueden dar casos en los que tengan lugar dichas diferencias. En estos casos, la falta de reproducibilidad de los SPEs se puede mejorar aplicando una etapa de pretratamiento electroquímico en la superficie del electrodo^[4].

El método más utilizado para la fabricación de los SPEs está basado en la tecnología "*screen-printing*" ya que permite la obtención de electrodos sólidos planos y robustos con la geometría y material deseado.

Como se puede observar en la **Figura 1.1**, existen gran variedad de SPEs fabricados con diferentes diseños y materiales. Los electrodos serigrafiados fabricados con tinta de carbono son considerados como una buena alternativa a los electrodos de pasta de carbono o carbono vítreo convencionales, con lo cual, resultan ser muy atractivos tanto como detectores electroquímicos como transductores en la construcción de sensores electroquímicos todo ello como consecuencia de las numerosas ventajas que presentan entre las que se pueden destacar que son químicamente inertes, dan lugar a un amplio rango de potenciales de trabajo,

presentan bajas corrientes de fondo debido a la estructura cristalina que presenta este material, y proporcionan una relación señal/ruido elevada.



Figura 1.1. Electrodo serigrafiado.

Las dimensiones generales que presentan las tarjetas serigrafiadas son de 3.4 cm x 1.0 cm x 0.05 cm (largo x ancho x alto). Además, los electrodos de trabajo son circulares y presentan un diámetro de 4 mm, lo cual son óptimos para trabajar con volúmenes de aproximadamente 50 μL . En la **Figura 1.2** se muestran las distintas partes de una tarjeta serigrafiada con un diseño clásico de tres electrodos:

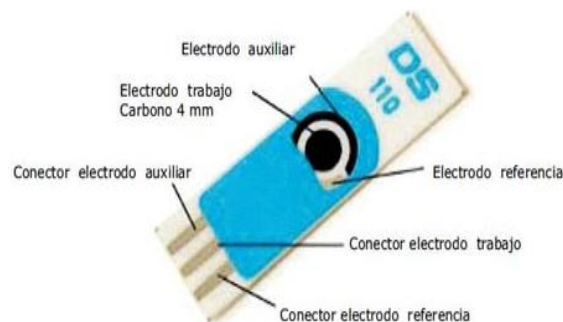


Figura 1.2. Partes que constituyen un electrodo serigrafiado.

1.1.2. Fabricación de electrodos serigrafiados

Como se mencionó anteriormente, el proceso de fabricación de los electrodos serigrafiados más utilizado está basado en la técnica de "screen-printing"^[5], siendo esta técnica de serigrafiado adaptada de la producción de circuitos impresos. El proceso de serigrafiado^[1] (mostrado en la **Figura 1.3**) consiste, esencialmente, en colocar una plantilla con el diseño deseado sobre el sustrato, haciendo pasar una tinta por esta plantilla. A continuación se realiza una etapa de secado y curado a una temperatura determinada y específica para cada tipo de tinta (una mayor o menor temperatura de la etapa de curado puede influir en las características del electrodo). Finalmente, se lleva a cabo el recubrimiento con un aislante para que únicamente queden libres las conexiones y el área de trabajo del electrodo, es decir, tanto el electrodo de trabajo como el auxiliar y el de referencia.

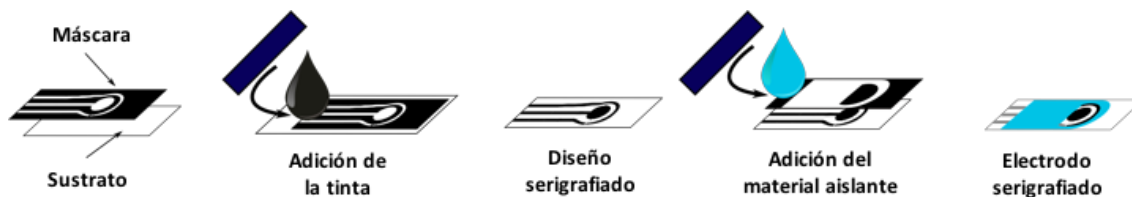


Figura 1.3. Esquema del proceso de serigrafado empleado en la fabricación de SPEs.

Este proceso se puede adaptar a distintos sustratos, siendo los más utilizados los materiales cerámicos o los materiales poliméricos (plásticos). En los últimos años se está comenzando a utilizar papel como sustrato para el serigrafado pero, a pesar de que su utilización supone un ahorro de coste considerable^[6], debido a que este tipo de sustrato se hace de forma manual pueden dar lugar a electrodos menos reproducibles.

Por otro lado decir que existen distintas tintas de serigrafado de diferentes materiales, siendo las más empleadas las de grafito, oro, platino o plata, aunque se pueden combinar mediante mezclas de sustancias (por ejemplo grafito y ferrocianuro) para la fabricación de un determinado tipo de electrodo. Estas tintas, además del material correspondiente, están constituidas por un aglutinante (vinilo o base polimérica aglutinante de epoxi) y disolventes. El aglutinante se usa con la finalidad de mejorar la afinidad entre la tinta y el sustrato en términos de adhesión y fuerzas mecánicas, mientras que el disolvente mejora la viscosidad de la tinta en el proceso de impresión. La tinta escogida para la fabricación de un electrodo serigrafado es un parámetro crítico en cuanto a la reactividad del mismo ya que, además del material electródico principal, contiene otros compuestos necesarios para el serigrafado, los cuales podrían tener un efecto interferente en ciertas condiciones experimentales. Además, el comportamiento de una especie puede variar en función de la tinta utilizada, lo cual implica el estudio y caracterización de los SPEs cuando se van a emplear en una aplicación determinada.

1.2. Nanoestructuración de electrodos serigrafados

Aunque los SPEs producidos según la metodología comentada anteriormente son considerados como un buen sistema de detección y muy útiles para la fabricación de numerosos (bio)sensores electroquímicos, presentan la gran ventaja de que su superficie puede ser modificada fácilmente proporcionando así un comportamiento completamente diferente al que pueda presentar un SPEs sin modificar, además de una mejora considerable en las características analíticas de los mismos haciendo posible que puedan ser utilizados en nuevas aplicaciones.

De entre todas las posibles modificaciones que se pueden llevar a cabo en la superficie de un electrodo serigrafado, en los últimos años la nanoestructuración ha sido considerada como una de las más importantes ya que el empleo de nanomateriales tales como las nanotubos de carbono^[7] o nanopartículas de oro^[8] permiten mejorar la sensibilidad de los ensayos como consecuencia de las propiedades especiales que poseen. Entre las ventajas que presenta la modificación de SPEs con nanomateriales destacan:

- Debido a que los nanomateriales presentan un área superficial elevada se favorecen los procesos electroquímicos que tienen lugar en la superficie del electrodo. Además, como consecuencia de esta mayor superficie en comparación con los electrodos sin modificar, y teniendo en cuenta que de acuerdo a la ecuación de Randles-Sevcik (**Ecuación 1**) la intensidad de pico medida es proporcional a la superficie del electrodo, puede producirse una mejora en la sensibilidad del método.

$$i_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} v^{1/2} D^{1/2} AC$$

Ecuación 1. Ecuación de Randles-Sevcik.

Donde i_p es la intensidad de pico medida, n el número de electrones intercambiados entre la especie electroactiva y la superficie del electrodo, v la velocidad de barrido, D el coeficiente de difusión, C la concentración y A el área del electrodo.

- El empleo de nanomateriales mejora la transferencia de carga de la molécula electroactiva con el electrodo así como incrementa las posibilidades de inmovilización de determinadas especies.
- Los nanomateriales pueden actuar como catalizadores de la reacción electroquímica, lo cual permite disminuir la energía necesaria para que tenga lugar dicha reacción y favorecer la reversibilidad del proceso^[9].
- El empleo de nanomateriales permite la conexión directa del analito con la superficie del electrodo mejorando así la captura del mismo.

La ciencia que se encarga de estudiar y desarrollar materiales que presentan una o más dimensiones de tamaño nanométrico se conoce como nanotecnología o nanociencia. Este tipo de materiales tienen unas propiedades que difieren de las que poseen los materiales macroscópicos debido a que se comportan según las Leyes de la Química Cuántica y no según las Leyes de la Física Clásica y además, debido a que como se dijo anteriormente, al presentar una elevada área superficial son muy sensibles a procesos de superficie.

Cabe destacar la gran cantidad de nanoestructuras que se pueden emplear para modificar la superficie de los electrodos siendo algunas de ellas las nanopartículas metálicas, los nanotubos de carbono, las nanofibras de carbono, etc.

1.2.1. Nanoestructuración de electrodos serigrafiados con nanopartículas metálicas

Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas (NPs) son conglomerados o agrupaciones de 100 a 1000 átomos del elemento con dimensiones nanométricas. Las propiedades físicas de las mismas dependen del tamaño de las partículas, de tal manera que las propiedades de éstas con tamaño nanométrico diferirán de las que poseen las partículas que presentan un tamaño macroscópico.

Además de las ventajas de estos nanomateriales mencionados anteriormente, es importante decir que el coste de producción de los SPEs modificados con nanopartículas es menor que en el caso de la fabricación del electrodo completo con el mismo material. Por otro lado, el mayor inconveniente que presentan las NPs es que presentan una mayor reactividad en comparación con el material macroscópico^[10].

Debido a la gran cantidad de ventajas que presentan las nanopartículas metálicas (MNPs) son muy utilizadas en gran cantidad de aplicaciones de análisis electroquímico^[11]. Entre las nanopartículas metálicas más utilizadas se encuentran el oro, la plata y el platino por sus buenas características como materiales electródicos, aunque también existen aplicaciones en las que los electrodos son modificados con nanopartículas de bismuto, níquel, paladio y cobre. Algunos ejemplos son: determinación de Zn (II), Cd (II) y Pb (II) mediante un electrodo serigrafiado de carbono modificado por adsorción de nanopartículas de bismuto sintetizadas químicamente^[12] o determinación de trazas As(III) en presencia de cobre con electrodos serigrafiados modificados con nanopartículas de oro^[13].

Las nanopartículas de oro (AuNPs) siempre han suscitado un mayor interés en cuanto a sus aplicaciones electroanalíticas debido a las propiedades que presenta este metal. Entre las propiedades que presentan estas nanopartículas se ha de destacar su elevada conductividad, elevada relación superficie/volumen así como baja reactividad frente a reactivos comunes. Esto, unido a la fiabilidad de obtener suspensiones coloidales estables con un tamaño medio de partícula con muy poca desviación, ha permitido abrir nuevos campos de aplicación en la electroquímica^[14]. Por ello, las AuNPs han sido ampliamente estudiadas tanto desde el punto de vista de sus propiedades químicas (reconocimiento molecular^[15] o reactividad^[16]) como de sus propiedades biológicas (bioconjugados o ensamblajes^[17]), físicas (ópticas, electroquímicas^[18] o electrostáticas^[18]) o de catálisis. El principal inconveniente de las AuNPs puede ser el elevado coste del oro que las componen.

Métodos de síntesis de nanopartículas de oro

Durante el siglo XX se publicaron y se revisaron varios métodos para la preparación de nanopartículas de oro basados en la reducción de sales de oro con agentes orgánicos reductores. Sin embargo, el método de síntesis más popular es el desarrollado por J. Turkevich^[19], el cual consiste en la reducción acuosa de HAuCl_4 con citrato de sodio, conduciendo así a partículas muy homogéneas en el rango de tamaños comprendido entre 10 y 40 nm. Este método se fue mejorando con el paso del tiempo por otros investigadores con la finalidad de controlar el diámetro de las nanopartículas^[20].

Además de utilizar los métodos mencionados para la síntesis de nanopartículas de oro, se han desarrollado otros basados en la irradiación con microondas^[21] o la utilización de dendrímeros como nanorreactores que permitan sintetizar nanopartículas de forma y tamaño definido (entre 1 y 3 nm)^[22].

Nanoestructuración de electrodos serigrafiados con nanopartículas de oro

Existen diferentes metodologías para llevar a cabo la modificación de la superficie de los electrodos serigrafiados con nanopartículas de oro, siendo las más comunes las que se muestran a continuación:

- Una metodología consiste en modificar la superficie del electrodo serigrafiado durante la fabricación del mismo haciendo uso de tintas con nanopartículas de oro.
- Otra metodología sencilla y barata de conseguir detectores electroquímicos modificados con nanopartículas de oro^[23] consiste, en primer lugar, en obtener el coloide de nanopartículas de oro del tamaño deseado y posteriormente, disponer una gota del citado coloide sobre la superficie del electrodo serigrafiado de trabajo hasta la evaporación de la misma.
- Una metodología más reciente consiste en generar *in situ* sobre la superficie del electrodo serigrafiado las nanopartículas de oro de una forma más controlada, sencilla y barata por electrodeposición para dar lugar a detectores electroquímicos modificados con nanopartículas de oro con excelentes prestaciones. Esta metodología consiste en una electrodeposición de oro iónico (AuCl_4^-) sobre el electrodo de trabajo de la tarjeta serigrafiada por aplicación de una corriente o potencial eléctrico^[24] durante un tiempo determinado cuando se dispone sobre el mismo un pequeño volumen de una disolución que contiene dicho oro. Dependiendo tanto de la acidez como de la concentración de AuCl_4^- , de la magnitud de la corriente o potencial y del tiempo que se apliquen, se pueden optimizar superficies nanoestructuradas con propiedades distintas, pero reproducibles y estables, acorde a la aplicación

que se le quiera dar. En la **Figura 1.4** se encuentra reflejado de forma esquemática esta metodología para llevar a cabo la nanoestructuración con AuNPs:



Figura 1.4. Modificación de los electrodos serigrafiados con AuNPs.

Dentro de esta última metodología cabe destacar el método desarrollado por Martínez-Paredes et al.^[25], el cual consiste en aplicar una corriente negativa constante al electrodo de trabajo generando así nanopartículas de oro estables y reproducibles. Esta metodología es la más conveniente en el caso de los electrodos serigrafiados ya que, al poseer éstos un electrodo de pseudoreferencia incluido en la celda electroquímica, si las nanopartículas se depositan mediante la aplicación de un potencial constante el potencial de dicho electrodo puede variar de un electrodo serigrafiado a otro, y por tanto la deposición de las mismas sería menos reproducible.

El presente trabajo se va a centrar en la nanoestructuración de electrodos serigrafiados con nanopartículas de oro. Sin embargo, se realizó un pequeño estudio acerca de otras modificaciones de los mismos con otros tipos de nanoestructuras, las cuales se comentarán brevemente a continuación.

1.2.2. Nanoestructuración híbrida de electrodos serigrafiados con nanomateriales de carbono

Nanomateriales de carbono

❖ Nanotubos de carbono:

Los nanotubos de carbono (CNTs) constituyen una nueva clase de materiales con un amplio espectro de posibles aplicaciones entre las que se encuentran las aplicaciones en el campo de los sensores electroquímicos^[26]. Desde el descubrimiento de los tubos de carbono de tamaño nanométrico por Iijima en 1991^[27] muchos han sido los progresos que se han realizado tanto en su producción como en la comprensión de sus propiedades.

Estos nanotubos son una forma alotrópica del carbono en la cual, los átomos de este elemento presentan una hibridación intermedia entre la sp^2 y la sp^3 , permitiendo así dicha hibridación que los átomos de carbono puedan combinarse formando hexágonos y pentágonos en estructuras tridimensionales cerradas. Con lo cual, los nanotubos de carbono puede considerarse como una estructura cilíndrica formada por una lámina de grafito enrollada en sí misma hasta formar dicho cilindro, el cual

presenta un diámetro del orden de los nanómetros^[28]. Como se muestra en la **Figura 1.5** esta estructura cilíndrica puede consistir en una sola capa (*Single Wall Carbon Nanotubes, SWCNT*) o varias capas concéntricas (*Multiple Wall Carbon Nanotubes, MWCNT*).

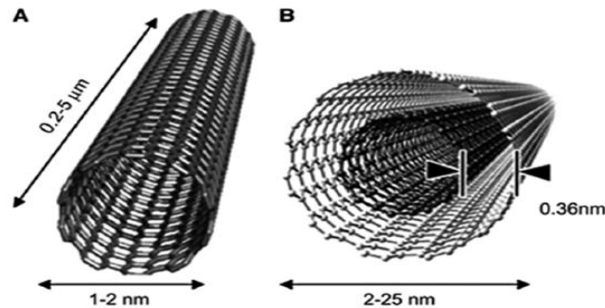


Figura 1.5. a) Nanotubo de pared simple (SWCNT), b) Nanotubo de pared múltiple (MWCNT).

Mientras que los nanotubos de pared simple (SWCNT) presentan un diámetro comprendido entre 0.4 y 1 nm, los nanotubos de pared múltiple (MWCNT) presentan un diámetro comprendido entre 2 y 100 nm y una distancia entre capas entre 0.3 y 0.4 nm.

Estas nanoestructuras presentan un elevado interés tecnológico por sus posibles aplicaciones, las cuales están relacionadas con las siguientes propiedades^[29]:

- Elevada relación radio/longitud, lo cual permite un mejor control de las propiedades unidireccionales de los materiales resultantes.
- Electrónicamente pueden comportarse como metálicos, semimetálicos o aislantes dependiendo de su diámetro y helicidad.
- Elevada resistencia mecánica y flexibilidad en comparación con otros nanomateriales gráficos como pueden ser las nanofibras de carbono (CNFs). Estas excepcionales propiedades mecánicas de los CNTs son atribuidas a la resistencia del enlace C-C y a su estructura tubular, que le brinda una gran estabilidad tanto mecánica como química. Las propiedades mecánicas de los CNTs de pared múltiple son más complejas que las de los CNTs de pared simple, dada la interacción entre las múltiples capas cilíndricas.
- Alta conductividad térmica.

Estas propiedades pueden modificarse encapsulando metales o gases en su interior, llegando a obtener nanocables eléctricos o magnéticos.

Entre los métodos tradicionales para sintetizar nanotubos de carbono se encuentran:

- **Ablación láser**^[30]: Consiste en la condensación de átomos de carbono producidos por la evaporación a altas temperaturas de un precursor sólido tal como el grafito. Particularmente, se generan MWCNT a través de la vaporización por láser de grafito sellado en una atmósfera de Ar en un tubo de sílice en el interior de un horno a 1200°C. Una desventaja es que la técnica no es económica, ya que se utiliza grafito de alta pureza y los requerimientos de potencia del láser son altos. Además, el rendimiento de los CNTs producidos no es alto en comparación con otros métodos. Por el contrario, permite la obtención de SWCNT con un diámetro de los mismos controlado.
- **Descarga de arco**^[31]: El método esencialmente consiste en el paso de una corriente directa a través de dos electrodos de grafito de alta pureza que se encuentran en el interior de una atmósfera de gas inerte a baja presión. Entre los electrodos de grafito se hace pasar una corriente intensa la cual evapora los átomos de carbono formando un plasma alrededor de los electrodos. En un arco abierto al aire, a presión normal, el electrodo positivo alcanza una temperatura de 3.000°C. Para que los SWCNT se formen se requiere de un catalizador metálico mientras que en el caso de los MWCNT no es necesario. Esta técnica es costosa ya que requiere de electrodos de grafito de alta pureza, polvos metálicos, y gases inertes también de alta pureza. Además de no poder controlar las dimensiones de los CNTs con esta metodología, se forman otras partículas por lo que la purificación es un paso adicional en el proceso.
- **Deposición química por vapor (CVD)**^[32]: Consiste en la descomposición de un vapor o gas precursor que contiene átomos de carbono (hidrocarburos: acetileno, metano, etc.) debido a la reacción a altas temperaturas con otro gas (hidrógeno, nitrógeno, etc) en presencia de un catalizador metálico (Co, Ni, Fe, Pt o Pd) depositado sobre un sustrato (sílice o grafito). Es un método simple y económico para la producción a escala industrial de estos nanotubos. Aunque con este método es posible controlar el diámetro de los SWCNT, generalmente se obtienen MWCNT, los cuales presentan gran cantidad de defectos estructurales.
- **Electrólisis**^[33]: Se pueden obtener MWCNT por inmersión de electrodos de grafito en cloruro de litio fundido en atmósfera de argón y aplicando un voltaje entre los electrodos con rendimientos del 20-40%. Después de la electrólisis el equipo se enfría y los materiales carbonáceos se separan disolviendo la sal iónica en agua destilada. Después de filtrar, en los sólidos se encuentran los CNTs y otras nanoestructuras. A pesar de que es una técnica barata, no es muy utilizada debido a la dificultad para controlar el rendimiento y las dimensiones de los nanotubos. Además, por este método no es posible obtener SWCNT.

Generalmente, para llevar a cabo la modificación de los SPEs con estos nanomateriales se suelen emplear dispersiones o disoluciones homogéneas y estables de nanotubos de carbono en los disolventes adecuados, ya que estos presentan una mala solubilidad en los disolventes comunes. Esta insolubilidad es debida al carácter hidrofóbico que presentan las paredes de los nanotubos de carbono, por lo que para obtener dispersiones estables de los mismos es necesario modificar su superficie bien con surfactantes o biopolímeros, o bien funcionalizando su estructura^[34] por ejemplo mediante la oxidación de los nanotubos de carbono en medio ácido, lo cual permite generar grupos funcionales en sus estructuras y permite eliminar impurezas.

Una vez obtenida la dispersión homogénea de nanotubos de carbono, se pueden emplear distintas metodologías para modificar la superficie electródica de los electrodos serigrafiados con dichos nanomateriales. Una metodología bastante asequible y sencilla es la que se muestra a continuación^[35]:

- En primer lugar se prepara una dispersión estable y homogénea de nanotubos de carbono carboxilados (MWCNT-COOH) en una mezcla de agua/DMF (1:1) por reiterados procesos de sonicación en un baño de ultrasonidos.
- Una vez prepara la suspensión de nanotubos de carbono, se recubre la superficie del electrodo de trabajo de la tarjeta de serigrafiada con una gota de la misma, la cual se deja secar a temperatura ambiente.

Esta metodología permite obtener electrodos serigrafiados modificados con nanotubos de carbono con elevada reproducibilidad.

Otra forma de obtener electrodos serigrafiados modificados con nanotubos de carbono es mediante la utilización de tintas que contengan los nanotubos durante el proceso de fabricación de los mismos^[36].

❖ Nanofibras de carbono

Las nanofibras de carbono (CNFs) se pueden describir como materiales de carácter filamentosos compuestos principalmente por carbono de naturaleza gráfica, cuyas láminas grafénicas forman fibras de diámetros entre 3 y 100 nm y longitudes entre 0,1 y 1000 μm ^[37], en ocasiones presentando un hueco tubular en su interior (**Figura 1.6**).

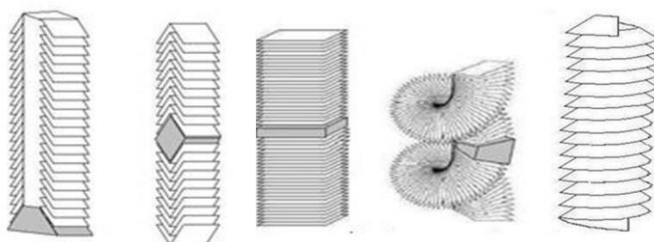


Figura 1.6. Distintos tipos de CNFs.

Las propiedades de estos nanomateriales se pueden controlar mediante las condiciones de síntesis (temperatura, tipo de catalizador y tamaño de partícula, composición de la alimentación, etc.). Entre las propiedades que presentan las CNFs destacan la elevada conductividad eléctrica y térmica y la elevada resistencia química.

El proceso de síntesis de nanofibras de carbono más común es la descomposición catalítica de hidrocarburos, el cual consiste en la descomposición de un hidrocarburo (metano, monóxido de carbono, gas de síntesis, acetileno y etileno para temperaturas entre 400 y 1000 °C) sobre metales de transición donde queda depositado el carbono. Los metales más importantes para catalizar el crecimiento de nanofibras de carbono son Ni, Fe, Co y algunas de sus aleaciones, aunque también se han estudiado Cr, V y Mo^[27]. Todos estos metales tienen la capacidad común de disolver el carbono pudiendo formar carburos metálicos metaestables.

La forma más habitual de llevar a cabo la modificación de los electrodos serigrafiados con nanofibras de carbono consiste en depositar una gota de una dispersión de CNFs en agua sobre el electrodo de trabajo, y posteriormente, dejar secar a temperatura ambiente.

❖ Grafeno y óxido de grafeno

El grafeno, tal y como se muestra en la **Figura 1.7**, presenta una estructura nanométrica, bidimensional, formada por átomos de carbono con hibridación sp^2 fuertemente cohesionados en una superficie uniforme, ligeramente plana, con ondulaciones, de un átomo de espesor y con una apariencia semejante a una capa de panal de abejas por su configuración atómica hexagonal^[38].

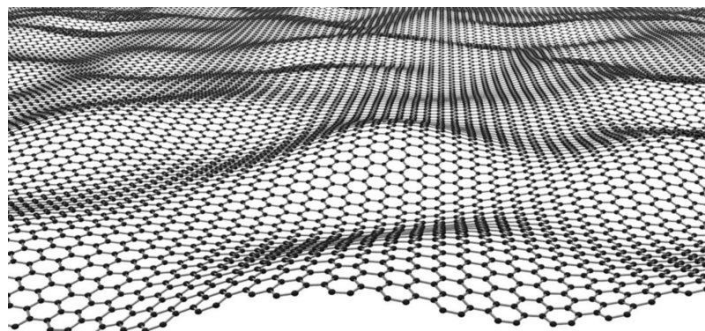


Figura 1.7. Estructura bidimensional del grafeno.

Debido a la peculiar estructura que presenta esta forma alotrópica del carbono, el grafeno desprende propiedades químicas, mecánicas y electrónicas excepcionales siendo algunas de ellas las que se muestran a continuación^[39]:

- Alta conductividad térmica y gran conductividad eléctrica.
- Alta elasticidad, gran dureza y una resistencia mecánica mayor que el acero.

- Químicamente, el grafeno reacciona con otras sustancias para formar compuestos con diversas propiedades, lo cual permite considerar el grafeno como un material de gran potencial electrotecnológico.
- Presenta alta resistencia a la ionización.
- Tiene una alta área superficial específica ($2630 \text{ m}^2/\text{g}$) en comparación con la de los nanotubos de carbono ($1315 \text{ m}^2/\text{g}$), lo que lo convierte en un candidato atractivo para aplicaciones de almacenamiento de energía^[40].

Como consecuencia de sus excelentes propiedades, el grafeno puede ser empleado en distintos campos tales como el medioambiental^[41], el industrial^[42] o el electroquímico^[43].

En cuanto a los métodos de síntesis de grafeno^[44] se encuentran la deposición química de vapor (CVD)^[45], la exfoliación micromecánica, la exfoliación de grafito en disolventes y la reducción química de óxido de grafito^[46] entre otros.

Una de las variantes del grafeno es el óxido de grafeno (GO). Este material, presenta propiedades muy similares a las del grafeno, pero a diferencia de este, carece de conjugación electrónica ya que contiene numerosos grupos funcionales como ácidos carboxílicos, hidroxilos, fenólicos y epóxidos (**Figura 1.8**). Estos grupos funcionales permiten que el GO se disperse en agua y en disolventes orgánicos tales como la dimetilformamida (DMF) y el tetrahidrofurano (THF) y que presente una conductividad eléctrica en el intervalo de aislante o semiconductor dependiendo del grado de oxidación. Además, debido a la presencia de esos grupos funcionales, el GO es más reactivo que el grafeno puro, y en consecuencia, puede ser modificado y funcionalizado fácilmente.

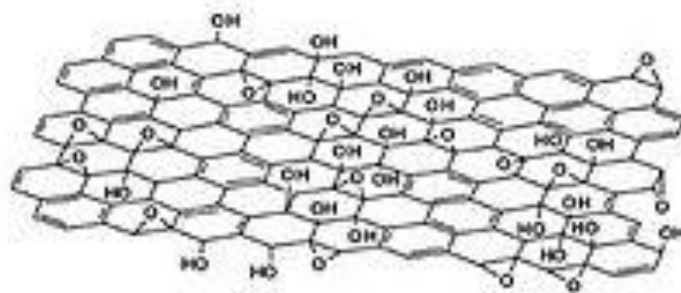


Figura 1.8. Estructura del óxido de grafeno.

El óxido de grafeno puede ser obtenido mediante dispersión en un disolvente y en condiciones adecuadas de óxido de grafito^[47].

La forma más habitual de llevar a cabo la modificación de los electrodos serigrafiados con óxido de grafeno consiste en depositar una gota de una dispersión de

óxido de grafeno en agua sobre el electrodo de trabajo, y posteriormente, dejar secar a temperatura ambiente.

Es posible emplear como nanomaterial el óxido de grafeno reducido electroquímicamente, el cual se puede obtener por deposición de una disolución de óxido de grafeno sobre la superficie del electrodo de trabajo, la posterior evaporación del disolvente de tal manera que queden retenidas en la superficie del mismo las láminas de óxido de grafeno, y finalmente, mediante la aplicación de una determinada intensidad de reducción durante un periodo de tiempo, producir la reducción de los grupos portadores de oxígeno y formar así el óxido de grafeno reducido (r-GO)^[48]. No obstante existe un método de modificación directa conocido como electrodeposición, el cual consiste en añadir un determinado volumen de una disolución de óxido de grafeno sobre el electrodo de trabajo y realizar un proceso de reducción para generar así el r-GO. La principal diferencia con el método anterior es el ahorro de tiempo que tiene lugar al no ser necesario esperar a que el disolvente se evapore^[49].

Nanoestructuración híbrida de electrodos serigrafiados con nanomateriales de carbono

A pesar de que la modificación de los electrodos serigrafiados con nanopartículas de oro les confieran a estos electrodos mejores características, se siguen buscando nuevas metodologías que permitan mejorarlas. Una de las metodologías empleada con este fin consiste en la modificación de los electrodos serigrafiados con sistemas nanohíbridos, los cuales pueden amplificar las propiedades de los nanomateriales que forman dicho sistema en comparación con éstos por separado.

Existen pocos trabajos donde tenga lugar una modificación de los electrodos serigrafiados con sistemas nanohíbridos y su posterior aplicación en el campo de la electroquímica. Uno de ellos es el desarrollado por Neves et al.^[50], el cual permite obtener una estructura nanohíbrida sobre este tipo de electrodos, dando lugar así a un innovador detector electroquímico que puede ser utilizado como transductor en la construcción de sensores. Según este trabajo, la metodología empleada para llevar a cabo la nanoestructuración híbrida de los electrodos serigrafiados consiste, en primer lugar, en modificar el electrodo serigrafiado con nanotubos o nanofibras de carbono y posteriormente generar las nanopartículas de oro sobre la nanoestructura de carbono.

La nanoestructuración híbrida de los electrodos serigrafiados con óxido de grafeno y nanopartículas de oro se llevaría a cabo de igual forma que en el trabajo mencionado, generando cada uno de los nanomateriales sobre dicho electrodo siguiendo la metodología expuesta anteriormente para cada uno de ellos.

1.3. Análisis de Arsénico

El arsénico (As) es un elemento natural que se encuentra muy extendido en la corteza terrestre presentándose en la misma en una concentración media de 2 mg/Kg, así como en las rocas, el suelo, el agua y el aire en concentraciones más reducidas. Sin embargo, las concentraciones de arsénico pueden ser más elevadas en ciertas áreas como consecuencia de condiciones naturales (por ejemplo el arsénico generado en las erupciones volcánicas) o de actividades antropogénicas tales como la minería, la fundición de metales, el empleo de pesticidas agrícolas o de productos químicos para preservar la madera para que ésta no se deteriore o se pudra. Cabe decir que, actualmente, aproximadamente el 90% del arsénico producido es debido a esta última actividad en la cual se utiliza arsenato cromado de cobre (CCA) como preservativo de la madera y aunque, a partir del año 2003 en países tales como Estados Unidos los productores de preservativos de la madera iniciaron voluntariamente la transición de CCA a otros preservativos que no contuvieran arsénico, continúan siendo usados en procesos industriales.

Dicho elemento puede encontrarse en diferentes formas químicas, siendo éstas arsénico elemental (también llamado arsénico metálico), arsénico orgánico (cuando se combina con carbono e hidrógeno) y arsénico inorgánico (cuando se combina con elementos tales como el oxígeno, azufre y cloro). Mientras que los compuestos de arsénico orgánico (como los que se encuentran en pescados y mariscos) son poco perjudiciales para la salud humana, los compuestos de arsénico inorgánico (como los que se encuentran en el agua) son extremadamente tóxicos. Por ello, estos últimos son considerados como unas de las sustancias químicas más preocupantes para la salud pública.

Existen diversas fuentes de exposición para los seres humanos a altos niveles de arsénico inorgánico a través del agua, suelo y aire. Entre las fuentes de exposición más importantes se encuentran el consumo de agua contaminada o su uso para la preparación de comidas, para el riego de cultivos alimentarios y para procesos industriales, así como a través del consumo de tabaco y de alimentos contaminados. En el agua, los niveles de arsénico son bajos en el agua del mar, algo superiores en el caso de ríos y lagos, y muy elevados en las aguas subterráneas, sobre todo de las áreas con depósitos de roca volcánica o de minerales ricos en arsénico. En algunos países tales como Argentina, China, México y Estados Unidos el arsénico inorgánico está presente naturalmente en altos niveles en las aguas subterráneas. En cuanto a las cantidades de arsénico presente en animales vivos y plantas dependen del nivel de contaminación local y del tipo de organismo, ya que algunos tienden a acumular arsénico en su cuerpo. Generalmente el arsénico está más presente en animales que viven en el mar que en los que viven en agua dulce o que en las plantas y otros animales terrestres, aunque algunas plantas terrestres pueden acumular compuestos

de arsénico por absorción de los mismos a través del suelo y/o por deposición de éstos sobre sus hojas cuando son arrastrados por el aire. Por otro lado, las personas que fuman tabaco también pueden estar expuestas al arsénico inorgánico presente en el tabaco natural, ya que las plantas de tabaco absorben a través del suelo compuestos que contienen este elemento, con lo cual inhalan el arsénico ya que forma parte de los compuestos químicos presentes en el humo del tabaco. Este riesgo era mucho mayor hace unos años puesto que dichas plantas eran tratadas con insecticidas que estaban constituidos por arseniato de plomo.

La exposición a arsénico inorgánico puede dar lugar a efectos tanto agudos como a largo plazo. Entre los síntomas agudos que produce se encuentran vómitos, dolor abdominal y diarrea, así como la reducción de la producción de glóbulos rojos y blancos lo cual puede causar fatiga, ritmo cardíaco anormal, daño de los vasos sanguíneos (lo que produce contusiones) y alteraciones de la función de los nervios (lo que produce una sensación de hormigueo en las manos y los pies). En cuanto a los síntomas que tienen lugar a largo plazo por exposición prolongada a altos niveles de arsénico inorgánico (por ejemplo, a través del consumo de agua y alimentos contaminados) se encuentran cambios en la pigmentación de la piel así como durezas o callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies (hiperqueratosis). Estos efectos se producen tras una exposición mínima de cinco años y pueden ser precursores de cáncer de piel, vejiga, pulmón o riñón. Tanto el Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) como la EPA (US Environmental Protection Agency) y el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) han determinado que el arsénico inorgánico es carcinogénico para los seres humanos. Otros efectos que pueden tener lugar a largo plazo son neurotoxicidad, diabetes o enfermedades cardiovasculares. Un ejemplo del efecto a largo plazo que puede producir la ingesta de arsénico a través del consumo de agua procedente de pozos contaminados se puede observar en la provincia de Taiwán (China) donde dicha ingesta está vinculada a una enfermedad conocida como "enfermedad del pie negro", en la cual, los vasos sanguíneos de la pierna y el pie se ven dañados provocando así un enfriamiento del pie, una pérdida de sensibilidad y finalmente gangrena del mismo.

1.3.1. Necesidad del análisis de arsénico en agua

El análisis de los niveles de arsénico en aguas potables es de gran importancia ya que, según la OMS, el arsénico es una de las diez sustancias químicas más preocupantes para la salud pública debido a su elevada toxicidad cuando se presenta en forma inorgánica.

Como consecuencia de la toxicidad que presenta el arsénico, su nivel en aguas de consumo humano (tanto aguas minerales naturales como envasadas) está regulado. Según el Real Decreto 1798/2010 en el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, el límite máximo admisible para la

concentración de arsénico en este tipo de aguas es de 10 µg/L. La OMS también recomienda este límite de 10 µg/L, aunque este valor de referencia es considerado por esta Organización como provisional dadas las dificultades de medición y las dificultades prácticas relacionadas con la eliminación del arsénico en aguas de consumo.

Existe un método normalizado oficial para el análisis de arsénico en aguas de consumo, siendo éste el Método de espectrometría de absorción atómica (técnica de generación de hidruros) (UNE-EN ISO 11969:1997). Sin embargo existen otros métodos no oficiales basados, por ejemplo, en IC-ICP-MS^[51] o HG-AAS^[52] para llevar a cabo este análisis. Estos métodos no oficiales presentan desventajas ya que requieren de una instrumentación de gran tamaño, lo cual no permite realizar los análisis *in situ* ya que no pueden ser transportados al lugar donde se vayan a realizar los mismos. Además tanto el coste de dicha instrumentación como el tiempo invertido en realizar el análisis es elevado.

Por todo ello, los métodos electroanalíticos son considerados como una buena alternativa para el análisis de arsénico. Hasta el momento se han desarrollado gran cantidad de métodos electroanalíticos, estando la mayoría de ellos basados en la preconcentración de arsénico sobre los electrodos, como por ejemplo la Voltamperometría de redisolución anódica.

1.4. Detección electroquímica de arsénico

La mayoría de los trabajos publicados a cerca de la detección de arsénico hacen uso de la técnica de Voltamperometría de redisolución anódica (ASV) para llevar a cabo la determinación del mismo^[53].

Esta técnica voltamperométrica permite determinar iones metálicos mediante una electrodeposición catódica seguida de una redisolución anódica con un barrido apropiado de potencial^[54]. En definitiva, esta técnica consiste, inicialmente, en la deposición del metal sobre la superficie del electrodo a un potencial constante de acuerdo a la especie que se desea determinar y durante un cierto periodo de tiempo en función de la concentración de la misma, y posteriormente, reoxidar lo que se ha depositado previamente barriendo el potencial linealmente hacia valores más positivos.

1.4.1. Detección electroquímica de arsénico con electrodos de oro

La detección de arsénico mediante el uso de electrodos de oro permite la determinación del mismo con elevada sensibilidad y bajos LOD como consecuencia de la gran afinidad que presenta el oro por dicho elemento, facilitando así la preconcentración del mismo sobre la superficie electródica.

Existen diversos trabajos en los que se han empleado electrodos de oro de distintos tipos para la determinación de As(III): array de microelectrodo de oro^[55], electrodo con una nanopelícula de oro^[56], electrodo de oro policristalino^[57] o electrodo de disco de oro^[53].

1.4.2. Detección electroquímica de arsénico con electrodos modificados con nanopartículas de oro

El empleo de nanopartículas de oro para la determinación de arsénico permite mejorar el comportamiento electroquímico y las características analíticas en comparación con las obtenidas en los electrodos de oro, es decir, permite aumentar la sensibilidad y disminuir los LOD como consecuencia de la elevada área superficial que presentan dichas nanopartículas en comparación con el material macroscópico. Además, una mayor área implica también que se favorezca el proceso electroquímico que tiene lugar sobre la superficie electródica, lo cual implica que se requiera una menor energía para que se produzca dicho proceso.

Existen algunos trabajos donde se emplean nanopartículas de oro para la determinación de As(III), siendo éstas utilizadas para modificar distintos tipos de electrodos. Motahar et al.^[58] depositaron nanopartículas de oro, mediante cronocoulometría, sobre un electrodo de carbono vítreo para determinación de As(III) con una alta sensibilidad. Tian et al.^[59], depositaron nanopartículas de oro mediante electrolisis sobre un electrodo de carbono vitrificado para determinar sensible y selectivamente As(III).

Dentro de utilización de materiales nanohíbridos, Stefano et al.^[60] desarrollaron un sensor electroquímico para la determinación de As(III) utilizando un electrodo serigrafiado con un nanocomposite de nanopartículas de oro y carbon black. Yan et al.^[61] utilizan un electrodo de carbono vitrificado modificado con una película de óxido de grafeno reducido electroquímicamente y nanopartículas de oro para analizar trazas de As(III). Hong et al.^[62] también desarrollaron un sensor electroquímico para la determinación de trazas de As(III) basado en la modificación de un electrodo vitrificado con nanopartículas magnéticas de Fe₃O₄ y nanopartículas de oro.

1.4.3. Detección electroquímica de arsénico con electrodos serigrafiados

Además de los electrodos comentados anteriormente para la determinación de arsénico, existen numerosos trabajos en los que se han empleado electrodos miniaturizados, concretamente electrodos serigrafiados, para la determinación del mismo.

Entre los trabajos que emplean este tipo de electrodos miniaturizados se encuentran los siguientes: S. Laschi et al.^[63] emplearon electrodos serigrafiados de oro para llevar a cabo la determinación de As(III) mediante SWASV en muestras de agua

con elevada sensibilidad; Yue-Shian et al.^[64] utilizaron electrodos serigrafiados de carbono modificados con nanopartículas de oro y Poli(L-Lactido) para la detección de As(III) mediante DPVASV; Silvia et al.^[65] llevaron a cabo la detección electroquímica de As(III) en agua utilizando electrodos serigrafiados de carbono modificados con nanopartículas de platino, obteniendo relativamente buena exactitud y muy buena precisión del método.

1.5. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo consiste en desarrollar y optimizar un sensor electroquímico para la determinación de As(III) en muestras de agua, empleando para ello electrodos serigrafiados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro.

Tanto la optimización de la superficie electródica nanoestructurada del sensor electroquímico desarrollado como la optimización de las condiciones de medida para la determinación de As(III) en muestras de agua, tendrán como finalidad obtener las mejores características analíticas posibles para dicha determinación, especialmente considerando el límite de detección, reproducibilidad, repetitividad y estabilidad del mismo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Equipos y materiales

2.1.1. Instrumentación

Para controlar el sistema de medida así como para llevar a cabo los análisis electroquímicos pertinentes se utilizó un potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 12, el cual está controlado mediante el software Autolab GPES versión 4.9.

Otro instrumento empleado fue una balanza analítica Mettler Toledo AB54, la cual se utilizó para llevar a cabo la preparación de las disoluciones requeridas para cada uno de los estudios realizados.

Para la caracterización microscópica de los electrodos de trabajo modificados con nanopartículas de oro se empleó un Microscopio Electrónico de Barrido JEOL 6610LV.

2.1.2. Electrodos

Para la realización del presente trabajo se han utilizado electrodos serigrafiados de dos tipos: DRP-110 y DRP-220AT (DropSens).

Tras comentar en el apartado **1.1.1. Electrodos serigrafiados** las características principales que presentan este tipo de electrodos, cabe decir que la celda electroquímica de la que disponen engloba un sistema de tres electrodos (electrodo de trabajo, electrodo de referencia y electrodo auxiliar) donde cada uno de ellos presenta un tamaño y disposición diferente sobre el sustrato cerámico a la vez que realiza una función diferente en el sistema.

La diferencia entre los dos tipos de electrodos serigrafiados empleados reside en el material con el que está fabricado tanto el electrodo de trabajo como el electrodo auxiliar. En el DRP-110 tanto el electrodo de trabajo como el auxiliar están fabricados con tinta de carbono, mientras que en el DRP-220AT ambos electrodos están fabricados con tinta de oro. En ambos tipos de electrodos, tanto el electrodo de referencia como las conexiones eléctricas presentes en los mismos están fabricados con tinta de plata.

Como interfase entre los electrodos serigrafiados y el sistema potenciostático se utilizó un conector DropSens DSC.

2.2. Reactivos y disoluciones

2.2.1. Reactivos utilizados para la elección del medio electrolítico

- Ácido clorhídrico fumante (37%) (Merck).

- Ácido sulfúrico (95-97%) (Merck).
- Ácido perclórico (70-72%) (Merck).
- Ácido nítrico (69%) (Prolabo).
- Cloruro sódico (99%) (SIGMA)

2.2.2. Reactivos utilizados para la nanoestructuración de los electrodos serigrafiados

a) Con nanopartículas de oro:

Disolución estándar de ácido tetracloroaurato (III) (Merck) (1.000 ± 0.002 g de tetracloroaurato (III) en 500 mL de HCl 2.42 M). A partir de esta disolución estándar se prepararon disoluciones en HCl 0.2 M.

b) Con nanotubos de carbono:

- Dispersión de nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos carboxilo, MWCNT-COOH (1 mg/mL) (Nanocyl) en una mezcla al 10% de nafión/etanol.
- Etanol (Merck).
- Nafión en una mezcla al 5% de alcoholes alifáticos/agua (Aldrich).

c) Con nanofibras de carbono:

- Dispersión de nanofibras de carbono funcionalizadas con grupos carboxilo (0.1 mg/mL) en agua. Dichas nanofibras de carbono fueron proporcionadas por el Grupo Antolín.

d) Con óxido de grafeno:

El óxido de grafeno fue proporcionado por el Instituto Nacional del Carbón (INCAR) en Oviedo. Brevemente, estos óxidos se sintetizan a partir de breas de antraceno que son tratadas mediante pirolisis para obtener coque y, tras un proceso de calentamiento a alta temperatura (2800°C) en atmósfera de argón, se consigue obtener grafito. Este grafito se convierte en óxido de grafito siguiendo el método de Hummers, y tras un ataque final mediante ultrasonidos, se obtienen láminas de óxido de grafeno. Para la nanoestructuración de los electrodos serigrafiados de carbono con óxido de grafeno se empleó:

- Dispersión de óxido de grafeno (1 mg/mL) en agua.

- Cloruro potásico (Merck). A partir de éste se preparó una disolución de KCl 1M, la cual fue utilizada como reactivo de trabajo.
- Ácido sulfúrico (95-97%) (Merck).

Tanto el cloruro potásico como el ácido sulfúrico fueron empleados para llevar a cabo la nanoestructuración de los electrodos serigrafiados de carbono con óxido reducido electroquímicamente.

2.2.3. Reactivos utilizados para el estudio de interferencias

- Patrón de bismuto para ICP (CRM) de concentración (999±2) mg/L en HNO₃ 5% w/w (Fluka analytical).
- Patrón de plomo para ICP (CRM) de concentración (1000±2) mg/L en HNO₃ 2% w/w (Fluka analytical).
- Nitrato de cobre (II) trihidratado (99-104%) (SIGMA-ALDRICH).
- Sulfato de níquel (II) hexahidratado (SIGMA).
- Cloruro de hierro (III) hexahidratado (97%) (SIGMA-ALDRICH).
- Solución patrón de cadmio de concentración (998±2) mg/L (Merck).
- Solución patrón de Zinc de concentración (1000±2) mg/L (Merck).

2.2.4. Reactivos utilizados en el análisis de arsénico

- Ácido clorhídrico fumante (37%) (Merck).
- Ácido ascórbico (99%) (SIGMA).
- Patrón de arsénico para ICP (CRM) de concentración (1000±3) mg/L que contiene un 2% w/w de HCl (SIGMA-ALDRICH). A partir de éste se prepararon, diariamente, disoluciones de arsénico de distintas concentraciones en agua con concentración constante de HCl 0.05 M y de ácido ascórbico 0.025 mg/L.

2.2.5. Reactivos generales

- Ácido clorhídrico fumante (37%) (Merck).
- Durante todo el trabajo se empleó agua ultrapura obtenida con un sistema de purificación Milli-Q Direct-Q™.

2.3. Métodos y procedimientos analíticos

2.3.1. Nanoestructuración con nanopartículas de oro

La metodología empleada para llevar a cabo la nanoestructuración de los electrodos serigrafiados de carbono con nanopartículas de oro fue la desarrollada por Martínez-Paredes et al.^[25]. Como ya se comentó en el apartado **1.2.1. Electroodos serigrafiados modificados con nanopartículas metálicas**, esta metodología consiste en aplicar una corriente negativa (de reducción) constante al electrodo de trabajo durante un tiempo determinado para generar así nanopartículas de oro estables y reproducibles.

En el presente trabajo, esta metodología se llevó a cabo añadiendo, de forma independiente en distintos electrodos serigrafiados, 45 μL de una disolución de HAuCl_4 de diferente concentración (0.1 mM, 0.5 mM, 0.55 mM, 0.75 mM y 1 mM) preparadas en HCl 0.2M. Con la finalidad de obtener la nanoestructura más óptima se aplicaron diferentes tiempos e intensidades de reducción. Tras la aplicación de la corriente de reducción durante un tiempo determinado, se aplicó un potencial de 0.1 V durante 120 s con el fin de eliminar el posible hidrógeno formado en la generación de las nanopartículas de oro, ya que éste puede interferir en posteriores medidas. Esta combinación de aplicación de una intensidad de reducción seguida de un potencial constante es posible mediante la generación de un *Project* en el software del equipo GPES. Tras finalizar la electrodeposición, los electrodos serigrafiados de carbono fueron lavados con agua Milli-Q.

2.3.2. Nanoestructuración con nanotubos de carbono

El proceso de nanoestructuración de electrodos serigrafiados de carbono con nanotubos de carbono consistió en depositar una gota de 10 μL sobre el electrodo de trabajo de una dispersión de MWCNT-COOH (0.1 mg/mL) en una mezcla al 1% de nafiión/etanol preparada por dilución con agua de la dispersión de MWCNT-COOH (1 mg/mL). Una vez depositada la gota, se dejaron secar los electrodos a temperatura ambiente hasta el día siguiente. Tras su secado completo se lavaron con agua Milli-Q. Esta nanoestructuración fue optimizada en trabajos anteriores del grupo de investigación.

2.3.3. Nanoestructuración con nanofibras de carbono

El proceso de nanoestructuración de electrodos serigrafiados de carbono con nanofibras de carbono consistió en depositar una gota de 10 μL sobre el electrodo de trabajo de una dispersión de CNFs (0.1 mg/mL) en agua. Una vez depositada la gota, se dejaron secar los electrodos a temperatura ambiente hasta el día siguiente. Tras su secado completo se lavaron con agua Milli-Q. Esta nanoestructuración fue optimizada en trabajos anteriores del grupo de investigación.

2.3.4. Nanoestructuración con óxido de grafeno

Para la nanoestructuración de electrodos serigrafiados de carbono con óxido de grafeno se depositó una gota de 10 μL sobre el electrodo de trabajo de una dispersión de GO (0.1 mg/mL) en agua preparada por dilución acuosa de la dispersión de GO (1 mg/mL). Una vez depositada la gota, se dejaron secar los electrodos a temperatura ambiente hasta el día siguiente. Tras su secado completo se lavaron con agua Milli-Q.

Los electrodos serigrafiados de carbono fueron también modificados con óxido de grafeno reducido electroquímicamente. Esta nanoestructuración consistió en depositar una gota de 45 μL sobre la celda electroquímica de una dispersión de GO (0.5 mg/mL) en KCl preparada a partir de la dispersión de GO (1 mg/mL). Una vez depositada la gota, se aplicó una corriente de reducción (-100 μA) durante 120 s para llevar a cabo la reducción electroquímica del óxido de grafeno. Tras dicha reducción, los electrodos modificados fueron lavados con agua Milli-Q. Esta nanoestructuración fue optimizada en trabajos anteriores del grupo de investigación.

2.3.5. Nanoestructuración híbrida

En el presente trabajo se han utilizado diferentes nanoestructuras híbridas sobre electrodos serigrafiados de carbono tales como:

- SPCNTnAuE: Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con nanotubos de carbono de acuerdo a la metodología comentada en el apartado **2.3.2. Nanoestructuración con nanotubos de carbono**, y sobre esta superficie nanoestructuración con oro según las condiciones óptimas establecidas en el apartado **2.3.1. Nanoestructuración con nanopartículas de oro**.
- SPCNFnAuE: Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con nanofibras de carbono de acuerdo a la metodología comentada en el apartado **2.3.3. Nanoestructuración con nanofibras de carbono**, y sobre esta superficie nanoestructuración con oro según las condiciones óptimas establecidas en el apartado **2.3.1. Nanoestructuración con nanopartículas de oro**.
- SPCOGnAuE: Electrodo serigrafiado de carbono nanoestructurado con óxido de grafeno de acuerdo a la metodología comentada en el apartado **2.3.4. Nanoestructuración con óxido de grafeno**, y sobre esta superficie nanoestructuración con oro según las condiciones óptimas establecidas en el apartado **2.3.1. Nanoestructuración con nanopartículas de oro**.

2.3.6. Fundamento del sensor electroquímico

El sensor electroquímico diseñado permite llevar a cabo la determinación de arsénico mediante Voltamperometría de redisolución anódica. Esta técnica consiste en depositar el As sobre la superficie electródica por aplicación de un potencial constante

durante un tiempo determinado produciendo su reducción a As elemental, y posteriormente, reoxidar el arsénico previamente depositado sobre el electrodo de trabajo mediante una técnica voltamperométrica adecuada, obteniendo así una intensidad de corriente que estará relacionada con la concentración de As(III) en la muestra.

2.3.7. Análisis de arsénico en agua de grifo y agua embotellada

Para llevar a cabo el análisis de arsénico en muestras de agua de grifo y de agua embotellada, éste se deposita sobre el electrodo de trabajo gracias a la aplicación de un potencial constante de -0.6 V durante 150 s. A continuación se lleva a cabo la reoxidación del arsénico previamente depositado realizando un barrido anódico desde -0.2 V hasta 0.2 V mediante voltamperometría de onda cuadrada, SWV (frecuencia = 20 Hz; amplitud = 20 mV; step = 5 mV). Para realizar todas las medidas se empleó una gota de 45 μ L.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización del proceso electroquímico del arsénico sobre diferentes plataformas electródicas.

3.1.1. Comportamiento del arsénico sobre diferentes plataformas electródicas.

Se estudió, mediante voltamperometría cíclica, el comportamiento de 200 ppm de As^{3+} sobre diferentes plataformas electródicas con la finalidad de ver con cuál de ellas se obtiene el proceso electroquímico más adecuado.

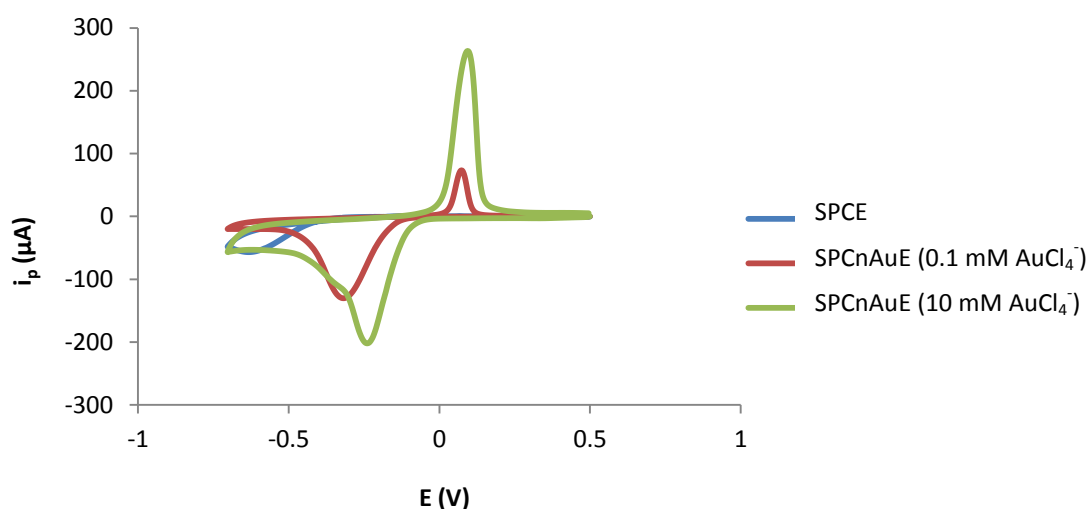


Figura 3.1. Voltamperogramas cíclicos obtenidos para 200 ppm de As^{3+} en distintas plataformas electródicas.

Como se puede observar en la **Figura 3.1**, en el caso de los electrodos serigrafiados de carbono (SPCE) no se observa el proceso de oxidación del arsénico mientras que en el caso de los electrodos serigrafiados de carbono en los que se han depositado nanopartículas de oro (SPCnAuE) dicho proceso sí está presente. Dicha oxidación es producida tras un proceso de deposición del $As(0)$ (reducido desde $As(III)$) sobre las nanopartículas de oro que se encuentran sobre la superficie electródica, de manera que la señal analítica se podría realzar en comparación con la obtenida en la reducción tras la aplicación de un potencial de preconcentración durante un tiempo adecuado. Con lo cual el proceso de interés es la oxidación del $As(0)$, que ocurre a 0.1 V. Teniendo en cuenta que dicho proceso se observa únicamente cuando los electrodos serigrafiados de carbono están modificados con nanopartículas de oro, se emplearon éstos para llevar a cabo el análisis de arsénico.

Los voltamperogramas a concentraciones más bajas de $As(III)$ se muestran en la **Figura 3.2**. Se puede observar como un proceso catódico sigue observándose incluso cuando se barre solamente el blanco. Este proceso es la reducción del oxígeno que se encuentra catalizada por las nanopartículas de oro, ya que en las medidas con carbono

aparece a un potencial más negativo y con menor intensidad. Este proceso no deja observar la reducción del As(III) a As(0) de manera inequívoca, pero si parece aumentar cuando aumenta la concentración de arsénico en la disolución de medida, por lo que se deduce que el proceso de reducción del arsénico aparece a un potencial cercano a -0.3 V.

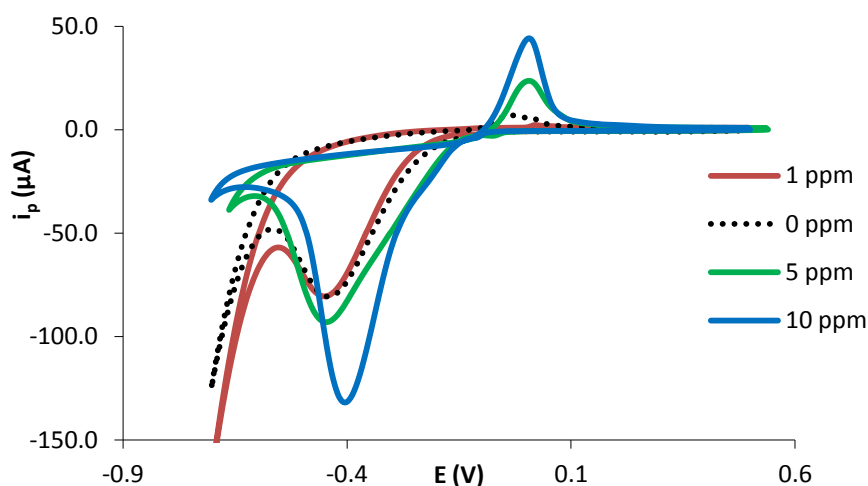


Figura 3.2. Voltamperogramas cíclicos obtenidos para 0, 1, 5 y 10 ppm de As^{3+} utilizando electrodos serigrafiados nanoestructurados.

Aunque no se presenta ningún voltamperograma para los electrodos serigrafiados de oro (AT220), también fueron utilizados durante el trabajo. Sin embargo, resultados pocos reproducibles entre los diferentes lotes de este tipo de electrodos fueron el motivo por el que el trabajo fue solamente basado en electrodos serigrafiados de carbono mucho más reproducibles.

3.1.2. Estudio del control del proceso

Un estudio fundamental antes de llevar a cabo un determinado análisis consiste en saber si el proceso electroquímico que tiene lugar sobre la superficie del electrodo está controlado por difusión o por adsorción. Dicho estudio se realizó, mediante voltamperometría cíclica, midiendo la señal analítica de 0.5 ppm de As^{3+} , tras su deposición durante 30 s a -0.4 V, a distintas velocidades de barrido (0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 V/s) y haciendo uso de electrodos serigrafiados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas por aplicación de una corriente de reducción de -100 μA durante 60 s a una disolución de $AuCl_4^-$ 1 mM en HCl 0.2 M.

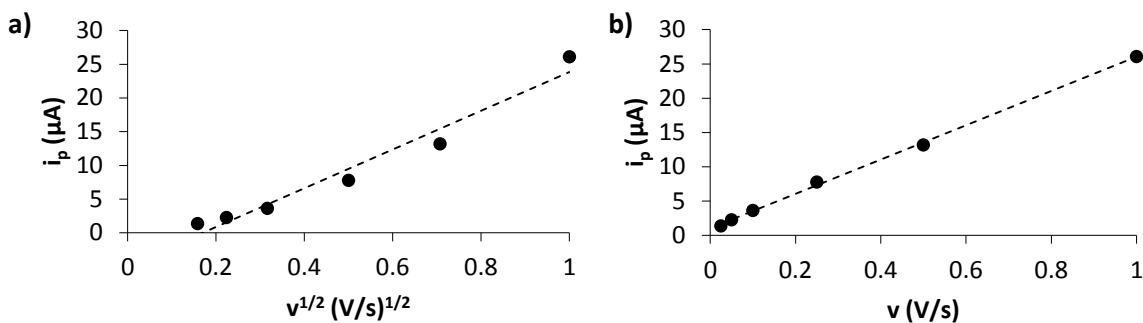


Figura 3.3. **a)** Representación de las intensidades de pico anódicas frente a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido; **b)** Representación de las intensidades de pico anódicas frente a la velocidad de barrido.

Teniendo en cuenta la ecuación de Randles-Sevcik (ver **Ecuación 1**), si la intensidad de pico varía linealmente con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, el proceso estará controlado por difusión. Si por el contrario la intensidad de pico varía linealmente con la velocidad de barrido el proceso estará controlado por adsorción.

Según los datos obtenidos (ver **Figura 3.3**), se obtiene una mayor linealidad en el caso de la figura b), lo cual implica que el proceso está controlado por la adsorción de la especie sobre la superficie electrodo. Tras la reducción del As^{3+} a $\text{As}(0)$ durante la etapa de deposición, el $\text{As}(0)$ es preconcentrado en el electrodo y queda adsorbido a su superficie. La velocidad de la etapa de redisolución que consiste en la oxidación del $\text{As}(0)$ de nuevo a As^{3+} estará limitada por la desorción del arsénico de la superficie electrodo para difundir al seno de la disolución.

3.2. Determinación de arsénico utilizando electrodos serigrafados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro

Antes de llevar a cabo la determinación de arsénico en diferentes aguas, se deben optimizar distintos parámetros que influyen en la señal analítica del mismo con la finalidad de conseguir las condiciones más idóneas para llevar a cabo su análisis en dichas muestras.

3.2.1. Optimización de las condiciones de medida y de la superficie electrodo

Elección de la técnica electroanalítica

Para llevar a cabo el estudio del proceso electroquímico al que da lugar el arsénico sobre diferentes plataformas electrodo se utilizó voltamperometría cíclica. Sin embargo, esta técnica es menos sensible en comparación con otras técnicas voltamperométricas tales como la voltamperometría de onda cuadrada (SWV) o la voltamperometría diferencial de pulso (DPV). Por ello, para la determinación de

concentraciones muy bajas de este metal, se han de emplear algunas de estas técnicas mencionadas para la realización del análisis.

Se realizó un estudio exhaustivo de estas dos técnicas electroanalíticas ya que tanto una como otra pueden ser utilizadas para el paso de redisolución tras la preconcentración del As sobre la superficie electródica. Para ello se emplearon electrodos serigrafados de carbono modificados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas por aplicación de una corriente de reducción de $-100 \mu\text{A}$ durante 100 s a una disolución de AuCl_4^- 0.1 mM en HCl 0.2 M.

Para comparar una técnica con otra se procedió a realizar un calibrado con cada una de ellas, midiendo en todos los casos la intensidad de pico para distintas disoluciones que contienen una concentración variable de As(III) y una concentración constante de HCl, siendo ésta de 0.1 M. El objetivo fue la comparación entre técnicas y no obtener una calibración exhaustiva del método. El calibrado resultante para cada una de las técnicas es el que se muestra a continuación en la **Figura 3.4**:

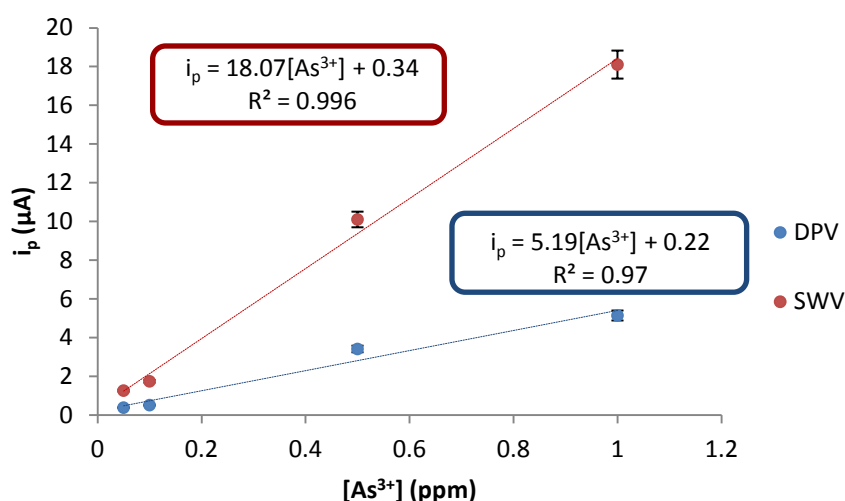


Figura 3.4. Calibrado obtenido para cada una de las técnicas voltamperométricas de estudio, siendo en ambos casos el t_{dep} de 120 s.

Si se observa cada una de las rectas de calibrado obtenida para cada técnica voltamperométrica en función del tiempo de deposición empleado en cada una de ellas, se obtienen mayores pendientes cuando dicho tiempo es de 120 s, lo cual resulta de gran interés ya que una mayor pendiente implica mayor capacidad de discriminar entre distintas concentraciones, es decir, una mayor sensibilidad. Teniendo en cuenta el tiempo de deposición de 120 s, la mayor pendiente se observa cuando se emplea la técnica de voltamperometría de onda cuadrada, lo cual implica que dicha técnica es más sensible que la de voltamperometría diferencial de pulso, y en consecuencia, dicha técnica fue la escogida como la técnica voltamperométrica más idónea para llevar a cabo el análisis de arsénico en agua.

Elección del medio electrolítico

Tras la revisión bibliográfica se encontró que el medio más utilizado en los trabajos publicados era HCl. Se comprobó el efecto en la señal de redisolución de diferentes medios ácidos (HCl, H₂SO₄, HNO₃, HClO₄) en una concentración de 0.1 M y, también, esos mismos medios con 0.5 M NaCl añadido, para ver el efecto de un medio con Cl⁻. No se obtuvieron diferencias significativas entre los diferentes medios ácidos, pero la señal disminuyó cuando se añadía NaCl a la disolución.

Como el patrón de As³⁺ comercial está disuelto en HCl, se decidió elegir HCl como el medio electrolítico y se realizó un pequeño estudio utilizando diferentes concentraciones de HCl con la finalidad de elegir la concentración más adecuada de este medio para la posterior determinación de arsénico en agua.

Al igual que en el estudio realizado para la elección de la técnica electroanalítica, éste también se llevó a cabo haciendo uso de electrodos serigrafados de carbono modificados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas por aplicación de una corriente de reducción de -100 µA durante 100 s a una disolución de AuCl₄⁻ 0.1 mM en HCl 0.2 M.

Las intensidades de pico obtenidas para distintas disoluciones que contienen una concentración constante de 250 ppb de As(III) y diferentes concentraciones de HCl (0.01 M, 0.05 M y 0.1 M) se muestran en la **Figura 3.5**:

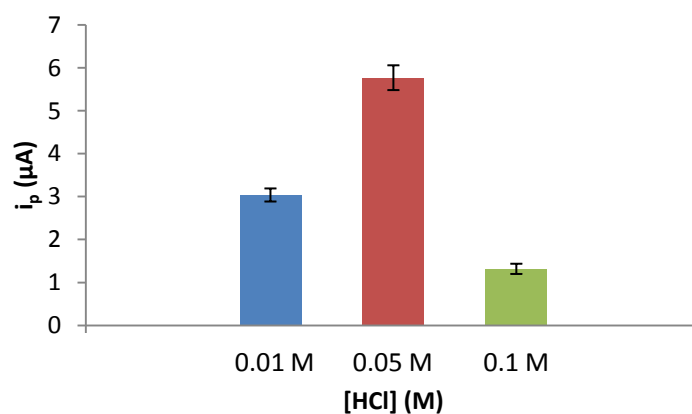


Figura 3.5. Respuesta analítica para 250 ppb de As³⁺ y distintas concentraciones de HCl.

Según se observa en la **Figura 3.5**, la señal analítica para una concentración de 250 ppb de As³⁺ varía con la concentración de HCl. Se observa un aumento de la señal hasta una concentración de 0.05 M, mientras que para concentraciones mayores se observa una disminución muy significativa de la señal. Este hecho parece indicar que la concentración del medio de medida es importante, y que además una alta concentración de Cl⁻ podría ser perjudicial para el análisis. La máxima señal se obtiene para una concentración de HCl de 0.05 M, por ello, se decide utilizar esta

concentración de HCl como medio electrolítico idóneo para la realización del análisis de arsénico en agua.

Optimización de la nanoestructura de oro

Se llevó a cabo un estudio del comportamiento del arsénico sobre diferentes nanoestructuras de oro. Dichas nanoestructuras fueron generadas sobre los electrodos serigrafiados de carbono siguiendo la metodología comentada en el apartado **2.3.1. Nanoestructuración con nanopartículas de oro**, la cual consistía en añadir 45 μL de una disolución de AuCl_4^- de diferente concentración (0.1 mM, 0.5 mM, 0.55 mM, 0.75 mM y 1 mM) preparadas en HCl 0.2M, y posteriormente aplicar diferentes corrientes para la reducción del AuCl_4^- (-10 μA , -50 μA , -55 μA , -75 μA y -100 μA) y diferentes tiempos de reducción (60 s, 120 s, 180 s y 300 s).

Para la elección de la nanoestructura más adecuada se realizó un análisis por voltamperometría de onda cuadrada (entre -0.4 y 0.4 V) de una concentración determinada de arsénico (250 ppb), y con un tiempo de deposición a -0.6 V de 130 s (estos parámetros fueron evaluados previamente para elegir los más adecuados para esta optimización). En dicho análisis cada una de las medidas se realizó por triplicado.

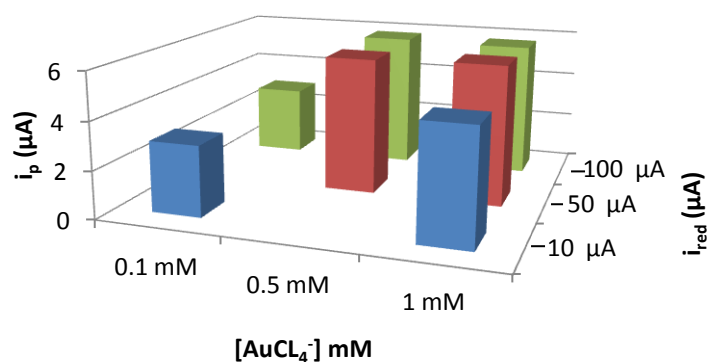


Figura 3.6. Respuesta analítica obtenida con los diferentes parámetros variables en la generación de la nanoestructura de oro con un tiempo de reducción de 60 s.

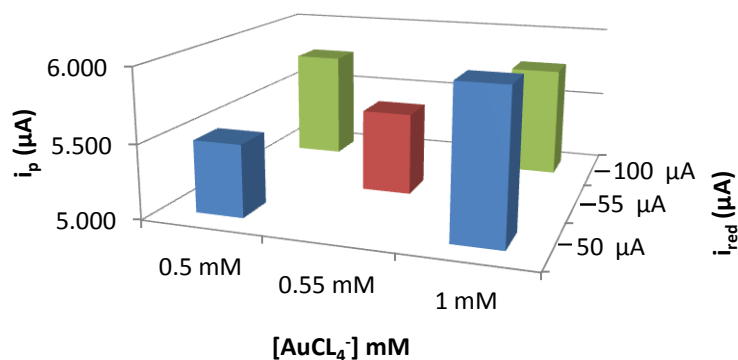


Figura 3.7. Respuesta analítica obtenida con los diferentes parámetros variables en la generación de la nanoestructura de oro con un tiempo de reducción de 180 s.

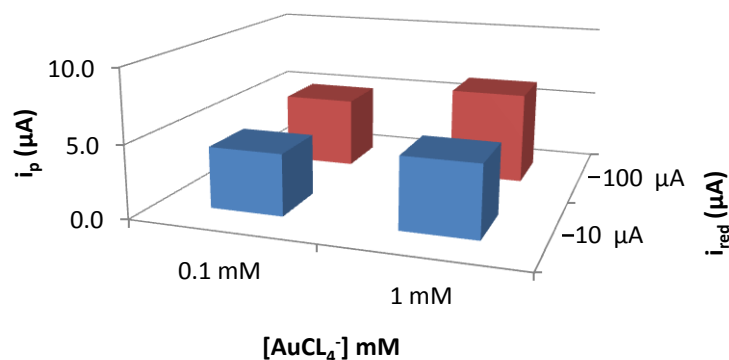


Figura 3.8. Respuesta analítica obtenida con los diferentes parámetros variables en la generación de la nanoestructura de oro con un tiempo de reducción de 300 s.

En las figuras anteriores se puede observar como varía la señal analítica del As^{3+} cuando se modifican los diferentes parámetros requeridos para la generación de las nanopartículas de oro. De forma general, se puede observar que al aumentar tanto la concentración de AuCl_4^- como la corriente de reducción a cada tiempo de reducción aumenta la señal analítica del As^{3+} , con lo cual, según los datos obtenidos sería necesario utilizar una gran cantidad de oro para producir una mayor señal. Sin embargo, la utilización de concentraciones superiores a 1 mM de AuCl_4^- podría producir que el oro depositado se comportase como una película macroscópica, lo cual implicaría una pérdida de las útiles propiedades que presentan las nanopartículas de oro como material electrodo. Además, el aumento de la cantidad de oro electrodepositado en la superficie electrodo resultó en un aumento de la corriente capacitiva en la medida del arsénico posterior. Esta mayor corriente capacitiva influiría negativamente en la medida de concentraciones muy pequeñas de arsénico. Principalmente por este motivo, se escogió como nanoestructura de oro óptima para la determinación de arsénico la generada mediante la aplicación de una corriente de reducción de $-100 \mu\text{A}$ durante 60 s a una disolución de AuCl_4^- de concentración 1 mM. Aunque esta nanoestructura no era la que mayor señal analítica producía, la relación señal/ruido era la más adecuada.

Para la caracterización estructural de la superficie electrodo modificada con la nanoestructura de oro óptima se tomaron imágenes de SEM a 30000 y 8500 aumentos. Se pueden observar dos tipos principales de nanopartículas de oro: unas con un mayor diámetro de alrededor $104 \pm 11 \text{ nm}$ y otras más pequeñas y en mayor cantidad con un diámetro alrededor de $68 \pm 5 \text{ nm}$.

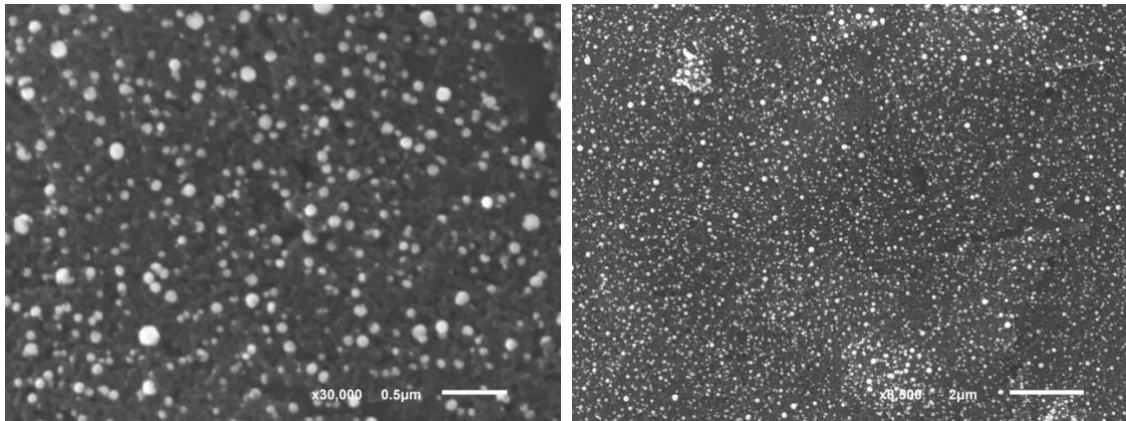


Figura 3.9. Imágenes de SEM a 30000 y 8500 aumentos para SPCnAuEs, siendo éstas generadas por aplicación de una corriente de reducción de $-100 \mu\text{A}$ durante 60 s a una disolución de AuCl_4^- de concentración 1 mM.

Influencia del potencial de deposición y tiempo de deposición en la señal analítica

Tras escoger la nanoestructura de oro más óptima, se tuvo que optimizar tanto el potencial de deposición como el tiempo de deposición del arsénico sobre dicha nanoestructura, ya que ambos parámetros son de gran importancia para llevar a cabo la preconcentración del arsénico sobre la superficie electroódica. El potencial de deposición es un parámetro crítico que influye en la selectividad del método mientras que el tiempo de deposición influye, además, en la intensidad de la señal analítica medida y en el rango lineal que puede presentar el sensor electroquímico.

Al igual que en los casos anteriores, este estudio se realizó utilizando los electrodos serigrafiados de carbono modificados con nanopartículas de oro en las condiciones optimizadas.

En primer lugar se llevó a cabo la optimización del potencial de deposición. Para ello se realizó un estudio para diferentes potenciales de deposición (desde -0.8 V hasta -0.2 V) utilizando una concentración de arsénico de 150 ppb y fijando un tiempo de deposición de 120 s.

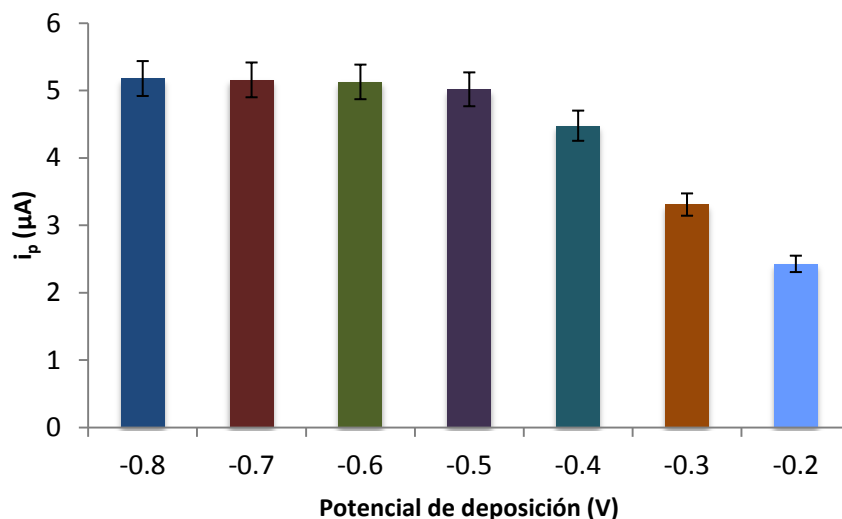


Figura 3.10. Comportamiento de la señal analítica para 150 ppb de As^{3+} según se varía el potencial de deposición.

Según los datos obtenidos para este estudio (ver **Figura 3.10**) se escogió como potencial de deposición óptimo para el análisis de arsénico el de -0.6 V. Se escogió dicho potencial de deposición ya que, a pesar de no existir diferencias significativas entre la señal obtenida a este potencial y las obtenidas a -0.7 y -0.8 V, como se dijo anteriormente la elección de un potencial muy negativo podría afectar a la selectividad del sensor electroquímico como consecuencia de que aumenta la probabilidad de que otras especies se reduzcan.

Una vez optimizado el potencial de deposición, se realizó un estudio para diferentes tiempos de deposición (desde 150 hasta 450 s), utilizando la misma concentración de arsénico (150 ppb) y fijando dicho potencial a -0.6 V.

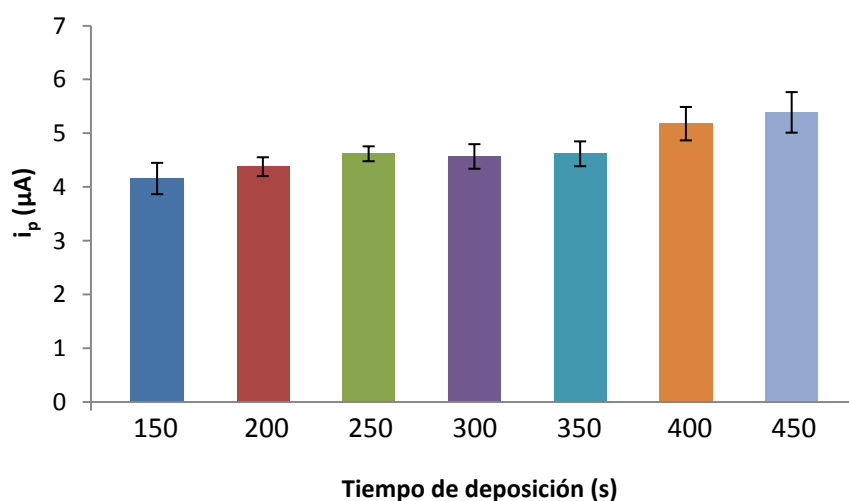


Figura 3.11. Comportamiento de la señal analítica para 150 ppb de As^{3+} según se varía el tiempo de deposición.

Según los datos obtenidos para este estudio (ver **Figura 3.11**) se escogió como tiempo de deposición óptimo para llevar a cabo el análisis de arsénico el de 150 s. Se escogió este tiempo de deposición como el óptimo ya que el aumento de señal para con el tiempo de deposición es pequeño y el aumento del tiempo de análisis no resultaría en una mejora de la sensibilidad significativa. Además, como se dijo anteriormente, la elección de un tiempo de deposición más elevado podría dar lugar a señales mayores pero el rango lineal de la respuesta del sensor electroquímico podría ser menor como consecuencia de que la superficie de nanopartículas de oro podría saturarse. Por otro lado, el aumento del tiempo de deposición también produce un aumento en las señales obtenidas en el fondo a potenciales cercanos, por lo que podrían tener un efecto negativo en la determinación de concentraciones pequeñas de arsénico.

Influencia del ácido ascórbico

Una vez optimizada la nanoestructura de oro, se llevó a cabo un pequeño estudio sobre la influencia que presentaba la presencia de ácido ascórbico sobre la señal analítica proporcionada por el As^{3+} . El ácido ascórbico es una especie que se ha utilizado previamente en la disolución de medida para la determinación de arsénico^{66,67}. Se utiliza principalmente como reductor de la especie As(V) para asegurar que todo el arsénico en la muestra se encuentra como As(III) . Para estudiar su efecto, y haciendo uso de electrodos serigrafados de carbono modificados con nanopartículas de oro generadas de acuerdo a los parámetros optimizados anteriormente, se evaluó la señal analítica del As^{3+} en distintas disoluciones que contenía una concentración de arsénico constante de 150 ppb y concentraciones variables de ácido ascórbico (0.01, 0.025, 0.05 y 0.1 mg/L).

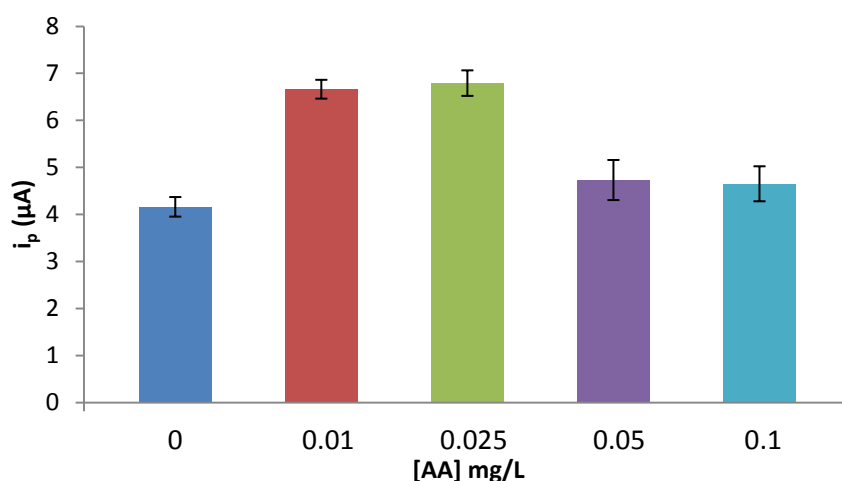


Figura 3.12. Comportamiento de la señal analítica para 150 ppb de As^{3+} en función de la concentración de AA.

Según los datos obtenidos en este estudio (ver **Figura 3.12**), la presencia de ácido ascórbico incrementa la señal analítica del As^{3+} con respecto a la obtenida en ausencia del mismo. En este caso, este aumento no se atribuye a que exista $As(V)$ en disolución (ya que se utilizan muestras sintéticas de $As(III)$) sino que la adición de AA parece mejorar la resolución de la señal analítica y se consigue una mejora en la detección de los picos. La mayor señal es obtenida cuando la concentración de dicho ácido es de 0.025 mg/L. Debido a lo anterior, se empleará ácido ascórbico en una concentración de 0.025 mg/L para llevar a cabo los análisis de arsénico.

Efecto de un pretratamiento electroquímico sobre la señal analítica

Otro estudio realizado tras la optimización de la nanoestructura de oro fue observar el efecto que producía, sobre la señal analítica del As^{3+} , la realización de un pretratamiento sobre la superficie electroquímica nanoestructurada antes o después de llevar a cabo la preconcentración del arsénico sobre la misma. Para ello, se hizo uso de los electrodos serigrafados de carbono modificados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas de acuerdo a los parámetros de intensidad de reducción, tiempo de reducción y concentración de $AuCl_4^-$ optimizados anteriormente.

Para llevar a cabo dicho estudio se realizaron dos pruebas. La primera de ellas consistió en realizar, en primer lugar, la preconcentración del arsénico sobre la superficie electroquímica nanoestructurada (a -0.6 V durante 150 s) y posteriormente el pretratamiento de dicha superficie (a -0.2 V durante 30 y 60 s). La segunda prueba consistió en realizar inicialmente el pretratamiento de la superficie electroquímica nanoestructurada (a 0.4, 0.5, y 0.6 V durante 30 s) con la finalidad de activar las nanopartículas presentes en dicha superficie, y posteriormente la preconcentración del arsénico sobre ésta.

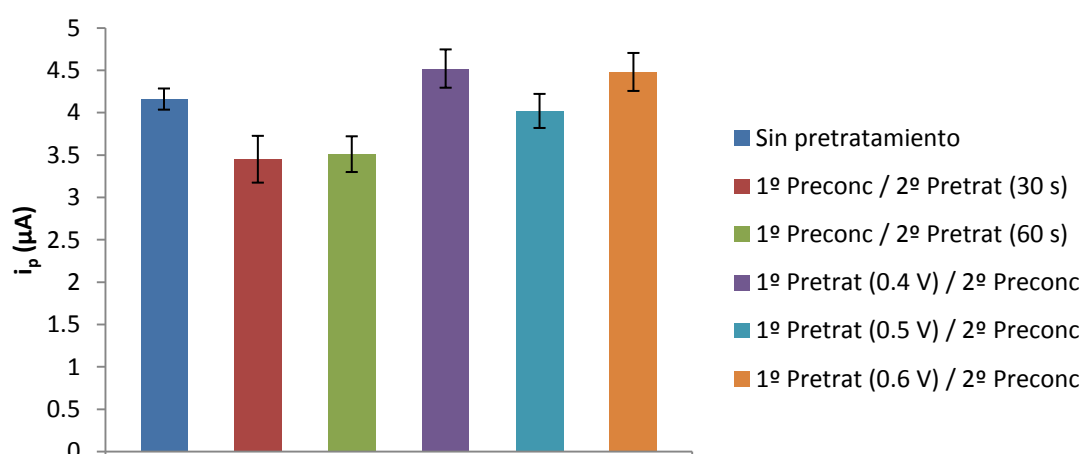


Figura 3.13. Comportamiento de la señal analítica para 50 ppb de As^{3+} en función de la prueba realizada.

Como se puede observar en la **Figura 3.13**, las señales analíticas obtenidas mediante el primer pretratamiento son inferiores con respecto a la obtenida cuando

no se realiza ningún pretratamiento de la superficie electroódica nanoestructurada. Sin embargo, las señales obtenidas mediante el segundo pretratamiento no difieren significativamente al caso de no realizar ningún pretratamiento. Por ello, se decidió no realizar ningún tipo de pretratamiento sobre la superficie del electrodo modificado con nanopartículas de oro.

Estudio de nanoestructuras híbridas

Se realizó un pequeño estudio a cerca de la señal analítica del As^{3+} obtenida con distintas nanoestructuras híbridas, las cuales fueron comentadas en el apartado **2.3.5. Nanoestructuración híbrida.**

Para la realización del mismo, se evaluó la señal analítica de una disolución de 50 ppb de As(III) en HCl 0.05 M para las diferentes nanoestructuras híbridas generadas sobre los electrodos serigrafiados de carbono.

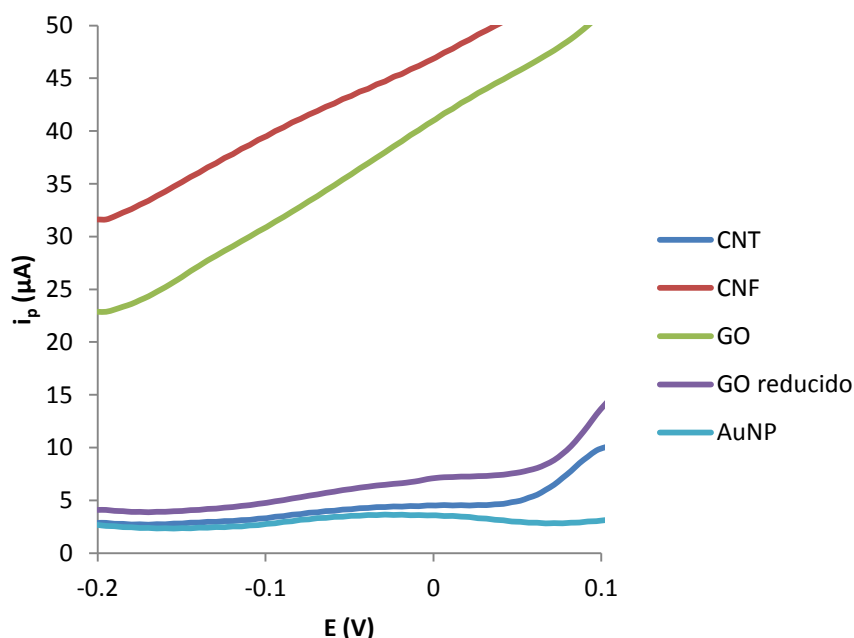


Figura 3.14. Voltamperogramas obtenidos para 50 ppb de As^{3+} en las diferentes nanoestructuras híbridas generadas sobre los SPCEs.

Dicho estudio no fue exitoso puesto que con los CNTs y el GO reducido electroquímicamente a penas se observaba el pico correspondiente al arsénico, y en el caso de las CNFs y el GO dicho pico no aparecía por la elevada contribución de la corriente capacitiva. Con lo cual, se determinó que la nanoestructura más idónea para llevar a cabo el análisis de As^{3+} eran las nanopartículas de oro y se siguió utilizando este tipo de nanoestructuración durante el resto del trabajo. Las nanoestructuras híbridas pueden ser una buena herramienta en el análisis electroquímico de diferentes especies, sin embargo en este caso no parecen tener un efecto positivo en las condiciones experimentales utilizadas. Se debería realizar un exhaustivo estudio de

estas condiciones para obtener las más adecuadas para la determinación de arsénico, pero por falta de tiempo no fue posible.

Estudio de las características electroquímicas de la superficie electródica nanoestructurada

Para llevar a cabo el estudio de las características electroquímicas de la superficie electródica nanoestructurada se hizo uso de una disolución de ferrocianuro 500 μM en KCl 0.1 M.

Para la realización del mismo se evaluó la señal analítica de dicha disolución, mediante voltamperometría cíclica y a distintas velocidades de barrido (0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.65, 0.8, y 1 V/s), en tres electrodos serigrafiados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro (generadas en las condiciones óptimas) y en tres electrodos serigrafiados de carbono sin nanoestructurar, todo ello con la finalidad de determinar el área electroactiva de dichos electrodos cuando están o no nanoestructurados.

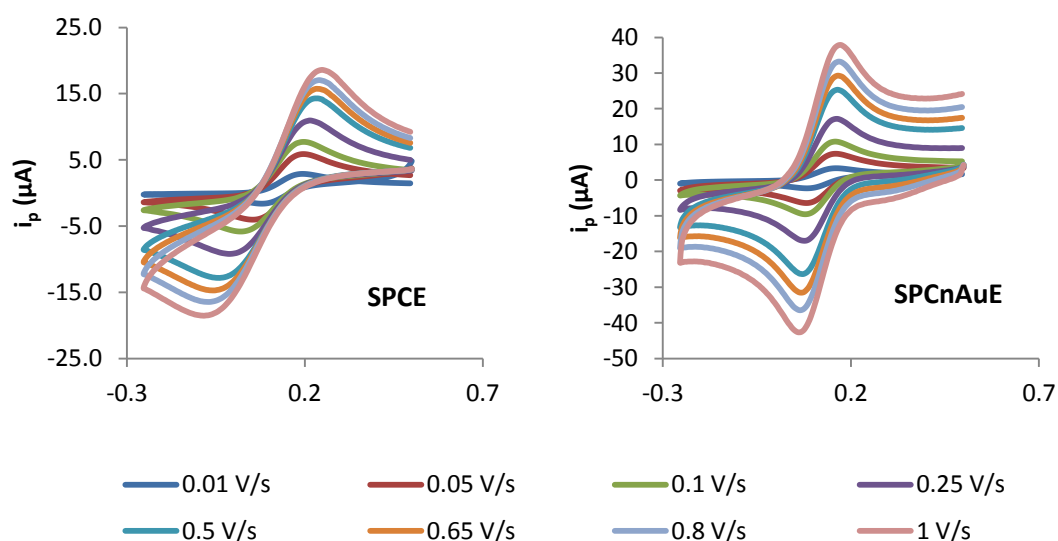


Figura 3.15: a) Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido haciendo uso de los SPCEs; b) Voltamperogramas cíclicos obtenidos a distintas velocidades de barrido haciendo uso de los SPCnAuEs.

| | SPCE | SPCnAuE |
|---|-------------------|-------------------|
| Área electroactiva (cm^2) | 0.045 ± 0.002 | 0.097 ± 0.009 |
| R_{ct} (Ω) | 434 ± 50 | 65 ± 8 |
| C_{dl} ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$) | 4.3 ± 0.6 | 1.1 ± 0.3 |

Tabla 1. Determinación del área electroactiva mediante SPCEs y SPCnAuEs.

Según los datos obtenidos en este estudio (ver **Tabla 1**), y teniendo en cuenta que en ambos casos se emplea el mismo electrodo (SPCEs) y por tanto igual área geométrica del electrodo de trabajo, se obtiene una mayor área electroactiva en el caso de los electrodos serigrafiados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro. Con lo cual, que las nanopartículas de oro hagan posible que la superficie efectiva del electrodo de trabajo sea mayor implica una mejora en la transferencia electrónica que tiene lugar durante el proceso electroquímico.

Para comprobar que realmente la nanoestructuración de los SPCEs modificados con nanopartículas de oro mejoraba la transferencia electrónica del proceso, se llevaron a cabo distintas medidas de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) mediante el software "Fra" (*Frequency Response Analyser*) haciendo uso de una disolución de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Dichas medidas se realizaron sobre dos SPCEs y dos SPCnAuEs.

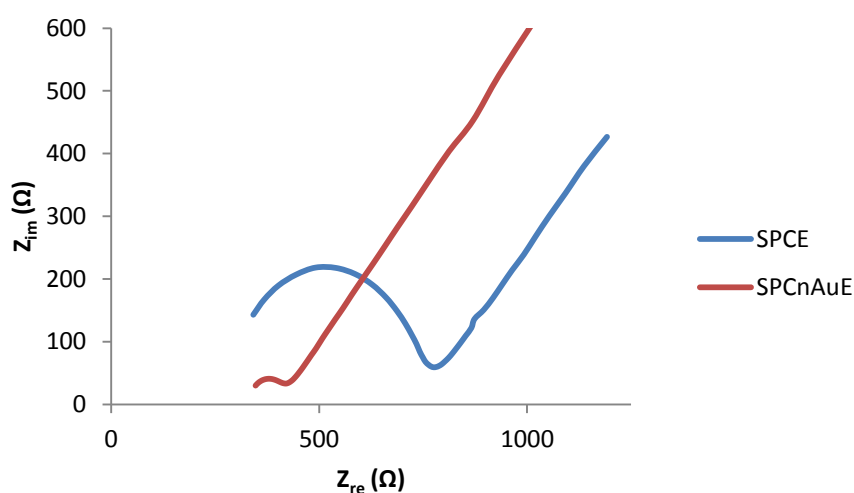


Figura 3.16. Medidas de impedancia de la celda de un SPCE y un SPCnAuE.

El radio de la curvatura indica la resistencia a la transferencia de carga, y un mayor radio de la misma implica una mayor resistencia a la transferencia de carga. Por ello, y según los datos obtenidos en este estudio (ver **Figura 3.16**), se puede concluir que la resistencia a la transferencia de carga es superior en el caso de los SPCEs en comparación con los SPCnAuEs. Esto implica que en estos últimos la transferencia de carga sea más rápida y esté más favorecida. Además, la capacitancia de la doble capa (C_{dl}), un parámetro relacionado con la señal del fondo, también disminuye en el caso de los SPCnAuEs. Los datos obtenidos mediante EIS tanto para la R_{ct} como la C_{dl} se muestran en la **Tabla 1**.

3.2.3. Estudio del comportamiento analítico

Tras la optimización de los parámetros más adecuados del sensor electroquímico nanoestructurado que afectan a la señal analítica del arsénico, se

evaluó la respuesta del mismo realizando un calibrado para diferentes disoluciones de concentraciones crecientes de arsénico preparadas en HCl 0.05 M y haciendo uso de los electrodos serigrafados de carbono nanoestructurados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas en las condiciones optimizadas anteriormente.

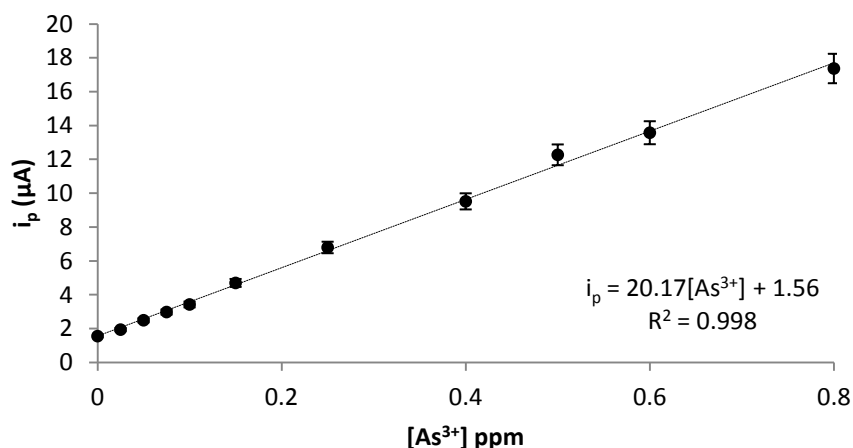


Figura 3.17. Representación del calibrado obtenido para concentraciones crecientes de As^{3+} haciendo uso de SPCnAuE como sensor electroquímico.

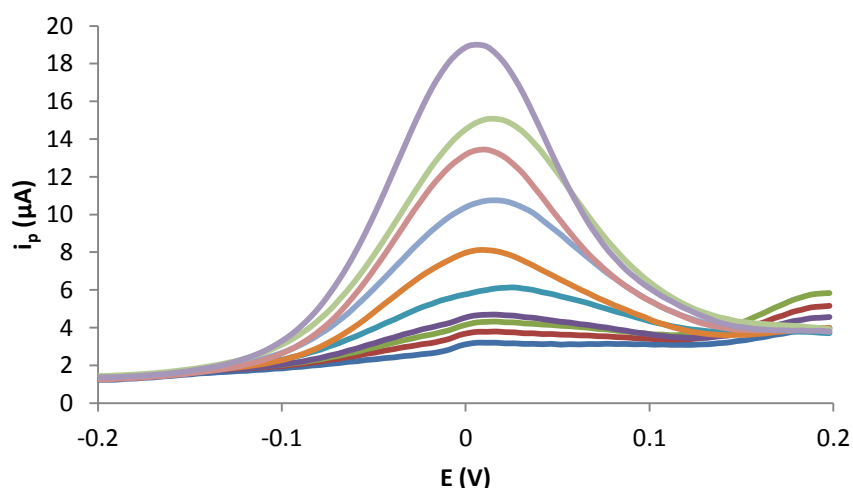


Figura 3.18. Voltamperogramas de onda cuadrada correspondientes a cada una de las medidas del calibrado obtenido para concentraciones crecientes de As^{3+} .

A pesar del bajo coste y el carácter desechable de estos sensores electroquímicos, los electrodos fueron reutilizados, tras un lavado con agua Milli-Q, para realizar cada una de las medidas del calibrado sin sufrir un efecto de envenenamiento de la superficie. Esto fue así ya que tanto los datos de repetitividad como de reproducibilidad entre electrodos que se muestran en la **Tabla 2** fueron muy buenos.

Las características analíticas obtenidas para el sensor electroquímico nanoestructurado se muestran en la **Tabla 2**.

| | |
|---------------------------------|--------------|
| Intervalo lineal | 25 - 800 ppb |
| R² | 0.998 |
| L.D. | 7 ppb |
| Repetitividad (n = 8) | 1.9% |
| Reproducibilidad (n = 9) | 1.9% |

Tabla 2. Características analíticas del calibrado obtenidas para arsénico haciendo uso de SPCnAuE como sensor electroquímico.

Como se puede observar en la **Tabla 2**, aunque este sensor no permite resolver el límite legal de 10 ppb, presenta buenas características analíticas teniendo en cuenta la sencillez y el bajo coste que presenta la fabricación del sensor electroquímico desarrollado.

Otro estudio realizado consistió en evaluar la estabilidad de la superficie electródica nanoestructurada. Para llevarlo a cabo se midió por triplicado, y en distintos días, la señal analítica de una disolución de 100 ppb de As³⁺ sobre distintos electrodos serigrafados de carbono modificados con nanopartículas de oro, siendo éstas generadas de acuerdo a las condiciones optimizadas. La nanoestructuración sobre todos los SPCEs empleados en el estudio se llevó a cabo el mismo día para poder evaluar así la estabilidad de dicha superficie con el tiempo.

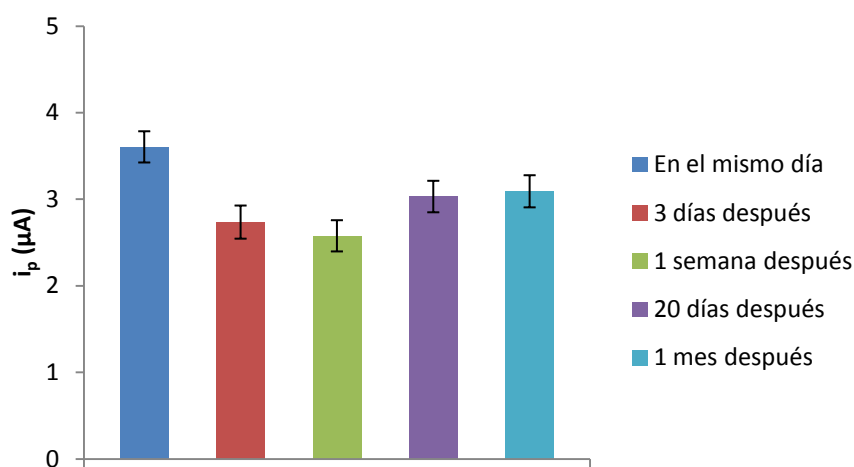


Figura 3.19. Estabilidad del sensor electroquímico nanoestructurado.

Según los datos obtenidos en este estudio (ver **Figura 3.19**) la señal analítica medida a los tres días de nanoestructurar el electrodo es menor a la medida realizada el mismo día en el que se nanoestructuraron los mismos. Sin embargo, a partir del tercer día, las señales analíticas medidas no difieren significativamente.

Por otro lado se evaluó, de forma independiente, la señal analítica de 500 ppb de arsénico en presencia de diferentes metales en distintas concentraciones (10 ppb, 100 ppb y 1000 ppb) con la finalidad de ver si la señal que proporcionaban éstos en

función de la concentración en la que se encontrasen influían en la del mismo. Los interferentes estudiados fueron Zn(II), Fe(III), Cd(II), Bi(III), Ni(II) y Pb(II).

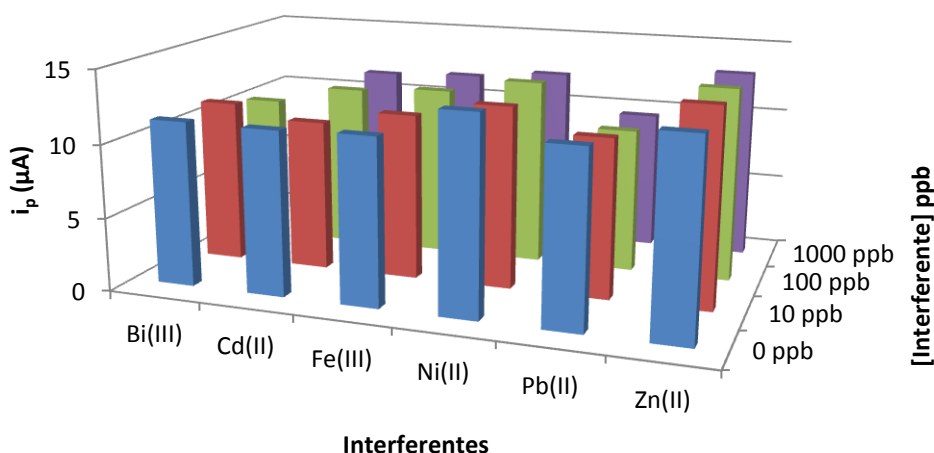


Figura 3.20. Comportamiento de la señal analítica para 500 ppb de As^{3+} en función del interferente y de la concentración añadida del mismo.

Según los resultados obtenidos (ver **Figura 3.20**), la señal analítica del As^{3+} no es afectada por ninguno de los metales excepto en el caso del Bi(III) y el Pb(II). La señal analítica del As^{3+} disminuye en un 10.1% cuando el Bi(III) se encuentra en una concentración de 100 ppb y en un 62.7% cuando éste se encuentra en una concentración de 1000 ppb. En el caso del Pb(II), la señal analítica del As^{3+} disminuye en un 16.3% y en un 18.7% cuando la concentración de dicho metal es de 100 ppb y 1000 ppb respectivamente.

3.3. Determinación de arsénico en aguas

Tras la optimización de todas las condiciones de trabajo, se procedió a determinar arsénico en muestras de agua de grifo y de agua embotellada.

3.3.1. Determinación de arsénico en agua de grifo

Para llevar a cabo la determinación de arsénico en agua de grifo, se doparon dos muestras de este agua con distintas concentraciones de arsénico, las cuales fueron 100 y 250 ppb.

Tomando estas aguas dopadas como muestra, se realizó un análisis por triplicado utilizando el método de adiciones estándar.

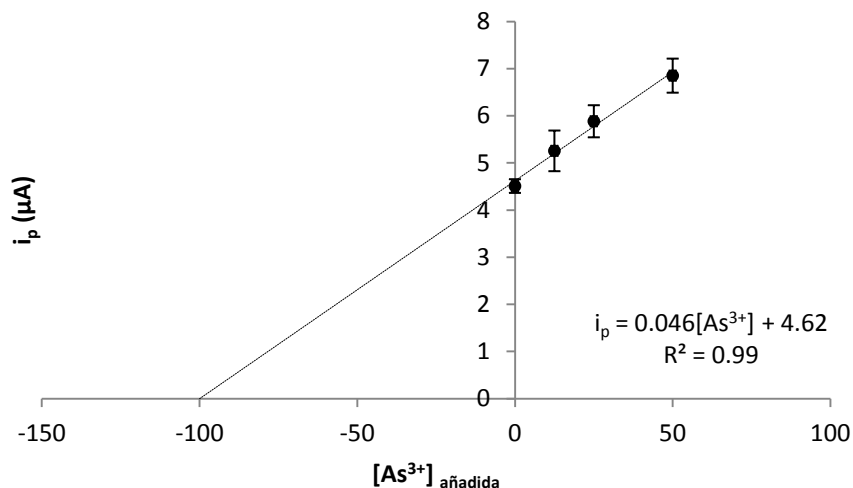


Figura 3.21. Representación de las adiciones estándar a una muestra de agua de grifo dopada con 100 ppb de As^{3+} haciendo uso de SPCnAuE como sensor electroquímico.

Según la representación mostrada en la **Figura 3.21** y la ecuación de la recta obtenida, la concentración medida de arsénico en la muestra de agua de grifo con este sensor es de (99.9 ± 11.8) ppb. Sabiendo que esta muestra fue dopada con 100 ppb de arsénico, el error relativo es bajo con una recuperación de 99.1%.

De igual forma se hizo con la muestra de agua dopada con 250 ppb de arsénico. Sin embargo, en este caso no se pudo calcular la concentración de arsénico en la muestra puesto que tenía lugar la saturación del sensor electroquímico.

Teniendo en cuenta lo comentado anteriormente, se pudo comprobar que este detector es capaz de determinar arsénico en aguas de consumo con gran exactitud cuando éstas contienen una concentración de arsénico igual o inferior a 150 ppb, ya que a concentraciones superiores se produciría la saturación de dicho sensor en una muestra de este tipo. Sin embargo, una dilución de la muestra con agua ultrapura, podría ser suficiente para poder determinar concentraciones más altas de forma cuantitativa.

3.3.2. Determinación de arsénico en agua embotellada

Para llevar a cabo la determinación de arsénico en agua embotellada, se doparon dos muestras de este agua con distintas concentraciones de arsénico, las cuales fueron 50 y 250 ppb.

Tomando estas aguas dopadas como muestra, se realizó un análisis por triplicado utilizando el método de adiciones estándar.

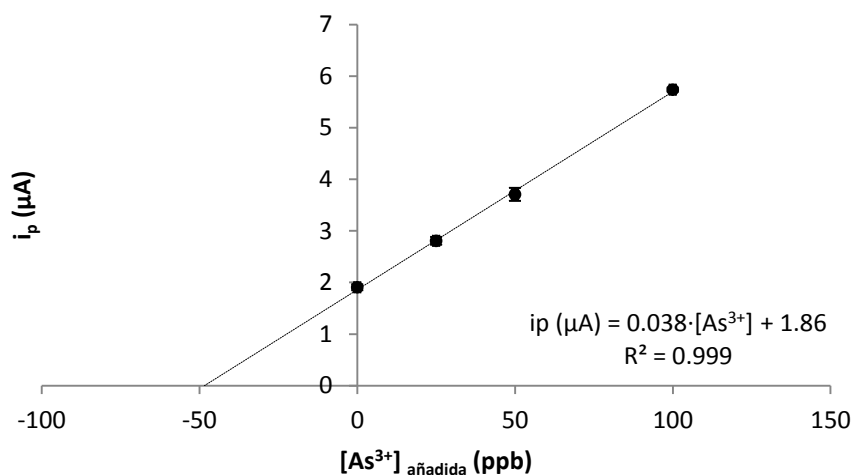


Figura 3.22. Representación de las adiciones estándar a una muestra de agua embotellada dopada con 50 ppb de As^{3+} haciendo uso de SPCnAuE como sensor electroquímico.

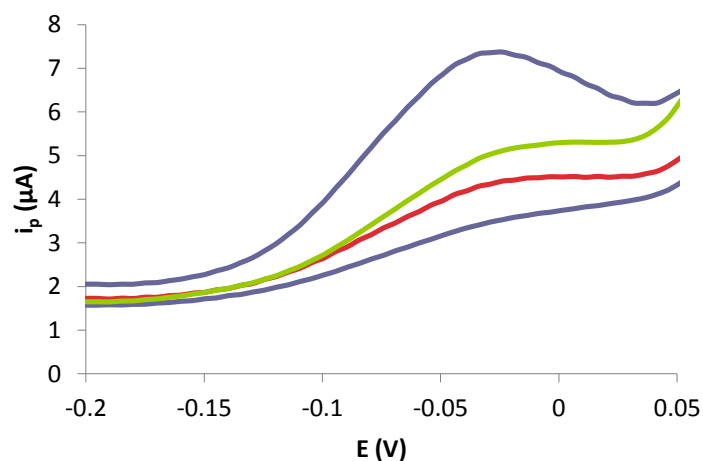


Figura 3.23. Voltamperogramas correspondientes a las adiciones estándar realizadas a la muestra de agua embotellada dopada con 50 ppb de As^{3+} .

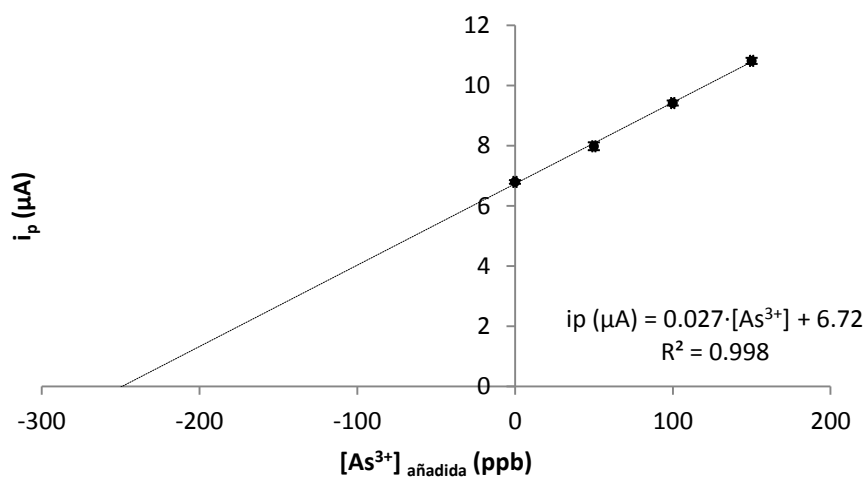


Figura 3.24. Representación de las adiciones estándar a una muestra de agua embotellada dopada con 250 ppb de As^{3+} haciendo uso de SPCnAuE como sensor electroquímico.

Según la representación mostrada en la **Figura 3.22** y la ecuación de la recta obtenida, la concentración medida de arsénico en la muestra de agua embotellada con este sensor es de (48.6 ± 2.6) ppb. Sabiendo que esta muestra fue dopada con 50 ppb de arsénico, se obtiene un recuperación del 97.3%.

De igual forma se hizo con la muestra de agua dopada con 250 ppb de arsénico. Según la representación mostrada en la **Figura 3.24** y la ecuación de la recta obtenida, la concentración medida de arsénico en la muestra de agua embotellada con este sensor es de (249.2 ± 5.6) ppb. Sabiendo que esta muestra fue dopada con 250 ppb de arsénico, se obtuvo una recuperación del 99.7%. En este caso, la muestra es algo más simple (agua embotellada frente a agua de grifo) y por tanto, el rango lineal es mayor y se consigue determinar concentraciones más elevadas con una alta precisión y exactitud.

4. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones obtenidas son las que se muestran a continuación:

- La modificación de los electrodos serigrafiados de carbono con nanopartículas de oro permite realizar análisis de arsénico, con un bajo límite de detección, elevada sensibilidad y muy buena reproducibilidad.
- Las excelentes propiedades que presentan estos electrodos modificados con nanopartículas de oro permiten la fabricación de un sensor electroquímico para llevar a cabo determinaciones de arsénico en aguas embotelladas y de consumo de una forma rápida y sencilla, detectando pequeñas cantidades de este metal.
- La determinación de arsénico en las distintas muestras de agua se llevó a cabo mediante el método de adiciones estándar puesto que a través de la recta de calibrado no era posible como consecuencia del efecto matriz. Así mismo, cabe decir que la cantidad de As(III) que se puede cuantificar dependerá tanto de la muestra como de su matriz.

ANEXO A

CONDICIONES EXPERIMENTALES

Condiciones experimentales para la Figura 3.1:

Concentración de As^{3+} : 200 ppm; medio: HCl 0.1 M; técnica: CV; tiempo de equilibración: 2 s; potencial inicial: 0.5 V; potencial final: -0.7 V; escalón de potencial: 5 mV; velocidad de barrido: 100 mV/s.

Condiciones experimentales para la Figura 3.2:

Concentración de As^{3+} : 0, 1, 5 y 10 ppm; medio: HCl 0.1 M; técnica: CV; tiempo de equilibración: 2 s; potencial inicial: 0.5 V; potencial final: -0.7 V; escalón de potencial: 5 mV; velocidad de barrido: 100 mV/s.

Condiciones experimentales para la Figura 3.3:

Concentración de As^{3+} : 0.5 ppm; medio: HCl 0.1 M; técnica: CV; potencial de deposición: -0.4 V; tiempo de deposición: 30 s; tiempo de equilibración: 2 s; potencial inicial: 0.5 V; potencial final: -0.7 V; escalón de potencial: 5 mV; velocidad de barrido: 25, 50, 100, 250, 500, 1000 mV/s.

Condiciones experimentales para la Figura 3.4:

Concentración de As^{3+} : 0.05, 0.1, 0.5, 1 ppm; medio: HCl 0.1 M; técnica: DPV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 120 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.6 V; potencial final: 0.6 V; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Concentración de As^{3+} : 0.05, 0.1, 0.5, 1 ppm; medio: HCl 0.1 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 120 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.6 V; potencial final: 0.6 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.5:

Concentración de As^{3+} : 250 ppb; medio: HCl 0.01, 0.05, 0.1 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 120 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.6 V; potencial final: 0.6 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales empleadas para las Figuras 3.6, 3.7 y 3.8:

Concentración de As^{3+} : 250 ppb; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.4 V; tiempo de deposición: 130 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.4; potencial final: 0.3 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.10:

Concentración de As^{3+} : 150 ppb; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.8, -0.7, -0.6, -0.5, -0.4, -0.3, -0.2 V; tiempo de deposición: 120 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: igual que el potencial de deposición que se establezca; potencial final: 0.6 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.11:

Concentración de As^{3+} : 150 ppb; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.6; potencial final: 0.6 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.12:

Concentración de As^{3+} : 150 ppb; concentración de AA: 0.01, 0.025, 0.05 y 0.1 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.13:

Prueba 1: Concentración de As^{3+} : 50 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; Potencial de acondicionamiento: -0.2 V; tiempo de acondicionamiento: 30, 60 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Prueba 2: Concentración de As^{3+} : 50 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; Potencial de acondicionamiento: 0.4, 0.5, 0.6 V; tiempo de acondicionamiento: 30 s; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.14:

Concentración de As^{3+} : 50 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s;

tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.15:

Concentración de Ferro: 500 μM ; medio: KCl 0.1 M; técnica: CV; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: 0.5 V; potencial final: -0.25 V; escalón de potencial: 5 mV; velocidad de barrido: 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.65, 0.8 y 1 V/s.

Condiciones experimentales para la Figura 3.16:

Concentración de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$: 5 mM; medio: KCl 0.1 M; técnica: EIS; potencial de acondicionamiento: 0.1 V; tiempo de acondicionamiento: 0 s; tiempo de equilibración: 2 s; medida: single sine; potencial: 0.1 V.

Condiciones experimentales para la Figura 3.17 y 3.18:

Concentración de As^{3+} : 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.15, 0.25, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8 ppm; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.19:

Concentración de As^{3+} : 100 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.20:

Concentración de As^{3+} : 500 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; concentración de interferentes: 10 ppb, 100 ppb y 1000 ppb; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.21:

Concentración de As^{3+} : 100 ppb; Adiciones de As^{3+} : 12.5, 25 y 50 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.22:

Concentración de As^{3+} : 50 ppb; Adiciones de As^{3+} : 25, 50 y 100 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

Condiciones experimentales para la Figura 3.23 y 3.24:

Concentración de As^{3+} : 250 ppb; Adiciones de As^{3+} : 50, 100 y 150 ppb; concentración de AA: 0.025 mg/L; medio: HCl 0.05 M; técnica: SWV; potencial de deposición: -0.6 V; tiempo de deposición: 150 s; tiempo de equilibración: 5 s; potencial inicial: -0.2; potencial final: 0.2 V; frecuencia: 20 Hz; amplitud: 20 mV; escalón de potencial: 5 mV.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] D. Martín-Yerga, M. C. Blanco-López, M. T. Fernández-Abedul, and A. Costa-García. "*Dispositivos Point-of-Use para análisis*". Boletín graseqa (2014) N°8.
- [2] N.M. Makarova, E.G. Kulapina. "*New potentiometric screen-printed sensors for determination of homologous sodium alkylsulfates*". Sensors and Actuators B: Chemical 210 (2015) 817–824.
- [3] O. D. Renedo, M. A. Lomillo, and M. A. Martínez. "*Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications*". Talanta 73(2) (2007) 202-219.
- [4] J. Wang, M. Pedrero, H. Sakslund, O. Hammerich, and J.M. Pingarrón-Carrazón. "*Electrochemical activation of screen-printed carbon strips*". Analyst 121(3) (1996) 345-350.
- [5] P. F. Bolado, D. H. Santos, P. J. L. Ardisana, A. M. Pernía, and A. C. García. "*Electrochemical characterization of screen-printed and conventional carbon paste electrodes*". Electrochimica Acta 53 (2008) 3635-3642.
- [6] W. Dungchai, O. Chailapakul, and C. S. Henry. "*Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics*," Anal. Chem. 81 (2009) 5821–5826.
- [7] P. F. Bolado, P. Queipo, P. J. L. Ardisana, and A. C. García. "*Manufacture and evaluation of carbon nanotube modified screen-printed carbon electrodes as electrochemical tools*". Talanta 74 (2007) 427-433.
- [8] G. M. Paredes, M. B. G. García, and A. C. García. "*Genosensor for SARS virus detection based on gold nanostructured screen-printed carbon electrodes*". Electroanalysis 21(3-5) (2009) 379-385.
- [9] E. Katz, I. Willner, and J. Wang. "*Electroanalytical and bioelectroanalytical systems based on metal and semiconductor nanoparticles*" Electroanalysis 16(1-2) (2004) 19-44.
- [10] C. M. Welch, M. Hyde, C. Banks, and R. G. Compton. "*The detection of nitrate using in-situ copper nanoparticle deposition at a boron doped diamond electrode*". Analytical sciences 21(12) (2005) 1421-1430.
- [11] F. W. Campbell, and R. G. Compton. "*The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review*". Analytical and Bioanalytical chemistry 396(1) (2010) 241-59.

- [12] M. A. Granado Rico, M. Olivares-Marín, and E. Pinilla Gil. "Modification of carbon screen-printed electrodes by adsorption of chemically synthesized Bi nanoparticles for the voltammetric stripping detection of Zn(II), Cd(II) and Pb(II)". *Talanta* 80 (2009) 631-635.
- [13] M. Khairy, D. K. Kampouris, R. O. Kadara, and C. E. Banks. "Gold nanoparticle modified screen printed electrodes for the trace sensing of Arsenic (III) in the presence of Copper (II)". *Electroanalysis* 22 (2010) 2496-2501.
- [14] Daniel, M. C. and Astruc, D. "Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology". *Chem. Rev.* 104(1) (2004) 293-346.
- [15] S. Watanabe, M. Sonobe, M. Arai, Y. Tazume, T. Matsuo, T. Nakamura, and K. Yoshida. "Enhanced optical sensing of anions with amide-functionalized gold nanoparticles". *Chem. Commun* (2002) 2866-2867.
- [16] Marvin G. Warner, Scott M. Reed, and James E. Hutchison. "Small, Water-Soluble, Ligand-Stabilized Gold Nanoparticles Synthesized by Interfacial Ligand Exchange Reactions". *Chem. Mater* 12(11) (2000) 3316–3320.
- [17] T. Andrew Taton, Robert C. Mucic, Chad A. Mirkin, and Robert L. Letsinger. "The DNA-Mediated Formation of Supramolecular Mono- and Multilayered Nanoparticle Structures" *J. Am. Chem. Soc.* 122(26) (2000) 6305–6306.
- [18] S. Chen, and K. Huang. "Electrochemical and Spectroscopic Studies of Nitrophenyl Moieties Immobilized on Gold Nanoparticles". *Langmuir* 16(4) (2000) 2014-2018.
- [19] J. Turkevich, P. Stevenson, and J. Hillier. "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold". *Discuss. Faraday Soc.* 11 (1951) 55-75.
- [20] K. Watson, J. Zhu, S. Nguyen, and C. Mirkin. "Nanoparticles with block copolymer shell structures". *J. Am. Chem. Soc.* 121(2) (1999) 462-463.
- [21] H. Xu, L. Zeng, S. Xing, G. Shi, Y. Xian, and L. Jin. "Microwave-radiated synthesis of gold nanoparticles/carbon nanotubes composites and its application to voltammetric detection of trace mercury(II)". *Electrochemistry Communications* 10(12) (2008) 1839-1843.
- [22] Y.G Kim, S.K Oh, and R. M. Crooks. "Preparation and Characterization of 1–2 nm Dendrimer-Encapsulated Gold Nanoparticles Having Very Narrow Size Distributions". *Chem. Mater* 16(1) (2004) 167–172.
- [23] V. V. Shumyantseva, S. Carrara, V. Bavastrello, D. J. Riley, T. V. Bulko, K. G. Skryabin, A. I. Archakov, and C. Nicolini. "Direct electron transfer between

cytochrome P450sc and gold nanoparticles on screen-printed rhodium-graphite electrodes". Biosens. Bioelectron 21(1) (2005) 217-222.

- [24] M. Chikae, K. Idegami, K. Kermana, N. Nagatani, M. Ishikawa, Y. Takamura, and E. Tamiya. "Direct fabrication of catalytic metal nanoparticles onto the surface of a screen-printed carbon electrode". Electrochemistry Communications 8(8) (2006) 1375-1380.
- [25] G. Martínez-Paredes, M. B. González-García, and A. Costa-García. "In situ electrochemical generation of gold nanostructured screen-printed carbon electrodes. Application to the detection of lead underpotential deposition". Electrochimica Acta 54(21) (2009) 4801-4808.
- [26] M. C. Texeira, E de F.L. Tavares, A.A. Saczk, L.L. Okumura, M. Cardoso, Z.M. Magritois, and M.F. de Oliveira. "Cathodic stripping voltammetric determination of arsenic in sugarcane brandy at modified carbon nanotube paste electrode". Food Chemistry 154(1) (2014) 38-43.
- [27] S. Iijima. "Helical microtubules of graphitic carbon". Nature 354 (1991) 56-58.
- [28] V. J. Cruz-Delgado, M. E. Esparza-Juárez, B. L. España-Sánchez, M. T. Rodríguez-Hernández, and C. A. Ávila-Orta. "Nanocompuestos poliméricos semiconductores de PET/MWCNT: preparación y caracterización". Superficies y Vacío 20(2) (2007) 6-11.
- [29] O. V. Kharissova, and C. L. R. Jiménez. "Síntesis de nanoestructuras de carbono mediante microondas". Ingenierías (2004) Vol. VII. Nº23.
- [30] R. Sen, S. Suzuki, H. Kataura, and Y. Achiba. "Growth of single-walled carbon nanotubes from the condensed phase". Chemical Physics Letters 349(5-6) (2001) 383-388.
- [31] Y. Hernandez, G. Holguín, M. Baquero, and F. G. Baquero. "Síntesis de nanotubos de carbono por el método de arco de descarga eléctrica". Revista colombiana de física (2004) Vol. 36, Nº2.
- [32] A. I. Cerveto, R. A. Pérez, D. B. Bea and O. E. Ledea Lozano. "Obtención de nanotubos de carbono por el método de deposición en fase vapor". Revista CENIC Ciencias Químicas (2008) Vol. 39, Nº3.
- [33] R. R. B. Quintana, G. I. R. Villegas, A. M. M. Wilson and R. R. S. Mundo. "Nanotubos de Carbono y Bionanotecnología". Interciencia (2008) Vol. 33, Nº 5, 331-336.
- [34] Y. Lin, S. Taylor, H. Li, K. A. S. Fernando, L. Qu, W. Wang, L. Gu, B. Zhou, and Y. P. Sun. "Advances toward bioapplications of carbon nanotubes". J. Mater. Chem. 14 (2004) 527-541.

- [35] P. F. Bolado, P. Queipo, P. J. Lamas-Ardisana, and A. C. García. "*Manufacture and evaluation of carbon nanotube modified screen-printed electrodes as electrochemical tools*". *Talanta* 74 (3) (2007) 427-433.
- [36] J. Wang, and M. Musameh "*Carbon nanotube screen-printed electrochemical sensors*". *The Analyst* 129(1) (2004) 1-2.
- [37] K.P. De Jong and J.W. Geus. "*Carbon nanofibers: catalytic synthesis and applications*". *Catalysis Reviews - Science Engineering* 42(4) (2000) 481-510.
- [38] M. I. Katnelson. "*Graphene: carbon in two dimensions*". *Materials today* 10(1-2) (2007) 20-27.
- [39] H. Torres-Silva, and J.L. López-Bonilla. "*Aspectos quirales del grafeno*". *Ingeniare* (2011) Vol. 19, Nº1, 67-75.
- [40] M. G. M. Medrano, H. C. Rosu, and L. A. T. González. "*Grafeno: el alótropo más prometedor del carbono*". *Acta Universitaria* (2012) Vol. 22, Nº3.
- [41] K. C. Kemp, H. Seema, M. Saleh, N. H. Le, K. Mahesh, V. Chandra and K. S. Kim "*Environmental applications using graphene composites: water remediation and gas adsorption*". *The Royal Society of Chemistry* 5 (2013) 3149–3171.
- [42] R. Agarwal, S. Sahoo, V. R. Chitturi, J. D. Williams, O. Resto, and R. S. Katiyar. "*Enhanced photovoltaic properties in graphitic carbon nanospheres networked TiO₂ nanocomposite based dye sensitized solar cell*". *Journal of Alloys and Compounds* (2015) Vol. 641, 99–105.
- [43] V. Mani , R. Devasenathipathy , S. M. Chen , K. Kohilarani, and R. Ramachandran. "*A Sensitive Amperometric Sensor for the Determination of Dopamine at Graphene and Bismuth Nanocomposite Film Modified Electrode*". *Int. J. Electrochem. Sci.* 10 (2015) 1199 - 1207.
- [44] Y. Zhu , S. Murali , W. Cai , X. Li , J. W. Suk , J. R. Potts , and R. S. Ruof. "*Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications*". *InterScience. Adv. Mater* 20 (2010) 1–19.
- [45] L. G. De Arco, Y. Zhang, A. Kumar, and C. Zhou. "*Synthesis, Transfer, and Devices of Single- and Few-Layer Graphene by Chemical Vapor Deposition*". *IEEE Transactions on nanotechnology* (2009) Vol. 8, Nº 2.
- [46] A. C. Beltrán, S. S. Guzmán, W. J. de la C. Hernández and R. C. Silva. "*Obtención de grafeno mediante la reducción química del óxido de grafeno*". *Ingenierías* (2011) Vol. XIV, Nº52.

- [47] D. R. Dreyer, S. Park, C. W. Bielawski and R. S. Ruoff. "*The chemistry of graphene oxide*". Chem. Soc. Rev. 39(1) (2010) 228-240.
- [48] F. Valentini, D. Romanazzo, M. Carbone and G. Palleschi. "*Modified Screen-printed electrodes based on oxidized graphene nanoribbons for the selective electrochemical detection of several molecules*". Electroanalysis 24(4) (2012) 872–881.
- [49] M. Hilder, B. Winther-Jensen, D. Li, M. Forsyth and D. R. MacFarlane. "*Direct electro-deposition of graphene from aqueous suspensions*". Phys. Chem. Chem. Phys. 13 (2011) 9187-9193.
- [50] M. M. Pereira da Silva Neves, M. B. González-García, C. Delerue-Matos, A. Costa-García. "*Nanohybrid Materials as Transducer Surfaces for Electrochemical Sensing Applications*". Electroanalysis 23(1) (2011) 63-71.
- [51] D. A. Polya, P. R. Lythgoe, F. A. Shakra, A. G. Gault, J. R. Brydie, J. G. Webster, K. L. Brown, M. K. Nimfopoulos, and K. M. Michailidis. "*IC-ICP-MS and IC-ICP-HEX-MS determination of arsenic speciation in surface and groundwaters: preservation and analytical issues*". Mineralogical Magazine 67(2) (2003) 247–261.
- [52] A. N. Anthemidis, G. A. Zachariadis, and J. A. Stratis. "*Determination of arsenic(III) and total inorganic arsenic in water samples using an on-line sequential insertion system and hydride generation atomic absorption spectrometry*". Analytica Chimica Acta 547(2) (2005) 237–242.
- [53] M. Kopanica, and L. Novotny. "*Determination of traces of arsenic(III) by anodic stripping voltammetry in solutions, natural waters and biological material*". Analytica Chimica Acta 368 (1998) 211-218.
- [54] J. M. Pingarrón Carrazón, P. Sánchez Batanero. "*Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones*". Editorial Síntesis (2003) 283-284.
- [55] R. Feeney, and S. P. Kounaves. "*Voltammetric measurement of arsenic in natural waters*". Talanta 58(1) (2002) 23–31.
- [56] Y. Du, W. Zhao, J. J. Xu, and H. Y. Chen. "*Electrochemical determination of arsenite in neutral media on reusable gold nanostructured films*". Talanta 79(2) (2009) 243–248
- [57] M. R. Rahman, T. Okajima, and T. Ohsaka. "*Selective Detection of As(III) at the Au(111)-like Polycrystalline Gold Electrode*". Anal. Chem. 82(22) (2010) 9169–9176.
- [58] M. Hossain, M. Islam, S. Ferdousi, T. Okajima, and T. Ohsaka. "*Anodic Stripping Voltammetric Detection of Arsenic(III) at Gold Nanoparticle-Modified Glassy*

Carbon Electrodes Prepared by Electrodeposition in the Presence of Various Additives". *Electroanalysis* 20(22) (2008) 2435 – 2441.

- [59] T. Gu, L. Bu, Z. Huang, T. Liu, Z. Tang, Y. Liu, S. Huang, Q. Xie, S. Yao, X. Tu, X. Luo, and S. Luo. "*Dual-signal anodic stripping voltammetric determination of trace arsenic(III) at a glassy carbon electrode modified with internal-electrolysis deposited gold nanoparticles*". *Electrochemistry Communications* 33 (2013) 43-46.
- [60] S. Cinti, S. Politi, D. Moscone, G. Palleschi, and F. Arduini. "*Stripping Analysis of As(III) by Means of Screen-Printed Electrodes Modified with Gold Nanoparticles and Carbon Black Nanocomposite*". *Electroanalysis* 26 (2014) 931 – 939.
- [61] Y. Liua, Z. Huanga, Q. Xiea, L. Suna, T. Gua, Z. Lia, L. Bua, S. Yaoa, X. Tub, X. Luob, and S. Luob. "*Electrodeposition of electroreduced graphene oxide-Au nanoparticles composite film at glassy carbon electrode for anodic stripping voltammetric analysis of trace arsenic(III)*". *Sensors and Actuators* 188 (2013) 894– 901.
- [62] H. Cui, W. Yang, X. Li, H. Zhao, and Z. Yuan. "*An electrochemical sensor based on a magnetic Fe₃O₄ nanoparticles and gold nanoparticles modified electrode for sensitive determination of trace amounts of arsenic(III)*". *Anal. Methods* 4 (2012) 4176–4181.
- [63] S. Laschi, G. Bagni, I. Palchetti, and M. Mascini. "*As(III) Voltammetric Detection by Means of Disposable Screen-Printed Gold Electrochemical Sensors*". *Analytical Letters* 40 (2007) 3002–3013.
- [64] Y. S. Song, G. Muthuraman, Y. Z. Chen, C. C. Lin, and J. M. Zen. "*Screen Printed Carbon Electrode Modified with Poly(L-Lactide) Stabilized Gold Nanoparticles for Sensitive As(III) Detection*". *Electroanalysis* 18(18) (2006) 1763 – 1770.
- [65] S. Sanllorrente-Méndez, O. Domínguez-Renedo, and M. J. Arcos-Martínez. "*Determination of Arsenic(III) Using Platinum Nanoparticle-Modified Screen-Printed Carbon-Based Electrodes*". *Electroanalysis* 21(3-5) (2009) 635 – 639.
- [66] M.L. Chen, L.Y. Ma, X.W. Chen, *New procedures for arsenic speciation: A review*, *Talanta*. 125 (2014) 78–86.
- [67] A.K. Sakira, I.T. Somé, E. Ziemons, B. Dejaegher, D. Mertens, P. Hubert, *Determination of Arsenic(III) at a Nanogold Modified Solid Carbon Paste Electrode*, *Electroanalysis*. 27 (2015) 309–316.