

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA  
FACULTAD DE CIENCIAS**



**TESIS**

**“Síntesis de nuevos polímeros de impresión iónicos (IIPs) para  
la preconcentración de metilmercurio  $\text{MeHg}^+$  y su  
aplicación en sensores electroquímicos”**

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA

ELABORADA POR:  
RUDDY LUCIA MESA LANDEO

ASESOR:  
Dr. GINO ITALO PICASSO ESCOBAR

Co-ASESORA:  
Dra. MARÍA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR

LIMA, PERÚ

2022

## Índice de Contenidos

ABSTRACT .....	xiii
GLOSARIO.....	xiv
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
1.1 Introducción.....	1
1.2 Estado del Arte .....	3
1.3 Planteamiento del Problema .....	8
1.4 Justificación .....	8
1.5 Identificación del aporte científico .....	9
1.6 Hipótesis .....	9
1.7 Objetivos.....	10
1.7.1 Objetivo General.....	10
1.7.2 Objetivos Específicos .....	10
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>11</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
2.1 Polímeros de impresión iónicos (IIPs).....	11
2.2 Componentes de la síntesis de IIPs.....	12
2.3 Simulación computacional para la síntesis de IIPs.....	15
2.4 Técnicas de polimerización .....	16
2.5 Técnicas de caracterización de los IIPs .....	17
2.6 Adsorción.....	19
2.7 Isotermas de Adsorción .....	19
2.7.1 Cinética de adsorción.....	22
2.8 Sensores Electroquímicos.....	23
2.9 Principios de Voltametría .....	23
2.10 Técnicas voltamétricas.....	24
2.10.1 Voltametría cíclica (CV) .....	24
2.10.2 Voltametría diferencial de pulsos (DPV) .....	25
2.10.3 Voltametría de redisolución anódica (DPASV) .....	26

2.11 Nanotubos de carbono (CNTs) .....	26
2.12 Espectroscopía de impedancia electrónica (EIS).....	27
2.13 Parámetros Analíticos.....	28
2.13.1 Linealidad .....	29
2.13.2 Límite de detección (LD) .....	29
2.13.3 Límite de cuantificación (LC) .....	29
2.13.4 Veracidad.....	29
2.13.5 Precisión .....	29
2.13.6 Selectividad .....	30
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>31</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>31</b>
3.1 Reactivos de partida, materiales y equipos .....	31
3.2 Preparación de MeHg-IIPs y su aplicación como material adsorbente .....	32
3.2.1 Simulación Computacional.....	32
3.2.2 Síntesis de MeHg-IIPs y su contraparte NIPs .....	34
3.2.3 Caracterización estructural de MeHg-IIPs y NIPS.....	36
3.2.4 Estudios de adsorción .....	37
3.2.5 Estudios cinéticos .....	39
3.2.6 Estudios de selectividad del material polimérico .....	39
3.2.7 Aplicación del material polimérico como material adsorbente en muestras de agua de río.....	40
3.3 Preparación del sensor electroquímico modificado con IIPs-MeHg para la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> .....	41
3.3.1 Medidas electroquímicas en celda de 3 electrodos.....	41
3.3.2 Evaluación del área electroactiva de los sensores .....	41
3.3.3 Caracterización de los electrodos por la técnica espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).....	42
3.3.4 Identificación de los potenciales de oxidación y reducción de MeHg <sup>+</sup> mediante la técnica CV .....	42
3.3.5 Determinación de MeHg <sup>+</sup> mediante DPASV .....	43

3.3.6 Evaluación de los sensores CPE, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/ MWCNT /NIP-AA en la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> .....	43
3.3.7 Optimización de la medición de MeHg <sup>+</sup> mediante DPASV.....	43
3.3.7.1 Evaluación del potencial de preconcentración .....	43
3.3.7.2 Evaluación del tiempo de preconcentración .....	44
3.3.7.3 Evaluación de la concentración de HCl .....	44
3.3.8 Evaluación de la influencia de Hg <sup>2+</sup> en la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> .....	44
3.3.9 Evaluación de los parámetros analíticos en la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> .....	44
3.3.9.1 Linealidad.....	44
3.3.9.2 Límite de detección (LD) y cuantificación (LC) .....	45
3.3.9.3 Veracidad .....	45
3.3.9.4 Precisión .....	46
3.3.9.5 Selectividad a MeHg <sup>+</sup> de los sensores en presencia de iones interferentes.....	48
3.3.10 Aplicación del sensor en muestras reales .....	48
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>50</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>50</b>
4.1 Selección de los componentes de IIP-MeHg por simulación DFT .....	50
4.1.1 Elección del solvente porogénico .....	50
4.1.2 Elección del monómero funcional.....	51
4.2 Caracterización estructural de los complejos sintetizados MeHg-IIPs y los correspondientes NIPs .....	53
4.2.1 FTIR .....	53
4.2.2 SEM.....	55
4.2.3 BET.....	56
4.2.4 TGA/DTA.....	57
4.3 Estudios de capacidad de adsorción .....	59
4.3.1 pH .....	59
4.3.2 Punto de carga cero de las muestras IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA .....	60
4.3.3 Isotermas de adsorción del analito MeHg <sup>+</sup> por las muestras IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA .....	61

4.4	Cinética de Adsorción.....	63
4.5	Selectividad de los MeHg-IIPs hacia MeHg <sup>+</sup> frente a iones interferentes.....	66
4.6	Aplicación de IIP-MBT-AA como material adsorbente de MeHg <sup>+</sup> .....	68
4.7	Aplicación de IIP-MBT-AA en un sensor electroquímico.....	69
4.7.1	Caracterización de los sensores .....	69
4.7.1.1	Determinación del área electroactiva.....	69
4.7.1.2	Estimación de la impedancia de los electrodos de trabajo.....	71
4.7.2	Comparación de los sensores CPE, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/ MWCNT /NIP-AA en la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> .....	73
4.7.3	Optimización en la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> mediante DPASV .....	74
4.7.4	Evaluación de Hg <sup>2+</sup> como interferente .....	75
4.7.5	Parámetros analíticos.....	77
4.7.5.1	Linealidad.....	77
4.7.5.2	Límite de detección y de cuantificación .....	81
4.7.5.3	Veracidad .....	82
4.7.5.4	Precisión .....	83
4.7.5.5	Selectividad de los sensores preparados para la cuantificación de MeHg <sup>+</sup> frente a iones interferentes.....	85
4.7.5.6	Aplicación del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA en muestras reales .....	86
4.7.6	Comparación del sensor propuesto CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA con los sensores reportados en la literatura para la cuantificación voltamétrica de MeHg <sup>+</sup> .....	87
	CONCLUSIONES.....	88
	RECOMENDACIONES .....	90
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	91

## Índice de Figuras

Figura 1.	Voltamogramas de 500uM MeHg <sup>+</sup> en 0.1M HCl en un microelectrodo de carbono (a) 1V.s <sup>-1</sup> , Ei=-1.0V; (b) 0.1V s <sup>-1</sup> , Ei=0V (vs. Ag/AgCl). (Ribeyro <i>et al.</i> , 2006) .....	6
Figura 2.	Voltamograma ASV de 3 µg L <sup>-1</sup> Hg <sup>2+</sup> de y 3 µg L <sup>-1</sup> MeHg <sup>+</sup> (Abolino <i>et al.</i> , 2009).....	7
Figura 3.	Voltamograma de 10 µg L <sup>-1</sup> de MeHg <sup>+</sup> ; 10 µg L <sup>-1</sup> de MeHg <sup>+</sup> y 10 µg L <sup>-1</sup> de Hg <sup>2+</sup> y 10 µg L <sup>-1</sup> de MeHg <sup>+</sup> , 10 µg L <sup>-1</sup> de Hg <sup>2+</sup> y 0.1 µmol L <sup>-1</sup> SnCl <sub>2</sub> . (Xu <i>et al.</i> , 2017).....	7
Figura 4.	Número de publicaciones de polímeros impresos MIPs e IIPs (Chen <i>et al.</i> , 2019).....	11
Figura 5.	Representación esquemática de la síntesis de IIPs empleando un agente quelante no vinilado (Branger <i>et al.</i> , 2013) .....	12
Figura 6.	Representación esquemática de la síntesis de IIPs empleando un agente quelante vinilado. Adaptado (Branger <i>et al.</i> , 2013).....	12
Figura 7.	Monómeros funcionales estructurales más empleados en la preparación de IIPs .....	13
Figura 8.	Monómeros entrecruzantes más usados en la preparación de IIPs (Fu <i>et al.</i> , 2015).....	14
Figura 9.	Estructuras de iniciadores radicalares más comunes (Fu <i>et al.</i> , 2015).....	14
Figura 10.	Técnica de impresión del MIP en la superficie (Fu <i>et al.</i> , 2015).....	17
Figura 11.	Espectro infrarrojo del agente quelante N-metacrilóil-(L)-histidina y el complejo Cd(II)- N-metacrilóil-(L)-histidina 19 (Yilmaz <i>et al.</i> 2014).....	18
Figura 12.	Principales isoterms de adsorción para un sistema sólido-líquido (Giles <i>et al.</i> 1960).....	20
Figura 13.	Celda electroquímica convencional en un sistema de tres electrodos (Simões <i>et al.</i> , 2017) .....	24
Figura 14.	Potencial aplicado en función del tiempo en voltametría cíclica (CV) (Simões <i>et al.</i> 2017).....	25
Figura 15.	Diagrama de la aplicación de pulsos en voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) (Simões <i>et al.</i> 2017).....	26
Figura 16.	Estructuras de SWCNTs (A) y MWCNTs (B) (Adaptado de Vidu <i>et al.</i> 2014) [83].....	27
Figura 17.	Circuito de Randles: equivalente a una reacción redox simple .....	28

Figura 18. Diagrama de Nyquist: respuesta de espectroscopia de impedancia electroquímica para un circuito equivalente tipo Randles.....	28
Figura 19. Componentes para la simulación computacional de MeHg-IIPs.....	34
Figura 20. Esquema de preparación MeHg-IIP utilizando cloruro de metilmercurio (MeHgCl) como template, MBI como agente quelante, ácido acrílico como MF, EGDMA como reticulante y AIBN como iniciador de radicales libres .....	36
Figura 21. Geometrías optimizadas de los complejos de metilmercurio 1:1: (A) MBI-MeHg y (B) MBT-MeHg .....	50
Figura 22. Geometrías optimizadas de la etapa de prepolimerización de complejos (A) MBI-MeHg y (B) MBT-MeHg con ácido acrílico (AA) como monómero funcional.....	52
Figura 23. Espectros FT-IR: MBI (a), IIP-MBI-AA (b), NIP-MBI-AA (c) y NIP-AA (d).....	54
Figura 24. Espectros FT-IR: MBT (a), IIP-MBT-AA (b), NIP-MBT-AA (c) and NIP-AA (d).....	55
Figura 25. Micrografías SEM de IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B), IIP-MBT-AA (C), NIP-MBT-AA (D) y NIP-AA (E); magnificación x 15 000 .....	56
Figura 26. Curvas TGA/TDA por descomposición térmica: IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B), NIP-AA (C), IIP-MBT-AA (D) y NIP-MBT-AA (E) .....	58
Figura 27. Efecto del pH sobre la sorción de metilmercurio en IIP-MBI-AA (rojo), NIP-MBI-AA (azul) y NIP-AA (negro).....	59
Figura 28. Efecto del pH sobre la sorción de metilmercurio en IIP-MBT-AA (rojo) y NIP-MBT-AA (negro).....	60
Figura 29. Dependencia lineal del $\Delta$ pH (pH final-pH inicial) vs. pH inicial para las muestras IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA y el punto de intersección con el eje x (Y=0) .....	61
Figura 30. Efecto de la concentración en el equilibrio ( $C_e$ ) en la capacidad adsorción ( $q_e$ ) de MeHg <sup>+</sup> en IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B) y NIP-AA (C) . Condiciones: 3 mg IIP o NIP, MeHg 25 - 600 $\mu$ g L <sup>-1</sup> , pH 8, V 2 mL, tiempo de agitación 2.....	62
Figura 31. Efecto de la concentración en el equilibrio ( $C_e$ ) en la capacidad adsorción ( $q_e$ ) de MeHg <sup>+</sup> en IIP-MBT-AA (A) y NIP-MBT-AA (B). Condiciones: 3 mg IIP o NIP, MeHg 25 - 600 $\mu$ g L <sup>-1</sup> , pH 8, V 2 mL, tiempo de agitación 2 h.....	62
Figura 32. Cinética de la adsorción de MeHg <sup>+</sup> en el polímero impreso con metilmercurio IIP-MBI-AA (negro) , NIP-MBI-AA (rojo) y NIP-AA (azul).....	65
Figura 33. Cinética de la adsorción de MeHg <sup>+</sup> en el polímero impreso con metilmercurio IIP-MBT-AA (negro) y NIP-MBT-AA (rojo) .....	65

Figura 34. Voltamograma de los electrodos (a) CPE, (b) CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, (c) CPE/MWCNT/NIP-AA y (d) CPE/IIP-MBT-AA en la solución ferri/ferro $2.5\text{mmol L}^{-1}$ y $\text{KCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ .....	70
Figura 35. Gráfico Nyquist para (a) CPE, (b) CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, (c) CPE/MWCNT/NIP-AA y (d) CPE/IIP-MBT-AA en la solución ferri/ferro $2.5\text{mmol L}^{-1}$ y $\text{KCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ .....	72
Figura 36. Voltametría cíclica de $1000 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$ en $0.05\text{M HCl}$ en electrodo CPE, $v = 0.05\text{V/s}$ . $E_i = -0.15\text{V}$ (vs. $\text{Ag}   \text{AgCl}$ ).....	73
Figura 37. Voltametría de pulso diferencial y redisolución anódica de $1000 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$ en $0.05\text{M HCl}$ en los electrodos CPE, CPE/ MWCNT /NIP-AA y CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA. $E_i = -0.15\text{V}$ (vs. $\text{Ag}   \text{AgCl}$ ). .....	74
Figura 38. Evaluación de la influencia del potencial de preconcentración (A) , el tiempo de preconcentración (B) y la concentración de $\text{HCl}$ como electrolito (C) en la corriente de pico anódico de $600\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$ .....	75
Figura 39. Voltamograma de $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$ (línea sólida); $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+ + 700\mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ (línea sólida); $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+ + 700\mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+} + 2.4 \text{ mmol L}^{-1} \text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en tiempos de agitación: 5 minutos 10minutos y 20minutos (línea segmentada) .....	76
Figura 40. (A) Voltamograma DPASV de $\text{MeHg}^+$ en $\text{HCl } 0.05\text{M}$ , (B) Gráfico concentración $\text{MeHg}^+(\mu\text{g L}^{-1})$ vs. $I /(\mu\text{A})$ , (C) curva de calibración de $\text{MeHg}^+$ en el rango bajo ( $560\text{-}610 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y (D) curva de calibración de $\text{MeHg}^+$ en el rango alto ( $1000\text{-}1500 \mu\text{g L}^{-1}$ ). .....	79



## Índice de Tablas

Tabla 1.	Componentes reportados para la síntesis de IIPs-MeHg .....	4
Tabla 2.	Materiales poliméricos sintetizados en este trabajo .....	35
Tabla 3.	Nomenclatura asignada y composición de los electrodos de trabajo modificados	41
Tabla 4.	Criterio de aceptación para la aceptación o rechazo de un dato .....	45
Tabla 5.	Hipótesis y criterio de decisión para la verificación de la veracidad_a través de la recuperación de la adición estándar.....	46
Tabla 6.	Hipótesis y criterio de decisión para la estimación de la precisión (repetibilidad)	47
Tabla 7.	Hipótesis y criterio de decisión para la estimación de la precisión (reproducibilidad).....	48
Tabla 8.	Efecto del disolvente en la energía de enlace en los complejos de MeHg <sup>+</sup> .....	51
Tabla 9.	Energías de enlace en la etapa de prepolimerización de MBI-MeHg .....	52
Tabla 10.	Energías de enlace en la etapa de prepolimerización de MBT-MeHg.....	53
Tabla 11.	Área de superficie BET calculada, volumen de poro total y tamaño de poro promedio.....	57
Tabla 12.	Constantes de modelos de adsorción: Langmuir and Freundlich .....	63
Tabla 13.	Constantes y coeficiente de correlación para los modelos cinéticos de Pseudo 1° Orden y Pseudo 2° Orden aplicados en la adsorción de MeHg <sup>+</sup> .....	66
Tabla 14.	Coefficientes de selectividad K <sub>d</sub> , k e I para Hg <sup>2+</sup> ; Cd <sup>2+</sup> ; Pb <sup>2+</sup> y Zn <sup>2+</sup> con respecto a MeHg <sup>+</sup> .....	67
Tabla 15.	% E de MeHg <sup>+</sup> en muestras de agua.....	68
Tabla 16.	Área electroactiva de los electrodos CPE, CPE/IIP-MBT-AA, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/MWCNT/NIP-AA.....	71
Tabla 17.	Valores de intensidad de corriente (uA) de las curvas de calibración en el rango bajo (560-610 ug L <sup>-1</sup> ) y alto (1000-1500 ug L <sup>-1</sup> ) y su estadística descriptiva.....	80

Tabla 18.	Coeficiente de determinación de las 2 curvas de calibrado.....	80
Tabla 19.	Datos de blancos matriz para determinación de límites de detección y cuantificación.....	81
Tabla 20.	Datos de blancos matriz para determinación de límites de detección y cuantificación.....	81
Tabla 21.	Resultados de la adición estándar de 600 y 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$ en las diferentes muestras y porcentajes de recuperación.....	82
Tabla 22.	Estimación de t-Student de una muestra experimental, sobre el promedio de los porcentajes de recuperación .....	83
Tabla 23.	Datos de muestras fortificadas con 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de $\text{MeHg}^+$ para calcular la precisión de los sensores preparados.....	84
Tabla 24.	Estimación del RSD experimental y Horwitz para evaluar la precisión de los sensores preparados en términos de repetibilidad.....	84
Tabla 25.	Estimación de la prueba F de Fisher de una cola para evaluar la precisión en términos de reproducibilidad.....	84
Tabla 26.	Estudio de interferentes metálicos en la cuantificación de $\text{MeHg}^+$ empleando mezclas binarias 1:1 de 600 y 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de $\text{MeHg}^+$ e interferente.....	85
Tabla 27.	Aplicación del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA para la cuantificación de $\text{MeHg}^+$ en muestras reales de agua ( $S/N = 3$ ) .....	86
Tabla 28.	Comparación de sensores electroquímicos reportados en la literatura para la cuantificación de $\text{MeHg}^+$ con el nuevo sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA .....	87

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por guiar mi carrera y permitirme culminar satisfactoriamente el Doctorado en Química.

A mi familia, mis padres Julia y Cleberht , mis hermanas Cicely y Bianka, mis sobrinas Julietta y Gianna y Christhian por darme fortaleza para seguir y confiar siempre en mí.

A mis asesores Dr. Gino Picasso y Dra. Pilar Taboada por acogerme en su Laboratorio de Investigación, por sus enseñanzas, por la confianza depositada en mí para que el trabajo pueda concretarse.

A mis amigos y asesores en la investigación Dr. Sabir Khan y Dr. Javier Villa por sus consejos, sugerencias, por el apoyo y guía en el desarrollo del trabajo.

También agradecer a CIENCIA ACTIVA del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC), al convenio 237-2015 FONDECYT por la beca otorgada para realizar los estudios de Doctorado en Ciencias en mención Química en la UNI, la cual es una gran oportunidad para los jóvenes que desean adquirir más conocimientos de especialidad en las ciencias.

A todos los profesores del Doctorado, quienes compartieron su experiencia y nos exigieron en cada curso dictado.

## RESUMEN

El metilmercurio  $\text{MeHg}^+$  es una especie organometálica producida en los ambientes acuáticos y que es más tóxica que las especies inorgánicas de mercurio  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{Hg}^0$ , pues es soluble en los tejidos grasos de los animales y se bioacumula. En el presente trabajo se realizó estudios para la obtención de polímeros impresos iónicos IIPs selectivos a metilmercurio  $\text{MeHg}^+$ . Previamente, se hizo un estudio computacional para calcular la energía de enlace que se produce en la etapa de prepolimerización empleando el método Teoría Funcional de la Densidad (DFT). A partir de los resultados de la simulación, se seleccionaron 2-mercaptobenzimidazol (MBI) y 2-mercaptobenzotiazol (MBT) como agente quelantes de sulfhidrilo, ácido acrílico (AA) como monómero funcional y etanol como disolvente porogénico. Los IIPs para  $\text{MeHg}^+$  (IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA) y sus respectivos polímeros control no impresos fueron sintetizados y caracterizados por las técnicas Microscopía electrónica de barrido (SEM), Sorción de  $\text{N}_2$  con la técnica Brunauer Emmett Teller (BET), Análisis termogravimétrico (TGA) y Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FT-IR). La capacidad máxima de adsorción de  $\text{MeHg}^+$  de los polímeros impresos iónicos fueron: IIP-MBT-AA ( $457 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y IIP-MBI-AA ( $157 \mu\text{g L}^{-1}$ ), que presentaron diferencias significativas con respecto a los polímeros no impresos (en más del 50%). Los valores de coeficiente de selectividad (k) respecto a metales iónicos interferentes para IIP-MBT-AA fueron:  $\text{MeHg}^+/\text{Hg}^{2+}$  (0.86);  $\text{MeHg}^+/\text{Cd}^{2+}$  (260.7);  $\text{MeHg}^+/\text{Pb}^{2+}$  (288.1) y  $\text{MeHg}^+/\text{Zn}^{2+}$  (1510.1), que revela una adecuada formación de sitios de reconocimiento específicos para iones  $\text{MeHg}^+$ , producto de la impresión realizada durante la síntesis. Se aplicó el polímero impreso IIP-MBT-AA para concentrar  $\text{MeHg}^+$  en muestras de agua de río con resultados satisfactorios de hasta 95% de recuperación. El polímero impreso IIP-MBT-AA fue utilizado para la preparación de un sensor electroquímico, el cuál fue incorporado a un electrodo de pasta de carbono y MWCNTs (CPE/MWCNTs) para la preconcentración de  $\text{MeHg}^+$  y su cuantificación empleando la técnica DPASV. Se evaluaron parámetros experimentales que afectan la respuesta del sensor y parámetros analíticos. En condiciones experimentales óptimas, el sensor propuesto (CPE / MWCNTs / IIP-  $\text{MeHg}^+$ ) exhibió un rango de respuesta lineal entre  $560 - 1500 \mu\text{g L}^{-1}$ , y límite de detección de  $0.538 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para la aplicación del sensor en muestras reales se obtuvo un error relativo aceptable ( $\leq 1\%$ ) para la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  en muestras de agua.

## ABSTRACT

Methylmercury  $\text{MeHg}^+$  is an organometallic species produced in aquatic environments and is more toxic than the inorganic species of mercury  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Hg}^0$ , since it is soluble in the fatty tissues of animals and bioaccumulates. The present work describes the studies carried out to obtain an ion-imprinted polymers IIPs selective to methylmercury cation, interactions between the template and other components in the pre-polymerization stage were studied by computational simulation using density functional theory (DFT). From simulation results 2-mercaptobenzimidazol (MBI), 2-mercaptobenzothiazole (MBT), acrylic acid (AA) and ethanol were selected as sulfhydryl ligands, functional monomer and porogenic solvent. IIPs for  $\text{MeHg}$  (IIP-MBI-AA and IIP-MBT-AA) and its corresponding control polymers without ligand were synthesized and characterized by Scanning electron microscopy (SEM),  $\text{N}_2$  Sorption by Brunauer Emmett Teller technique (BET), Thermogravimetric Analysis (TGA) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Additionally, the experimental results obtained were confirmed from the data predicted by molecular modeling. The maximum adsorption capacity of  $\text{MeHg}^+$  of the ion imprinted polymers IIP-MBT-AA ( $457 \text{ ug L}^{-1}$ ) and IIP-MBI-AA ( $157 \text{ ug L}^{-1}$ ) showed huge differences with non-imprinted polymers (in more than 50%). The relative selectivity factor (k) values for IIP-MBT-AA were  $\text{MeHg}^+/\text{Hg}^{2+}$  (0.86);  $\text{MeHg}^+/\text{Cd}^{2+}$  (260.7);  $\text{MeHg}^+/\text{Pb}^{2+}$  (288.1) and  $\text{MeHg}^+/\text{Zn}^{2+}$  (1510.1), which reveals an adequate formation of specific recognition sites for  $\text{MeHg}^+$  ions as a result of the impression made during the synthesis. The imprinted polymer IIP-MBT-AA was applied to concentrate methylmercury cations in water samples with satisfactory results of up to 95% recovery. The ion imprinted polymer IIP-MBT-AA was used for the preparation of an electrochemical sensor, which was incorporated in the carbon paste electrode and MWCNTs for the pre-concentration of  $\text{MeHg}^+$  and its quantification using the DPASV technique. Experimental and analytical parameters were evaluated. In the optimum experimental conditions, the proposed sensor (CPE / MWCNTs / IIP-  $\text{MeHg}^+$ ) exhibited a linear response range of  $560 - 1500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , and a detection limit of  $0.538 \mu\text{g L}^{-1}$  with an acceptable relative error values  $\leq 1\%$  when was applied to real water samples.

## GLOSARIO

IIPs: polímeros de impresión iónicos

CNTs: nanotubos de carbono

MeHg-IIPs: polímeros impresos iónicos para MeHg<sup>+</sup>

NIPs: polímeros no impresos

FM: monómero funcional

EIS: espectroscopia de impedancia electroquímica

CV: voltametría cíclica

DPASV: voltamperometría de redisolución anódica de pulso diferencial

ASV: voltametría de redisolución anódica

CPE: electrodo de pasta de carbono

GC: electrodo de carbón vítreo

MWCNT: nanotubos de carbono de pared múltiple

AuNPs: nanopartículas de oro

DFT: Teoría del Funcional de la Densidad

MBI: 2-mercaptobenzimidazol

MBT: 2-mercaptobenzotiazol

EGDMA: dimetilacrilato de etilenglicol

AA: ácido acrílico

MAA: ácido metacrílico

AIBN: 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo)

ZP0: punto de carga cero

LD: límite de detección

LC: límite de cuantificación

RSD: desviación estándar relativa

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 1.1 Introducción

El mercurio y sus compuestos organometálicos son sustancias altamente tóxicas para el medio ambiente y el ser humano [1]. El metilmercurio  $\text{MeHg}^+$  es una especie organometálica producida en los ambientes acuáticos y que es más tóxica que las especies inorgánicas de mercurio  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{Hg}^0$ , ya que es soluble en los tejidos grasos de los animales y se bioacumula y se magnifica en la cadena alimenticia [2]. En el medio ambiente acuático, las especies inorgánicas de mercurio quedan unidos al sedimento y los microorganismos presentes allí los transforman en  $\text{MeHg}^+$  vía metilación microbiana [3]. El metilmercurio, al tener una tendencia apolar, se acumula en los tejidos de los peces a medida que envejecen, y los peces depredadores más grandes y longevos como el pez espada, el tiburón y algunos atunes son los que contienen más metilmercurio [4]. La principal vía de exposición humana es el consumo de pescado contaminado con  $\text{MeHg}^+$ , el metilmercurio se absorbe casi por completo en la sangre y se distribuye a todos los tejidos, incluido el cerebro; también pasa fácilmente a través de la placenta al feto y al cerebro fetal [5]. Afecta el sistema nervioso central, el aparato digestivo, la piel, los pulmones, riñones y ojos, es muy tóxico para el desarrollo intrauterino y en las primeras etapas de vida [6]. En el agua natural, el porcentaje de  $\text{MeHg}^+$  varía entre 0.27-20% del mercurio total [7,8]. Los niveles máximos permisibles de  $\text{MeHg}^+$  en agua en Perú no se han establecido, sin embargo, organismos internacionales como la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) [9] y la Organización Mundial de la Salud (OMS) [10] han establecido que, el límite máximo permisible de mercurio en el agua es de  $0.001 \text{ mg L}^{-1}$ . De la misma manera, el reglamento de la calidad del agua de consumo humano en Perú establece como límite máximo permisible de mercurio  $0.001 \text{ mg L}^{-1}$  [11], por lo tanto, el límite máximo de  $\text{MeHg}^+$  en agua debería ser igual o inferior a este.

Los polímeros impresos iónicos (IIPs) son una clase nueva de polímeros adsorbentes caracterizados por su alta selectividad a iones metálicos, los cuales han sido aplicados como materiales de separación cromatográfica [12], extracción en fase sólida (SPE) [13] y sensores [14]. Además, se caracterizan por su alta área superficial, estabilidad y

reusabilidad [15]. Se han desarrollado MeHg-IIPs como materiales para SPE que en su estructura contienen agentes quelantes como: ácido 1-pirrolidinacarboditióico [13], fenobarbital [16], (4-etenilfenilo) -4-formiato-6-fenil-2,2-bipiridina [17], los cuales presentan grupos funcionales como -NH-, -N-, -S- y -SH. Los grupos sulfhidrilo (-SH) son los que presentan valores de constante de formación ( $pK$ ) más altos en complejos de metilmercurio (Ejemplo: MeHg-Cisteína,  $pK=15.7$ ) [18]. Los compuestos 2-mercaptobenzimidazol (MBI) y 2-mercaptobenzotiazol (MBT) son heterocíclicos, que contienen S y N en su estructura y son conocidos por su actividad antibacterial, antiviral, antiespasmódica y antiinflamatoria [19] y han sido utilizados en la modificación de materiales para la preconcentración de  $Hg^{2+}$  y  $MeHg^+$  [20, 21].

Las técnicas analíticas más comunes para la cuantificación de mercurio son espectroscopía de absorción atómica de vapor frío (CVAAS) [22], vapor frío espectrometría de fluorescencia atómica (CVAFS) [23], plasma acoplado inductivamente - espectrometría masas (ICPMS) [24]. Sin embargo, además de ser muy costosas, proveen información del contenido de mercurio total, lo cual es insuficiente información para evaluar la toxicidad potencial de la forma orgánica del mercurio  $MeHg^+$ . Por este motivo, en la determinación de  $MeHg^+$  normalmente se utilizan métodos híbridos que consisten en el acoplamiento de una técnica de separación y una técnica de detección sensible. Además, para el análisis de muestras complejas (suelos, sedimentos y muestras biológicas) es necesario incluir una etapa previa de extracción de la matriz [25].

Se han desarrollado sensores electroquímicos para la detección de metales pesados mediante el uso de técnicas voltamétricas [26-27]. Las técnicas voltamétricas presentan ventajas comparables a las técnicas mencionadas anteriormente como bajos límites de detección, menor costo de equipos y mantenimiento, análisis rápidos y disponibilidad de equipos portátiles [28]. Los electrodos de trabajo de uso común en voltametría son el electrodo de pasta de carbono (CPE) y el electrodo de carbón vítreo (GC), los cuales pueden mejorar propiedades como la sensibilidad y selectividad a partir de modificación de su superficie como, por adsorción, por formación de un compuesto, polimerización electroquímica y deposición electroquímica. Los polímeros impresos iónicos (IIPs) que se caracterizan por su alta selectividad hacia un tipo de ión tienen aplicación en la modificación de electrodos [29] y puede ser utilizado para preconcentrar iones metálicos



en la superficie de un electrodo y de esta manera mejorar la selectividad durante la cuantificación. Sin embargo, la modificación de la superficie de un electrodo de pasta de carbono con materiales poliméricos puede afectar la conductividad ya que obstaculiza la transferencia de electrones [30]. Se ha probado que la adición de pequeñas cantidades de nanomateriales carbonosos como el grafeno [31] y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) [32], en el electrodo puede invalidar el efecto aislante que presenta el material polimérico. Por lo tanto, la combinación de IIPs con nanomateriales carbonosos permitiría mejorar la selectividad y sensibilidad de detección de un electrodo de pasta de carbono para la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  por técnicas voltamétricas.

## 1.2 Estado del Arte

En los últimos años se desarrollaron materiales basados en polímeros de impresión iónica para  $\text{MeHg}^+$  (IIPs- $\text{MeHg}$ ) para su aplicación como material de extracción en fase sólida, en sensores y membranas de separación debido a su alta especificidad, estabilidad y reusabilidad [33,34]. Generalmente, la preparación de IIPs consiste en emplear agentes quelantes (vinílicos o no vinílicos) con heteroátomos dadores de electrones (N, S y O) que complejan al ión metálico que actúa como template, para luego quedar atrapado dentro de una red polimérica, que es sintetizada en su periferia [35]. La remoción del template produce el polímero impreso con cavidades específicas capaces de reconocer selectivamente los iones metálicos con que fue sintetizado [36]. La tabla 1 presenta componentes reportados en la literatura para la síntesis de IIPs- $\text{MeHg}^+$ . Como se aprecia en la tabla 1, para la síntesis de IIPs- $\text{MeHg}^+$  es usual emplear cloruro de metilmercurio ( $\text{MeHgCl}$ ) como template, monómeros funcionales ácidos como MAA, entrecruzantes como EDMA y EGDMA, AIBN como iniciador de la polimerización y solventes de diversas polaridades. Por otro lado, los agente quelantes empleados son muy diferentes en sus estructuras, sin embargo, tienen en común heteroátomos como O, S y N, puesto que, el Hg es considerado un ácido blando y puede formar complejos fuertes con bases blandas como O, S y N. En particular Hg tiene una alta afinidad por los grupos sulfhidrilos con constantes de formación superiores que las constantes de afinidad con N u O [37].

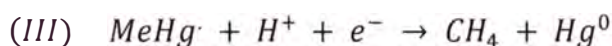
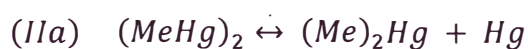
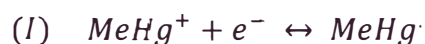
**Tabla 1. Componentes reportados para la síntesis de IIPs-MeHg**

Template	Agente quelante	Monómero funcional	Monómero entrecruzante	Iniciador radicalar	Solvente porogénico	Referencia
MeHgCl 2.5mmol	4-Etenilfenil)-4-formato-6-fenil-2,2'-bipiridil 2.5mmol	-	Divinilbenceno 4mL	AIBN <sup>e</sup> 0.5mmol	acetonitrilo/agua 1:1 250mL	(Liu, Zai, Chang, Guo, <i>et al.</i> , 2006) [17]
MeHgCl 1mmol	MAC <sup>a</sup> 3mmol	-	EDMA <sup>b</sup>	AIBN <sup>e</sup> 0.06g	etanol/tolueno	(Büyüktiryaki, Say, Denizli, & Ersöz, 2007) [38]
MeHgCl 0.075mmol	Fenobarbital 0.3mmol	MAA <sup>f</sup> 0.75mmol	EDMA <sup>b</sup> 4.5mmol	AIBN <sup>e</sup> 0.25mmol	acetonitrilo/agua (4:1) 12mL	(Rodríguez-Fernández, Peña-Vázquez, 2015) [16]
MeHgCl 0.079mmol	PDC <sup>c</sup> 0.17mmol	MAA <sup>f</sup> 42uL	TMPTM <sup>d</sup> 344uL	AIBN <sup>e</sup> 6.4mg	Etanol 60mL	(Jiang <i>et al.</i> , 2017) [13]
MeHgCl 0.21mmol	Fenobarbital 0.42mmol	MAA <sup>f</sup> 71uL	EGDMA <sup>b</sup> 1.13mL	AIBN <sup>e</sup> 55mg	acetonitrilo/agua (3:1) 25mL	(Jinadasa <i>et al.</i> , 2020) [12]

Metacriloil-(L)-cisteina metilester<sup>a</sup>, etilen glicoldimetacrilato<sup>b</sup>, ácido 1-pirrolidincarboditioico<sup>c</sup>, trimetilolpropano trimetacrilato<sup>d</sup>, azobisisobutironitrilo<sup>e</sup>, ácido metacrílico<sup>f</sup>, etilen dimetacrilato<sup>g</sup>

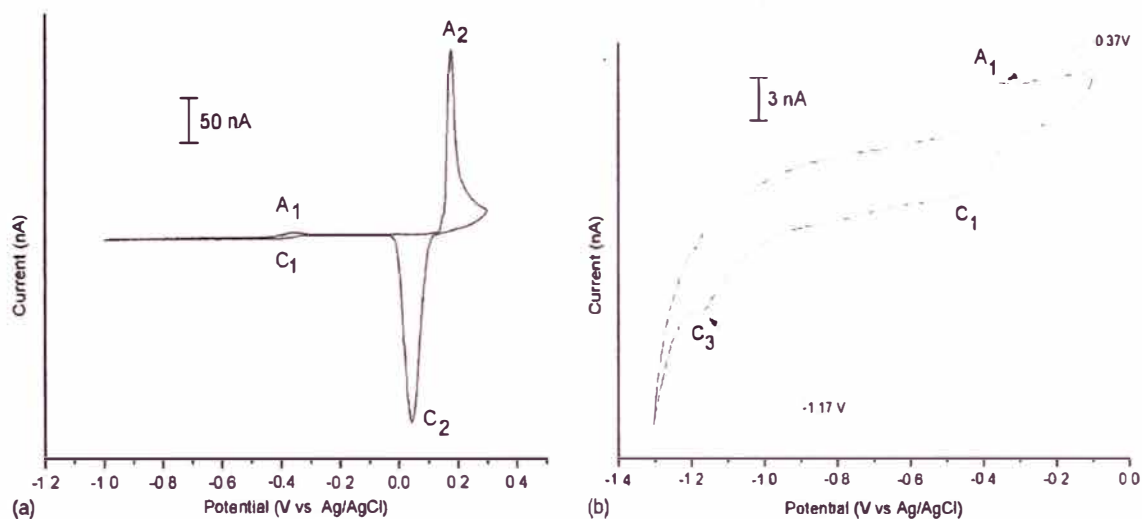
Las técnicas analíticas más utilizadas para la detección de MeHg<sup>+</sup> son espectrometría de absorción atómica de vapor frío (CVAAS) [22], vapor frío espectrometría de fluorescencia atómica (CVAFS) [23] y plasma acoplado inductivamente- espectrofotómetro de masas (ICP-MS) [24]. A pesar de ser técnicas muy sensibles, son muy costosas en mantenimiento, requiere de personal calificado para su uso y tiempo prolongado para cada análisis.

Las técnicas voltamétricas hacen uso de instrumentación relativamente más barata, portátil, de simple operación y tiempos de análisis más cortos. Heaton *et al.*[39], estudiaron la reducción electroquímica de MeHg<sup>+</sup> en un electrodo de carbono en medio ácido empleando las técnicas polarografía de pulso y voltametría cíclica en un electrodo de gota de mercurio. Ellos propusieron el siguiente mecanismo de reducción:



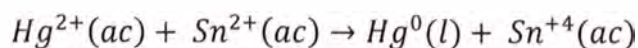
Donde la reducción de  $MeHg^+$  ocurre en 2 pasos: primero con la adición de  $1e^-$  resulta la formación de un radical  $MeHg\cdot$  en la superficie del electrodo (I). Sin embargo, la reoxidación del radical  $MeHg\cdot$  para su detección es muy inestable ya que compite con las reacciones de dimerización (IIa y IIb). Finalmente, con la adición del segundo  $1e^-$  resulta la formación de mercurio elemental  $Hg^0$  y metano (III).

Según Ribeiro *et al.*[40] las reacciones secundarias de dimerización impiden la reacción de reoxidación de  $MeHg\cdot$ , por lo tanto, la señal de oxidación es poco detectable y reproducible. No obstante, este problema fue superado aplicando altas velocidades de barrido ( $20 - 50 \text{ V s}^{-1}$ ) y empleando técnicas voltamétricas rápidas y altamente sensibles como DPV y SWV. El voltamograma CV (figura 1a) muestra la reducción del  $MeHg^+$  C1 (-0.4 V) y su correspondiente pico de oxidación A1 (-0.35 V), mientras que a potenciales más positivos se observa los picos de oxidación y reducción que indican la formación de  $Hg^{2+}$  A2 (+ 0.14 V) y C2 (- 0,064 V). También se muestra el voltamograma a potenciales más negativos (figura 1b), donde se produce la reducción irreversible a  $Hg^0$  C3 (-1.17 V) en la superficie del electrodo.



**Figura 1. Voltamogramas de 500 μM MeHg<sup>+</sup> en 0.1 M HCl en un microelectrodo de carbono (a) 1 V.s<sup>-1</sup>, Ei=-1.0 V; (b) 0.1 V s<sup>-1</sup>, Ei=0 V (vs. Ag/AgCl). (Ribeyro *et al.*, 2006)**

Abolino *et al.* (2009) [41] investigaron la posibilidad de determinar MeHg<sup>+</sup> en presencia de Hg<sup>2+</sup> mediante técnica de voltametría de redisolución anódica (ASV) en un electrodo de carbón vítreo modificado con nanopartículas de oro (AuNPs). Se encontró que el pico de oxidación de ambas especies se produce a 0.58 V (figura 2), lo cual puede ser debido a que MeHg<sup>+</sup> se reduce a MeHg<sup>0</sup> y este se oxida hasta Hg<sup>2+</sup> durante el stripping anódico, que causa la formación de una corriente de pico al mismo potencial que Hg<sup>2+</sup>. No obstante, este problema fue superado mediante la adición de un agente reductor como SnCl<sub>2</sub> que reduce al Hg<sup>2+</sup> en presencia de MeHg<sup>+</sup>. Las especies Hg<sup>2+</sup> y MeHg<sup>+</sup> presentan diferente reactividad frente a SnCl<sub>2</sub>, pues es un potente agente reductor en medio ácido.



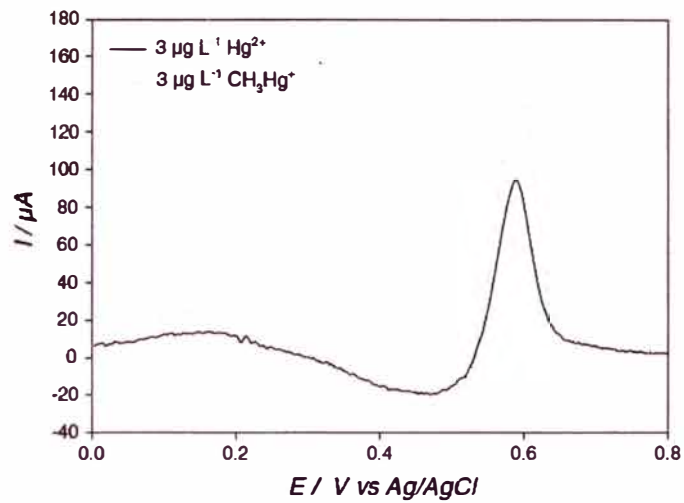


Figura 2. Voltamograma ASV de  $3 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$  de y  $3 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$  (Abolino *et al.*, 2009)

Xu *et al.* (2017) [42] en el estudio de selectividad realizado a su sensor de nanopartículas de oro y óxido de grafeno reducido (AuNPs - RGO) mediante la técnica DPV para la detección de  $\text{MeHg}^+$  en presencia de  $\text{Hg}^{2+}$  (figura 3), adicionaron  $0.1 \mu\text{mol L}^{-1} \text{SnCl}_2$ . La corriente de pico de  $\text{MeHg}^+$  no fue afectada, demostrando que la influencia de  $\text{Hg}^{2+}$  fue eliminada. Se puede concluir, que es posible cuantificar metilmercurio cuando se oxida a  $\text{Hg}^{2+}$ , empleando el agente reductor  $\text{SnCl}_2$ .

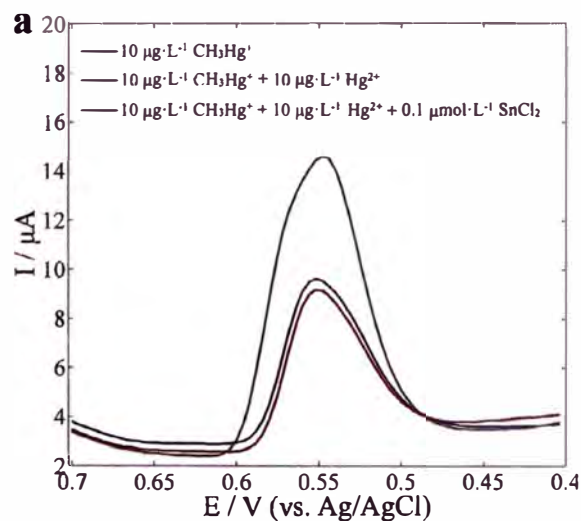


Figura 3. Voltamograma de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$ ;  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  y  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  y  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$ ,  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  y  $0.1 \mu\text{mol L}^{-1} \text{SnCl}_2$ . (Xu *et al.*, 2017)

### 1.3 Planteamiento del Problema

El mercurio es un metal pesado reconocido por la OMS como altamente tóxico tanto para el ser humano como para el medio ambiente [43]. Teniendo en cuenta que el metilmercurio  $\text{MeHg}^+$  es una especie organometálica más tóxica que las especies inorgánicas de mercurio y que es producida en los ambientes acuáticos y se bioacumula y se magnifica en la cadena alimenticia [44]. La determinación de  $\text{MeHg}^+$  constituye un reto para la química analítica, pues es necesario diferenciarla de las otras especies del mercurio que, además, se encuentra en concentraciones extremadamente bajas en matrices complejas. Las metodologías analíticas propuestas para determinar metilmercurio incluyen una etapa de separación y una de cuantificación mediante técnicas generalmente espectroscópicas. Sin embargo, se requiere instrumentación costosa, personal especializado para su manipulación y complicados procesos previos al análisis de muestra. El presente trabajo busca desarrollar un nuevo material en base a la tecnología basada en polímeros de impresión iónica (IIPs), que sea selectivo hacia las especies  $\text{MeHg}^+$  y demostrar su aplicabilidad en sensores electroquímicos para la cuantificación de metilmercurio en muestras de agua. Hasta la fecha no se han reportado investigaciones que combinen la selectividad de los polímeros impresos con la sensibilidad de las técnicas voltamétricas, para la cuantificación de trazas de metilmercurio. Por último, es conveniente validar la nueva metodología analítica desarrollada, que va a permitir evaluar la exactitud, precisión y limitaciones del método.

### 1.4 Justificación

En el medio ambiente acuático, el mercurio elemental es convertido de manera natural en metilmercurio ( $\text{MeHg}^+$ ), especie orgánica más tóxica que el mercurio. Una de las vías de exposición humana es el consumo de agua contaminada con metilmercurio, que afecta el sistema nervioso central, el aparato digestivo, la piel, los pulmones riñones y ojos. Es muy tóxico también para el desarrollo intrauterino y en las primeras etapas de vida [45]. Aunque se han propuesto varios métodos analíticos para  $\text{MeHg}^+$ , la síntesis y aplicación de materiales altamente selectivos para la cuantificación eficiente de  $\text{MeHg}^+$  es un tema que merece más investigación. Por esta razón, el desarrollo de nuevos materiales y estrategias analíticas dirigidas a la preconcentración y cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  es de

importancia científica y social, que tiene un fuerte impacto en la salud pública.

### 1.5 Identificación del aporte científico

Los principales aportes que se lograron durante el desarrollo de la tesis son listados a continuación:

- Desarrollo de un nuevo material basado en la tecnología de polímeros impresos iónicos (IIPs), selectivo a  $\text{MeHg}^+$  para aplicaciones como material adsorbente.  
Desarrollo de un sensor electroquímico para la cuantificación del  $\text{MeHg}^+$  por medio de técnicas voltamétricas, ya que hasta la fecha no se ha reportado investigaciones que combinen la selectividad de los polímeros impresos con la sensibilidad de las técnicas voltamétricas para la cuantificación de trazas de metilmercurio.
- Aplicación del sensor electroquímico para el análisis de muestras reales de interés medioambiental.

### 1.6 Hipótesis

Rabenstein *et al.* (1978) [18] hallaron las constantes de formación de complejos de  $\text{MeHg}^+$  con una variedad de agente quelantes orgánicos e inorgánicos. Los valores de las constantes de formación con agente quelantes orgánicos son mayores cuando el átomo donador es el azufre (15-22) a comparación de los agente quelantes con grupos donadores como oxígeno, nitrógeno o carbono (1-9). Por lo tanto, la inclusión de agente quelantes con azufre en su estructura como 2-mercaptobenzotiazol y 2-mercaptobenzimidazol en la síntesis de polímeros iónicos impresos podrían mejorar la selectividad a metilmercurio. De esta manera el material sintetizado podría ser utilizado como adsorbente selectivo a  $\text{MeHg}^+$  y en un sensor electroquímico para su cuantificación. La adición de pequeñas cantidades de nanomateriales carbonosos como nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) [32] en el electrodo puede invalidar el efecto aislante que presenta el material polimérico. Por lo tanto, la propuesta de este trabajo es responder a la pregunta si la combinación de IIPs y nanomateriales carbonosos permitiría mejorar la selectividad y sensibilidad de un electrodo de pasta de carbono para la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  por técnicas voltamétricas.

## 1.7 Objetivos

### 1.7.1 Objetivo General

Preparar polímeros impresos iónicos selectivos a  $\text{MeHg}^+$  y evaluar su aplicabilidad en sensores electroquímicos para la cuantificación de metilmercurio en muestras de agua

### 1.7.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar una simulación computacional con el método DFT para seleccionar los componentes de la síntesis de los IIPs-MeHg.  
Sintetizar los IIPs-MeHg y caracterizar por las técnicas: Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FEG-SEM), Sorción de  $\text{N}_2$  con la técnica Brunauer Emmett Teller (BET), Análisis termogravimétrico (TGA) y Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FT-IR).  
Realizar los estudios de adsorción y selectividad de  $\text{MeHg}^+$  con los materiales sintetizados  
Evaluar la aplicabilidad de los MeHg-IIPs como material adsorbente en muestras de agua  
Desarrollar un sensor electroquímico modificado con IIPs-MeHg y caracterizar por métodos electroquímicos: Voltametría cíclica (CV) y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)  
Optimizar las condiciones de medición mediante la técnica Voltametría de redisolución anódica diferencial de pulsos (DPASV)
- ✓ Evaluar los parámetros analíticos del sensor optimizado: linealidad, veracidad, sensibilidad, precisión y selectividad.  
Aplicación del sensor electroquímico para la detección de  $\text{MeHg}^+$  en muestras reales de agua.



## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Polímeros de impresión iónicos (IIPs)

Los polímeros de impresión iónicos IIPs son una nueva clase de materiales que presentan sitios de reconocimiento selectivos a iones, los cuales fueron introducidos por Wulff en 1995 [46]. Los IIPs son polímeros adsorbentes caracterizados por su alta selectividad a iones metálicos, los cuales han sido aplicados como materiales de extracción en fase sólida para muestras complejas. Además, se caracterizan por su alta área superficial, estabilidad y reusabilidad [15]. En los últimos 20 años se han incrementado los estudios de IIPs (figura 4), un total de 16 674 publicaciones desde 2000 hasta el 2018, considerando que esta cifra aumenta cada año [47].

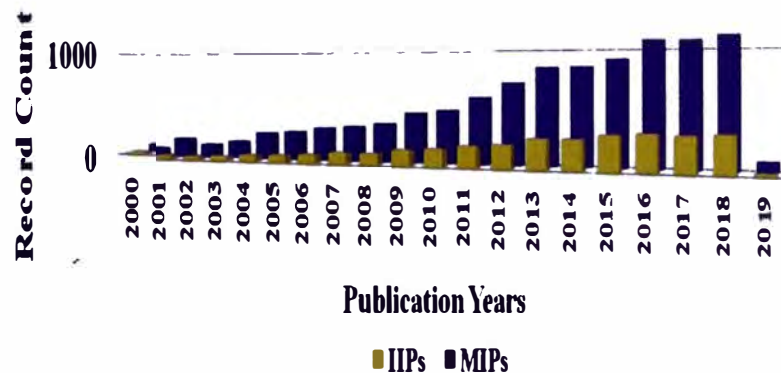
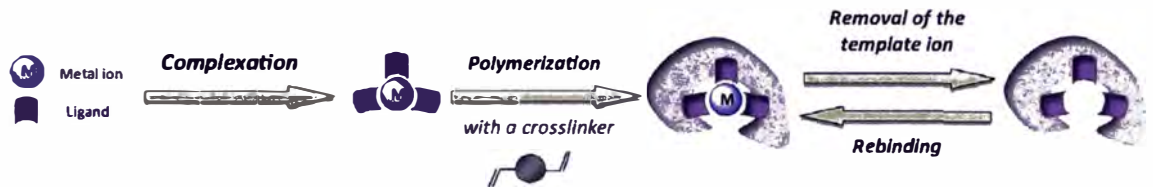


Figura 4. Número de publicaciones de polímeros impresos MIPs e IIPs (Chen *et al.*, 2019)

Un método simple para preparar IIPs consiste en emplear agente quelantes no vinilados (no polimerizables) con heteroátomos dadores de electrones (N, S, O) que acomplejan al ión metálico, para luego quedar atrapado dentro de una red polimérica que es sintetizada en su periferia [48]. La obtención de IIPs consta de 3 pasos: la complejación del ión metálico (template) con agente quelantes selectivos al template, la copolimerización alrededor del complejo metálico con monómeros funcionales y monómeros entrecruzantes empleando un iniciador radicalar. Finalmente, la remoción del template del polímero deja cavidades o sitios impresos complementarios en forma y

tamaño a los iones metálicos (figura 5). De esta manera, el polímero resultante posee alta selectividad a los iones equivalentes al template sobre otros iones en solución [49].



**Figura 5. Representación esquemática de la síntesis de IIPs empleando un agente quelante no vinilado (Branger *et al.*, 2013)**

Otro método simple de obtener IIPs es empleando un agente quelante que cumpla además la función de monómero estructural, en otras palabras, que posea grupos funcionales para formar enlaces coordinados con el template metálico y que también posea grupos vinílicos para la formación del polímero. La síntesis consta de 2 pasos: la mezcla de todos los componentes de los IIPs (el template iónico metálico, el agente quelante, el agente entrecruzante y el iniciador) para la reacción de polimerización y finalmente la remoción del template (figura 6). Sin embargo, los mencionados agentes quelantes no son comerciales y deben ser sintetizados.



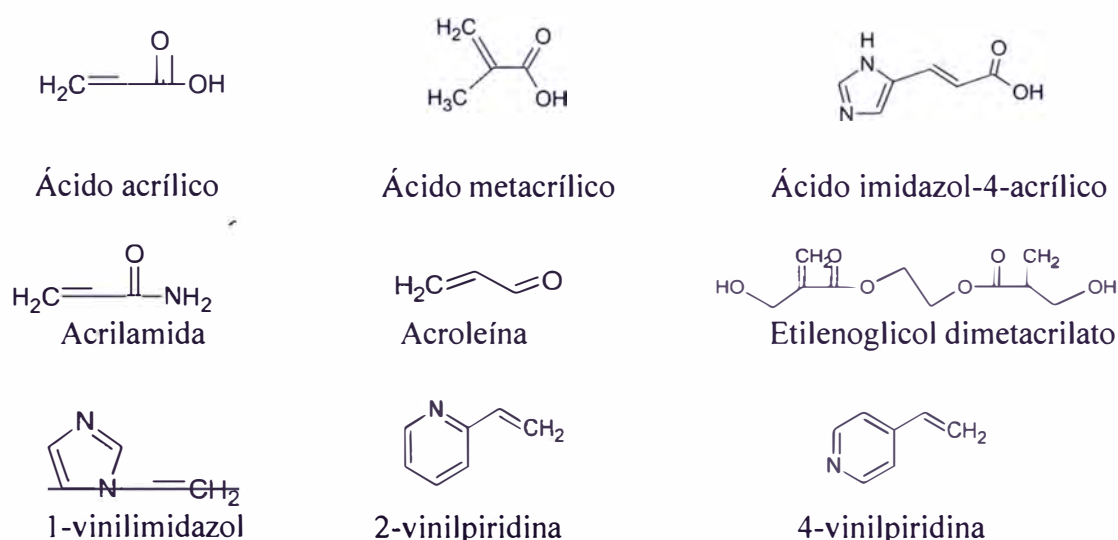
**Figura 6. Representación esquemática de la síntesis de IIPs empleando un agente quelante vinilado. Adaptado (Branger *et al.*, 2013)**

## 2.2 Componentes de la síntesis de IIPs

La selectividad al template es ampliamente influenciada por la elección del agente quelante, puesto que la geometría del complejo, el número de coordinación, el tamaño y carga del ion metálico afecta la selectividad del IIP. La interacción de coordinación entre el ion template y el polímero es debido a la donación de electrones de los heteroátomos (N,S,O) del agente quelante hacia la esfera de orbitales vacíos del ion metálico [50].

Los monómeros funcionales son compuestos vinilados que cumplen el rol de organizar la matriz polimérica en 3D alrededor del complejo que incluye el template iónico. Son escogidos de acuerdo a su capacidad de interactuar con los grupos funcionales del agente quelante y el template [49]. Existen 2 tipos de interacciones que se pueden dar entre los monómeros funcionales, el agente quelante y el template los cuales son covalente y no covalente. Las interacciones covalentes se caracterizan por ser homogéneas y muy fuertes lo cual podría dificultar la remoción del template. Las interacciones no covalentes vienen a ser las fuerzas electrostáticas, el puente de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals las cuales son interacciones débiles, a pesar de ello, son ampliamente usadas en IIPs debido a la diversidad de monómeros disponibles [51]

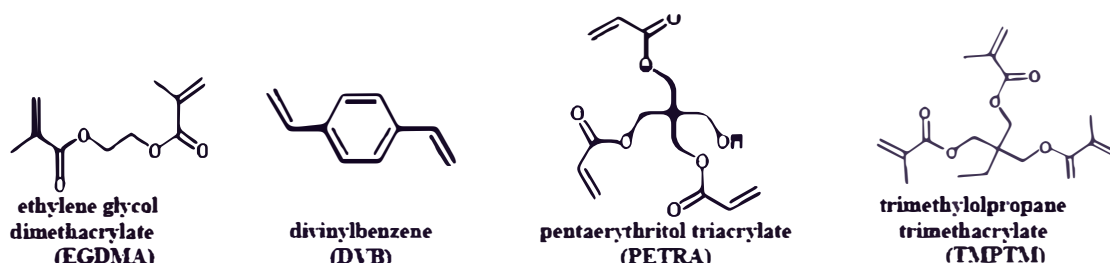
Entre los monómeros funcionales más empleados en la síntesis de IIPs se encuentran los de tipo ácido como ácido acrílico (aa), ácido metacrílico (maa), los de tipo neutro como acrilamida (am), estireno (es) y los de tipo básico como 1-vinilimidazol (vim) y 4-vinilpiridina (4vp). La figura 7 muestra la estructura de monómeros funcionales comunes.



**Figura 7. Monómeros funcionales estructurales más empleados en la preparación de IIPs**

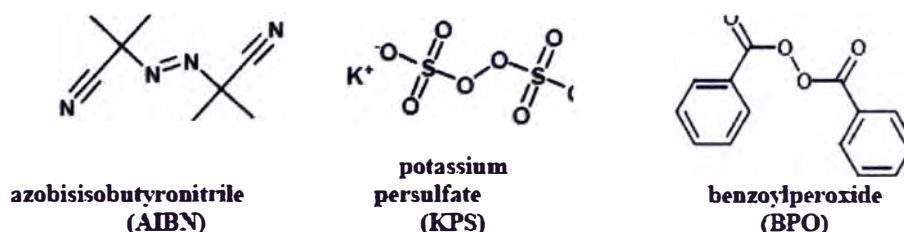
El monómero entrecruzante desempeña un rol importante en la estabilidad, mecanismo y porosidad del polímero impreso. Los más comunes son el dimetilacrilato de etilenglicol (EGDMA), tetraetoxisilano (TEOS), trimetacrilato de trimetilolpropano (TMPTM). Una adecuada proporción molar de monómero entrecruzante determina el tamaño de partícula

y la uniformidad de los polímeros impresos [49]. El monómero entrecruzante y el solvente porogénico son altamente responsables de la porosidad del polímero. La figura 8 muestra la estructura de monómeros entrecruzantes (crosslinker) más usados.



**Figura 8. Monómeros entrecruzantes más usados en la preparación de IIPs (Fu *et al.*, 2015)**

El iniciador radicalar de la polimerización es el responsable del comienzo de la reacción de polimerización. Su empleo es en bajas proporciones en comparación al monómero funcional. La molécula del iniciador es fragmentada homolíticamente por descomposición térmica, fotólisis o radiación ionizante. En la mayoría de los casos se obtiene los radicales por descomposición térmica, sin embargo, el AIBN puede ser descompuesto por fotólisis (UV). Los más comunes son 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) o AIBN y peróxido de benzoilo o BPO [49]. La figura 9 muestra la estructura de iniciadores radicalares más empleados en IIPs.



**Figura 9. Estructuras de iniciadores radicalares más comunes (Fu *et al.*, 2015)**

Los solventes porogénicos son ampliamente utilizados en la síntesis de IIPs ya que determinan la intensidad de interacciones no covalentes e influyen la morfología y porosidad del polímero. Los solventes porogénicos presentan polaridad relativamente baja a fin de reducir las interferencias en las interacciones entre el template y los monómeros en la etapa de prepolimerización. Es recomendable emplear solventes apróticos como

tolueno, acetonitrilo, diclorometano y cloroformo ya que presentan alta eficiencia en la impresión de polímeros en sistemas no covalentes. Se debe considerar que todos los componentes de la polimerización deben ser solubles en el solvente porogénico, lo cual es un problema para los componentes muy polares lo que restringe la elección de un solvente porogénico, una alternativa es emplear mezclas de solventes [49].

La presencia de O<sub>2</sub> en el sistema, retarda la formación de radicales libres y bloquea la etapa de propagación de la polimerización. De esta forma, se debe remover el O<sub>2</sub> disuelto antes de iniciar la polimerización, esto se puede realizar por ultrasonido o por la adición de un gas inerte (nitrógeno o argón) [52].

### 2.3 Simulación computacional para la síntesis de IIPs

Estudios computacionales han sido realizados para seleccionar los componentes para la síntesis de MIPs e IIPs [53, 54]. En general, para lograr un rendimiento óptimo de materiales adsorbentes se requiere experimentación, reactivos y tiempo. Por ello, cálculos teóricos basados en la teoría funcional de la densidad (DFT) se han utilizado ampliamente para explicar fenómenos experimentales especialmente en la etapa de prepolimerización. La teoría funcional de la densidad (DFT) es un método computacional aplicado a sistemas electrónicos. La DFT es capaz de obtener la energía y la distribución electrónica del estado fundamental, trabajando con el funcional de la densidad electrónica en lugar de la función de onda como en el Método de Hartree-Fock. La densidad es una magnitud mucho más simple que la función de ondas y por lo tanto más fácil de calcular y en la práctica son accesibles sistemas mucho más complejos [55].

Teoría del funcional de la densidad (DFT) es ampliamente usada para calcular las energías de enlace basadas en energías libres de Gibbs( $\Delta G$ ), debido a su rapidez en el cálculo computacional y su exactitud con el resultado [56]. La energía de enlace es obtenida según la ecuación 1:

$$\Delta E = E(\text{complejo}) - E(\text{ión de estudio}) - nE(\text{ligando}) \quad (1)$$

W. Lai, *et al.* mencionan que la energía de enlace permite predecir con precisión las capacidades de adsorción. Puesto que, a mayores valores absolutos de energía de

adsorción obtenidos por cálculos DFT, mayor es la capacidad de adsorción. Aunque, no existe una base teórica para establecer una relación cuantitativa entre capacidad de adsorción y energía de adsorción. Muchos de los modelos de adsorción se basan en la distribución de energía del enlace [57].

## 2.4 Técnicas de polimerización

Los IIPs son preparados por métodos tradicionales de polimerización (bulk, precipitación y suspensión). La polimerización en el bulk es la técnica de preparación más usada para la síntesis de polímeros impresos. Consiste en realizar una mezcla entre el monómero funcional, el template, el entrecruzante y el iniciador en un solvente. Luego las partículas del polímero obtenido son triturados y tamizados para que tengan un mismo tamaño. Sin embargo, presentan limitaciones en la transferencia de masa, en la remoción incompleta del template y la recuperación del material para su reuso [58]. Además, presenta desventajas como: distribución heterogénea de los sitios de impresión, bajo rendimiento de las partículas recuperadas, destrucción de sitios de reconocimiento.

A manera de contrarrestar las limitaciones, surgieron otras formas de polimerización como la polimerización en suspensión, la cual es una polimerización heterogénea que requiere de dos fases no miscibles en contacto: una es la fase continua y la otra es la fase dispersa. La fase dispersa contiene los monómeros, el iniciador, el template iónico disueltos en un solvente porogénico orgánico. La fase continua es acuosa, es abundante y está estabilizada con tensoactivos como alcohol polivinílico, gelatina o hidroxietil celulosa. El sistema es agitado vigorosamente para la formación de gotas (orden de tamaño  $\mu\text{m}$ ). La polimerización ocurre en las gotas de la fase dispersa actuando como un pequeño reactor. Esta técnica permite controlar la forma y tamaño de los polímeros [59].

La polimerización por precipitación es parecida a la de bulk la diferencia es la cantidad de solvente porogénico, en la polimerización por bulk la cantidad de solvente porogénico es mínima (10 mL) mientras que en precipitación el solvente porogénico es 5 veces mayor (60 mL). Las partículas obtenidas presentan tamaños aproximados a 10  $\mu\text{m}$ . Un inconveniente de la polimerización por precipitación es su baja robustez en términos de impresión, ya que no toda la molécula molde puede imprimirse. La baja robustez se debe

a un alto nivel de condiciones para la polimerización lo que restringe los solventes porogénicos que pueden utilizarse.

Recientemente ha surgido la técnica de polimerización superficial (figura 10) que consiste en formar el polímero sobre una superficie como partículas de sílica gel, formando así una estructura core-shell. Se caracterizan por poseer estabilidad mecánica y química. De esta manera los sitios impresos están en la superficie y resuelve el problema de la transferencia de masa [50].

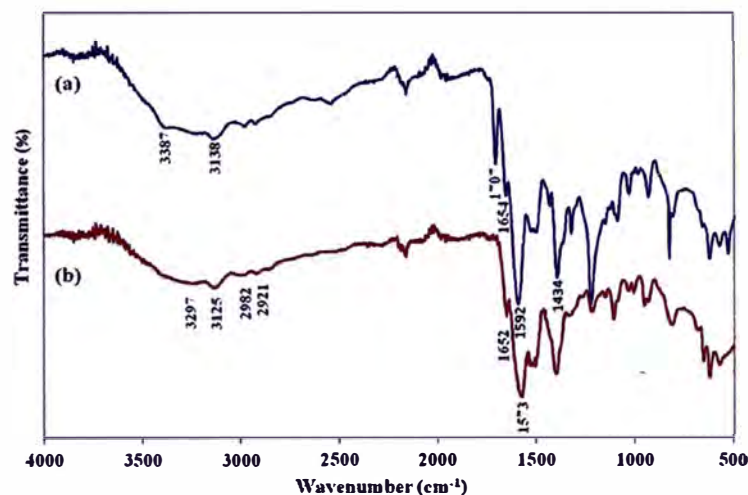


Figura 10. Técnica de impresión del MIP en la superficie (Fu *et al.*, 2015)

## 2.5 Técnicas de caracterización de los IIPs

Los polímeros de impresión iónicos son sólidos y no pueden ser caracterizados por técnicas empleadas en solución como espectroscopía UV-Vis. Además, los IIPs son amorfos y las técnicas cristalográficas no pueden ser empleadas para determinar su estructura [60]. El primer reto en la síntesis de IIPs es verificar que el agente quelante ha sido correctamente incorporado a la red polimérica, lo cual se puede verificar por medio de análisis elementales comparado con análisis teóricos. La espectroscopía FT-IR es comúnmente empleada para establecer la presencia del agente quelante en el IIP y NIP.

Yilmaz *et al.*, 2014, sintetizaron un IIPs utilizando como template el ión Cd(II), pudieron confirmar la formación del complejo empleando Espectroscopía FTIR. Los espectros IR del agente quelante N-metacriloil-(L)-histidina y el complejo Cd(II)- N-metacriloil-(L)-histidina fueron comparados en la figura 11. El pico correspondiente al grupo (-C=N-) del anillo imidazol y la amina (-NH) en el agente quelante a  $1592\text{ cm}^{-1}$  son desplazados hasta  $1573\text{ cm}^{-1}$  en el complejo, lo que sugiere la coordinación del N del anillo imidazol y la amina con el ión Cd(II) [48].



**Figura 11. Espectro infrarrojo del agente quelante N-metacrilol-(L)-histidina y el complejo Cd(II)- N-metacrilol-(L)-histidina 19 (Yilmaz *et. al.* 2014)**

La correcta remoción del template del IIP es un paso determinante para la eficiencia del material. Cuando se realiza la síntesis empleando un agente quelante no vinilado que queda atrapado en la red polimérica, se espera que este no sea afectado por la remoción del template. El análisis termogravimétrico (TGA) pueden ser usado para comparar el comportamiento de un IIP antes de la remoción del template, un IIP después de la remoción del template y el NIP [61]. Para la evaluación de la presencia o ausencia de un ión metálico en la matriz polimérica, Espectroscopía Dispersiva de Rayos X (EDX) y Espectroscopía Raman proveen análisis eficientes. Sin embargo, si la proporción del template es muy pequeña con respecto a los demás componentes de la polimerización, se puede optar por cuantificar el ion metálico en los lavados que se realice al polímero hasta que la concentración sea cero.

El análisis de morfología del material, empleando la técnica Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) permite comparar la estructura porosa de un IIP contra una estructura menos porosa de un NIP, además, la porosidad puede ser mejor estudiada empleando sorción de N<sub>2</sub> con la técnica Brunauer Emmett Teller (BET) ya que permite analizar el área superficial, el tamaño de poro y el promedio de diámetro de poro. Comparando el diámetro de poro con el radio iónico del ión template hace referencia al potencial de los IIPs [62]. Zhu *et al.*, 2017, sintetizaron un IIP para Cd(II) y para la caracterización de su polímero impreso y su polímero control utilizaron las técnicas SEM para el análisis de



la morfología del polímero luego de la remoción del template, FTIR para la identificación de grupos funcionales presentes en el polímero y TGA para comparar el IIP antes y después de la remoción del template [63].

## 2.6 Adsorción

La adsorción es un fenómeno que ocurre en la interfase sólido-líquido o sólido-gas, donde el componente líquido o gaseoso (adsorbato) se difunde a la superficie del componente sólido (adsorbente). El proceso puede ser físico debido a fuerzas físicas asociadas a fuerzas de van de Waals y fuerzas electrostáticas entre moléculas del adsorbato y los átomos presentes en la superficie del adsorbente con entalpías de adsorción ( $\Delta H = 20-40 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), o puede ser del tipo químico cuando la fuerza de atracción entre el adsorbato y el adsorbente genera un enlace químico con la formación de enlaces covalentes con entalpías de adsorción ( $\Delta H = 200-400 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) [64].

La cantidad retenida del adsorbato se puede expresar a través del porcentaje de adsorción (%E), el cual mide la cantidad de adsorbato removido mediante la diferencia de concentración antes y después de la adsorción, y la capacidad de adsorción ( $q_e$ ), que relaciona la cantidad de adsorbato removido en el equilibrio con la cantidad de adsorbente utilizado también en la condición de equilibrio.

$$E\% = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} * 100 \quad (2)$$

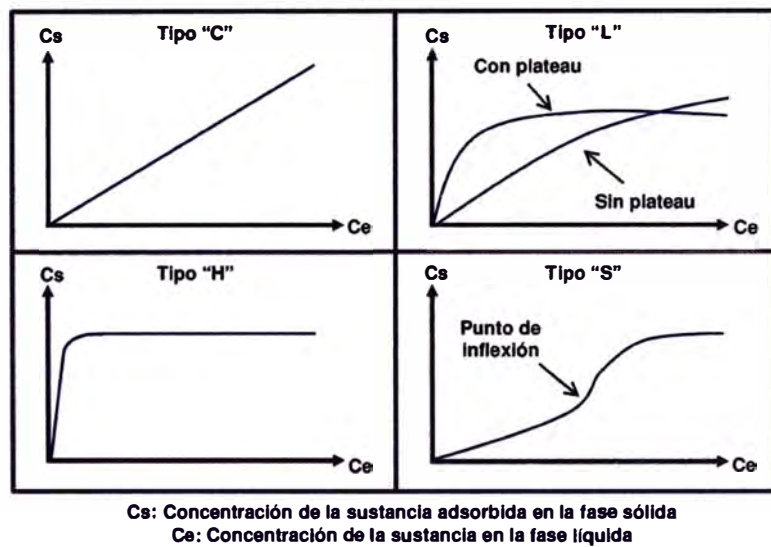
$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) * V}{m} \quad (3)$$

Donde:  $C_0$  y  $C_e$  son la concentración inicial y en el equilibrio del adsorbato, respectivamente ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $V$  es el volumen de la solución (mL),  $m$  es la masa de adsorbente (mg) y  $q_e$  representa la capacidad de adsorción ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

## 2.7 Isotermas de Adsorción

Las isotermas de adsorción proporcionan información cualitativa sobre el proceso de adsorción entre las fases involucradas (sólido-líquido) en el equilibrio. La condición de

equilibrio (relación entre la cantidad adsorbida y la cantidad remanente del adsorbato en la solución) se establece cuando ambas fases han estado en contacto suficiente tiempo para que el adsorbato se distribuya uniformemente en la superficie del sólido adsorbente. Giles y Smith [65], propusieron 4 tipos de isothermas principales (C, L, H y S) que se diferencian en su comportamiento inicial y en varios subgrupos dependiendo del tramo final, la figura 12 muestra los tramos iniciales de las mismas.



**Figura 12. Principales isothermas de adsorción para un sistema sólido-líquido (Giles *et al.* 1960)**

- Tipo C: La concentración de los centros libres permanece constante con  $C_e$ . Ocurre con  $C_e$  baja, o con adsorbentes flexibles que se expanden. Este tipo de adsorción indica que el adsorbato presenta mayor afinidad por el adsorbente que por el disolvente. La forma lineal de la isoterma indica que el soluto penetra en zonas inaccesibles [66].
- Tipo L (o tipo Langmuir): Es el tipo más común de las isothermas en fase líquida. Son cóncavas respecto al eje de abscisas, por lo que a medida que aumenta la concentración en la fase líquida, la cantidad adsorbida aumenta más lentamente. Este tipo de isothermas se presentan cuando existe fuerte atracción intermolecular entre las moléculas de adsorbato [62].

- Tipo H: Es el extremo de una isoterma L, también denominada irreversible. Ocurre cuando la interacción adsorbato-adsorbente es muy fuerte. El soluto tiene tanta afinidad hacia la fase sólida que en disoluciones diluidas se encuentra totalmente adsorbido, o prácticamente no se detecta en disolución. La parte inicial de la isoterma es vertical [62].
- Tipo S: La curva convexa con un punto de inflexión, típico de una adsorción cooperativa debido a que existe una moderada atracción intermolecular entre el adsorbato y el adsorbente, y se produce una fuerte competencia por los centros de adsorción con las moléculas de disolvente o de otros adsorbatos. La adsorción aumenta con una mayor concentración de adsorbato [62].

Existen modelos matemáticos de isothermas de adsorción que se han aplicado a la caracterización de polímeros de impresión molecular. Los modelos más empleados en estudios de adsorción en sistemas sólido-líquido de un solo componente pueden ser discretos o de distribución continua. Entre los modelos se encuentran: el modelo discreto de Langmuir y el modelo de distribución continua de Freundlich.

a) Isoterma de Langmuir:

El modelo supone que la adsorción máxima corresponde a una monocapa saturada de moléculas de adsorbato. La adsorción sólo puede ocurrir en un número definido de sitios localizados (adsorción limitada), cada sitio puede contener sólo una molécula del adsorbato, todos los sitios son equivalentes, y que no hay interacción entre las moléculas adsorbidas. Este modelo señala que la interacción se da por atracción física (electrostática o de van de Waals) [64]. La ecuación linealizada del modelo de Langmuir es:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{Q_m} + \frac{1}{bQ_m} \quad (4)$$

Donde:  $Q_e$ , es la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $\mu\text{g g}^{-1}$ );  $C_e$ , es la concentración del adsorbato presente en la solución en el equilibrio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ );  $Q_m$ , es la capacidad de adsorción de la monocapa ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) y  $b$  es la constante de la isoterma de Langmuir

(L  $\mu\text{g}^{-1}$ ).

b) Isoterma de Freundlich:

Asume una heterogeneidad en la superficie del adsorbente y la formación de multicapas. Supone que la energía libre de adsorción varía de forma exponencial con el recubrimiento de

la superficie y que existen fuerzas de interacción entre las moléculas de adsorbato [64].

La ecuación linealizada del modelo de Freundlich es:

$$\log Q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad (5)$$

Dónde:  $Q_e$ , es la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ );  $C_e$ , es la concentración de soluto en la solución en el equilibrio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ );  $K_f$  ( $\mu\text{g l}^{-1} \text{ n L}^{-1} \text{ n}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y  $1/n$  son las constantes de Freundlich y están relacionadas a la capacidad e intensidad de la adsorción.

### 2.7.1 Cinética de adsorción

El estudio cinético se lleva a cabo para describir la velocidad de adsorción de los materiales sintetizados que corresponde al tiempo de contacto en que se alcanza las condiciones de equilibrio. También permite diferenciar los procesos de adsorción y atribuir la interacción entre el adsorbente y el adsorbato a un mecanismo de transferencia de masas o a reacciones químicas. Para describir el mecanismo de adsorción se consideró los modelos cinéticos de pseudo primer orden y de pseudo segundo orden.

a) Modelo de pseudo primer orden:

El modelo cinético de pseudo primer orden se aplica ampliamente en diversos de procesos de adsorción. Se prevé que la tasa de ocupación de los sitios de adsorción sea proporcional al número de sitios desocupados [67]. Su ecuación linealizada es:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_1}{2.303} t \quad (6)$$

Donde:  $q_e$  y  $q_t$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) son las capacidades de adsorción en el equilibrio y en un tiempo  $t$ ,  $k_1$  es la constante de velocidad del modelo de pseudo primer orden ( $\text{min}^{-1}$ ) y  $t$  es el tiempo de adsorción (min).

b) Modelo de pseudo segundo orden:

El modelo cinético de pseudo segundo orden se basa en el supuesto de que la velocidad de adsorción está controlada por el mecanismo de adsorción químico. La adsorción química se produce por el intercambio y la transferencia de componentes electrónicos entre adsorbente y adsorbato [68]. Su ecuación linealizada es:

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (7)$$

Donde:  $qt$  y  $q_e$ , son las capacidades de adsorción en un tiempo  $t$  y en equilibrio,  $k_2$  es la constante de velocidad del modelo de pseudo segundo orden ( $\text{g} \cdot \text{ug}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) y  $t$  es el tiempo de adsorción (min).

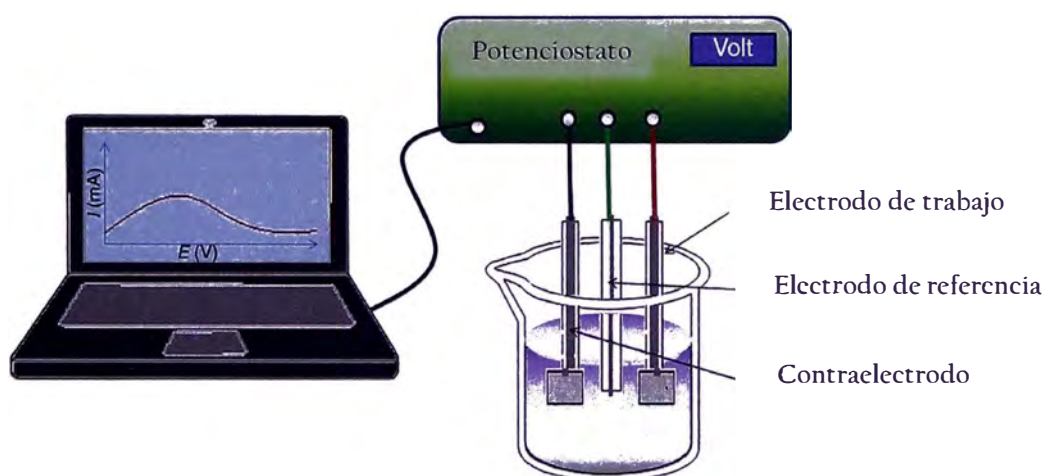
## 2.8 Sensores Electroquímicos

Un sensor en general es un dispositivo que responde a estímulos físicos como: calor, luz, sonido, presión, magnetismo y movimiento, y transmite un impulso eléctrico como resultado de medir el cambio de cualquier propiedad intrínseca del material constituyente [69]. Los sensores electroquímicos son una clase de sensores químicos en los que un electrodo se utiliza como elemento transductor en presencia de un analito. Se han diseñado y desarrollado nuevos sensores electroquímicos sensibles, selectivos y rentables para la detección de contaminantes ambientales (hidracina, nitrobenzeno, nitrofenoles y pesticidas), metales pesados ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{As}^{3+}$ ), biomoléculas (glucosa, dopamina, ácido ascórbico y ácido úrico) [70], entre otros. Actualmente, los paradigmas que involucran la investigación y desarrollo de sensores electroquímicos promueven el estudio de nuevos materiales, aplicaciones en muestras de diferente naturaleza y estrategias para mejorar la selectividad y los límites de detección [71].

## 2.9 Principios de Voltametría

La voltametría tuvo su origen con la polarografía en 1922 con el trabajo del químico checo llamado Jaroslav-Heyrovsky, quien introdujo el electrodo de gota de mercurio y que recibió el Premio Nobel en química en 1959 [72]. El principio básico de todas las técnicas voltamétricas es la aplicación de un potencial a un electrodo que varía en relación al

tiempo. Puesto que el potencial controlado hace que las especies en solución se electrolicen (oxiden o reduzcan) en el electrodo [73]. Aunque el principio voltamétrico sólo requiera 2 electrodos, en la práctica es muy difícil mantener el potencial constante mientras se da la transferencia de corriente por los eventos rédox en el electrodo de trabajo. Por ello, se requiere de una celda con 3 electrodos (figura 13) que consiste en un electrodo de trabajo donde ocurre las reacciones de oxidación y reducción de las especies en la solución, un contraelectrodo que sirve para completar el circuito eléctrico del sistema electroquímico y un electrodo de referencia que proporciona una referencia para la evaluación de los parámetros medidos [74]. La corriente eléctrica del sistema electroquímico se controla con un potenciostato en función de la variación del potencial de análisis (técnicas voltamétricas).



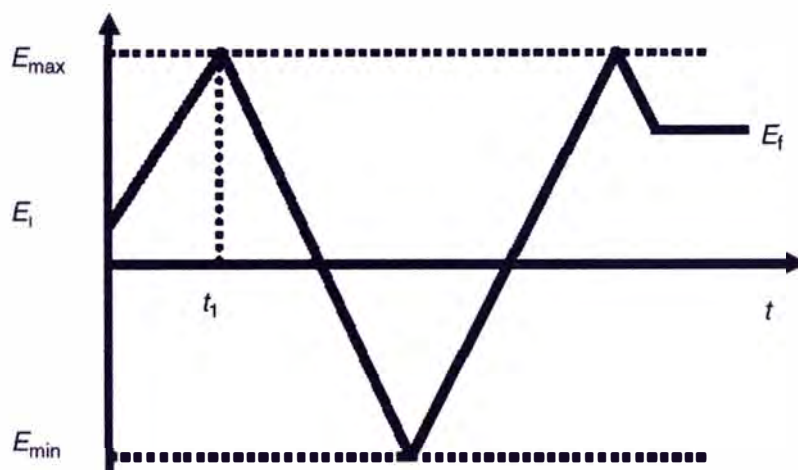
**Figura 13. Celda electroquímica convencional en un sistema de tres electrodos (Simões *et al.*, 2017)**

## 2.10 Técnicas voltamétricas

### 2.10.1 Voltametría cíclica (CV)

Es un método electroquímico dinámico para medir eventos rédox para obtener información de los potenciales rédox, mecanismos de reacción y parámetros cinéticos [75]. En CV, el potencial es aplicado al WE en una dirección y luego en dirección inversa, donde la corriente resultante es medida. Por lo general, surge un perfil de potencial

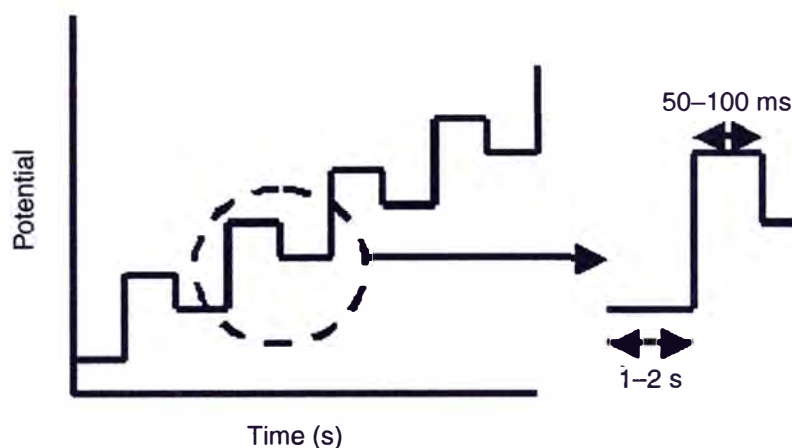
triangular simétrico (figura 14), donde  $E_i$  es el potencial de inicio y  $E_r$  es el potencial de inversión. El intervalo de potenciales de inversión elegido para un experimento es aquel en que tiene lugar la oxidación o reducción de uno o más analitos controlados por difusión [76]



**Figura 14.** Potencial aplicado en función del tiempo en voltametría cíclica (CV) (Simões *et al.*2017)

### 2.10.2 Voltametría diferencial de pulsos (DPV)

Es una técnica que implica aplicar pulsos potenciales con amplitud en una rampa lineal. Se elige un valor de potencial base en el que no hay reacción faradaica y se aplica al electrodo. El potencial base aumenta entre pulsos con incrementos iguales [77]. Los puntos donde se realiza las mediciones de corriente son antes de aplicar el pulso y antes que se acabe el pulso (figura 15). La diferencia de estas mediciones es la corriente que se registra en función del potencial aplicado. La DPV mejora los límites de detección obtenidos por voltametría cíclica en 2 ó 3 órdenes de magnitud debido al tiempo de pulso relativamente corto que aumenta las corrientes medidas, de esta manera, la medición diferencial discrimina la corriente de carga (corriente de fondo) [78].



**Figura 15. Diagrama de la aplicación de pulsos en voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) (Simões *et al.* 2017)**

### 2.10.3 Voltametría de redisolución anódica (DPASV)

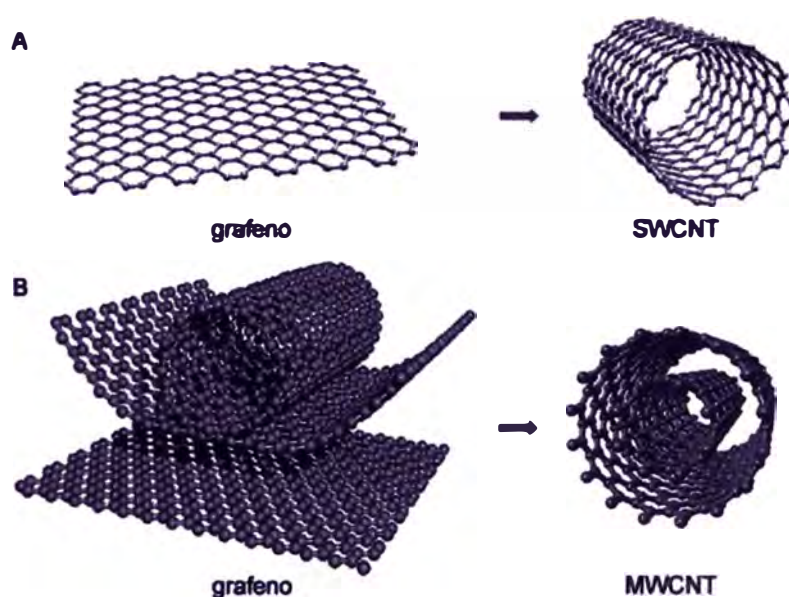
Es una técnica sensible que consiste en 2 etapas: primero, la preconcentración de los iones metálicos a un potencial catódico (negativo), con agitación y tiempo controlado. La segunda etapa consiste en detener la agitación y barrer a potencial anódico (voltametría de pulso diferencial) para la reoxidación de las especies y determinar la concentración a partir de las corrientes de oxidación [73].

### 2.11 Nanotubos de carbono (CNTs)

Son materiales ampliamente utilizados en el desarrollo de sensores electroquímicos [79-80]. Se caracterizan por tener un diámetro en escala nanométrica, ultra livianos, alta área superficial, potencial electrostático neutro, estabilidad química, alta conductividad eléctrica, fuerza mecánica lo que los hace de gran atractivo en el área de sensores electroquímicos. Consiste en estructuras cilíndricas formadas por láminas de grafeno (redes hexagonales de átomos de carbono  $sp^2$ ) enrolladas concéntricamente. La primera evidencia oficial de los CNTs fue en 1991 por el japonés LIJIMA [81]. Los CNTs pueden estar formados por 1 lámina de grafeno denominados nanotubos de carbono de pared simple (SWCNTs) o más de una lámina enrollada concéntricamente denominadas nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs). El uso de nanotubos de carbono en electrodos de pasta de carbono y carbón vitreo aumentó considerablemente ya que proveen



propiedades electrocatalíticas, disminución de sobrepotenciales y el aumento de la corriente de pico. Se ha probado que la modificación de la superficie de un electrodo de pasta de carbono con materiales poliméricos puede afectar la conductividad ya que obstaculiza la transferencia de electrones [30]. Se ha probado que la adición de pequeñas cantidades de nanomateriales carbonosos como MWCNTs en el electrodo puede invalidar el efecto aislante que presenta el material polimérico [82].



**Figura 16. Estructuras de SWCNTs (A) y MWCNTs (B) (Adaptado de Vidu *et al.* 2014) [83]**

## 2.12 Espectroscopía de impedancia electrónica (EIS)

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés) es una técnica eficiente para investigar la resistencia de los electrodos. EIS se basa en aplicar una perturbación sinusoidal a un electrodo como una función de la frecuencia a potencial constante y medir la respuesta en forma de corriente sinusoidal. Así el potenciostato usado procesa las mediciones y da como resultado una serie de valores de impedancia en función de la frecuencia que se denomina espectro de impedancias [84].

EIS emplea el circuito de Randles que es equivalente a una reacción electroquímica simple para estudiar parámetros como la resistencia a la solución ( $R_s$ ), resistencia a la transferencia de carga ( $R_{tc}$ ), resistencia de la difusión ( $Z_w$ ), capacitancia de la doble capa ( $C_d$ ) de los electrodos modificados [82] (figura 17).

Para la representación de los datos de impedancia se emplea los gráficos de Nyquist y de Bode. En el caso del gráfico de Nyquist representa la impedancia imaginaria ( $Z''$ ) vs. La impedancia real ( $Z'$ ) [82] (figura 18).

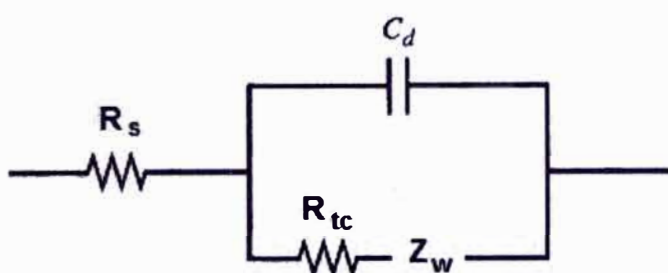


Figura 17. Circuito de Randles: equivalente a una reacción redox simple

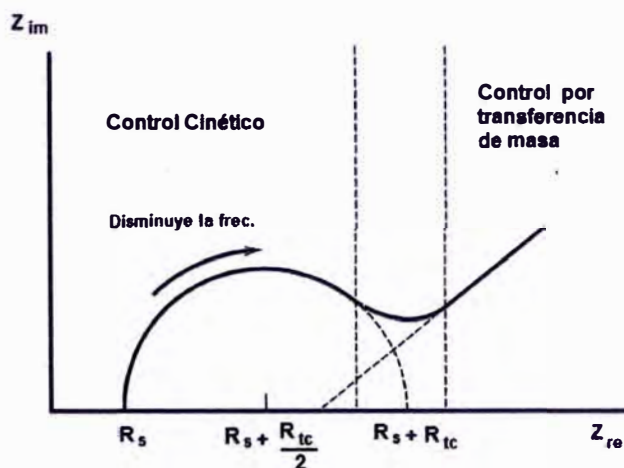


Figura 18. Diagrama de Nyquist: respuesta de espectroscopia de impedancia electroquímica para un circuito equivalente tipo Randles

### 2.13 Parámetros Analíticos

La validación es la verificación de determinados parámetros de un método en la que los requisitos especificados para estos, demuestran que el método es idóneo para un uso

previsto. El desarrollo de un nuevo método analítico para la determinación de un analito de interés va acompañado a un proceso de validación que asegure la confiabilidad de los resultados.

### **2.13.1 Linealidad**

Se define como la relación lineal entre la señal y la concentración del analito, ya que es necesario conocer el rango de concentraciones del analito en el que el método puede ser aplicado. Es recomendable abarcar valores cercanos a cero y valores superiores al límite máximo permisible [85].

### **2.13.2 Límite de detección (LD)**

Es el límite inferior del analito o propiedad que puede ser detectado con certeza por el método. Para fines de validación es suficiente la indicación del nivel a partir del cual la detección se vuelve problemática [83].

### **2.13.3 Límite de cuantificación (LC)**

El límite de cuantificación se conoce como la menor concentración de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de repetibilidad y exactitud [83].

### **2.13.4 Veracidad**

Establece el grado de cercanía de la media de un conjunto de resultados con el valor verdadero. La veracidad se puede expresar en términos de sesgo o recuperación. La veracidad en términos de sesgo, efectúa la comparación de la media de los resultados del método contra un valor de referencia con materiales de referencia certificados o con los resultados obtenidos por un método estándar [83].

### **2.13.5 Precisión**

La precisión es la medida de dispersión de los resultados unos de otros. Se expresa como la desviación estándar o desviación estándar relativa, ya que la varianza es el mejor indicador de la dispersión. Las formas más comunes de la precisión son la repetibilidad y la reproducibilidad [83].

#### **Repetibilidad**

Es la precisión bajo condiciones de repetibilidad, en donde los resultados de análisis de un analito en un material de referencia se obtienen con el mismo método, el mismo laboratorio, el mismo operador dentro de intervalos cortos de tiempo.

#### **Reproducibilidad**

Es el grado de precisión en donde los resultados de análisis se obtienen con el mismo método, pero en condiciones diferentes como laboratorio, diferentes analistas, usando distintos equipos, distintos materiales, entre otros.

#### **2.13.6 Selectividad**

La selectividad es el grado en que un método puede cuantificar o cualificar al analito en presencia de interferentes. Estos interferentes normal o frecuentemente se encuentran en la matriz de interés [83].

## CAPÍTULO III METODOLOGÍA

### 3.1 Reactivos de partida, materiales y equipos

Los reactivos de partida de este trabajo fueron los siguientes:

- Cloruro de metilmercurio (Sigma Aldrich, >99%)
- Solución standard Cloruro de metilmercurio (Alfa Aesar, 1000ppm)
- MBI: 2-mercaptobencimidazol (Sigma Aldrich)
- MBT: 2-mercaptobenzotiazol (Sigma Aldrich)
- AA: Ácido acrílico (Sigma Aldrich)
- EGDMA: Dimetacrilato de etilenglicol (Sigma Aldrich)
- Azodiisobutironitrilo (Sigma Aldrich)
- Etanol (J. T. Baker, 99,80 %)
- Tiourea (Sigma Aldrich)
- HCl (Merck, 37%)
- Cloruro de mercurio (II) (Merck)
- Nitrato de plomo (II) (Merck,  $\geq 99.5$  %)
- Nitrato de cadmio tetrahidratado (Sigma Aldrich, 98 %)
- Cloruro de Hierro (III) (Merck)
- Ferricianuro de potasio (Merck, >99%)
- Cloruro de estaño (II) dihidrato (Sigma Aldrich)
- Aceite mineral (Sigma Aldrich)
- Polvo de grafito (Sigma Aldrich)
- Nanotubos de carbonomultipared (MWCNT) (>95 % en C)
- Agua ultrapura (resistencia=18.2M  $\Omega$ cm)

Los materiales empleados fueron los siguientes:

- Papel filtro # 42 (125 mm diámetro)
- Eppendorf 2mL (200 unidades)
- Electrodo de pasta de carbono

- Electrodo de referencia Ag/AgCl
- Contraelectrodo de platino
- Micropipetas de 10  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 1 mL y 5 mL

Los equipos usados em este trabajo fueron:

- Balanza analítica (NAPCO, modelo ESJ200-4)
- Potenciómetro pH (SI analytics, modelo 850)
- Agitador magnético (VELP SCIENTIFICA, modelo F20330164)
- Baño maría eléctrico (Solab, SL 150/10)
- Estufa de secado (Solab, SL 100)
- Homogenizador de muestras (Norte Científica, NH 2200)
- Centrífuga (Centri Lab, 80-2B)
- Espectrómetro infrarrojo (ATR-FTIR–Vertex 70, Bruker, modelo ALPHA II)
- Equipo de termogravimetría (TGA, Perkin Elmer, STA 6000)
- Microscopio electrónico de barrido (SEM-EDX, Jeol, modelo JSM7500F)
- Equipo de adsorción de N<sub>2</sub> Micromeritics (GEMINI VII-2390)
- Equipo de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación (TDA AAS) acoplado a un analizador directo de mercurio (DMA-80, Milestone, Italy)
- Equipo de espectrometría de emisión óptica de plasma inductivamente acoplado (ICP-OES) (Optima 3300 DV Perkin Elmer)
- Potenciostato (DropSens  $\mu$ STAT 400), software DropView 8400
- Portable electrochemical Interface & Impedance Analyser (IVIUM TECHNOLOGIES) y software IVIUMSOFT
- Analizador de mercurio CVAAS (PerkinElmer, FIMS 400)

## 3.2 Preparación de MeHg-IIPs y su aplicación como material adsorbente

### 3.2.1 Simulación Computacional

Para realizar la selección de los componentes de la síntesis de MeHg-IIPs (agente quelante, monómero funcional y solvente) se realizaron cálculos teóricos empleando el método computacional DFT. Se realizó la optimización de la geometría y el cálculo de las energías de interacción empleando el paquete Gaussian 09 [86] a nivel teórico M06-2X

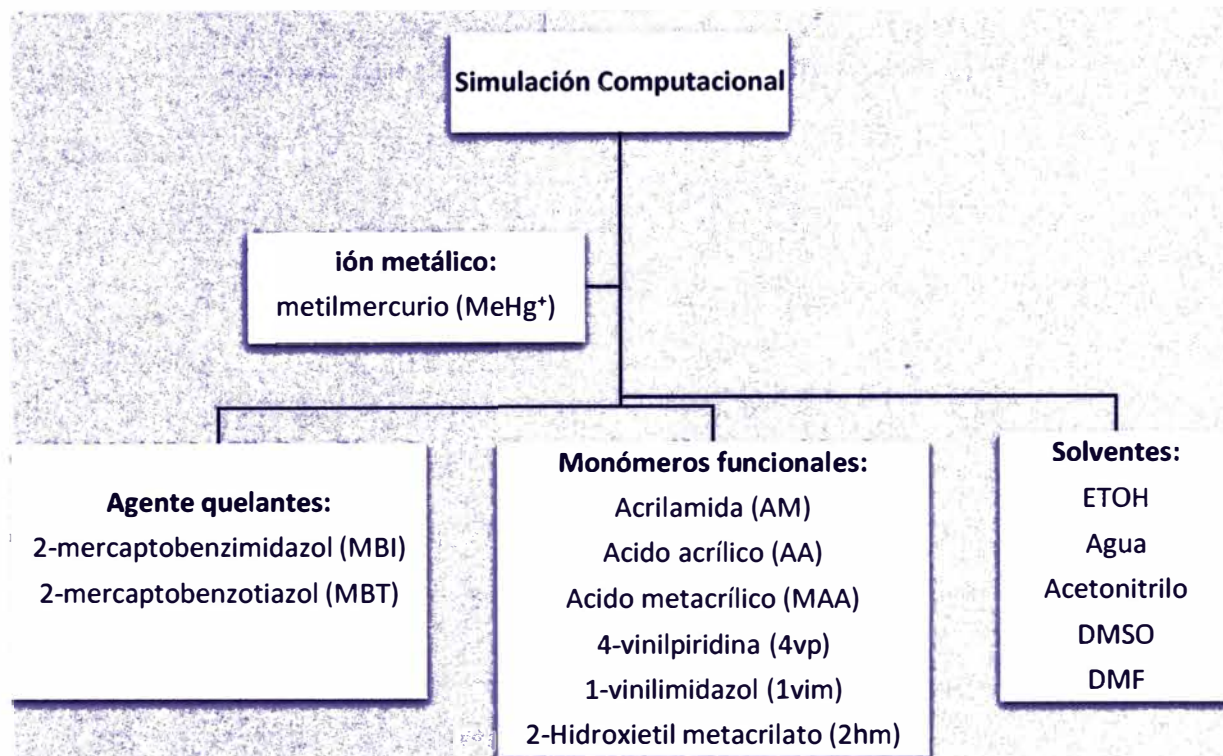
[87] y se usó el conjunto de bases 6-31 + G (d) [88] para los átomos de carbono, azufre, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno. Además, se empleó un pseudopotencial LANL2DZ [89] para describir el átomo de mercurio, mediante el cual se representa los electrones del núcleo interno inactivos, lo que significa que no participan en los cálculos de energía ni en las modificaciones estructurales. Se tomó como base la metodología reportada por Yilmaz *et al.*[48], que consiste en optimizar la geometría para obtener conformaciones de menor energía, seguido por el cálculo de la energía de interacción para cada complejo ión metálico-agente quelante ( $\Delta E_1$ ). Luego, el mismo proceso se llevó a cabo para el complejo ión metálico-agente quelante-FM ( $\Delta E_2$ ). Las energías de interacción de los complejos se basaron en las siguientes ecuaciones:

$$\Delta E_1 = E(\text{ión metálico/ligando}) - E(\text{ión metálico}) - E(\text{agente quelante}) \quad (8)$$

$$\Delta E_2 = E(\text{ión metálico/ligando/FM}) - E(\text{ión metálico/ligando}) - nE(\text{FM}) \quad (9)$$

Donde: n es el número de FM por cada complejo *ión metálico – ligando*

La figura 19 muestra el ión metálico, agente quelantes, monómeros funcionales y solventes que fueron empleados en la simulación computacional.



**Figura 19. Componentes para la simulación computacional de MeHg-IIPs**

### 3.2.2 Síntesis de MeHg-IIPs y su contraparte NIPs

Los polímeros de impresión iónica para metilmercurio (**MeHg-IIPs**) fueron sintetizados mediante la técnica polimerización por bulk tomando como base la metodología propuesta por Jiang *et al.* [13].

Para la síntesis de MeHg-IIPs se utilizó MeHgCl 0.5 mmol como template, MBI o MBT 0.5 mmol como agente quelante sulfhidrilo, ácido acrílico (AA) 1 mmol como monómero funcional, dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA) 2 mmol como reticulante, azodiisobutironitrilo (AIBN) 0,5 mmol como iniciador de radicales y etanol como disolvente. Para cada MeHg-IIP (**IIP-MBI-AA** y **IIP-MBT-AA**) se sintetizaron polímeros no impresos (NIPs), que se usaron como material de control y de comparación: polímeros no impresos con agente quelante (**NIP-MBI-AA** y **NIP-MBT-AA**) y un polímero no impreso sin agente quelante (**NIP-AA**), ambos con ausencia del analito. La tabla 2 muestra los materiales sintetizados en este trabajo y sus respectivos componentes.

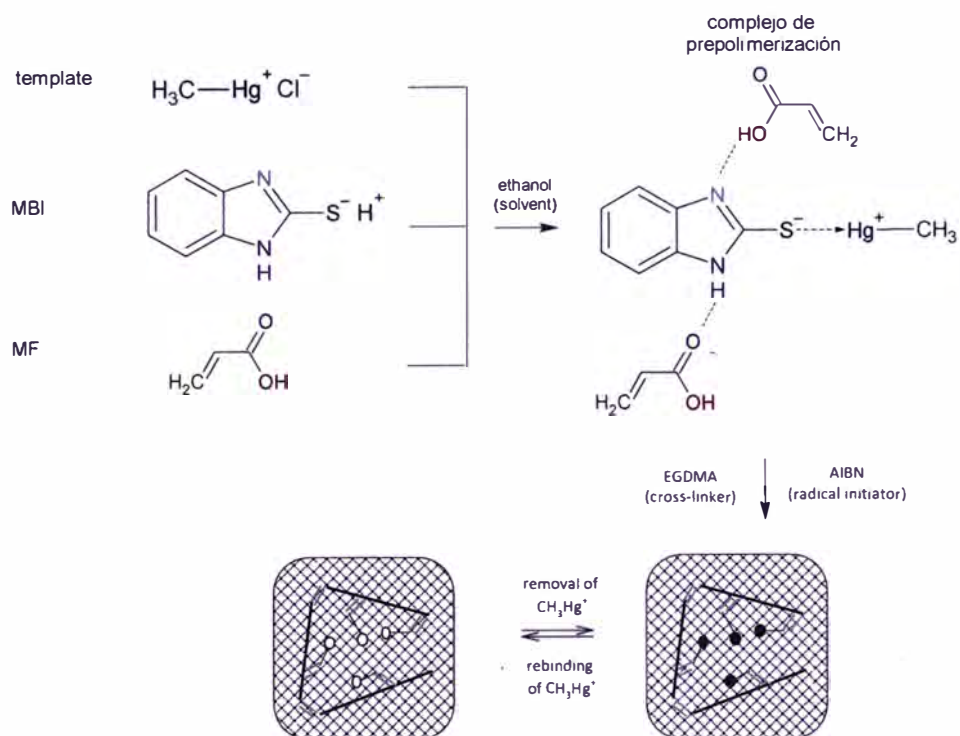


**Tabla 2. Materiales poliméricos sintetizados en este trabajo**

Material Componente	IIP-MBI-AA	NIP-MBI-AA	IIP-MBT-AA	NIP-MBT-AA	NIP-AA
<b>Template</b>	MeHgCl	--	MeHgCl	--	--
<b>Agente quelante</b>	MBI	MBI	MBT	MBT	--
<b>Monómero funcional</b>	AA	AA	AA	AA	AA
<b>Entrecruzante</b>	EGDMA	EGDMA	EGDMA	EGDMA	EGDMA
<b>Iniciador radical</b>	AIBN	AIBN	AIBN	AIBN	AIBN
<b>Solvente</b>	EtOH	EtOH	EtOH	EtOH	EtOH

Primero, el template y el agente quelante sulfhidrilo se disolvieron en etanol, y luego se añadió monómero funcional y se mantuvo bajo agitación vigorosa durante 2 h (figura 20). Posteriormente, el agente entrecruzante y el iniciador radical se añadieron en atmósfera inerte N<sub>2</sub>, y la temperatura se elevó hasta 65°C para comenzar la polimerización.

El template (MeHg<sup>+</sup>) en el MeHg-IIP se eliminó con una mezcla de 0.1 mol L<sup>-1</sup> tiourea y 2 mol L<sup>-1</sup> HCl varias veces hasta que no se pudo detectar más Hg total. El MeHg-IIP se secó durante la noche a 60 ° C y se almacenó a temperatura ambiente. Los polímeros no impresos control NIPs también se prepararon con el mismo procedimiento.



**Figura 20. Esquema de preparación MeHg-IIP utilizando cloruro de metilmercurio (MeHgCl) como template, MBI como agente quelante, ácido acrílico como MF, EGDMA como reticulante y AIBN como iniciador de radicales libres**

### 3.2.3 Caracterización estructural de MeHg-IIPs y NIPS

- **Análisis Estructural**

El análisis estructural se llevó a cabo mediante espectroscopía infrarroja ATR-FTIR–Vertex 70 spectrometro (Bruker) modelo ALPHA II con rango espectral  $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  para la identificación de los grupos funcionales característicos de los materiales

- **Análisis de la Morfología**

La morfología se examinó mediante microscopio electrónico de barrido (SEM-EDX) marca JEOL model JSM7500F. Previo a los análisis, los materiales fueron secados a  $60^\circ\text{C}$  y colocados en láminas de grafito y sometidos a la técnica sputtering empleando el equipamiento de marca Bal-Tec y modelo SCD 050.

- **Análisis del área superficial y porosidad**

Las propiedades de textura de los polímeros (superficie y porosidad) se

estudiaron mediante mediciones de sorción de  $N_2$  a la temperatura de nitrógeno líquido, utilizando el instrumento Micromeritics GEMINI VII-2390. Las muestras se prepararon al vacío mediante desgasificación a  $200\text{ }^\circ\text{C}$  durante 2 h para eliminar impurezas en la superficie. El método Brunauer – Emmett – Teller (BET), basado en la adsorción por multicapas, se utilizó para obtener la superficie específica en  $\text{m}^2$  por gramo de muestra. Mientras que el método de análisis BJH se utilizó para la distribución del volumen medio de poro y el tamaño medio de poro.

- **Análisis de la descomposición térmica**

El análisis termogravimétrico (TGA) midió los cambios de masa de los materiales sensores con respecto a la temperatura. El instrumento Perkin Elmer STA 6000 fue empleado para obtener los termogramas. Las condiciones de análisis fueron: 10 mg aproximadamente de material, rampa de calentamiento  $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , en el rango 35 -  $600\text{ }^\circ\text{C}$ , en atmósfera de  $N_2$  y velocidad de flujo  $20\text{ mL min}^{-1}$ . Con esta técnica se exploran las condiciones térmicas de preparación de los sensores.

### **3.2.4 Estudios de adsorción**

Los experimentos de adsorción de  $\text{MeHg}^+$  fueron realizados a partir de soluciones acuosas preparadas a partir de un standard de  $1000\text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{MeHgCl}$ . Después del equilibrio de adsorción, la concentración de metilmercurio en la solución restante se midió por espectroscopía de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación (TDA-AAS), empleando un analizador directo de mercurio (DMA), las muestras fueron colocadas en recipientes de teflón, se elevó la temperatura a  $850\text{ }^\circ\text{C}$  y el contenido de mercurio total fue cuantificado a  $253.7\text{ nm}$  [ 90].

- **Estudio del pH**

El efecto del pH sobre la sorción de metilmercurio se estudió con las siguientes soluciones tampón: HCl para pH 2.0;  $\text{NaCH}_3\text{COO} / \text{CH}_3\text{COOH}$  para pH 4.0–6.0;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$  para pH 7.0–8.0;  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 / \text{NaOH}$  para pH 10. El resto de los

parámetros se mantuvieron constantes, tales como: 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de solución  $\text{MeHg}^+$ , 3 mg de material polimérico, 2 mL de soluciones de metilmercurio, 2 h de tiempo de agitación y la concentración del adsorbato restante ( $\text{MeHg}^+$ ) se cuantificó usando TDA-AAS [90].

- Determinación del punto de carga cero

Se determinó el punto de carga cero (ZP0) del material polimérico utilizando soluciones ácidas y básicas en el rango de pH de 3-10 (ajustado con soluciones de  $\text{NaOH}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  y  $\text{HCl}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ ). Se mezcló 5 mg de cada material polimérico con 5 mL de cada solución preparada anteriormente, se mantuvieron las mezclas en agitación constante durante 24 h a temperatura ambiente. Finalizado ese tiempo se filtró y se midió el pH de cada solución. El ZP0 se obtuvo al graficar los valores de  $\Delta\text{pH}$ : pH final - pH inicial versus pH inicial. Con este análisis se pudo evaluar el valor aproximado del pH donde la superficie de cada adsorbente adquiere una carga superficial igual a cero.

- Estudio de isotermas de adsorción

Las isotermas de adsorción del material polimérico sintetizado se estudiaron a diferentes concentraciones de metilmercurio en  $\mu\text{g L}^{-1}$ : 25; 50; 100; 150; 200; 300; 400, 600 y 800. El resto de los parámetros se mantuvieron constantes, tales como: pH=8 de la solución de  $\text{MeHg}^+$ , 3 mg de material polimérico, 2 mL de soluciones de metilmercurio, 2 h de tiempo de agitación y la concentración del adsorbato restante ( $\text{MeHg}^+$ ) se cuantificó usando la técnica TDA-AAS [90]. Se evaluó la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $q_e$ ) para cada concentración  $C_e$  según la expresión:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (10)$$

Donde:  $C_0$  y  $C_e$  son las concentraciones inicial y en el equilibrio del adsorbato, respectivamente ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $V$  es el volumen de la solución (L),  $m$  es la masa de adsorbente (g) y  $q_e$  representa la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

Para realizar la correlación de los resultados experimentales, se emplearon los modelos de las isothermas de Freundlich y Langmuir.

### 3.2.5 Estudios cinéticos

Mediante las curvas de cinética que se obtienen al graficar capacidad de adsorción en el tiempo  $t$  ( $q_t$ ) versus el tiempo de contacto adsorbato-adsorbente se pudo determinar el tiempo de equilibrio y la constante cinética.

Para realizar este estudio se empleó una serie de viales y en cada vial se mezcló 3mg de polímero con 2mL de una solución patrón de  $\text{MeHg}^+$   $100 \mu\text{g L}^{-1}$  a un pH 8. Se mantuvo la mezcla en agitación constante a 300 rpm a temperatura ambiente y a distintos tiempos de contacto (en min): 5, 15, 30, 60, 120, 240, 300. Al finalizar el tiempo establecido, se centrifugó el material polimérico y se midió la concentración de  $\text{MeHg}^+$  mediante la técnica TDA-AAS [90]. La capacidad de adsorción en el tiempo  $t$  ( $q_t$ ) se calculó según la ecuación:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (11)$$

Donde:  $C_0$  es la concentración inicial del adsorbato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $C_t$  es la concentración del adsorbato en el tiempo  $t$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $V$  es el volumen de la solución (L) y  $m$  es la masa de adsorbente (g). Posteriormente, los resultados cinéticos fueron correlacionados con los modelos cinéticos de pseudo primer orden (ecuación 6) y pseudo segundo orden (ecuación 7).

### 3.2.6 Estudios de selectividad del material polimerico

Para el estudio de selectividad de  $\text{MeHg}^+$  se prepararon muestras binarias  $\text{MeHg}^+/\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{MeHg}^+/\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{MeHg}^+/\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{MeHg}^+/\text{Zn}^{2+}$ . Para realizar este estudio se empleó 3 mg de polímero, 2 mL de una solución patrón de  $\text{MeHg}^+$   $100 \mu\text{g L}^{-1}$  a un pH 8. Se mantuvo la mezcla en agitación constante por 2 h y finalmente se centrifugó a 300 RPM durante 10min. La concentración de los iones metálicos se obtuvo por la técnica ICP-OES (LD  $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Las muestras fueron acidificadas con una solución de  $\text{HNO}_3$  (3.5%) y las

lecturas fueron realizadas modo de vista axial utilizando longitudes de onda recomendadas. La recolección de datos se realizó mediante el paquete de software ICP-WinLab (versión 3.1).

El porcentaje de extracción E%, el coeficiente de distribución K<sub>d</sub>, el coeficiente de selectividad k y el factor de impresión I se calcularon mediante las siguientes expresiones

$$E\% = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} * 100 \quad (12)$$

$$K_d = \frac{Q_e}{C_e} \quad (13)$$

$$k = \frac{K_d(\text{MeHg})}{K_d(\text{M}^+)} \quad (14)$$

$$I = \frac{k(\text{IIP})}{k(\text{NIP})} \quad (15)$$

Donde M<sup>+</sup> representa los metales competitivos.

### 3.2.7 Aplicación del material polimérico como material adsorbente en muestras de agua de río

Para 2 muestras de agua filtradas (río Batalla y agua de caño) colectadas en el estado de Sao Paulo-Brasil, se adicionaron concentraciones de 25 ; 50 y 100 µg L<sup>-1</sup> de MeHg<sup>+</sup>, el pH de la solución se ajustó a 8. Las muestras fueron tratadas con IIP-MBT-AA (2 mL de la solución se añade 3 mg de IIP-MBT-AA). Las muestras se agitaron por 2 h, el material polimérico fue colectado por centrifugación a 450 RCF por 10min. El MeHg<sup>+</sup> fue removido del IIP-MBT-AA con la mezcla de 0.1mol L<sup>-1</sup> tiourea y 2 mol L<sup>-1</sup> HCl. El contenido de MeHg<sup>+</sup> en la solución remanente se evaluó por la técnica TDA-AAS en forma de Hg total.

### 3.3 Preparación del sensor electroquímico modificado con IIPs-MeHg para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup>

Para la preparación del electrodo de pasta de carbono CPE se pesó 100 mg de polvo de grafito y se adicionó aproximadamente 1 mL de etanol para su dispersión del material. Después del secado por 12 h se adicionó aproximadamente 70  $\mu$ L de aceite mineral y se homogenizó hasta formar una pasta. La pasta obtenida se empaquetó en la cavidad del electrodo de trabajo de teflón. El exceso de pasta se removió del electrodo con ayuda de una hoja de papel realizando movimientos circulares dibujando un ocho. Para los electrodos modificados se realizó el mismo procedimiento con las proporciones que se muestran en la tabla 3.

#### 3.3.1 Medidas electroquímicas en celda de 3 electrodos

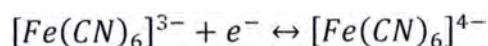
Las medidas electroquímicas fueron realizadas utilizando un bipotenciostato DropSens  $\mu$ STAT 400 y Dropview 8400 software en una celda convencional de tres electrodos: como electrodo auxiliar se utilizó alambre de platino; como electrodo de trabajo (tabla 3) y como electrodo de referencia Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ).

**Tabla 3. Nomenclatura asignada y composición de los electrodos de trabajo modificados**

Nomenclatura para los electrodos de trabajo	Composición
CPE	<ul style="list-style-type: none"><li>• Grafito (100 mg)</li></ul>
CPE/IIP-MBT-AA	<ul style="list-style-type: none"><li>• Grafito (80 mg)</li><li>• IIP-MBT-AA (20 mg)</li></ul>
CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA	<ul style="list-style-type: none"><li>• Grafito (70 mg)</li><li>• MWCNT (10 mg)</li><li>• IIP-MBT-AA (20 mg)</li></ul>
CPE/MWCNT/NIP-AA	<ul style="list-style-type: none"><li>• Grafito (70 mg)</li><li>• MWCNT (10 mg)</li><li>• NIP-AA (20 mg)</li></ul>

#### 3.3.2 Evaluación del área electroactiva de los sensores

El área electroactiva de los sensores fue caracterizada por voltametría cíclica (CV) empleando el sistema rédox reversible ferri/ferro cianuro de potasio  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ,  $2.5 \text{ mmol L}^{-1}$  en  $\text{KCl}$ ,  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ .



En la celda electroquímica se colocó 15 mL de la mezcla ferri/ferro y se sumergieron los electrodos (electrodo de trabajo, electrodo de referencia y electrodo auxiliar). Se empleó una ventana de potencial entre -0.2 y 0.6 V (con un salto de potencial de 2 mV) vs Ag/AgCl por 3 ciclos, en un rango de velocidad de barrido entre 10 mV s<sup>-1</sup> hasta 200 mV s<sup>-1</sup> [41]. El mismo procedimiento se realizó para cada electrodo de trabajo preparado, presentado en la tabla 3. El área electroactiva se calculó a partir de la ecuación de Randles-Sevcik [91].

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{\frac{2}{3}} A D^{\frac{1}{2}} c v^{\frac{1}{2}} \quad (16)$$

Dónde:  $I_p$  es la corriente de pico (A),  $n$  es el número de electrones que participa en la reacción rédox,  $A$  es el área activa del electrodo (cm<sup>2</sup>),  $D$  es el coeficiente de difusión del ferricianuro (cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>),  $c$  es la concentración del ferricianuro (mol L<sup>-1</sup>),  $v$  es la velocidad de barrido (V s<sup>-1</sup>).

### 3.3.3 Caracterización de los electrodos por la técnica espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

La EIS fue utilizada para estudiar las propiedades de interfase de los electrodos modificados. En el diagrama de Nyquist, la porción de semicírculo a altas frecuencias está relacionado a la resistencia a la transferencia de electrones. Para el análisis se empleó una solución 2.5 mmol L<sup>-1</sup> ferri/ferro cianuro de potasio K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>/K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> y 0.1 mol L<sup>-1</sup> KCl a un potencial formal 0.25 V , rango de frecuencia 100 kHz - 0.01 Hz y 5 mV de amplitud [41].

### 3.3.4 Identificación de los potenciales de oxidación y reducción de MeHg<sup>+</sup> mediante la técnica CV

Se evaluó el rango de potencial donde se producen las reacciones de oxidación y reducción del MeHg<sup>+</sup> y se comparó con el mecanismo de reducción del MeHg<sup>+</sup> reportado en bibliografía [39]. El análisis se realizó en el electrodo CPE, en 15 mL de electrolito soporte



0.05 mol L<sup>-1</sup> y 1000 µg L<sup>-1</sup> del MeHg<sup>+</sup> a velocidad de barrido 100 mV/s.

### **3.3.5 Determinación de MeHg<sup>+</sup> mediante DPASV**

Antes de cada medición se realizó una etapa de limpieza en una solución de KSCN 1 mol L<sup>-1</sup> bajo condiciones potenciométricas a -0.8 V por 500 s y agitación continua [39]. Para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> se empleó la técnica de DPASV, los parámetros empleados fueron: rango de potencial (-0.15 hasta 0.4 V), E paso (0.004 V), E pulso (0.05 V), t pulso (50 ms), velocidad de barrido (0.04 V s<sup>-1</sup>) y n ciclos (1) según literatura previa [41].

### **3.3.6 Evaluación de los sensores CPE, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/MWCNT /NIP-AA en la cuantificación de MeHg<sup>+</sup>**

Con la finalidad de evaluar la eficacia del polímero impreso IIP-MBT-AA en la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> se realizó mediciones en los sensores CPE, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/ MWCNT /NIP-AA. En una solución que contiene MeHg<sup>+</sup> 1000 µg L<sup>-1</sup> y el electrolito soporte 15 mL de HCl 0.05 mol L<sup>-1</sup> se realizó la medición por DPASV. Para la etapa de preconcentración se mantuvo el potencial de preconcentración (-0.8 V), el tiempo de preconcentración (500 s). La medición se realizó siguiendo los parámetros experimentales descritos en [3.3.5](#).

### **3.3.7 Optimización de la medición de MeHg<sup>+</sup> mediante DPASV**

Para lograr un rendimiento óptimo del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA para la determinación de MeHg<sup>+</sup> se estudiaron las siguientes condiciones experimentales:

#### **3.3.7.1 Evaluación del potencial de preconcentración**

Se evaluaron diferentes valores de potencial de preconcentración (0.0; -0.2; -0.4; -0.6; -0.8V). Se mantuvieron constante los siguientes parámetros: el tiempo de preconcentración 500 s, la concentración de MeHg<sup>+</sup> 600 µg L<sup>-1</sup> y el electrolito soporte 15 mL de HCl 0.05 mol L<sup>-1</sup>. La medición en DPASV se realizó siguiendo el procedimiento descrito en [3.3.5](#).

### **3.3.7.2 Evaluación del tiempo de preconcentración**

Se evaluaron diferentes tiempos de preconcentración que fueron los siguientes: 200; 300; 500; 700 y 900 s. Se mantuvo constante el potencial de preconcentración -0.8 V, concentración de  $\text{MeHg}^+$   $600 \mu\text{g L}^{-1}$  y electrolito soporte 15 mL de HCl  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$ . La medición en DPASV se realizó siguiendo el método descrito en [3.3.5](#).

### **3.3.7.3 Evaluación de la concentración de HCl**

Debido a que HCl ha sido considerado el mejor electrolito soporte para los análisis electroquímicos de  $\text{MeHg}^+$  [[38-41](#)], se evaluó su concentración ( $0.025$ ;  $0.05$ ;  $0.075$ ;  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ ) para la determinación de  $\text{MeHg}^+$ . Se mantuvo constante el potencial de preconcentración -0.8 V, el tiempo de preconcentración 500 s y la concentración de  $\text{MeHg}^+$   $600 \mu\text{g L}^{-1}$ . La medición en DPASV se realizó siguiendo la metodología descrita en [3.3.5](#).

### **3.3.8 Evaluación de la influencia de $\text{Hg}^{2+}$ en la cuantificación de $\text{MeHg}^+$**

De acuerdo con investigaciones previas [[39-41](#)], la especie inorgánica  $\text{Hg}^{2+}$  constituye una interferencia en la determinación de  $\text{MeHg}^+$ , debido a que las señales de corriente de barrido se superponen. Se evaluó la detección de  $\text{MeHg}^+$  en presencia de  $\text{Hg}^{2+}$  mediante la técnica DPASV siguiendo el procedimiento descrito en [3.3.5](#). Se mantuvo constante la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{MeHg}^+$ :  $600 \mu\text{g L}^{-1}$ , el potencial de preconcentración: -0.8V, el tiempo de preconcentración: 500 s y el electrolito soporte 15 mL de HCl  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$ . Además, se evaluó la efectividad de  $\text{SnCl}_2$  como agente reductor selectivo a  $\text{Hg}^{2+}$  frente a  $\text{MeHg}^+$ , se adicionó  $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$   $2.4 \text{ mmol L}^{-1}$  como etapa de pretratamiento bajo agitación dieferentes tiempos de agitación (en min): 5, 10 y 20.

### **3.3.9 Evaluación de los parámetros analíticos en la cuantificación de $\text{MeHg}^+$**

#### **3.3.9.1 Linealidad**

Se evaluó la linealidad de la concentración de  $\text{MeHg}^+$  en el rango de 500 a  $1500 \mu\text{g L}^{-1}$  con respecto a la intensidad de corriente generada. La curva de calibración se preparó a partir de una solución estándar de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{MeHgCl}$  (3 replicas por medida). Se realizó un análisis de regresión lineal y se determinaron la pendiente,

la ordenada al origen (intercepto) y el coeficiente de correlación. Los criterios de aceptación de los datos se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4. Criterio de aceptación para la aceptación o rechazo de un dato**

<b>Hipótesis nula (Ho)</b>	El método es lineal en el rango de trabajo
<b>Hipótesis alternativa (Ha)</b>	El método no es lineal en el rango de trabajo

<b>Criterio de decisión</b>	<b>Conclusión</b>
$r \geq 0.90$	El método es lineal
$r < 0.90$	El método no es lineal

### 3.3.9.2 Límite de detección (LD) y cuantificación (LC)

Para la determinación de LD, se realizó la lectura de blancos de la matriz basados en la señal detectable más baja de  $\text{MeHg}^+$  diferente del ruido característico; el procedimiento consistió en cuantificar 10 réplicas en medio de  $\text{HCl } 0.05 \text{ mol L}^{-1}$  bajo condiciones de repetibilidad. El LD y LC teóricos se calcularon a partir de las siguientes expresiones:

$$LD = \frac{3s}{a} \quad (17)$$

$$LC = \frac{10s}{a} \quad (18)$$

Donde: s es la desviación estándar de 10 réplicas de blancos y “a” es la pendiente de la curva de calibración.

### 3.3.9.3 Veracidad

Se realizó el estudio de veracidad con 10 muestras de agua destilada fortificadas con 600 y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  a partir de una solución estándar de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de

MeHgCl en medio de HCl 0.05 mol L<sup>-1</sup>. Se calcularon los niveles de recuperación en términos de porcentaje. Se usó el programa estadístico Minitab 19 Statistical Software para la prueba de test t-student de una muestra para una media hipotética del 100% de recuperación. El criterio de decisión se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Hipótesis y criterio de decisión para la verificación de la veracidad a través de la recuperación de la adición estándar.**

<b>Hipótesis nula (Ho)</b>	No existe diferencia significativa con el 100% de la recuperación
<b>Hipótesis alternativa (Ha)</b>	Existe diferencia significativa con el 100% de la recuperación

<b>Criterio de decisión</b>	<b>Conclusión</b>
$t_{experimental} < t_{tabla}$	Acepta Ho: El método es verás
$t_{experimental} \geq t_{tabla}$	Rechaza Ho: El método no es verás

El valor de t tabla se extrajo de la tabla de distribución t ([Anexo 1](#)) con un nivel de significancia de 95% y n-1 grados de libertad (t-Student 0.05; 9) y el valor de t experimental se calculó empleando siguiente ecuación:

$$t_{experimental} = \frac{(\bar{x} - u) \cdot \sqrt{n}}{s} \quad (19)$$

Donde  $\bar{x}$  es el promedio de los datos, u es el valor referencial, s es la desviación estándar y n es el número de datos.

#### 3.3.9.4 Precisión

En la evaluación de la precisión en términos de repetibilidad, se analizaron 10 muestras de agua fortificadas con 590 y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de MeHg<sup>+</sup> en medio de HCl 0.05 mol L<sup>-1</sup>. Todas las muestras fueron analizadas en un mismo día. Se determinó los valores de RSD experimental y el RSD Horwitz a partir de las siguientes expresiones:

$$RSD_{experimental} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad (20)$$

$$RSD_{Horwitz} = \frac{2}{3} \times (2^{1-0.5 \log(\text{concentración})}) \quad (21)$$

Donde RSD es la desviación estándar relativa

La Hipótesis y criterio de decisión en la estimación de la precisión en términos de repetibilidad a través de la estimación del RSD se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Hipótesis y criterio de decisión para la estimación de la precisión (repetibilidad)**

<b>Hipótesis nula (Ho)</b>	La desviación experimental es menor a la desviación teórica
<b>Hipótesis alternativa (Ha)</b>	La desviación experimental es mayor a la desviación teórica

<b>Criterio de decisión</b>	<b>Conclusión</b>
$RSD_{experimental} < RSD_{Horwitz}$	El método es preciso
$RSD_{experimental} \geq RSD_{Horwitz}$	El método no es preciso

La precisión en términos de reproducibilidad se analizó 10 muestras de agua fortificadas con 590 y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  en medio de  $\text{HCl } 0.05\text{mol L}^{-1}$ . Los análisis fueron realizados en equipos potenciostato diferentes. Se determinó el test de F de Fisher, en donde, el valor de  $F_{\text{tabla}}$  se extrae de la tabla de los valores críticos de F para un contraste de una cola ( $p=0.05$ ) ([Anexo 2](#)) y el valor de  $F_{\text{experimental}}$  se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$F_{\text{experimental}} = \frac{S_1^2}{S_2^2}, S_2 < S_1 \quad (22)$$

Donde  $S^2$  es la varianza de los datos

**Tabla 7. Hipótesis y criterio de decisión para la estimación de la precisión (reproducibilidad)**

<b>Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)</b>	Las varianzas son iguales
<b>Hipótesis alternativa (H<sub>a</sub>)</b>	Las varianzas son diferentes

<b>Criterio de decisión</b>	<b>Conclusión</b>
$F_{experimental} < F_{tabla}$	Poseen igual nivel de dispersión
$F_{experimental} \geq F_{tabla}$	Poseen diferente nivel de dispersión

### 3.3.9.5 Selectividad a MeHg<sup>+</sup> de los sensores en presencia de iones interferentes

Para evaluar la selectividad a MeHg<sup>+</sup> de los sensores se prepararon soluciones binarias en proporciones 1:1 de MeHg<sup>+</sup>/Hg<sup>2+</sup>, MeHg<sup>+</sup>/Cd<sup>2+</sup>, MeHg<sup>+</sup>/Pb<sup>2+</sup>, MeHg<sup>+</sup>/Cu<sup>2+</sup> y MeHg<sup>+</sup>/Fe<sup>3+</sup>, en concentraciones de 600 y 1200 µg L<sup>-1</sup>. Para el caso de la mezcla binaria MeHg<sup>+</sup>/Hg<sup>2+</sup>, se prepararon 2 muestras: una con pretratamiento de SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 2.4 mmol L<sup>-1</sup> bajo agitación por 20 minutos y la otra, como muestra control de comparación, sin pretratamiento con SnCl<sub>2</sub>. Luego, se procedió con la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> según el procedimiento descrito en la sección 3.3.5.

### 3.3.10 Aplicación del sensor en muestras reales

Para demostrar la aplicación potencial del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA en la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> en muestras ambientales. Se evaluó el contenido de MeHg<sup>+</sup> en muestras reales de agua provenientes de: el río Cañete ubicado entre las provincias de Cañete y Yauyos (Lima), de la planta de tratamiento de aguas del distrito de Humay (Pisco) y del agua potable del laboratorio de investigación del grupo TECMARA de la Universidad Nacional de Ingeniería (Lima). Las muestras fueron colectadas en su lugar de origen en botellas de plástico de 1L y acidificadas a pH1. Las muestras fueron filtradas con papel Whatman 42 para remover todas las partículas suspendidas y preservadas a 5°C. Las muestras fueron fortificadas con MeHg<sup>+</sup> 600 y 1200 µg L<sup>-1</sup> y se determinó la

concentración de  $\text{MeHg}^+$  con el sensor propuesto mediante la técnica DPASV y, para la verificación de la precisión, se realizó el mismo análisis con un analizador de mercurio CVAAS (PerkinElmer, FIMS 400) en el Laboratorio Químico-Toxicológico CENSOPAS del Instituto Nacional de Salud (INS).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 Selección de los componentes de IIP-MeHg por simulación DFT

##### 4.1.1 Elección del solvente porogénico

Se realizó la optimización de la geometría y el cálculo de la energía de enlace ( $\Delta E$ ) para los complejos de  $\text{MeHg}^+$  con agente quelantes sulfhidrilos: 2-mercaptobenzimidazol (MBI) y 2-mercaptobenzotiazol (MBT), las geometrías optimizadas se muestran en la figura 21. Para los complejos de  $\text{MeHg}^+$  se consideró la geometría lineal (1:1) puesto que el catión  $\text{MeHg}^+$  tiende a formar complejos de coordinación lineal [92]. La interacción S-Hg es considerada altamente fuerte, ya que presentan valores de constante de formación  $K_f \approx 15$  en complejos con agente quelantes sulfhidrilos, por encima que los complejos formados con agente quelantes con grupos amino o hidroxilo [93]. Bravo *et al.* prepararon el complejo MBT-MeHg en solvente MeOH y mencionaron que el agente quelante coordina vía grupo sulfhidrilo desprotonado [94].

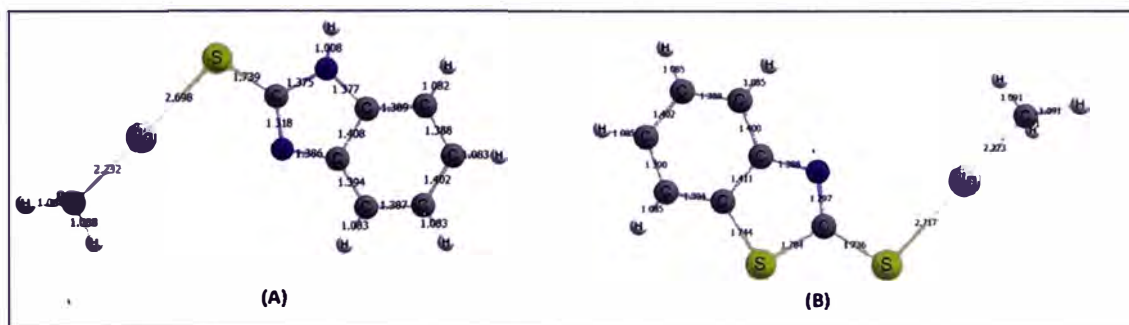


Figura 21. Geometrías optimizadas de los complejos de metilmercurio 1:1: (A) MBI-MeHg y (B) MBT-MeHg

Para describir sistemas en solución por simulación computacional es conveniente considerar el solvente porogénico que permita la solubilidad de los componentes de la polimerización. La tabla 8 muestra los valores calculados de  $\Delta E$ , que hace referencia a la interacción efectiva entre S-Hg de los complejos MBI-MeHg y MBT-MeHg en diferentes disolventes. Los valores de mínima energía (más estables) se presenta en el disolvente etanol, equivalentes a  $-15.4$  y  $-12 \text{ Kcal mol}^{-1}$  respectivamente, mientras que



en el agua, las energías de los complejos tiene menos valor, -10.5 y -7.8 Kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente. De acuerdo con L. De Barros *et al.*[56] los solventes próticos con constante dieléctrica alta como el agua ( $\epsilon=78.4$ ) tienden a interferir en la formación del complejo, por lo tanto, solventes con baja constante dieléctrica son recomendables para la síntesis de polímeros impresos. El etanol ( $\epsilon=24$ ) sería considerado como un solvente adecuado para la síntesis de los IIPs ya que no dificulta la interacción entre el template y el agente quelante. Además, se debe considerar la solubilidad de todos los componentes de la polimerización al momento de elegir el solvente. Jiang *et al.*[13] sintetizaron IIPs-MeHg<sup>+</sup> y emplearon MeHgCl como template, PDC como ligando, MAA como monómero funcional y etanol como solvente porogénico. Este trabajo confirma que el etanol sería un buen disolvente para la síntesis de los IIPs.

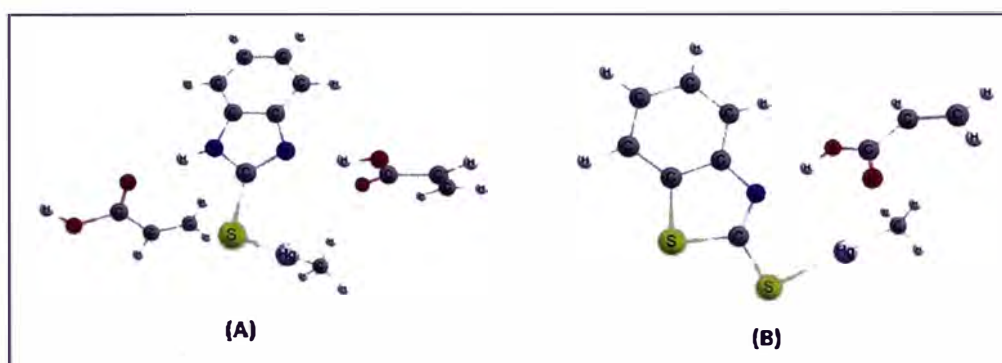
**Tabla 8. Efecto del disolvente en la energía de enlace en los complejos de MeHg<sup>+</sup>**  
Binding energy of Hg-S (kcal/mol)

Complejos	Etanol	DMSO	Agua	DMF	Acetonitrilo	Vacío
$\epsilon$	24	47	78.4	36.7	36.5	--
MBI-MeHg	-15.4	-12.2	-10.5	-13.1	-13.3	-168.5
MBT-MeHg	-12	-9.2	-7.8	-10.0	-10.2	-161.5

#### 4.1.2 Elección del monómero funcional

En la etapa de prepolimerización el template (MeHg<sup>+</sup>), el agente quelante (MBI o MBT) y el monómero funcional forman un complejo ternario mediante interacciones covalentes coordinadas entre el template y el agente quelante, y mediante fuerzas intermoleculares entre el agente quelante y el monómero funcional. Por lo tanto, se planteó la siguiente hipótesis: La energía de enlace entre el agente quelante y el monómero funcional debe ser más fuerte que la del agente quelante y el template para permitir la remoción del template sin afectar la estructura del polímero. Las tablas 9 y 10 muestran los valores de energía de enlace  $\Delta E$  en la etapa de prepolimerización con diversos monómeros funcionales de tipo ácido (AA y MAA), de tipo básico (4vp y 1vim) y de tipo neutro (MA y 2hm). Los complejos ternarios que presentaron mayor energía de enlace fueron con el monómero funcional ácido acrílico (AA), estableciendo interacciones de puente hidrógeno entre

MBI-AA y MBT-AA (-20 y -12.2Kcal/mol, respectivamente), por encima de la energía de enlace entre MBI-MeHg y MBT-MeHg (-13.3 y -11 Kcal/mol, respectivamente). Por lo contrario, las interacciones observadas con monómeros de tipo neutro y básico, la fuerza de enlace agente quelante-monomero funcional fueron más débiles que la correspondiente a agente quelante-template, por lo que conllevaría a la remoción del agente quelante junto con el template. Esta selección teórica del monómero funcional y solvente se validó experimentalmente sintetizando IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA, comprobando su reconocimiento mediante ensayos de adsorción. La figura 22 muestra las geometrías optimizadas de IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA.



**Figura 22. Geometrías optimizadas de la etapa de prepolimerización de complejos (A) MBI-MeHg y (B) MBT-MeHg con ácido acrílico (AA) como monómero funcional**

**Tabla 9. Energías de enlace en la etapa de prepolimerización de MBI-MeHg**

Prepolimerización	$\Delta E$ monómero funcional (Kcal mol <sup>-1</sup> )	$\Delta E$ MeHg <sup>+</sup> (Kcal mol <sup>-1</sup> )
MBI-MeHg-2(AM)	-15.4	-14.8
<b>MBI-MeHg-2(AA)</b>	<b>-20.0</b>	<b>-13.3</b>
MBI-MeHg-2(MAA)	-18.9	-12.7
MBI-MeHg-1(4vp)	-5.9	-13.4
MBI-MeHg-1(1vim)	-5.9	-14.2
MBI-MeHg-2(2HM)	-14.9	-10.4

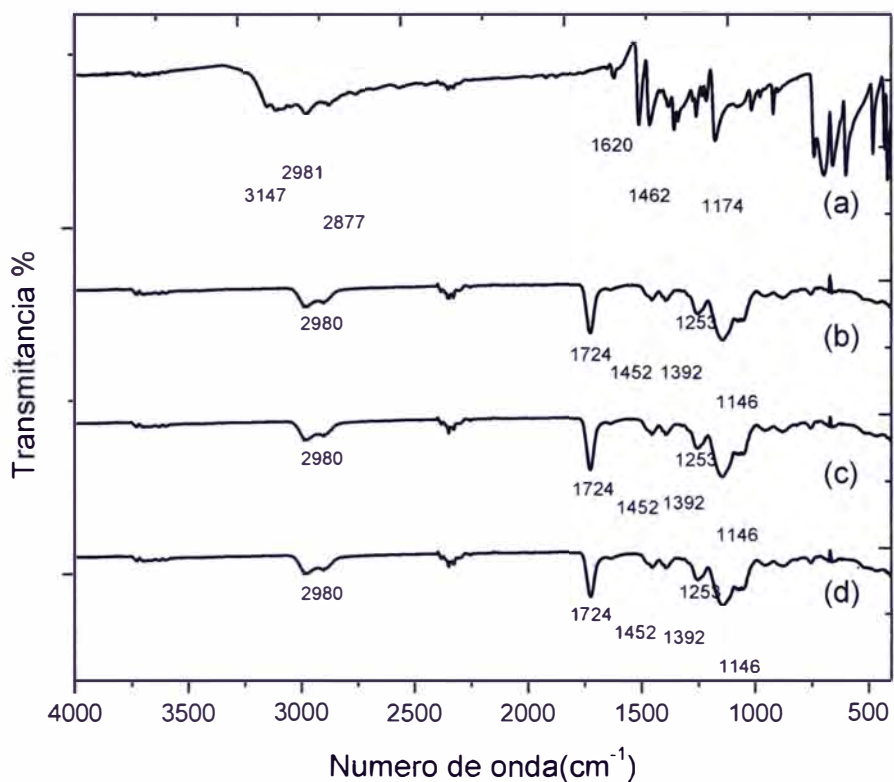
**Tabla 10. Energías de enlace en la etapa de prepolimerización de MBT-MeHg**

Prepolimerización	$\Delta E$ monómero funcional (Kcal mol <sup>-1</sup> )	$\Delta E$ MeHg <sup>+</sup> (Kcal mol <sup>-1</sup> )
MBT-MeHg-1(AM)	-5.4	-9.9
<b>MBT-MeHg-1(AA)</b>	<b>-12.2</b>	<b>-11.0</b>
MBT-MeHg-(MAA)	-12.1	-11.2
MBT-MeHg-1(2HM)	-9.8	-9.3

## 4.2 Caracterización estructural de los complejos sintetizados MeHg-IIPs y los correspondientes NIPs

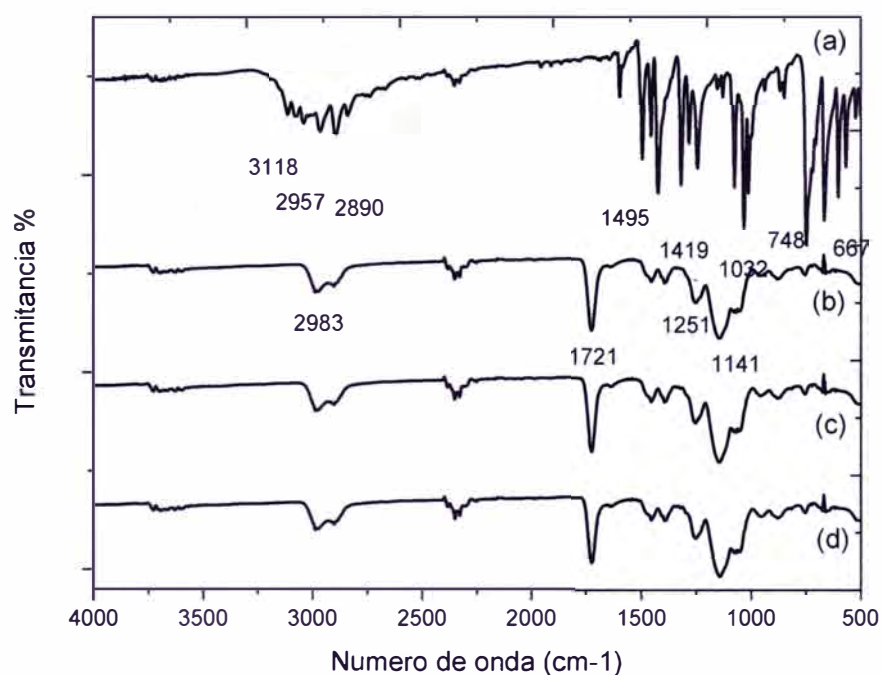
### 4.2.1 FTIR

Se realizó el análisis por FTIR para determinar los grupos funcionales presentes en la estructura de los polímeros de impresión iónicos (IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA), sus respectivos polímeros no impresos (NIP-MBI-AA y NIP-MBT-AA) y un polímero de control (NIP-AA). En la figura 23 se muestra los espectros para IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA, los cuales exhiben perfiles espectrales similares. Las bandas identificadas fueron: C=O (1724cm<sup>-1</sup>), C-O (1146 cm<sup>-1</sup>), C-O (1253 cm<sup>-1</sup>), C-H (2980cm<sup>-1</sup>), CH<sub>3</sub> (1392 cm<sup>-1</sup>) y CH<sub>2</sub> (1452 cm<sup>-1</sup>), las cuales se corroboran con el espectro FT-IR de IIPs reportados por Yilmaz *et al.* [49]. En la región 1645-1630 cm<sup>-1</sup> no se mostró ninguna banda de absorción indicando la ausencia de grupos vinilos C=C, por lo tanto, la polimerización fue completa. Rodríguez B. menciona que el espectro FT-IR de los IIPs y NIPs son bastante similares entre sí, dado que son basados en el mismo monómero y entrecruzante [95]. Además, en la figura 23 se muestra el espectro del agente quelante MBI, sin embargo, las señales de absorción características no se observan en los polímeros debido a que se encuentra en bajas concentraciones a comparación del agente entrecruzante EGDMA. Las bandas características de MBI fueron: N-H (3147 cm<sup>-1</sup>), C-H (2981 cm<sup>-1</sup>), C=C (1620 cm<sup>-1</sup>), C-N-H (1462 cm<sup>-1</sup>), N-C=S (1174 cm<sup>-1</sup>) and S-H (2877 cm<sup>-1</sup>), las cuales son similares a las presentadas por AlHokbany *et al.*[96].



**Figura 23. Espectros FT-IR: MBI (a), IIP-MBI-AA (b), NIP-MBI-AA (c) y NIP-AA (d)**

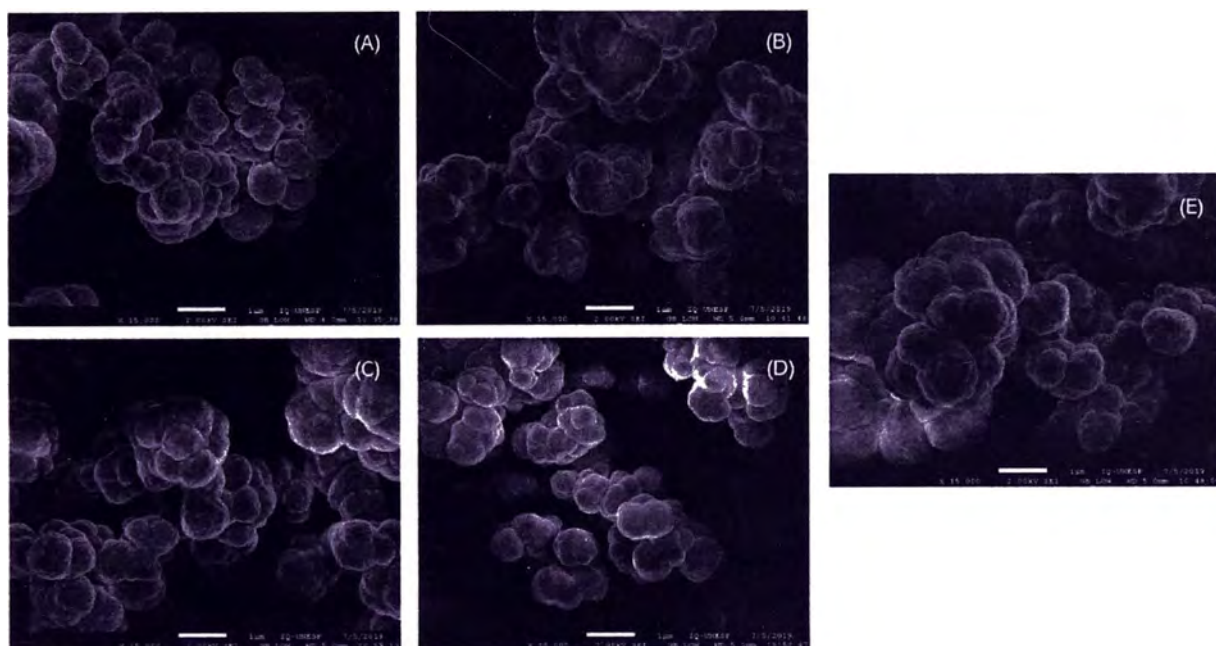
En la figura 24 se muestra los espectros FT-IR para IIP-MBT-AA, NIP-MBT-AA y NIP-AA, los cuales exhiben perfiles espectrales similares y bandas características del agente entrecruzante EGDMA debido a su mayor concentración en la síntesis de los polímeros. Las bandas intensas a  $1141\text{ cm}^{-1}$ ,  $1251\text{ cm}^{-1}$ ,  $1721\text{ cm}^{-1}$  y  $2983\text{ cm}^{-1}$  corresponden a los enlaces C-O (stretching), C-O (bending), C=O y C-H (stretching), respectivamente, las cuales se corroboran con los reportados por Yilmaz *et al.* [49]. Además, en la figura 24, se exhibe el espectro del agente quelante MBT con picos característicos: N-H ( $3118\text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2957\text{ cm}^{-1}$ ), S-H ( $2890\text{ cm}^{-1}$ ), C-N-H ( $1419$  y  $1495\text{ cm}^{-1}$ ), N-C=S ( $1082\text{ cm}^{-1}$ ) y C-S ( $748$ - $667\text{ cm}^{-1}$ ), AlHokbany *et al.* [96], de los cuales, el enlace S-H se desprotona para acomplejar al centro metálico de  $\text{MeHg}^+$ .



**Figura 24. Espectros FT-IR: MBT (a), IIP-MBT-AA (b), NIP-MBT-AA (c) and NIP-AA (d)**

#### 4.2.2 SEM

La morfología de los materiales poliméricos sintetizados fue estudiada por microscopía electrónica de barrido (SEM) a magnificación  $\times 15000$ , que se presenta en la figura 25. Como se observa, todas las partículas presentaron forma esférica aglomerada con un diámetro de aproximadamente de  $1 \mu\text{m}$  y poseen superficies relativamente rugosas. Sin embargo, se puede notar que la imagen de SEM para NIP-AA posee una menor rugosidad con respecto a los demás, lo cual se debe a que no se han formado sitios para la adsorción selectiva de  $\text{MeHg}^+$ , mientras que en los demás materiales de mayor rugosidad se facilita la transferencia de iones metálicos a la superficie del polímero, en consecuencia, se mejora la adsorción.



**Figura 25. Micrografías SEM de IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B), IIP-MBT-AA (C), NIP-MBT-AA (D) y NIP-AA (E); magnificación x 15 000**

#### 4.2.3 BET

El análisis por sorción de  $N_2$  utilizó para evaluar la superficie específica mediante el método de Brunauer-Emmett-Teller (BET), mientras que el volumen total de poros y el tamaño medio del poro, mediante el método de análisis BJH (Barret-Joyner-Halenda), cuyos resultados se muestran en la tabla 13. La muestra IIP-MBI-AA presentó la mayor superficie ( $11.02 \text{ m}^2/\text{g}$ ) y menor tamaño de poro ( $9.5 \text{ nm}$ ), respecto a su contraparte NIP, lo que sugiere la mayor impresión en el polímero y mayor capacidad de adsorción para  $\text{MeHg}^+$ . Por otro lado, IIP-MBT-AA presentó menor área superficial ( $5.3 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ) y mayor tamaño de poro ( $11.1 \text{ nm}$ ). En base a los datos presentados, IIP-MBI-AA podría considerarse mejor sorbente que IIP-MBT-AA puesto que presenta mayor área superficial y menor tamaño de poro. Sin embargo, se debe considerar que el ligando MBT en el IIP-MBT-AA posee 2 grupos sulfhidrilo en su estructura por lo que podría crear más sitios de enlace para la adsorción de  $\text{MeHg}^+$ , mientras que el agente quelante MBI en el IIP-MBI-AA interacciona con 1 grupo sulfhidrilo en la red polimérica (ver figura 22). Esta hipótesis fue confirmada posteriormente mediante los estudios de adsorción cuantitativa.

**Tabla 11. Área de superficie BET calculada, volumen de poro total y tamaño de poro promedio**

<b>polímero</b>	<b>Área superficial m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup></b>	<b>Tamaño de poro nm</b>
IIP-MBI-AA	11.0	9.5
NIP-MBI-AA	6.8	21.2
IIP-MBT-AA	5.3	11.1
NIP-MBT-AA	5.5	12.0
NIP-AA	3.0	17.4

#### **4.2.4 TGA/DTA**

El estudio por TGA/DTA se realizó para evaluar la termoestabilidad de los materiales poliméricos. Los termogramas se muestran en la figura 26, los cuales presentan similar patrón de degradación. Se observa un evento endotérmico debido a la pérdida de agua a temperatura menor a 100°C en la curva DTA, seguido de otro pico endotérmico que corresponde a la mayor descomposición de los polímeros (282-333°C). La curva de TGA indica que el 100% de la masa fue perdida por descomposición térmica alrededor a los 300°C. Por tanto, todos los polímeros sintetizados se consideran estables a temperaturas por debajo de los 282-300°C.

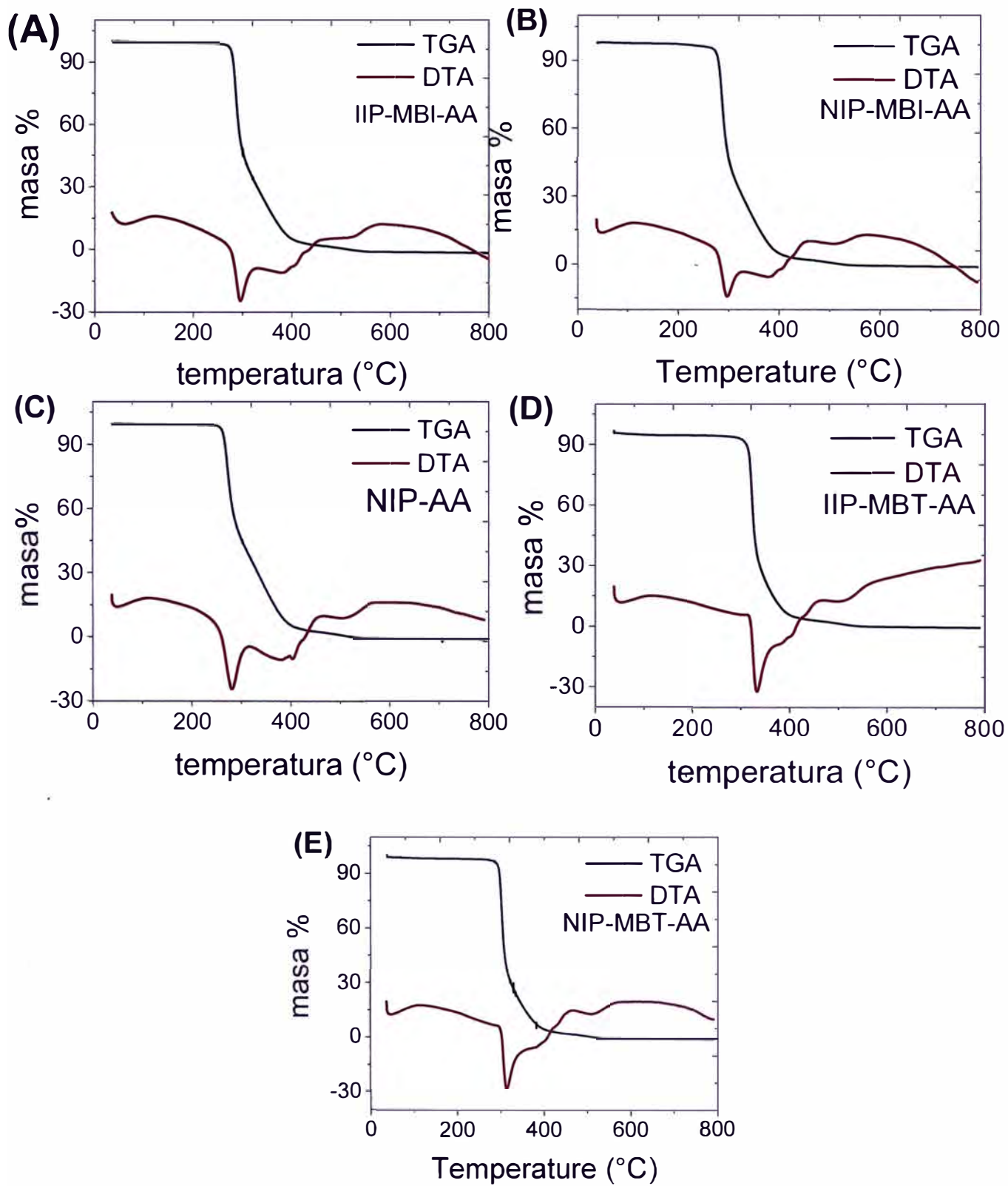


Figura 26. Curvas TGA/TDA por descomposición térmica: IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B), NIP-AA (C), IIP-MBT-AA (D) y NIP-MBT-AA (E)



### 4.3 Estudios de capacidad de adsorción

#### 4.3.1 pH

La adsorción de iones metálicos sobre adsorbentes específicos depende del pH. En ausencia de agentes complejantes, la hidrólisis y la precipitación de los iones metálicos se ve afectada por la concentración y forma de especies de metales solubles. El efecto del pH en la adsorción del ion  $\text{MeHg}^+$  en los IIPs y NIPs sintetizados se muestran en la figura 27 y 28. En todos los materiales, la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $q_e$ ) se incrementa con el pH y alcanza la máxima adsorción a un  $\text{pH}=8$  específicamente para IIP-MBI-AA ( $39 \mu\text{g g}^{-1}$ ), mientras que para NIP-MBI-AA ( $30 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y NIP-AA ( $17 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Por otro lado, IIP-MBT-AA ( $73 \mu\text{g g}^{-1}$ ) y NIP-MBT-AA ( $70 \mu\text{g g}^{-1}$ ) presentan capacidad de adsorción similar, lo cual sugiere que el proceso de impresión no fue muy significativo. El pH tiene una fuerte influencia en la especiación de  $\text{MeHg}^+$ , de acuerdo con Bittrich *et al.*[97] y Dong *et al.*[98], en agua natural, a pH básicos (6-10) hay mayor presencia de  $\text{MeHgOH}$ , mientras que a pH ácidos (2-6) hay mayor presencia de  $\text{MeHgCl}$  y  $\text{MeHg}^+$ . Se seleccionó un  $\text{pH}=8$  para realizar los siguientes experimentos porque los resultados son reproducibles a este valor de pH.

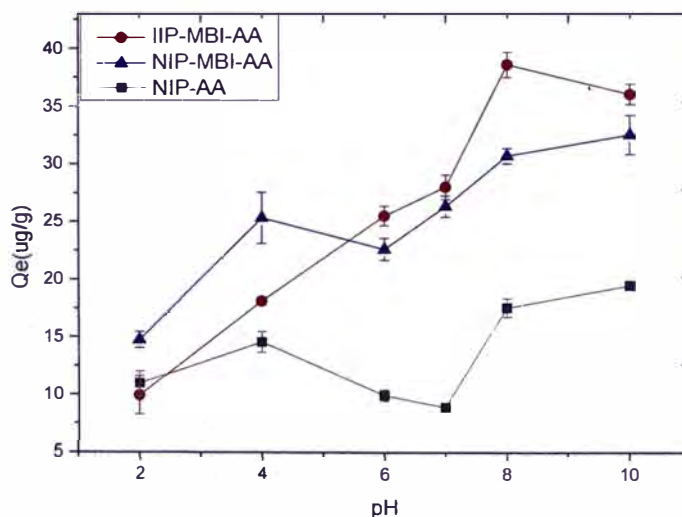
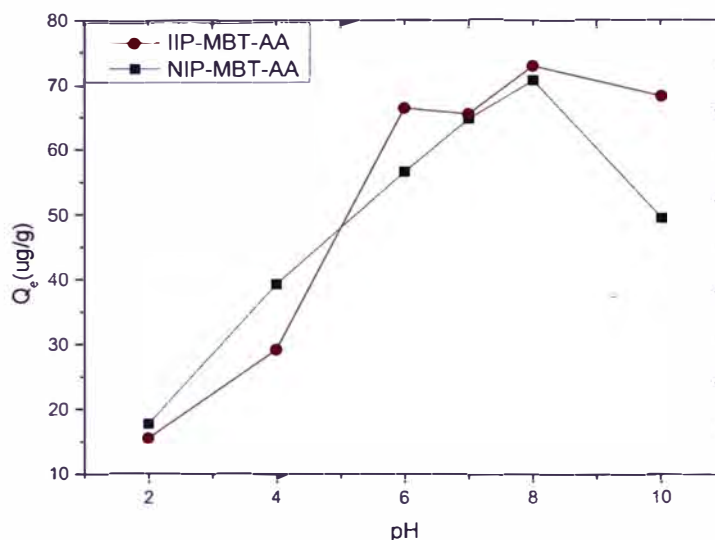


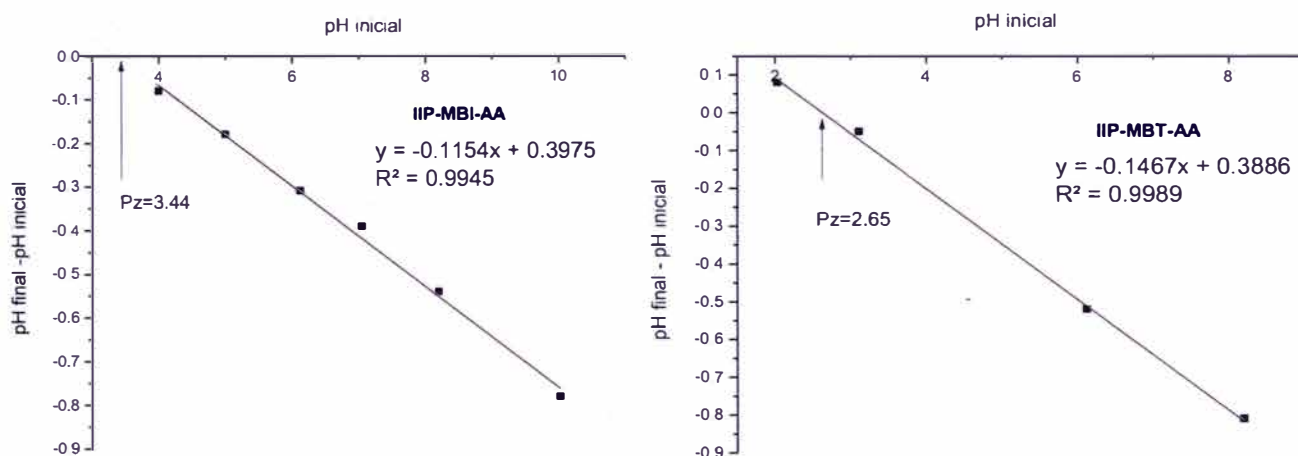
Figura 27. Efecto del pH sobre la sorción de metilmercurio en IIP-MBI-AA (rojo), NIP-MBI-AA (azul) y NIP-AA (negro)



**Figura 28. Efecto del pH sobre la sorción de metilmercurio en IIP-MBT-AA (rojo) y NIP-MBT-AA (negro)**

#### 4.3.2 Punto de carga cero de las muestras IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA

La figura 29 muestra la gráfica de  $\Delta\text{pH}$  (pH final-pH inicial) vs. pH inicial para IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA, a partir de la cual se obtuvo el pH de la superficie del material con una carga superficial cero (ZP0). A partir de la ecuación de la recta se determinó el valor de ZP0 como el punto de cruce de la recta obtenida por regresión lineal sobre el eje de las abscisas. Se observó que el ZP0 para IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA fue 3.44 y 2.65, respectivamente. Esto evidencia que la superficie es muy ácida, debido a los grupos carboxilo del monómero funcional ácido acrílico. Cuando  $\text{pH}=\text{ZP0}$  la densidad de carga de ambos materiales es cero, por lo que se espera que cuando  $\text{pH} < \text{ZP0}$  se produzca la protonación de la superficie, adquiriendo una carga positiva, promoviendo de esta manera la difusión de aniones sobre la superficie. Mientras que cuando  $\text{pH} > \text{ZP0}$  la superficie se carga negativamente, promoviendo la difusión de los cationes. Por tanto, la adsorción de  $\text{MeHg}^+$  será favorecida a pH superiores a 3.44 y 2.65 para IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA, respectivamente, que concuerda con el estudio de pH, en el que se observó un mayor valor de  $q_e$  a un valor mayor de pH.



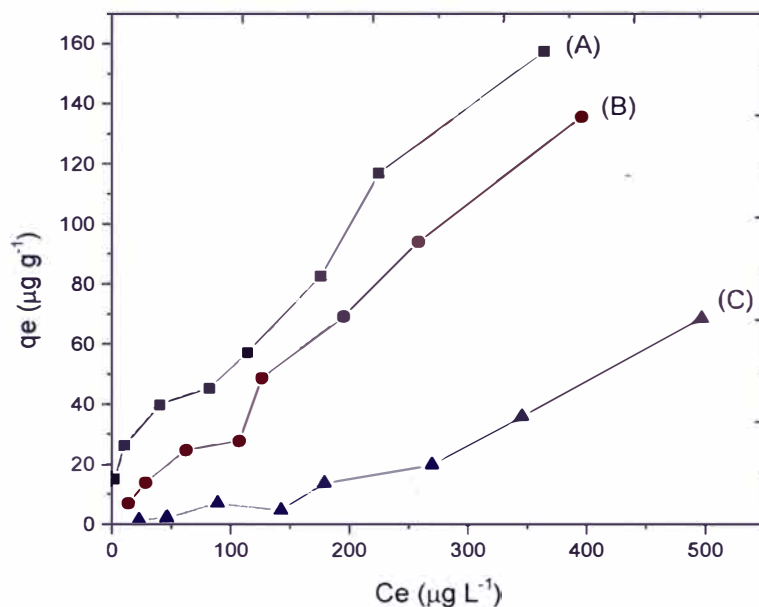
**Figura 29. Dependencia lineal del  $\Delta\text{pH}$  (pH final-pH inicial) vs. pH inicial para las muestras IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA y el punto de intersección con el eje x ( $Y=0$ )**

### 4.3.3 Isotermas de adsorción del analito $\text{MeHg}^+$ por las muestras IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA

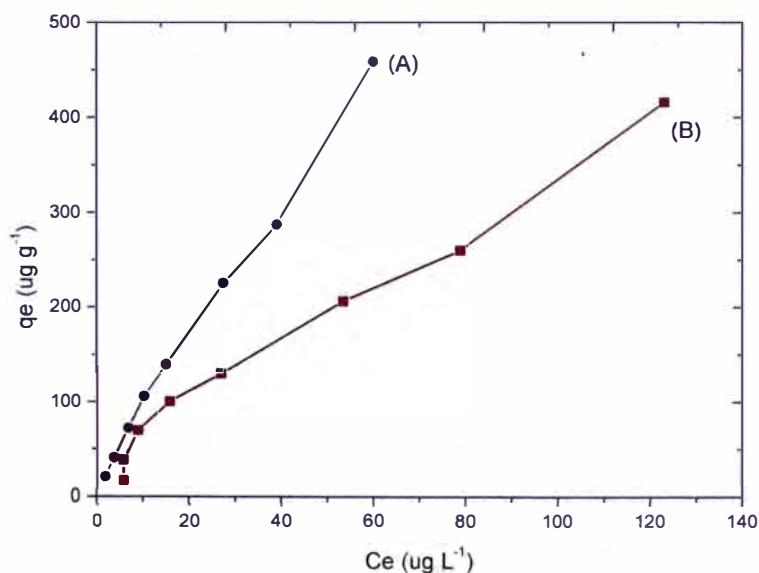
Se evaluó la capacidad de adsorción en el equilibrio (la máxima cantidad de  $\text{MeHg}^+$  adsorbido por 1g de polímero). Para ello se graficó la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $q_e$ ) versus la concentración del adsorbato en el equilibrio ( $C_e$ ) a una temperatura constante y un tiempo de equilibrio de 2 h. Las isotermas de adsorción de IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA se muestran en la figura 30 y de IIP-MBT-AA y NIP-MBT-AA en la figura 31. Las isotermas presentan una forma lineal que se asemeja a la curva de tipo “C” según la clasificación de Giles [63], lo cual indica que la concentración de los centros libres permanece constante con  $C_e$  sin presentar claramente un límite en la capacidad de adsorción a concentraciones altas y que la adsorción no se ve afectada por un efecto competitivo con el solvente.

Los resultados revelan que IIP-MBI-AA ( $157 \text{ ug g}^{-1}$ ) posee mayor  $q_e$  que sus respectivos polímeros no impresos NIP-MBI-AA ( $135 \text{ ug g}^{-1}$ ) y NIP-AA ( $68 \text{ ug g}^{-1}$ ), a causa de los sitios de impresión molecular formados durante su síntesis. Por otro lado, las muestras IIP-MBT-AA ( $457 \text{ ug g}^{-1}$ ) y NIP-MBT-AA ( $416 \text{ ug g}^{-1}$ ) presentaron una capacidad de adsorción 3 veces mayor que las muestras IIP-MBI-AA y NIP-MBI-AA, que podría deberse a la presencia de 2 grupos sulfhidrilo en la estructura molecular de los polímeros

IIP-MBT-AA y NIP-MBT-AA, con interacciones específicas covalentes de coordinación al centro metálico de  $\text{MeHg}^+$ , de esta manera, aumentando el valor de  $q_e$ .



**Figura 30.** Efecto de la concentración en el equilibrio ( $C_e$ ) en la capacidad adsorción ( $q_e$ ) de  $\text{MeHg}^+$  en IIP-MBI-AA (A), NIP-MBI-AA (B) y NIP-AA (C). Condiciones: 3 mg IIP o NIP,  $\text{MeHg}$  25 - 600  $\mu\text{g L}^{-1}$ , pH 8, V 2 mL, tiempo de agitación 2 h



**Figura 31.** Efecto de la concentración en el equilibrio ( $C_e$ ) en la capacidad adsorción ( $q_e$ ) de  $\text{MeHg}^+$  en IIP-MBT-AA (A) y NIP-MBT-AA (B). Condiciones: 3 mg IIP o NIP,  $\text{MeHg}$  25 - 600  $\mu\text{g L}^{-1}$ , pH 8, V 2 mL, tiempo de agitación 2 h

La data obtenida para IIP-MBI-AA e IIP-MBT-AA fue ajustada a los modelos de isothermas Langmuir y Freundlich para la adsorción de MeHg<sup>+</sup>. Las constantes relacionadas a Langmuir y Freundlich para la adsorción de MeHg<sup>+</sup> se muestran en la tabla 12. A partir de los resultados y los altos valores obtenidos de R<sup>2</sup> (>0.98), se puede considerar que los datos experimentales se ajustan satisfactoriamente con el modelo de Freundlich [99]. La isoterma de Freundlich explicó mejor el comportamiento de adsorción de ambos IIPs, porque se producen múltiples interacciones entre adsorbato – adsorbente y estas disminuyen a medida que se van ocupando los sitios activos lo que es característico en polímeros impresos con interacciones no covalentes con el analito.

**Tabla 12. Constantes de modelos de adsorción: Langmuir and Freundlich**

Material	Constantes Langmuir			Constantes Freundlich		
	Q <sub>m</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	B (L ug <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	K <sub>f</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	1/n (L ug <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
IIP-MBI-AA	217.4	0.004	0.76	4.2805	0.5719	0.98
IIP-MBT-AA	1250	0.009	0.84	13.022	0.8664	0.99

#### 4.4 Cinética de Adsorción

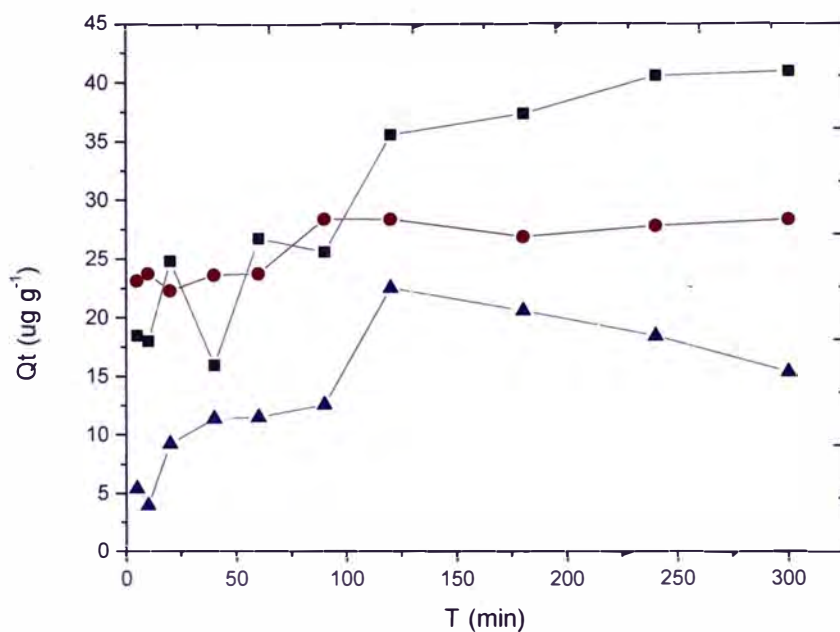
Para determinar el tiempo de contacto necesario para alcanzar las condiciones de equilibrio, se llevaron a cabo experimentos de adsorción en el tiempo hasta alcanzar el equilibrio de adsorción de MeHg<sup>+</sup> en la superficie de los materiales. Se trabajó utilizando: 2 mL 100 mg L<sup>-1</sup> de MeHg<sup>+</sup> a pH 8 y 3 mg de masa del polímero, y se agitó a 150 rpm a diferentes intervalos de tiempo (5-300 minutos). Las figuras 32 y 33 muestran las curvas cinéticas de adsorción representadas por la variación de la capacidad de adsorción en el tiempo (qt) versus el tiempo (t en min).

Para las muestras IIP-MBI-AA y NIP-MBI-AA la condición de equilibrio se alcanzó después de 120 min de contacto, sin embargo, para NIP-AA se observó que la adsorción es aleatoria y descendente a partir de los 120 min lo que evidencia una interacción débil adsorbato-adsorbente. Al contrario, las muestras IIP-MBT-AA y NIP-MBT-AA se presentan una adsorción ascendente, alcanzando la condición de equilibrio después de 90 y 120 minutos, respectivamente. Las gráficas comparativas de las figuras 32 y 33 revelan

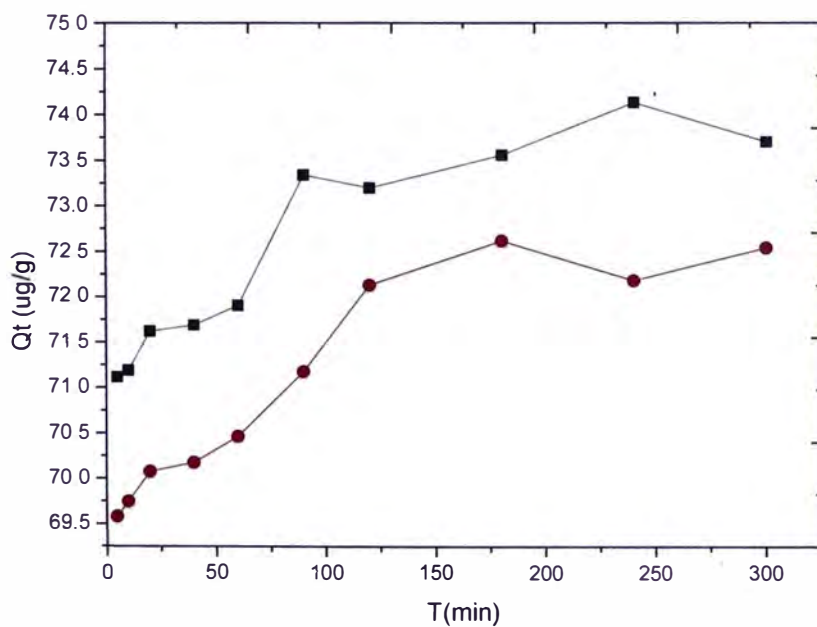
claramente que las muestras IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA poseen una mayor capacidad de adsorción de  $\text{MeHg}^+$ , comparado con su contraparte, no impresos.

Se realizó finalmente la correlación de los resultados cinéticos con modelos de pseudo primer orden (ecuación 6) y pseudo segundo orden (ecuación 7). En la tabla 13 se muestran los parámetros cinéticos para cada polímero y los coeficientes de correlación  $R^2$ . La correlación con el modelo de pseudo primer orden es deficiente pues se obtienen bajos coeficientes de correlación ( $R^2 \ll 1$ ), que indica que hay diferencias entre los valores de  $q_e$  y  $q_t$ , obtenido por el modelo. Por otro lado, con el modelo de pseudo segundo orden se obtuvo un mejor ajuste lineal con valores del coeficiente de correlación ( $R^2 \leq 1$ ) para todos los adsorbentes, que indica que el modelo de pseudo segundo orden permite predecir con buena aproximación los valores cinéticos experimentales.

Analizando los valores de  $k_2$  (constante de velocidad del modelo de pseudo segundo orden) en el caso de IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA, se obtuvieron valores menores con respecto a IIP-MBT-AA y NIP-MBT-AA. Estos valores son afines a la velocidad de adsorción, lo que implica un proceso de adsorción relativamente lento. Por lo tanto, IIP-MBT-AA y NIP-MBT-AA evidencian una fuerte interacción adsorbato-adsorbente superior a IIP-MBI-AA, NIP-MBI-AA y NIP-AA. A continuación, se presenta el siguiente orden en los adsorbentes, en base a la mayor capacidad de adsorción obtenida: IIP-MBT-AA > NIP-MBT-AA > IIP-MBI-AA > NIP-MBI-AA > NIP-AA.



**Figura 32. Cinética de la adsorción de  $\text{MeHg}^+$  en el polímero impreso con metilmercurio IIP-MBI-AA (negro) , NIP-MBI-AA (rojo) y NIP-AA (azul)**



**Figura 33. Cinética de la adsorción de  $\text{MeHg}^+$  en el polímero impreso con metilmercurio IIP-MBT-AA (negro) y NIP-MBT-AA (rojo)**

**Tabla 13. Constantes y coeficiente de correlación para los modelos cinéticos de Pseudo 1° Orden y Pseudo 2° Orden aplicados en la adsorción de MeHg<sup>+</sup>**

Pseudo 1° Orden				
material	q <sub>e</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	q <sub>t</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	K <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> ) x10 <sup>-3</sup>	R <sup>2</sup>
IIP-MBI-AA	40.9277	33.23	15.43	0.886
NIP-MBI-AA	28.4217	8.72	15.89	0.816
NIP-AA	22.52	14.54	4.606	0.582
IIP-MBT-AA	74.1291	2.75	7.369	0.853
NIP-MBT-AA	72.6228	3.40	11.28	0.916
Pseudo 2° Orden				
material	q <sub>e</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	q <sub>t</sub> (ug g <sup>-1</sup> )	K <sub>2</sub> (min <sup>-1</sup> ) x10 <sup>-3</sup>	R <sup>2</sup>
IIP-MBI-AA	40.9277	44.44	0.678	0.958
NIP-MBI-AA	28.4217	28.57	7.239	0.998
NIP-AA	22.52	18.48	2.766	0.941
IIP-MBT-AA	74.1291	74.0740	15.85	0.999
NIP-MBT-AA	72.6228	72.4637	14.21	0.999

#### 4.5 Selectividad de los MeHg-IIPs hacia MeHg<sup>+</sup> frente a iones interferentes.

Con el fin de investigar la selectividad de las muestras IIP-MBI-AA e IIP-MBT-AA por MeHg<sup>+</sup>, algunos cationes metálicos presentes en el agua (Hg<sup>2+</sup>; Cd<sup>2+</sup>; Pb<sup>2+</sup>; Zn<sup>2+</sup>) fueron sometidos a pruebas de adsorción para el estudio de selectividad. El catión Hg<sup>2+</sup> fue escogido como interferente ya que coexiste con MeHg<sup>+</sup> en agua natural [100]. El catión Cd<sup>2+</sup> fue escogido porque presenta selectividad por grupos tioles [38] y el resto de iones fueron escogidos por su propiedad interferente en fuentes de agua natural.

Para el análisis, 3 mg de polímero fue añadido a 2 mL de soluciones binarias que contenían 100ug L<sup>-1</sup> de cada metal MeHg<sup>+</sup>/Cd<sup>2+</sup>; MeHg<sup>+</sup>/Pb<sup>2+</sup> y MeHg<sup>+</sup>/Zn<sup>2+</sup> a pH 8 y agitación por 2 h. Luego de alcanzar el equilibrio de adsorción, se midió la concentración de cada catión metálico con la técnica ICP-OES. En la tabla 14 se muestra el coeficiente de distribución K<sub>d</sub>, el coeficiente de selectividad *k* y el factor de impresión I. Como era de esperarse, los valores de coeficiente de correlación K<sub>d</sub> (MeHg<sup>+</sup>) fueron mayores para los polímeros



impresos a comparación de sus NIPs con todos los iones interferentes a excepción del  $\text{Hg}^{2+}$ . El valor de  $k$  que indica la afinidad de adsorción de los sitios de reconocimiento por los iones  $\text{MeHg}^+$  en presencia de  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  fue 0.89; 20; 5.8 y 35.2 para IIP-MBI-AA, respectivamente. Mientras que para IIP-MBT-AA fue 0.86; 260.7; 288 y 1510, respectivamente. Estos resultados muestran que tanto  $\text{MeHg}^+$  y  $\text{Hg}^{2+}$  presentan afinidad por los grupos sulfhidrilos, mientras que los demás iones metálicos no representan una interferencia efectiva por los sitios activos de los materiales. Con respecto a los valores de  $I$ , en todos los casos fue mayor que 1 debido a la formación de sitios de reconocimiento específicos para  $\text{MeHg}^+$  durante el proceso de impresión.

Tomando en cuenta la capacidad de adsorción, anteriormente estudiada, a pesar de la selectividad similar para  $\text{MeHg}^+$  y  $\text{Hg}^{2+}$ , el material IIP-MBT-AA fue seleccionado para la aplicación como material adsorbente para  $\text{MeHg}^+$ .

**Tabla 14. Coeficientes de selectividad  $K_d$ ,  $k$  e  $I$  para  $\text{Hg}^{2+}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ ;  $\text{Pb}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  con respecto a  $\text{MeHg}^+$**

Material	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Hg}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Hg}^{2+}$ )	$k$	$I$
IIP-MBI-AA	100	100	0.98	1.11	0.89	1.09
NIP-MBI-AA	100	100	0.35	1.01	0.35	-
	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Cd}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Cd}^{2+}$ )	$k$	$I$
IIP-MBI-AA	100	100	0.74	0.04	19.8	3.6
NIP-MBI-AA	100	100	0.47	0.08	5.5	-
	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Pb}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Pb}^{2+}$ )	$k$	$I$
IIP-MBI-AA	100	100	0.72	0.12	5.8	1.1
NIP-MBI-AA	100	100	0.50	0.10	5.0	-
	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Zn}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Zn}^{2+}$ )	$k$	$I$
IIP-MBI-AA	100	100	0.76	0.02	35.2	2.8
NIP-MBI-AA	100	100	0.42	0.03	12.4	-
	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Hg}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Hg}^{2+}$ )	$k$	$I$
IIP-MBT-AA	100	100	4.38	5.07	0.86	1.30
NIP-MBT-AA	100	100	3.48	3.89	0.89	-
	$\text{MeHg}^+$ (ug/L)	$\text{Cd}^{2+}$ (ug/L)	$K_d$ ( $\text{MeHg}^+$ )	$K_d$ ( $\text{Cd}^{2+}$ )	$k$	$I$

IIP-MBT-AA	100	100	10.15	0.04	260.7	1.1
NIP-MBT-AA	100	100	7.5	0.03	229.4	-
	<b>MeHg<sup>+</sup> (ug/L)</b>	<b>Pb<sup>2+</sup> (ug/L)</b>	<b>Kd (MeHg<sup>+</sup>)</b>	<b>Kd (Pb<sup>2+</sup>)</b>	<b>k</b>	<b>I</b>
IIP-MBT-AA	100	100	7.85	0.03	288.1	1
NIP-MBT-AA	100	100	6.21	0.02	278	-
	<b>MeHg<sup>+</sup> (ug/L)</b>	<b>Zn<sup>2+</sup> (ug/L)</b>	<b>Kd (MeHg<sup>+</sup>)</b>	<b>Kd (Zn<sup>2+</sup>)</b>	<b>k</b>	<b>I</b>
IIP-MBT-AA	100	100	19.26	0.01	1510.1	1.3
NIP-MBT-AA	100	100	8.79	0.01	1164.5	-

#### 4.6 Aplicación de IIP-MBT-AA como material adsorbente de MeHg<sup>+</sup>

La aplicabilidad de IIP-MBT-AA en la preconcentración de MeHg<sup>+</sup> fue analizado en una muestra de agua de río (Batalla – São Paulo) y en una muestra de agua de caño del laboratorio UNESP (Araraquara- São Paulo), las cuales, de origen, no evidenciaron presencia de mercurio o metilmercurio (ICP-OES/ LD 0.5 µg L<sup>-1</sup>) pero si la presencia de iones metálicos como Pb<sup>2+</sup> (0.01 mg L<sup>-1</sup>) y Cd<sup>2+</sup> (0.001 mg L<sup>-1</sup>).

Se realizaron adiciones de MeHg<sup>+</sup> (25; 50 y 100 µg L<sup>-1</sup>) y se ajustó a pH8. Las muestras fueron tratadas con el polímero IIP-MBT-AA (3 mg de polímero y 2 mL de solución). Los porcentajes de recuperación se presentan en la tabla 15, donde se observa que la extracción de MeHg<sup>+</sup> constiyuye un 84 a 95%. Se constató que la extracción cuantitativa de iones MeHg<sup>+</sup> se realizó con éxito por IIP-MBT-AA (> 84%), incluso en presencia de diversos iones.

**Tabla 15. % E de MeHg<sup>+</sup> en muestras de agua**

Muestra	MeHg <sup>+</sup> adicionado teórico (ug L <sup>-1</sup> )	MeHg <sup>+</sup> adicionado real (ug L <sup>-1</sup> )	MeHg <sup>+</sup> encontrado (ug L <sup>-1</sup> )	Recuperación (%)
Agua de río (Batalla)	25	30.1	25.5±0.4	84.8
	50	60.4	53.7±0.4	88.8
	100	114.5	103.5±5	89.6
Agua de caño	25	22.4	21±2	93.7
	50	58.2	55±2	95.2
	100	113.5	101±2	88.5

\*desviación estándar n=3

## 4.7 Aplicación de IIP-MBT-AA en un sensor electroquímico

El polímero impreso IIP-MBT-AA fue utilizado para la preparación de un sensor electroquímico, el cuál fue incorporado a un electrodo de pasta de carbono para la preconcentración de  $\text{MeHg}^+$  y su cuantificación electroquímica. Se evaluaron los parámetros más importantes que afectan la respuesta del sensor y parámetros analíticos.

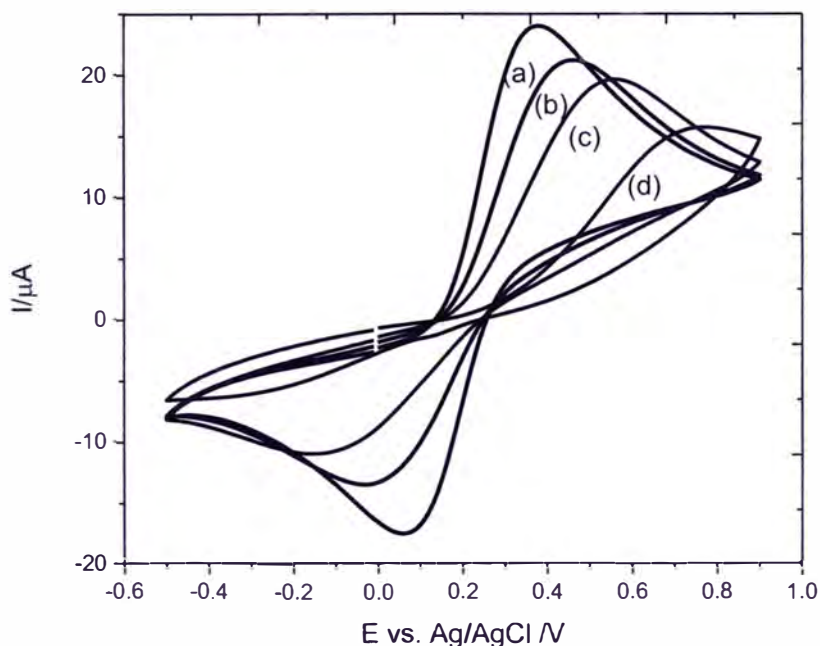
### 4.7.1 Caracterización de los sensores

#### 4.7.1.1 Determinación del área electroactiva

Los electrodos fueron caracterizados por voltametría cíclica (CV) en una solución de ferri/ferrocianuro de potasio ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ )  $2.5 \text{ mmol L}^{-1}$  en  $\text{KCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ . La figura 34 muestra los voltamogramas de los electrodos CPE, CPE/IIP-MBT-AA, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/MWCNT/NIP-AA. El anión ferricianuro  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  es reducido sobre la superficie del electrodo a  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . El intercambio de un electrón entre el analito y el electrodo es un proceso reversible cuya semirreacción para esta dupla redox es:



De manera general, se observó que la intensidad de corriente  $I$  anódica alcanzada en CPE ( $25 \mu\text{A}$ ) fue mayor que la correspondiente a CPE/IIP-MBT-AA ( $16 \mu\text{A}$ ), que se debe a que el material polimérico presenta un efecto aislante e impide la transferencia electrónica. Sin embargo, este efecto fue atenuado con la presencia de nanomateriales carbonosos como MWCNTs en CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA ( $20 \mu\text{A}$ ) y CPE/MWCNT/NIP-AA ( $18 \mu\text{A}$ ). La reversibilidad del sistema se puede considerar como cuasi reversible, puesto que  $I_a/I_c \neq 1$  a medida que aumenta la velocidad de barrido. Sin embargo, es considerado reversible cuando se evalúa la linealidad de la curva dada por la intensidad de corriente de pico  $I_p$  o  $I_c$  versus la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ( $I_p$  vs  $V^{1/2}$ ). Considerando los coeficientes de correlación obtenidos, muy cercanos a 1, se demuestra que el proceso redox está controlado por difusión.



**Figura 34. Voltamograma de los electrodos (a) CPE, (b) CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, (c) CPE/MWCNT/NIP-AA y (d) CPE/IIP-MBT-AA en la solución ferri/ferro  $2.5\text{mmol L}^{-1}$  y  $\text{KCl } 0.1\text{ mol L}^{-1}$**

Las áreas electroactivas para cada electrodo fueron calculadas a partir de la ecuación Randles-Sevcik:

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{2/3} A D^{1/2} c v^{1/2}$$

Donde:  $I_p$  es la corriente de pico (A),  $n$  es el número de electrones que participa en la reacción redox,  $A$  es el área activa del electrodo ( $\text{cm}^2$ ),  $D$  es el coeficiente de difusión del ferricianuro ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $c$  es la concentración del ferricianuro  $\text{mol L}^{-1}$ ,  $v$  es la velocidad de barrido ( $\text{V s}^{-1}$ ). Se consideró que el valor de  $D$  de la solución Ferri/Ferrocianuro a  $25^\circ \text{C}$  es de  $7.63 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ , según reporte bibliográfico [101]. La tabla 16 muestra los valores obtenidos del área activa  $A$ . El electrodo CPE ( $4.09 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ ) presentó mayor área activa que CPE/IIP-MBT-AA ( $2.56 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ ) debido a que la presencia del material polimérico en el electrodo causa la disminución de la transferencia electrónica en la superficie, y por tanto, disminuye el área activa. En el caso de los otros dos electrodos CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA ( $3.64 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ ) y

CPE/MWCNT/NIP-AA ( $3.12 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ ) presentaron mayor área activa, por el nanomaterial carbonoso agregado MWCNT en la preparación de la pasta de grafito, para contrarrestar este efecto aislante del polímero.

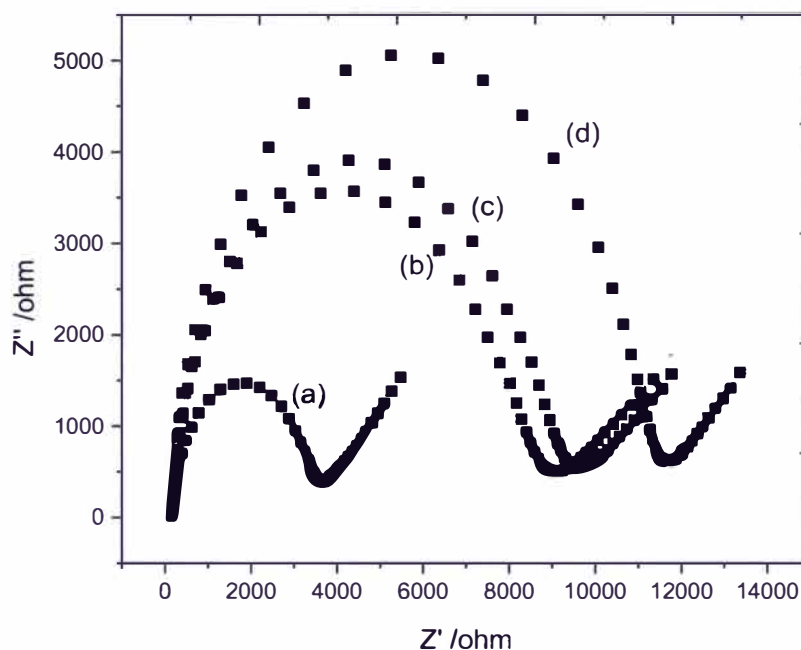
**Tabla 16. Área electroactiva de los electrodos CPE, CPE/IIP-MBT-AA, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/MWCNT/NIP-AA.**

Electrodo	Área electroactiva ( $\text{cm}^2$ )
CPE	$4.09 \times 10^{-2}$
CPE/IIP-MBT-AA	$2.56 \times 10^{-2}$
CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA	$3.64 \times 10^{-2}$
CPE/MWCNT/NIP-AA	$3.12 \times 10^{-2}$

#### 4.7.1.2 Estimación de la impedancia de los electrodos de trabajo

Se realizó el estudio de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) en los electrodos de trabajo mencionados en la tabla 16 para evaluar el comportamiento electroquímico de las interfaces de los electrodos. Para ello. Se usó  $2.5 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  como electrolito de, trabajo y  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl como electrolito soporte. La figura 35 muestra el gráfico Nyquist, que muestra la impedancia cíclica (impedancia imaginaria vs impedancia real). De este gráfico se desprende que la porción de los semicírculos a altas frecuencias se relaciona con la resistencia a la transferencia electrónica mientras que la porción lineal a bajas frecuencias refleja la difusión [102]. Como se observa en la figura 35, el electrodo de trabajo modificado CPE/IIP-MeHg exhibe un aumento en la resistencia a la transferencia electrónica comparado con el electrodo CPE, que se puede atribuir a las propiedades aislantes de los polímeros, que es corroborado por las curvas CV. Los electrodos modificados con MWCNT's:

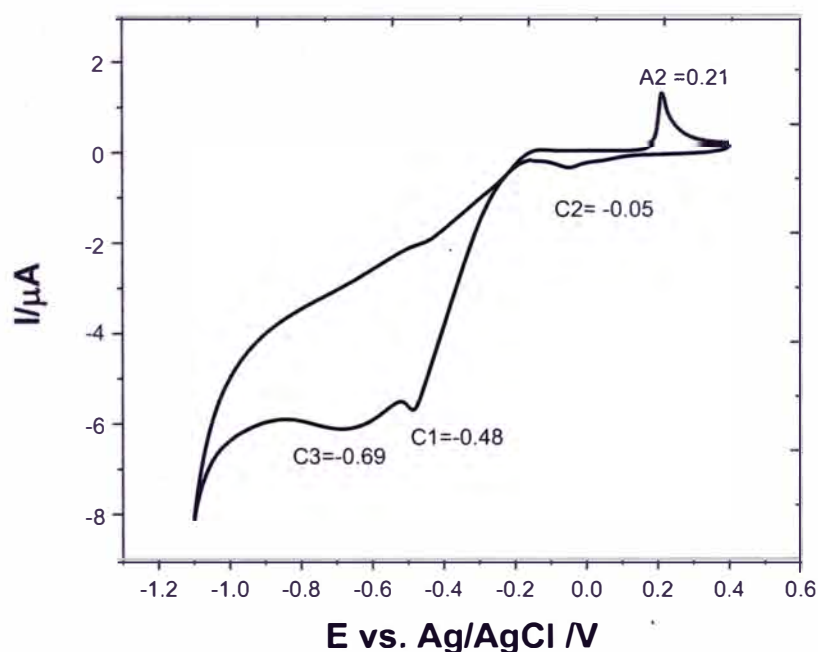
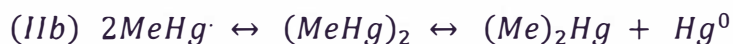
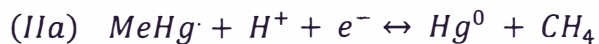
CPE/MWCNT/IIP-MeHg y CPE/MWCNT/NIP muestran un decrecimiento en la resistencia a la transferencia electrónica, debido a su buena conductividad eléctrica. Las propiedades combinadas de IIP-MeHg y MWCNT conllevaron a la producción de un electrodo con una impedancia de transferencia electrónica baja.



**Figura 35.** Gráfico Nyquist para (a) CPE, (b) CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, (c) CPE/MWCNT/NIP-AA y (d) CPE/IIP-MBT-AA en la solución ferri/ferro 2.5mmol L<sup>-1</sup> y KCl 0.1 mol L<sup>-1</sup>

### Identificación de los potenciales de oxidación y reducción de MeHg<sup>+</sup> mediante la técnica CV

Se llevó a cabo el análisis de voltametría cíclica del catión MeHg<sup>+</sup> en HCl en el electrodo CPE, luego de una etapa de preconcentración a -0.8V por 500s. La figura 36 ilustra la primera electro-reducción de MeHg<sup>+</sup> a el radical MeHg<sup>·</sup> en el punto C1 (-0.48V), la segunda electro-reducción en el punto C3 (-0.69V) del radical MeHg<sup>·</sup> a productos como Hg<sup>0</sup> y CH<sub>4</sub>, en donde, Hg<sup>0</sup> se deposita en la superficie del electrodo de trabajo para luego ser oxidado a Hg<sup>2+</sup> durante el barrido anódico, que lo cuál se aprecia con el intenso pico en el punto A2 (0.21V) [103]. La data obtenida de CV de MeHg<sup>+</sup> denota un comportamiento irreversible del MeHg<sup>+</sup> en el punto C1 y por lo tanto, se propone la cuantificación indirecta de MeHg<sup>+</sup> en el punto A2 [41]. Además, la intensidad del pico anódico A2 parece no cambiar con el número de ciclos de exploración; por lo tanto, se trata de un pico bien definido y reproducible para medir el metilmercurio. El volamograma obtenido confirmó el mecanismo de reacción de Heaton *et al.*[38] propuesto para la reducción de MeHg<sup>+</sup> en medio ácido:

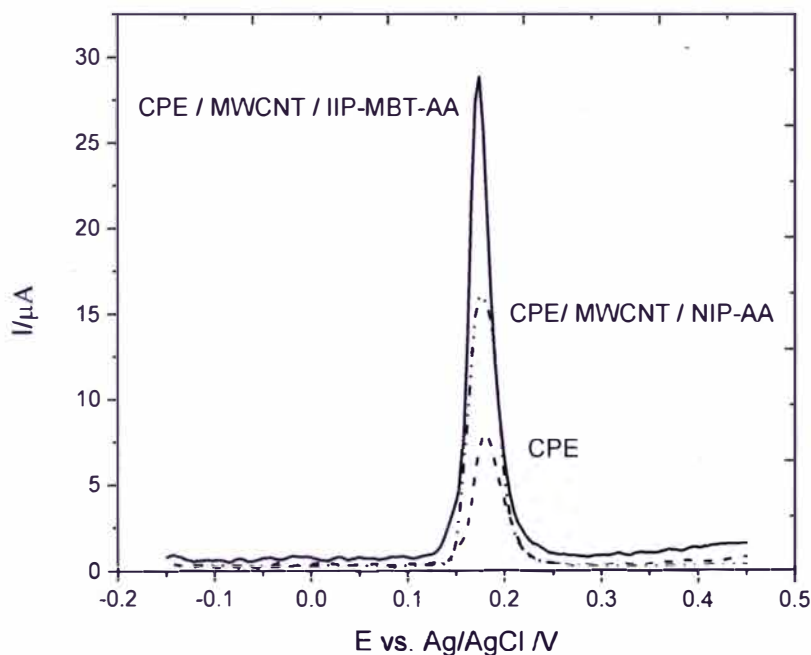


**Figura 36.** Voltametría cíclica de  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$   $\text{MeHg}^+$  en  $0.05\text{M HCl}$  en electrodo CPE,  $v=0.05\text{V/s}$ .  $E_i = -0.15\text{V}$  (vs.  $\text{Ag} | \text{AgCl}$ ).

#### 4.7.2 Comparación de los sensores CPE, CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y CPE/MWCNT /NIP-AA en la cuantificación de $\text{MeHg}^+$

Se evaluó la respuesta electroquímica de los sensores en una solución que contenía  $1000\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  y  $0.05\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{HCl}$  mediante la técnica DPASV (figura 37). Luego de una etapa de preconcentración en  $-0.8\text{V}$  por  $500\text{s}$ , en la etapa de barrido se registró una corriente de pico anódico para los sensores CPE, CPE/ MWCNT /NIP-AA y CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, que fueron  $8.03\mu\text{A}$ ;  $15.0 \mu\text{A}$  y  $28.7 \mu\text{A}$ , respectivamente. La mayor respuesta de intensidad de corriente anódica registrada en el electrodo

modificado CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA se puede explicar a partir de un efecto sinérgico entre el polímero impreso con sitios de coordinación selectivos a  $\text{MeHg}^+$  y el nanomaterial carbonoso MWCNT debido a su mayor superficie de área y su propiedad de transferencia electrónica.



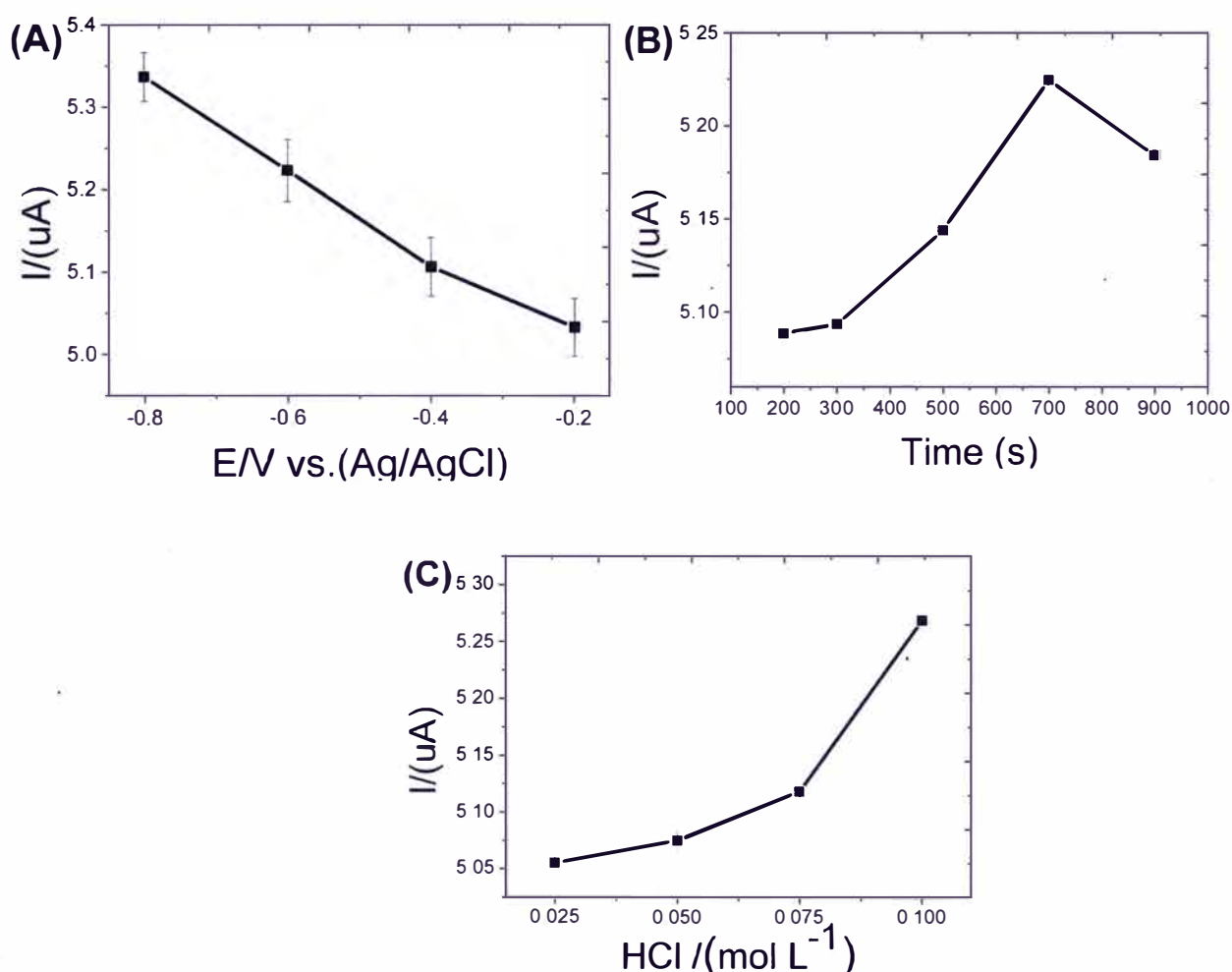
**Figura 37. Voltametría de pulso diferencial y redisolución anódica de  $1000 \text{ ug L}^{-1}$   $\text{MeHg}^+$  en  $0.05\text{M HCl}$  en los electrodos CPE, CPE/ MWCNT /NIP-AA y CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA.  $E_i = -0.15\text{V}$  (vs. Ag | AgCl).**

#### 4.7.3 Optimización en la cuantificación de $\text{MeHg}^+$ mediante DPASV

Para alcanzar el óptimo funcionamiento del electrodo CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA en la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  se estudiaron los parámetros de preconcentración. La figura 38 (A) muestra que la corriente de redisolución es mayor a menores potenciales de preconcentración, sin embargo, a potenciales  $< -0.8\text{V}$  (vc. Ag/AgCl) se acumulan burbujas de  $\text{H}_2$  en la superficie del electrodo, disminuyendo la eficiencia de detección de  $\text{MeHg}^+$  [104]. Se seleccionó  $-0.8\text{V}$  como potencial de reducción de  $\text{MeHg}^+$  para los siguientes análisis. La figura 38 (B) mostró que la corriente de redisolución de  $\text{MeHg}^+$  incrementa linealmente con el tiempo de preconcentración (200-700s), luego de 700s la corriente de redisolución de  $\text{MeHg}^+$  decrece debido a la posible saturación de la superficie del



electrodo. Se seleccionó 500s como tiempo de preconcentración para prevenir la saturación. La concentración del electrolito HCl se evaluó en el rango (0.025-0.1 mol L<sup>-1</sup>) en la figura 38 (C), se observó una dependencia ascendente de la corriente de redisolución con respecto a la concentración de HCl. A concentraciones por encima de 0.5 mol L<sup>-1</sup> la corriente disminuye drásticamente posiblemente a la formación de calomel (Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) u otros compuestos de mercurio insolubles en la superficie del electrodo.

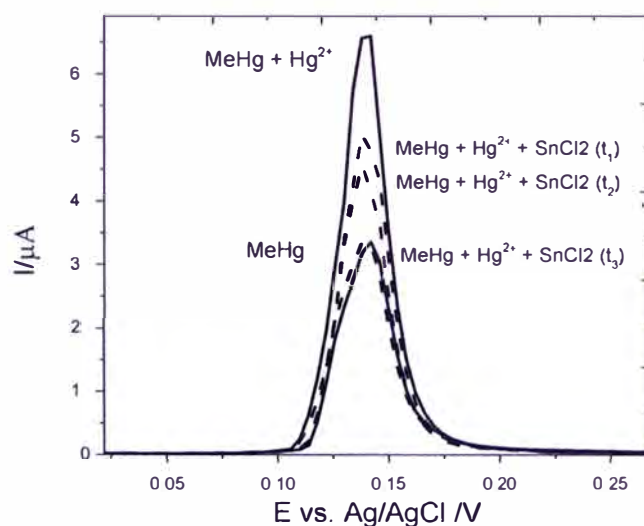


**Figura 38. Evaluación de la influencia del potencial de preconcentración (A) , el tiempo de preconcentración (B) y la concentración de HCl como electrolito (C) en la corriente de pico anódico de 600µg L<sup>-1</sup> MeHg<sup>+</sup>**

#### 4.7.4 Evaluación de Hg<sup>2+</sup> como interferente

Para obtener una cuantificación más exacta de MeHg<sup>+</sup>, la posibilidad de interferencia debe ser estudiada y eliminada. La especie inorgánica Hg<sup>2+</sup> coexiste con MeHg<sup>+</sup> en agua natural

y en muestras biológicas [105], por lo tanto, representa una interferencia en la determinación de  $\text{MeHg}^+$ , además, sus corrientes de redisolución se sobrepone en el mismo potencial (0.1-0.2V). Se evaluó la diferente reactividad de  $\text{SnCl}_2$  que reduce sólo a  $\text{Hg}^{2+}$  en presencia de  $\text{MeHg}^+$  [39-41]. En la figura 39, la corriente de redisolución de  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$  (línea sólida) aumenta cuando se adiciona la misma concentración de  $\text{Hg}^{2+}$  (línea sólida), lo que prueba la interferencia de  $\text{Hg}^{2+}$ . Luego de la adición de  $2.4 \text{ mmol L}^{-1} \text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y agitación constante durante 5 minutos (línea segmentada) la corriente de redisolución disminuyó. Se continuó la agitación por 10 minutos (línea segmentada) y 20 minutos (línea segmentada) hasta demostrar que la influencia de  $\text{Hg}^{2+}$  fue eliminada obteniendo como porcentaje de recuperación de 99%. Se concluyó que las muestras deben tener una etapa de pretratamiento por 20 minutos con una solución de  $2.4 \text{ mmol L}^{-1} \text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  para la eliminación de la señal de  $\text{Hg}^{2+}$  como interferencia en muestras de agua. También se verificó que la adición del agente reductor  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  no perturba la respuesta de  $\text{MeHg}^+$ .

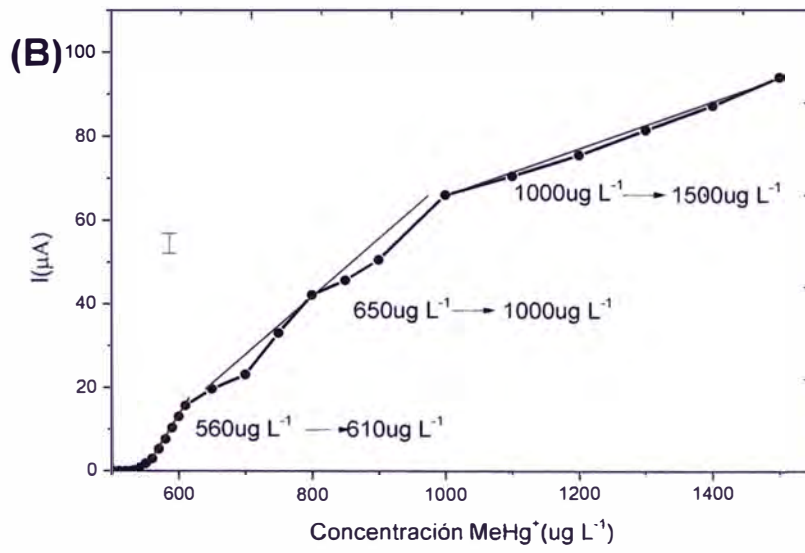
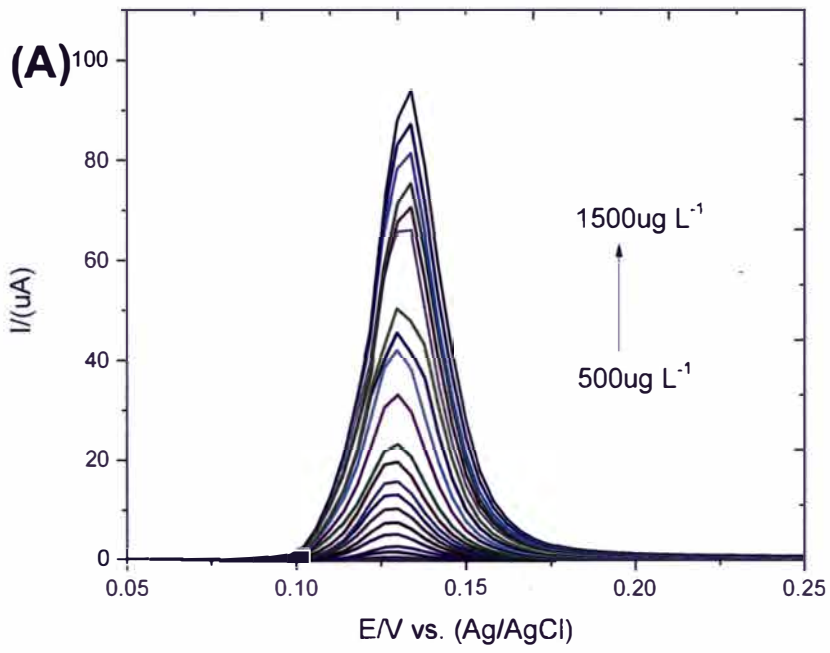


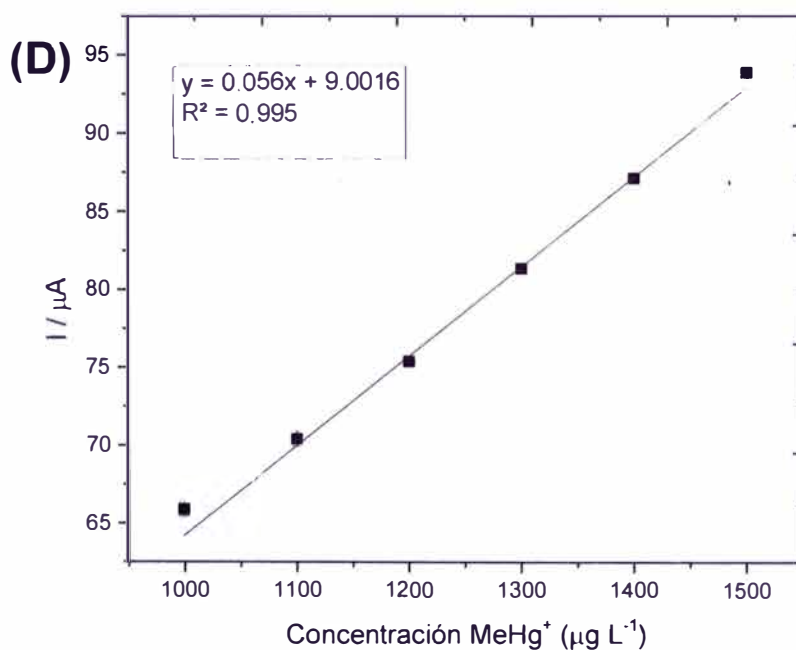
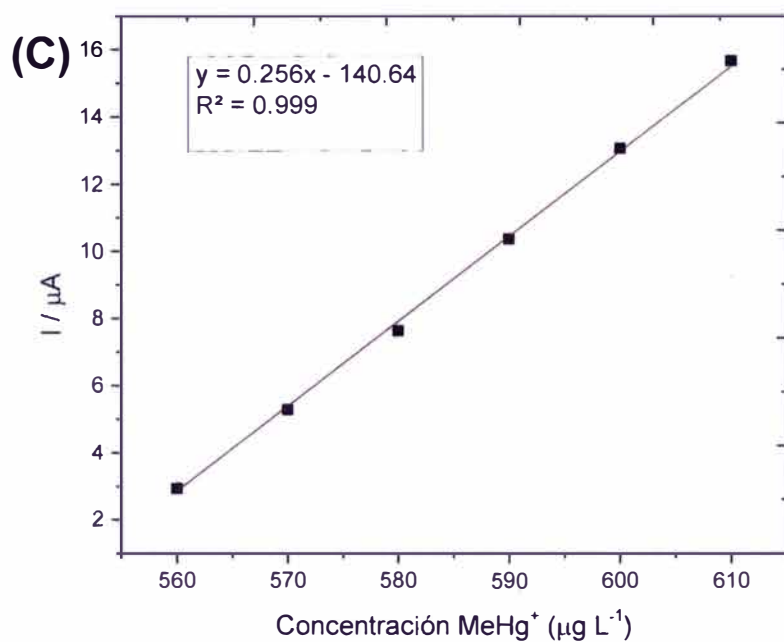
**Figura 39. Voltamograma de  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$  (línea sólida);  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$  +  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$  (línea sólida);  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}^+$  +  $700\mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$  +  $2.4 \text{ mmol L}^{-1} \text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en tiempos de agitación: 5 minutos 10 minutos y 20 minutos (línea segmentada)**

## 4.7.5 Parámetros analíticos

### 4.7.5.1 Linealidad

Conforme a los resultados de optimización en la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  mediante la técnica DPASV, se evaluó la intensidad de corriente como respuesta a la concentración química del  $\text{MeHg}^+$  entre 500 y 1500  $\text{ug L}^{-1}$  en  $\text{HCl } 0.05 \text{ mol L}^{-1}$ . En la figura 40 (A) se aprecia la corriente pico de cada una de las diluciones con factor de corrección a la línea base. En la figura 40 (B) se evaluaron los gráficos de calibración de las corrientes máximas por triplicado y se apreció 3 rangos de linealidad (líneas rojas). En las figuras 40 (C) y (D) se observan las curvas de calibración para los rangos de concentración bajo (560-610  $\text{ug L}^{-1}$ ) y alto (1000-1500  $\text{ug L}^{-1}$ ), respectivamente. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 17 con sus respectivos datos estadísticos descriptivos. Se puede observar que la linealidad de la señal de respuesta se observa satisfactoriamente tanto a bajas como a altas concentraciones de  $\text{MeHg}^+$  ( $R^2 > 0.995$ ), por lo que la linealidad de la metodología queda demostrada. A concentraciones entre 650 - 900  $\text{ug L}^{-1}$  la señal no es lineal y a concentraciones superiores a 1500  $\text{ug L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$ , podría quedar adsorbido en la superficie del electrodo, perjudicando las medidas posteriores.





**Figura 40. (A) Voltamograma DPASV de MeHg<sup>+</sup> en HCl 0.05M, (B) Gráfico concentración MeHg<sup>+</sup>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) vs.  $I / (\mu\text{A})$  , (C) curva de calibración de MeHg<sup>+</sup> en el rango bajo (560-610  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y (D) curva de calibración de MeHg<sup>+</sup> en el rango alto (1000-1500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ).**

**Tabla 17. Valores de intensidad de corriente (uA) de las curvas de calibración en el rango bajo (560-610 ug L<sup>-1</sup>) y alto (1000-1500 ug L<sup>-1</sup>) y su estadística descriptiva**

<b>Concentración MeHg<sup>+</sup> rango bajo (ug L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Curva de calibración 1 (uA)</b>	<b>Curva de calibración 2 (uA)</b>	<b>Curva de calibración 3 (uA)</b>	<b>Promedio (uA)</b>	<b>Desviación Estándar</b>
560	2.931	2.923	2.939	2.931	0.008
570	5.274	5.259	5.289	5.274	0.015
580	7.619	7.604	7.634	7.619	0.015
590	10.352	10.322	10.382	10.352	0.030
600	13.046	13.032	13.060	13.046	0.014
610	15.644	15.619	15.669	15.644	0.025

<b>Concentración MeHg<sup>+</sup> rango alto (ug L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Curva de calibración 1 (uA)</b>	<b>Curva de calibración 2 (uA)</b>	<b>Curva de calibración 3 (uA)</b>	<b>Promedio (uA)</b>	<b>Desviación Estándar</b>
1000	65.902	65.094	66.710	65.902	0.808
1100	70.413	69.560	71.266	70.413	0.853
1200	75.384	75.115	75.653	75.384	0.269
1300	81.341	80.840	81.842	81.341	0.501
1400	87.122	86.800	87.444	87.122	0.322
1500	93.888	93.282	94.494	93.888	0.606

**Tabla 18. Coeficiente de determinación de las 2 curvas de calibrado**

<b>Curva</b>	<b>pendiente</b>	<b>intercepto</b>	<b>Coeficiente de determinación (r<sup>2</sup>)</b>
<b>Rango bajo</b>	0.256	-140.64	0.9990
<b>Rango alto</b>	0.056	+9.0016	0.9953

#### 4.7.5.2 Límite de detección y de cuantificación

Se analizaron 10 réplicas de blanco matriz basado en la señal más baja de MeHg<sup>+</sup> detectable diferente del ruido. Los resultados son mostrados en la tabla 19. El límite de detección (LD) y cuantificación (LC) se calcularon según las expresiones presentadas en la sección 3.3.9.2. Los valores de LD y LC obtenidos se presentan en la tabla 20.

**Tabla 19. Datos de blancos matriz para determinación de límites de detección y cuantificación**

<b>BK</b>	<b>Concentración MeHg<sup>+</sup> (ug L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Desviación estándar</b>
BK1	549.582	<b>0.04589</b>
BK2	549.508	
BK3	549.594	
BK4	549.516	
BK5	549.586	
BK6	549.516	
BK7	549.633	
BK8	549.590	
BK9	549.504	
BK10	549.586	

**Tabla 20. Datos de blancos matriz para determinación de límites de detección y cuantificación**

	<b>Concentración MeHg<sup>+</sup> (ug L<sup>-1</sup>)</b>
<b>LD</b>	<b>0.538</b>
<b>LC</b>	<b>1.798</b>

#### 4.7.5.3 Veracidad

Se realizó el estudio de veracidad en 10 muestras de agua destilada fortificada con 600 y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{MeHg}^+$  a partir de una solución estándar de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{MeHgCl}$  en medio de 0.05  $\text{mol L}^{-1}$  de  $\text{HCl}$ . Se calcularon los niveles de recuperación en términos de porcentaje. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 21. Como se observa los porcentajes de recuperación para ambas adiciones son bastante altos (>98.5%).

**Tabla 21. Resultados de la adición estándar de 600 y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$  en las diferentes muestras y porcentajes de recuperación**

Número de ensayos	Adición 600 $\mu\text{g L}^{-1}$		Adición 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$	
	$\text{MeHg}^+$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	% Recuperación	$\text{MeHg}^+$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	% Recuperación
1	594.4	99.1	1208.7	100.7
2	606.6	101.1	1202.0	100.2
3	601.6	100.3	1201.9	100.2
4	603.6	100.6	1195.5	99.6
5	601.5	100.3	1186.3	98.9
6	591.0	98.5	1191.4	99.3
7	602.5	100.4	1205.3	100.4
8	609.8	101.6	1200.0	100.0
9	600.1	100.0	1204.8	100.4
10	593.8	99.0	1205.9	100.5
$\bar{X}$		100.1		100.0
S		1.0		0.6

La tabla 22 muestra el resultado de la prueba estadística del t-Student de una muestra para el promedio de porcentajes de recuperación de  $\text{MeHg}^+$ . El valor de t-student fue hallado de tabla, obteniéndose un valor de t (9, 0.05) de 2.262 para todas las matrices de agua [Anexo 1](#). Como todos los valores de t experimental fueron menores a 2.262 se acepta la hipótesis nula, por ende, se establece que hay veracidad en el método.



**Tabla 22. Estimación de t-Student de una muestra experimental, sobre el promedio de los porcentajes de recuperación**

Muestra	variable	réplicas	media	Desviación estándar	Error estándar de la media	Valor-p	t-experimental
Adición 600 $\mu\text{g L}^{-1}$	recuperación	10	100.090	0.969	0.306	0.776	0.29
Adición 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$	recuperación	10	100.020	0.577	0.182	0.915	0.11

#### 4.7.5.4 Precisión

Se evaluó la precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad. Con este objeto, se prepararon 10 muestras de agua fortificadas con 590  $\mu\text{g L}^{-1}$  y 1200  $\mu\text{g L}^{-1}$   $\text{MeHg}^+$  en medio de 0.05  $\text{mol L}^{-1}$  de HCl y se realizó la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  en 2 potenciostatos diferentes. La tabla 23 muestra la concentración de  $\text{MeHg}^+$  hallada y sus respectivos estadísticos descriptivos.

Para la prueba de repetibilidad, los valores de  $\text{RSD}_{\text{experimental}}$  y  $\text{RSD}_{\text{Horwitz}}$  fueron calculados a partir de las ecuaciones 20 y 21, respectivamente. La tabla 24 muestra los valores obtenidos en donde se cumple que  $\text{RSD}_{\text{experimental}} < \text{RSD}_{\text{Horwitz}}$ , por lo tanto, el método es preciso en términos de repetibilidad. Para la prueba de reproducibilidad, se realizó la prueba F de Fisher para una cola. El valor de  $F_{\text{experimental}}$  se calculó a partir de la ecuación 22 y el valor de F de tabla ( $F_{9,9}$ ) se obtuvo del anexo 2. La tabla 25 muestra que  $F_{\text{experimental}} < F_{9,9}$ , por lo tanto, los análisis de  $\text{MeHg}^+$  realizados en distintos potenciostatos presentan similar precisión en términos de reproducibilidad.

**Tabla 23. Datos de muestras fortificadas con 1000 ug L<sup>-1</sup> de MeHg<sup>+</sup> para calcular la precisión de los sensores preparados**

Número de ensayos	Adición 590 ug L <sup>-1</sup>		Adición 1200 ug L <sup>-1</sup>	
	Potenciostato 1	Potenciostato 2	Potenciostato 1	Potenciostato 2
1	594.4	608.7	1208.7	1195.6
2	606.6	599.6	1202.0	1208.4
3	601.6	596.6	1201.9	1205.5
4	603.6	593.5	1195.5	1186.3
5	601.5	602.5	1186.3	1200.4
6	591.0	595.8	1191.4	1200.1
7	602.5	600.3	1205.3	1205.2
8	609.8	600.5	1200.0	1208.2
9	600.1	601.4	1204.8	1198.3
10	593.8	601.3	1205.9	1196.3
$\bar{X}$	600.5	600.0	1200.2	1200.4
S	5.9	4.2	7.1	6.8
S <sup>2</sup>	34.7	17.5	50.1	46.3

**Tabla 24. Estimación del RSD experimental y Horwitz para evaluar la precisión de los sensores preparados en términos de repetibilidad**

	Adición 600 ug L <sup>-1</sup>	Adición 1200 ug L <sup>-1</sup>
	Potenciostato 1	Potenciostato 1
%RSD <sub>experimental</sub>	0.981	0.590
%RSD <sub>Horwitz</sub>	9.14	8.24

**Tabla 25. Estimación de la prueba F de Fisher de una cola para evaluar la precisión en términos de reproducibilidad**

	Adición 600 ug L <sup>-1</sup>	Adición 1200 ug L <sup>-1</sup>
F <sub>experimental</sub>	1.981	1.081
F <sub>9,9</sub>	3.179	3.179

#### 4.7.5.5 Selectividad de los sensores preparados para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> frente a iones interferentes

Para el estudio de selectividad del método propuesto se evaluó la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> en presencia de iones metálicos interferentes como Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup> en proporciones 1:1 de las concentraciones 600 y 1200 μg L<sup>-1</sup>. Para el caso del interferente Hg<sup>2+</sup>, se realizó 2 pruebas, una con una etapa de pretratamiento con SnCl<sub>2</sub> como agente reductor (ver sección 4.8.5) y otra prueba control sin la etapa de pretratamiento. Los resultados de % recuperación se aprecian en la tabla 26. Estudios previos [41,101] han reportado que el mercurio inorgánico Hg<sup>2+</sup> interfiere en la señal de cuantificación de MeHg<sup>+</sup>, que concuerda con el aumento de la señal anódica de MeHg<sup>+</sup> cuando Hg<sup>2+</sup> es el interferente (187.3 y 198.1% recuperación MeHg<sup>+</sup>, respectivamente). Sin embargo, la interferencia fue eliminada con una etapa de pretratamiento con SnCl<sub>2</sub> para la reducción selectiva de Hg<sup>2+</sup> como se indicó en 4.8.5, reduciendo los % recuperación a 106.6 y 110.5%, respectivamente. Para el caso de los interferentes Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup>, el % recuperación MeHg<sup>+</sup> estuvo entre 86.5 y 95.9%, por tanto, no representan una interferencia para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup>.

**Tabla 26. Estudio de interferentes metálicos en la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> empleando mezclas binarias 1:1 de 600 y 1200 μg L<sup>-1</sup> de MeHg<sup>+</sup> e interferente.**

Ión interferente	Concentración (μg L <sup>-1</sup> )	% Recuperación MeHg <sup>+</sup>
Hg <sup>2+</sup>	600	187.3
	1200	198.1
Hg <sup>2+</sup> + SnCl <sub>2</sub>	600	106.6
	1200	110.5
Cd <sup>2+</sup>	600	91.0
	1200	95.9
Pb <sup>2+</sup>	600	86.5
	1200	93.9
Fe <sup>3+</sup>	600	91.8
	1200	92.7

#### 4.7.5.6 Aplicación del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA en muestras reales

Se evaluó la aplicabilidad del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA para la cuantificación electroquímica de  $\text{MeHg}^+$  en tres muestras de agua provenientes del río Cañete (Lima), planta de tratamiento de aguas del distrito de Humay (Pisco) y del agua de caño del laboratorio de investigación TecMara (UNI), las cuáles, no contienen  $\text{MeHg}^+$  (CVAAS, LD  $0.5\mu\text{g L}^{-1}$ ). La tabla 27 muestra los valores de % recuperación para el método propuesto por DPASV, los cuales, varían entre 97.7-109.1, por tanto, las matrices de agua natural no causaron interferencia en la señal de medición de  $\text{MeHg}^+$ . Además, se evaluó el error relativo (%) con respecto al método de referencia CVAAS (MET-CENSOPAS-002) para el análisis de mercurio total. En todos los casos se observaron valores con un error relativo  $\% \leq 1$ , por lo que, no hay diferencia significativa en la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  entre el método propuesto empleando CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA con la técnica DPASV y CVAAS (MET-CENSOPAS-002) en muestras de agua natural.

**Tabla 27. Aplicación del sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA para la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  en muestras reales de agua (S/N = 3)**

MUESTRA	$\text{MeHg}^+$ adicionado teórico ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$\text{MeHg}^+$ Encontrado por DPASV ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperación (%) <sup>*</sup>	$\text{MeHg}^+$ Encontrado por CVAAS ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Error relativo con respecto a CVAAS (%) <sup>**</sup>
Agua de río	590	598.5±1.62	98.2	609.5±1.46	-1.80
	1200	1205.5±2.59	97.7	1233.7±1.08	-2.29
Planta de tratamiento de aguas	590	594.5±2.42	99.1	596.5±1.1	-0.34
	1200	1273.2±4.44	103.1	1276.6±0.5	-0.27
Agua de caño	590	609.8±1.18	101.6	615.2±0.9	-0.87
	1200	1308.9±4.44	109.1	1314.0±0.5	-0.39

\* Recuperación % =  $(\text{Conc. MeHg}^+ \text{ encontrada} / \text{Conc. MeHg}^+ \text{ adicionado}) * 100$

\*\*Error relativo % =  $(\text{Conc. MeHg}^+ \text{ método propuesto} - \text{Conc. MeHg}^+ \text{ método referencial} / \text{Conc. MeHg}^+ \text{ método referencial}) * 100$

#### 4.7.6 Comparación del sensor propuesto CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA con los sensores reportados en la literatura para la cuantificación voltamétrica de MeHg<sup>+</sup>

La tabla 28 compara el material del electrodo, la técnica de cuantificación, rango lineal y el límite de detección donde se realizó los análisis para el sensor propuesto CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA y los sensores electroquímicos reportados en la literatura para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup>. Como se aprecia, la técnica de voltametría de redisolución anódica de pulso diferencial (DPASV) ha sido la más utilizada debido a que es una técnica de alta sensibilidad que elimina la mayor parte de la corriente directa de fondo [106]. El electrodo de carbón vítreo ha sido el más utilizado para el desarrollo de sensores electroquímicos, sin embargo, en el presente trabajo se utilizó el electrodo de pasta de carbono (CPE) debido a su amplia ventana potencial anódica, alta conductividad, estabilidad química, bajo costo y su capacidad de ser reproducible [107]. Aunque los otros sensores presenten menor límite de detección (LD), el presente sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA, propuesto en este trabajo, presenta 2 rangos lineales (de 560 a 610 y de 1000 a 1500  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) respecto a sus similares reportados para la cuantificación de metilmercurio en agua, por lo que, considerando sus propiedades electroquímicas, estabilidad, repetibilidad y reproducibilidad, el sensor preparado puede constituir una ventaja para aplicarlo en muestras reales.

**Tabla 28. Comparación de sensores electroquímicos reportados en la literatura para la cuantificación de MeHg<sup>+</sup> con el nuevo sensor CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA**

Material	Técnica voltamétrica	Rango Linear / $\mu\text{g L}^{-1}$	LD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	Ref.
Microelectrodos de carbón vítreo	LSV	64–646	--	[36]
GCE/ AuNPs-RGO	DPASV	646–5175	0.120	[41]
GCE/ AuNPs/mpg-C3N4	DPASV	1-25	0.103	[101]
CPE/MWCNT/IIP-MBT-AA	DPASV	560 – 610 1000-1500	0.538	Este trabajo

## RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

### CONCLUSIONES

Esta tesis doctoral comprendió el desarrollo de polímeros impresos iónicos IIPs selectivos a metilmercurio  $\text{MeHg}^+$  y su aplicación en un sensor electroquímico. Previamente, se realizó un estudio computacional empleando el método DFT y se seleccionaron los materiales ligantes de sulfhidrilo: 2-mercaptobencimidazol (MBI), 2-mercaptobenzotiazol (MBT), así como, el ácido acrílico (AA) y etanol, usados como monómero funcional y disolvente porogénico, respectivamente. Los polímeros impresos iónicos IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA y sus respectivos polímeros no impresos fueron sintetizados y caracterizados por las técnicas SEM, sorción de  $\text{N}_2$  (técnica BET), TGA y FTIR, las cuales, representaron sus características principales como: la morfología de los polímeros, la porosidad y área activa, la termoestabilidad y los grupos funcionales presentes en los IIPs formados. Estudios de caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM) y sorción de  $\text{N}_2$  (BET) revelaron la obtención de materiales porosos con áreas superficiales específicas de  $11 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  (IIP-MBI-AA) y  $5,3 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  (IIP-MBT-AA). La capacidad máxima de adsorción de los polímeros impresos iónicos fueron: IIP-MBT-AA ( $457 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y IIP-MBI-AA ( $157 \mu\text{g L}^{-1}$ ), las cuales fueron mayores que sus correspondientes polímeros no impresos. Las condiciones óptimas para lograr una máxima adsorción fueron a pH 8, en donde habría mayor probabilidad de encontrar especies  $\text{MeHgOH}$ . Los estudios de isoterma de adsorción indicaron que la isoterma de Freundlich se ajusta bien a la adsorción de  $\text{MeHg}^+$  en los polímeros impresos y de control. Además, el estudio cinético mostró seguir bien la ecuación cinética de pseudo-segundo orden en el proceso de adsorción. Del estudio de selectividad, los valores de coeficiente de selectividad  $k$  fueron superiores a 1 para todos los interferentes a excepción de  $\text{Hg}^{2+}$ , ya que al ser un derivado de  $\text{MeHg}^+$  tiene alta selectividad por los sitios activos sulfhidrilos de los polímeros impresos iónicos sintetizados. El IIP-MBT-AA demostró su aplicabilidad como material adsorbente  $\text{MeHg}^+$  en muestras de agua de río con resultados satisfactorios de hasta 95% de recuperación.

El polímero impreso IIP-MBT-AA fue seleccionado para evaluar su aplicación en un sensor electroquímico, el cuál fue incorporado en el electrodo de pasta de carbono y MWCNTs para la preconcentración de  $\text{MeHg}^+$  y su cuantificación empleando la técnica DPASV. Una de las dificultades fue la interferencia de la corriente de redisolución de  $\text{Hg}^{2+}$  inorgánico en la

detección de  $\text{MeHg}^+$ , la cuál fue minimizada con el uso de  $\text{SnCl}_2$ . El sensor propuesto (CPE / MWCNTs / IIP-  $\text{MeHg}^+$ ) exhibió rangos lineales entre  $560 - 610 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $1000 - 1500 \mu\text{g L}^{-1}$ , y límite de detección de  $0.538 \mu\text{g L}^{-1}$ . Mostró buena selectividad hacia  $\text{MeHg}^+$  y repetibilidad satisfactoria para su cuantificación. Además se comprobó que el electrodo preparado puede tener un excelente potencial de aplicación para la cuantificación de  $\text{MeHg}^+$  en muestras reales de agua natural.

## RECOMENDACIONES

Es importante el desarrollo de métodos analíticos principalmente empleando técnicas voltamétricas debido a las ventajas inherentes que presenta para la cuantificación de metilmercurio en muestras de agua. De este modo podrá emplearse con mayor frecuencia y también ser aplicado para matrices de alimentos como el pescado, muestras biológicas como cabello y otras muestras ambientales como suelo, etc.

La simulación computacional es una estrategia de diseño de polímeros impresos iónicos muy útil que debería ser tomada en cuenta en el desarrollo de futuros polímeros impresos debido a que simplifica y optimiza su obtención pues permite predecir la energía de enlace y el solvente más adecuado para la síntesis de los IIPs.

Para la manipulación del reactivo de cloruro de metilmercurio se recomienda el uso de equipos de protección personal como guantes y máscara o respiradores debido a que exposiciones prolongadas o sucesivas puede causar cáncer, dañar la fertilidad y provocar daños en diversos órganos.

Para la síntesis de IIPs se recomienda la técnica de polimerización superficial que consiste en formar el polímero sobre una superficie como partículas de sílica gel, formando así una estructura core-shell, de esta manera los sitios impresos estarán en la superficie y aumentará la capacidad de adsorción metilmercurio.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> Wiener, J. G., Krabbenhoft, D. P., Heinz, G. H., & Scheuhammer, A. M. (2002). Ecotoxicology of mercury. In *Handbook of Ecotoxicology*, Second Edition (pp. 409–463). <https://doi.org/10.1201/9781420032505.ch16>
- <sup>2</sup> WHO, W. H. O. (2013). WHO | Mercury and health. Fact Sheet n 361. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>
- <sup>3</sup> Díez, S. (2008). Human health effects of methylmercury exposure. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 111-132.
- <sup>4</sup> Brunner, E. J., Jones, P. J., Friel, S., & Bartley, M. (2009). Fish, human health and marine ecosystem health: policies in collision. *International journal of epidemiology*, 38(1), 93-100.
- <sup>5</sup> EPA (2001) Methylmercury Water Quality Criterion. Office of Science and Technology Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC 20460  
<https://www.epa.gov/sites/production/files/2020-01/documents/methylmercury-criterion-2001.pdf>
- <sup>6</sup> McNutt, M. (2013). Mercury and health.
- <sup>7</sup> Guimaraes, J.R.D.; Betancourt, O.; Miranda, M.R.; Barriga, R.; Cucva, E.; Betancourt, S. (2011) Long-range effect of cyanide on mercury methylation in a gold mining area in southern Ecuador. *Sci. Total Environ.* 409, 5026–5033.
- <sup>8</sup> Lino, A.S.; Kasper, D.; Guida, Y.S.; Thomaz, J.R.; Malm, O. (2019) Total and methyl mercury distribution in water, sediment, plankton and fish along the Tapajós River basin in the Brazilian Amazon. *Chemosphere.* 235, 690–700.
- <sup>9</sup> EPA, E. P. A. (2002). National primary drinking water regulations: long term enhanced surface water treatment rule. Final rule. *Federal register*, 67(9), 1811-1844.
- <sup>10</sup> World Health Organization (2011), *Guidelines for Drinking Water Quality*, 4th ed. Consultado: 17-06-21. Disponible en: <https://www.who.int/ipcs/features/mercury.pdf?ua=1>
- <sup>11</sup> Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano. Consultado: 12-06-18. Disponible en: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Reglamento\\_Calidad\\_Agua.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Reglamento_Calidad_Agua.pdf)
- <sup>12</sup> Jinadasa, K. K., Herbello-Hermelo, P., Peña-Vázquez, E., Bermejo-Barrera, P., & Moreda-Piñero, A. (2021). Mercury speciation in edible seaweed by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry after ionic imprinted polymer-solid phase extraction. *Talanta*, 224, 121841.
- <sup>13</sup> Jiang, W., Jin, X., Yu, X., Wu, W., Xu, L., & Fu, F. (2017). Ion-imprinted magnetic nanoparticles for specific separation and concentration of ultra-trace methyl mercury from aqueous sample. *Journal of Chromatography A*, 1496, 167-173.
- <sup>14</sup> Luo, X., Huang, W., Shi, Q., Xu, W., Luan, Y., Yang, Y., ... & Yang, W. (2017). Electrochemical sensor based on lead ion-imprinted polymer particles for ultra-trace determination of lead ions in different real samples. *RSC advances*, 7(26), 16033-16040.
- <sup>15</sup> Liu, R., Guan, G., Wang, S., & Zhang, Z. (2011). Core-shell nanostructured molecular imprinting fluorescent chemosensor for selective detection of atrazine herbicide. *The Analyst*, 136(1), 184–190. <https://doi.org/10.1039/c0an00447b>.

- 16 Rodríguez-Fernández, R., Peña-Vázquez, E., & Bermejo-Barrera, P. (2015). Synthesis of an imprinted polymer for the determination of methylmercury in marine products. *Talanta*, 144, 636–641. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.028>
- 17 Liu, Y., Zai, Y., Chang, X., Guo, Y., Meng, S., & Feng, F. (2006). Highly selective determination of methylmercury with methylmercury-imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta*, 575(2), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.05.081>
- 18 Rabenstein, D. L. (1978). The Aqueous Solution Chemistry of Methylmercury and Its Complexes. *Accounts of Chemical Research*, 11(3), 100–107. <https://doi.org/10.1021/ar50123a004>
- 19 Boraie, A. A. A., & Ahmed, I. T. (1996). Acid dissociation constants of some mercaptobenzazoles in aqueous-organic solvent mixtures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 41(4), 787–790. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.103>
- 20 Bagheri, H., & Gholami, A. (2001). Determination of very low levels of dissolved mercury(II) and methylmercury in river waters by continuous flow with on-line UV decomposition and cold-vapor atomic fluorescence spectrometry after pre-concentration on a silica gel-2-mercaptobenzimidazole sor. *Talanta*, 55(6), 1141–1150. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00546-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00546-X)
- 21 Fu, X., Chen, X., Guo, Z., Xie, C., Kong, L., Liu, J., & Huang, X. (2011). *Analytica Chimica Acta* Stripping voltammetric detection of mercury ( II ) based on a surface ion imprinting strategy in electropolymerized microporous poly ( 2-mercaptobenzothiazole ) films modified glassy carbon electrode, 685, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.020>
- 22 US EPA. (1979). Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes, EPA-600/4-79-020 (1979). Retrieved from [https://www.wbdg.org/FFC/EPA/EPACRIT/epa600\\_4\\_79\\_020.pdf](https://www.wbdg.org/FFC/EPA/EPACRIT/epa600_4_79_020.pdf)
- 23 Method 245.7: Mercury in Water by Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry, Revision 2.0, February 2005, EPA-821-R-05-001. Retrieved from [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/method\\_245-7\\_rev\\_2\\_2005.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/method_245-7_rev_2_2005.pdf)
- 24 Ma, S., He, M., Chen, B., Deng, W., Zheng, Q., & Hu, B. (2016). Magnetic solid phase extraction coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of mercury in environmental water and human hair samples. *Talanta*, 146, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.036>
- 25 Jiang H, Hu B, Chen B, Zu W. (2008)Hollow fiber liquid phase microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of methylmercury in human hair and sludge samples. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc*;63(7):770–6.
- 26 Lu, Y., Liang, X., Niyungeko, C., Zhou, J., Xu, J., & Tian, G. (2018). A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry. *Talanta*, 178(July 2017), 324–338. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.033>
- 27 Lee, S., Park, S. K., Choi, E., & Piao, Y. (2016). Voltammetric determination of trace heavy metals using an electrochemically deposited graphene/bismuth nanocomposite film-modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 766, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.02.003>
- 28 Ministerio de Salud, & Gobierno del Perú. (2013). Guía De Práctica Clínica Para El Diagnóstico Y Tratamiento De La Intoxicación Por Mercurio. Retrieved from <http://www.minsa.gob.pe>
- 29 Luo, X., Huang, W., Shi, Q., Xu, W., Luan, Y., Yang, Y., ... Yang, W. (2017). Electrochemical sensor based on lead ion-imprinted polymer particles for ultra-trace determination of lead ions in different real samples. *RSC Advances*, 7(26), 16033–16040. <https://doi.org/10.1039/c6ra25791g>

- 30 Alizadeh, T., Hamidi, N., Ganjali, M. R., & Rafiei, F. (2018). Determination of subnanomolar levels of mercury (II) by using a graphite paste electrode modified with MWCNTs and Hg(II)-imprinted polymer nanoparticles. *Microchimica Acta*, 185(1), 0–8. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2534-3>
- 31 Ghanei-Motlagh, M., Taher, M. A., Heydari, A., Ghanei-Motlagh, R., & Gupta, V. K. (2016). A novel voltammetric sensor for sensitive detection of mercury(II) ions using glassy carbon electrode modified with graphene-based ion imprinted polymer. *Materials Science and Engineering C*, 63, 367–375. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.005>
- 32 Akhoundian, M., Alizadeh, T., Ganjali, M. R., & Norouzi, P. (2019). Ultra-trace detection of methamphetamine in biological samples using FFT-square wave voltammetry and nano-sized imprinted polymer/MWCNTs-modified electrode. *Talanta*, 200, 115-123.
- 33 Z. Zhou, D. Kong, H. Zhu, N. Wang, Z. Wang, Q. Wang, et al. (2018) Preparation and adsorption characteristics of an ion-imprinted polymer for fast removal of Ni(II) ions from aqueous solution, *J. Hazard. Mater.* 341, 355–364. doi:10.1016/j.jhazmat.2017.06.010.
- 34 Z. Dahaghin, H.Z. Mousavi, S.M. Sajjadi (2017) A novel magnetic ion imprinted polymer as a selective magnetic solid phase for separation of trace lead(II) ions from agricultural products, and optimization using a Box-Behnken design, *Food Chem.* 237, 275–281. doi:10.1016/j.foodchem.2017.05.118.
- 35 Branger, C., Meouche, W., & Margaillan, A. (2013). Recent advances on ion-imprinted polymers. *Reactive and Functional Polymers*, 73(6), 859-875.
- 36 Khodadadian, M., & Ahmadi, F. (2010). Computer-assisted design and synthesis of molecularly imprinted polymers for selective extraction of acetazolamide from human plasma prior to its voltammetric determination. *Talanta*, 81(4-5), 1446-1453.
- <sup>37</sup> Yang, G. P., Tsunogai, S., & Watanabe, S. (2006). Complexation of dimethylsulfide with mercuric ion in aqueous solutions. *Journal of oceanography*, 62(4), 473-480.
- 38 Büyüktiryaki, S., Say, R., Dcnizli, A., & Ersöz, A. (2007). Mimicking receptor for methylmercury preconcentration based on ion-imprinting. *Talanta*, 71(2), 699–705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.05.026>
- 39 Heaton RC, Laitinen HA. (1974) Electroanalytical Studies of Methylmercury in Aqueous Solution. *Anal Chem.* ;46(4):547–53. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60340a025>
- 40 Ribeiro, F., Neto, M. M. M., Rocha, M. M., & Fonscca, I. T. E. (2006). Voltammetric studies on the electrochemical determination of methylmercury in chloride medium at carbon microelectrodes. *Analytica Chimica Acta*, 579(2), 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.07.025>
- 41 Abollino, O., Giacomino, A., Malandrino, M., Marro, S., & Mentasti, E. (2009). Voltammetric determination of methylmercury and inorganic mercury with an home made gold nanoparticle electrode. *Journal of Applied Electrochemistry*, 39(11), 2209–2216. <https://doi.org/10.1007/s10800-009-9830-5>
- 42 Xu Y, Zhang W, Shi J, Zou X, Li Y, Haroon Elrasheid T, et al. (2017) Electrodeposition of gold nanoparticles and reduced graphene oxide on an electrode for fast and sensitive determination of methylmercury in fish. *Food Chem*;237:423–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.096>
- 43 World Health Organization. (2011). Adverse Health Effects of Heavy Metals in Children. Retrieved from [www.who.int/ceh](http://www.who.int/ceh)
- 44 WHO, W. H. O. (2013). WHO | Mercury and health. Fact Sheet n 361. Retrieved from <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>

- 45 U. Steuerwald, P. Weihe, P.J. Jørgensen, K. Bjerve, J. Brock, B. Heinzow, et al. (2000) Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function, *J. Pediatr.* 136, 599–605. doi:10.1067/mpd.2000.102774.
- 46 Wulff, G. (1995). Molecular Imprinting in Cross-Linked Materials with the Aid of Molecular Templates— A Way towards Artificial Antibodies. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34(17), 1812–1832. <https://doi.org/10.1002/anie.199518121>
- 47 Chen, L., Dai, J., Hu, B., Wang, J., Wu, Y., Dai, J., ... Yan, Y. (2019). Recent Progresses on the Adsorption and Separation of Ions by Imprinting Routes. *Separation & Purification Reviews*, 2119, 1–29. <https://doi.org/10.1080/15422119.2019.1596134>
- 48 Branger, C., Meouche, W., & Margaillan, A. (2013). Recent advances on ion-imprinted polymers. *Reactive and Functional Polymers*, 73(6), 859–875. <https://doi.org/10.1016/j.REACTFU-CTPOLYM.2013.03.021>
- 49 Yilmaz, V., Arslan, Z., Hazer, O., & Yilmaz, H. (2014). Selective solid phase extraction of copper using a new Cu(II)-imprinted polymer and determination by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES). *Microchemical Journal : Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 114, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.12.002>
- 50 Fu, J., Chen, L., Li, J., & Zhang, Z. (2015). Current status and challenges of ion imprinting. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(26), 13598–13627. <https://doi.org/10.1039/C5TA02421H>
- 51 Vasapollo, G., Sole, R. Del, Mergola, L., Lazzoi, M. R., Scardino, A., Scorrano, S., & Mele, G. (2011). Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 5908–5945. <https://doi.org/10.3390/ijms12095908>
- 52 Mayes, A. G., & Whitcombe, M. J. (2005). Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(12), 1742–1778. <https://doi.org/10.1016/j.ADDR.2005.07.011>
- 53 Pardeshi, S., Dhodapkar, R., & Kumar, A. (2013). Quantum chemical density functional theory studies on the molecular structure and vibrational spectra of Gallic acid imprinted polymers. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 116, 562–573. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.07.067>
- 54 Ishak, N., Ahmad, M. N., Nasir, A. M., Kamaruddin, S. F., Shafiqul Islam, A. K. M., & Ariffin, M. M. (2017). Theoretical and experimental studies of ion imprinted polymer for nitrate detection. *Polymer Science, Series A*, 59(5), 649–659. <https://doi.org/10.1134/S0965545X17050066>
- 55 Capelle, K. (2002). A bird's-eye view of density-functional theory. *Brazilian Journal of Physics*, 36(4a), 1318–1343. <https://doi.org/10.1590/S0103-97332006000700035>
- 56 De Barros, L. A., Pereira, L. A., Custódio, R., & Rath, S. (2014). A novel computational approach for development of highly selective fenitrothion imprinted polymer: Theoretical predictions and experimental validations. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25(4), 619–628. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140009>
- 57 Lai, W., Zhang, K., Shao, P., Yang, L., Ding, L., Pavlostathis, S. G., ... Luo, X. (2019). Optimization of adsorption configuration by DFT calculation for design of adsorbent: A case study of palladium ion-imprinted polymers. *Journal of Hazardous Materials*, 379(January), 120791. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120791>

- 58 Zhcng, C., Huang, Y.-P., & Liu, Z.-S. (2013). Synthesis and theoretical study of molecularly imprinted monoliths for HPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(7), 2147–2161. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6639-6>
- 59 Beltran, A., Borrull, F., Marcé, R. M., & Cormack, P. A. G. (2010). Molecularly-imprinted polymers: Useful sorbents for selective extractions. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.07.020>
- 60 Poole, C. F., Gunatilleka, A. D., & Sethuraman, R. (2000). Contributions of theory to method development in solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. <https://doi.org/10.1093/tcbh/hwq025>
- 61 Fasihi, J., Ammari Alahyari, S., Shamsipur, M., Sharghi, H., & Charkhi, A. (2011). Adsorption of uranyl ion onto an anthraquinone based ion-imprinted copolymer. *Reactive and Functional Polymers*, 71(8), 803–808. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2011.03.014>
- 62 Özkara, S., Andaç, M., Karakoç, V., Say, R., & Denizli, A. (2011). Ion-imprinted PHEMA based monolith for the removal of Fe<sup>3+</sup> ions from aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, 120(3), 1829–1836. <https://doi.org/10.1002/app.33400>
- 63 F. Zhu et al. (2017). Selective adsorption behavior of Cd(II) ion imprinted polymers synthesized by microwave-assisted inverse emulsion polymerization: Adsorption performance and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 321, 103–110
- 64 MEZA, F. D. L. (2017). Estudio de la adsorción de arsénico presente en soluciones acuosas empleando materiales adsorbentes a base de quitosano modificado. Tesis de maestría. Departamento de Química. Pontificia Universidad Católica del Perú
- 65 Giles, C. H., MacEwan, T. H., Nakhwa, S. N., & Smith, D. (1960). Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, (0), 3973. <https://doi.org/10.1039/jr9600003973>
- 66 García, N. (2014). Una nueva generación de carbones activados de altas prestaciones para aplicaciones medioambientales. Tesis doctoral. Programa de Doctorado de Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad de Oviedo
- 67 Iftikhar, A. R., Bhatti, H. N., Hanif, M. A., & Nadeem, R. (2009). Kinetic and thermodynamic aspects of Cu (II) and Cr (III) removal from aqueous solutions using rose waste biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), 941-947.
- 68 Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process biochemistry*, 34(5), 451-465.
- 69 Merriam-Webster Dictionary, [www.merriam-webster.com/dictionary/sensor](http://www.merriam-webster.com/dictionary/sensor)
- 70 Ramachandran R, Chen T-W, Chen S-M, Baskar T, Kannan R, Elumalai P, et al. (2019) A review of the advanced developments of electrochemical sensors for the detection of toxic and bioactive molecules. *Inorg Chem*. ;6(12):3418–39. Available from: <https://pubs.rsc.org/cn/content/articlehtml/2019/qi/c9qi00602h>
- 71 Simões FR, Xavier MG. (2019) Electrochemical Sensors. In: *Nanoscience and its Applications*. Elsevier Inc.; p. 155–78.
- 72 FARGHĀLY, O.A. y otros (2014). “Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques”. *International Journal of ELECTROCHEMICAL SCIENCE*. Vol.9, pp. 3287 – 3318

- 73 Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical methods : fundamentals and applications*. Wiley. Retrieved from <https://www.wiley.com/en-us/Electrochemical+Methods%3A+Fundamentals+and+Applications%2C+2nd+Edition-p-9780471043720>
- 74 F.J. Holler, D.A. Skoog, S.R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, sixth edition, Thomson Brooks/Cole, 2007.
- 75 Wang, J. (2000). *Analytical Electrochemistry*. A John Wiley and sons, INC. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/0471790303>
- 76 Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., & Martín Gómez, M. del C. (2001). *Principios de análisis instrumental*. McGraw-Hill Interamericana.
- 77 A.M.O. Brett, C.M. Brett, A (1994) *Electrochemistry Principles, Methods, and Applications*, Oxford University Press, Coimbra.
- 78 Fischer O., Fischerová E. (1995) Basic principles of voltammetry. In: Brabec V., Walz D., Milazzo G. (eds) *Experimental Techniques in Bioelectrochemistry*. *Bioelectrochemistry: Principles and Practice*, vol 3. Birkhäuser, Basel
- 79 Bohari NA, Siddiquee S, Saallah S, Misson M, Arshad SE. (2020) Optimization and analytical behavior of electrochemical sensors based on the modification of indium tin oxide (ITO) using PANI/MWCNTs/AuNPs for mercury detection. *Sensors (Switzerland)* ;20(22):1-17. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/22/6502>
- 80 Meng X, Xiao Z, Scott SK. (2019) Preparation and Application of Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer Coated Multi-Walled Carbon Nanotubes for Nitrocellulose Detection. *Propellants, Explos Pyrotech* ;44(10):1337-46. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/prop.201900055>
- 81 Benavides L. (2019) *Nanotubos de Carbono aplicados al electrodo negativo de una batería de Ni/MH*. Tesis de Maestría. Argentina: Universidad Nacional del Cuyo.
- 82 Akhoundian M, Alizadeh T, Ganjali MR, Rafici F. (2018) A new carbon paste electrode modified with MWCNTs and nano-structured molecularly imprinted polymer for ultratrace determination of trimipramine: The crucial effect of electrode components mixing on its performance. *Biosens Bioelectron*; 111:27-33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29631160/>
- 83 Vidu, R., Rahman, M., Mahmoudi, M., Enachescu, M., Poteca, T. D., & Opris, I. (2014). Nanostructures: a platform for brain repair and augmentation. *Frontiers in systems neuroscience*, 8, 91.
- 84 ORTIZ FRADE, Luis A. (2017) *Espectroscopia de impedancia electroquímica*. Ponencia presentada en el curso: Principios de electroquímica y sus aplicaciones en el campo de la investigación. Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, enero del 2017
- 85 DUFFAU, et al. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre: Aspectos generales sobre la validación de métodos. Santiago de Chile. Instituto de salud pública de Chile, pp. 21-49
- 86 Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A., Cheeseman, J.R.; Scalmani, G., Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; et al. (2009) *Gaussian 09; Revision D.01*; Gaussian, Inc: Wallingford, CT, USA
- 87 Singh, I.; El-Emam, A.A.; Pathak, S.K.; Srivastava, R.; Shukla, V.K.; Prasad, O.; Sinha, L. (2019) Experimental and theoretical DFT (B3LYP, X3LYP, CAM-B3LYP and M06-2X) study on electronic structure, spectral features, hydrogen bonding and solvent effects of 4-methylthiadiazole-5-carboxylic acid. *Mol. Simul.* 45, 1029-1043.

- 88 Hehre, W.J.; Ditchfield, R.; Pople, J.A. (1972) Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, 56, 2257–2261.
- 89 Hay, P.J.; Wadt, W.R. (1985) Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys.*, 82, 270–283.
- 90 Morgano, M. A., Milani, R. F., & Perrone, A. A. M. (2015). Determination of Total Mercury in Sushi Samples Employing Direct Mercury Analyzer. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2301–2307. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0117-7>
- 91 Zanello, P. (2003). *Inorganic electrochemistry: Theory, practice and application*. Royal Society of Chemistry.
- 92 Yamamoto, R., Sumino, K., & Nakamae, K. (1994). A laser Raman spectroscopic study on the interaction of alkylmercury with thiol and sulfur containing compounds. *Archives of Toxicology*, 69(2), 127–131. <https://doi.org/10.1007/s002040050147>
- 93 Bravo, J., Casas, J. S., Castaño, M. V., Gayoso, M., Sánchez, A., Sordo, J., ... De Santos, C. O. P. (1985). Methyl- and Phenylmercury(II) Derivatives of 2-Mercaptobenzothiazole. Crystal Structure of (2-Mercaptobenzothiazolato)methylmercury(II). *Inorganic Chemistry*, 24(21), 3435–3438. <https://doi.org/10.1021/ic00215a027>
- 95 Beatriz Elena Soledad Rodríguez (2016). Estudio, desarrollo y aplicación de polímeros molecularmente impresos para la determinación de antibióticos en leche por cromatografía líquida de alta presión con detección en el ultravioleta (HPLC-UV). Tesis doctoral, UNED, FACULTAD DE CIENCIAS, DEPARTAMENTO CIENCIAS ANALÍTICAS.
- 96 AlHokbany, N., & AlJammaz, I. (2011). Spectroscopic investigation and density functional theory calculations of mercaptobenzothiazole and mercaptobenzimidazole ligands and their rhenium complexes. *Open Journal of Inorganic Chemistry*, 01(02), 23–32. <https://doi.org/10.4236/ojic.2011.12004>
- 97 Bittrich, D. R., Chadwick, S. P., Babiarz, C. L., Manolopoulos, H., Rutter, A. P., Schauer, J. J., ... Herckes, P. (2011). Speciation of mercury (II) and methylmercury in cloud and fog water. *Aerosol and Air Quality Research*, 11(2), 161–169. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2010.08.0067>
- 98 Dong, W., Liang, L., Brooks, S., Southworth, G., & Gu, B. (2010). Roles of dissolved organic matter in the speciation of mercury and methylmercury in a contaminated ecosystem in Oak Ridge, Tennessee. *Environmental Chemistry*, 7(1), 94–102.
- 99 Al-Ashch, S., Banat, F., Al-Omari, R., & Duvnjak, Z. (2000). Predictions of binary sorption isotherms for the sorption of heavy metals by pine bark using single isotherm data. *Chemosphere*, 41(5), 659–665. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00497-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00497-X)
- 100 Büyüktiryaki, S., Say, R., Denizli, A., & Ersöz, A. (2007). Mimicking receptor for methylmercury preconcentration based on ion-imprinting. *Talanta*, 71(2), 699–705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.05.026>
- 101 I. Kang J, Kim T, Tak Y, Lee JH, Yoon J. (2012) Cyclic voltammetry for monitoring bacterial attachment and biofilm formation. *J Ind Eng Chem* ;18(2):800–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jicc.2011.10.002>
- 102 Wang, S., Zhang, J., Gharbi, O. et al. (2021). Electrochemical impedance spectroscopy. *Nat Rev Methods Primers* 1, 41 <https://doi.org/10.1038/s43586-021-00039-w>

- 103 Afonso, F., Ribeiro, F., Proenca, L., Lopes, M. I. S., Rocha, M. M., Neto, M. M. M., & Fonseca, I. T. E. (2005). Voltammetric studies on the electrochemical reduction of methylmercury in HCl aqueous medium at a carbon microelectrode. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 17(2), 127-133.
- 104 Chen X, Liu Y, Ke XX, Weerasooriya R, Li H, Wang LC, et al. (2021) A green method to synthesize Au Ps/mpg-C3N4 nanocomposites for constructing anti-interference electrochemical sensing interface toward methylmercury. *J Alloys Compd* ;853.
- 105 Buyüktiryaki, S., Say, R., Denizli, A., & Ersöz, A. (2007). Mimicking receptor for methylmercury preconcentration based on ion-imprinting. *Talanta*, 71(2), 699–705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.05.026>
- 106 Nieves, F. (2021). Monitorización mediante electrodos modificados con nanopartículas de plata de la eliminación de as(v) y pb(ii) empleando un sistema online en columna [Tesis de grado, Universitat Politècnica de Catalunya]
- <sup>107</sup>107 Malode, S. J., Sharma, P., Hasan, M. R., Shetti, N. P., & Mascarenhas, R. J. (2022). Carbon and carbon paste electrodes. In *Electrochemical Sensors* (pp. 79-114). Woodhead Publishing.



## ANEXOS

### Anexo 1: Tabla de distribución t para dos colas

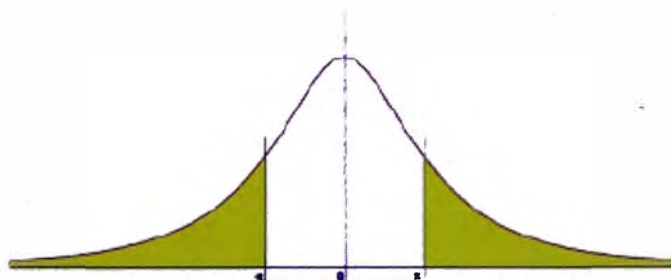


Tabla distribución t. Dos colas, probabilidad dentro(%)//fuera(0.00) del intervalo  $\mu \pm t_{n-1} \sigma/\sqrt{n}$

<i>Valor de t para un intervalo de confianza de</i> <i>Valor crítico de  t  para valores de P de número</i> <i>de grados de libertad</i>	<i>90%</i>	<i>95%</i>	<i>98%</i>	<i>99%</i>
	<i>0.10</i>	<i>0.05</i>	<i>0.02</i>	<i>0.01</i>
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
$\infty$	1.64	1.96	2.33	2.58

## Anexo 2: Distribución F para una cola (95% de confianza)

Facultad Regional Mendoza  
LTM

**Tabla D.9: VALORES CRÍTICOS DE LA DISTRIBUCIÓN F (0,05)**

Área a la derecha del valor crítico = 0,05

f 0.05

g.d.	Grados de libertad del Numerador															g.d.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,0	243,9	244,7	245,4	245,9	1
2	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,330	19,353	19,371	19,385	19,396	19,405	19,413	19,419	19,424	19,429	2
3	10,128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812	8,786	8,763	8,745	8,729	8,715	8,703	3
4	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999	5,964	5,936	5,912	5,891	5,873	5,858	4
5	6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772	4,735	4,704	4,678	4,655	4,636	4,619	5
6	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099	4,060	4,027	4,000	3,976	3,956	3,938	6
7	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677	3,637	3,603	3,575	3,550	3,529	3,511	7
8	5,318	4,459	4,066	3,838	3,687	3,581	3,500	3,438	3,388	3,347	3,313	3,284	3,259	3,237	3,218	8
9	5,117	4,256	3,863	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179	3,137	3,102	3,073	3,048	3,025	3,006	9
10	4,965	4,103	3,708	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020	2,978	2,943	2,913	2,887	2,865	2,845	10
11	4,844	3,982	3,587	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896	2,854	2,818	2,788	2,761	2,739	2,719	11
12	4,747	3,885	3,490	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796	2,753	2,717	2,687	2,660	2,637	2,617	12
13	4,667	3,806	3,411	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714	2,671	2,635	2,604	2,577	2,554	2,533	13
14	4,600	3,739	3,344	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646	2,602	2,565	2,534	2,507	2,484	2,463	14
15	4,543	3,682	3,287	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588	2,544	2,507	2,475	2,448	2,424	2,403	15
16	4,494	3,634	3,239	3,007	2,852	2,741	2,657	2,591	2,538	2,494	2,456	2,425	2,397	2,373	2,352	16
17	4,451	3,592	3,197	2,965	2,810	2,699	2,614	2,548	2,494	2,450	2,412	2,381	2,353	2,329	2,308	17
18	4,414	3,555	3,160	2,928	2,773	2,661	2,577	2,510	2,456	2,412	2,374	2,342	2,314	2,290	2,269	18
19	4,381	3,522	3,127	2,895	2,740	2,628	2,544	2,477	2,423	2,378	2,340	2,308	2,280	2,256	2,234	19
20	4,351	3,493	3,098	2,866	2,711	2,599	2,514	2,447	2,393	2,348	2,310	2,278	2,250	2,225	2,203	20
21	4,325	3,467	3,072	2,840	2,685	2,573	2,488	2,420	2,366	2,321	2,283	2,250	2,222	2,197	2,176	21
22	4,301	3,443	3,049	2,817	2,661	2,549	2,464	2,397	2,342	2,297	2,259	2,226	2,198	2,173	2,151	22
23	4,279	3,422	3,028	2,796	2,640	2,528	2,442	2,375	2,320	2,275	2,236	2,204	2,175	2,150	2,128	23
24	4,260	3,403	3,009	2,776	2,620	2,508	2,423	2,355	2,300	2,255	2,216	2,183	2,155	2,130	2,108	24
25	4,242	3,385	2,991	2,759	2,603	2,490	2,405	2,337	2,282	2,236	2,198	2,165	2,136	2,111	2,089	25
26	4,225	3,369	2,975	2,743	2,587	2,474	2,388	2,321	2,265	2,220	2,181	2,148	2,119	2,094	2,072	26
27	4,210	3,354	2,960	2,728	2,572	2,459	2,373	2,305	2,250	2,204	2,166	2,132	2,103	2,078	2,056	27
28	4,196	3,340	2,947	2,714	2,558	2,445	2,359	2,291	2,236	2,190	2,151	2,118	2,089	2,064	2,041	28
29	4,183	3,328	2,934	2,701	2,545	2,432	2,346	2,278	2,223	2,177	2,138	2,104	2,075	2,050	2,027	29
30	4,171	3,316	2,922	2,690	2,534	2,421	2,334	2,266	2,211	2,165	2,126	2,092	2,063	2,037	2,015	30
31	4,160	3,305	2,911	2,679	2,523	2,409	2,323	2,255	2,199	2,153	2,114	2,080	2,051	2,026	2,003	31
32	4,149	3,295	2,901	2,668	2,512	2,399	2,313	2,244	2,189	2,142	2,103	2,070	2,040	2,015	1,992	32
33	4,139	3,285	2,892	2,659	2,503	2,389	2,303	2,235	2,179	2,133	2,093	2,060	2,030	2,004	1,982	33
34	4,130	3,276	2,883	2,650	2,494	2,380	2,294	2,225	2,170	2,123	2,084	2,050	2,021	1,995	1,972	34
35	4,121	3,267	2,874	2,641	2,485	2,372	2,285	2,217	2,161	2,114	2,075	2,041	2,012	1,986	1,963	35
40	4,085	3,232	2,839	2,606	2,449	2,336	2,249	2,180	2,124	2,077	2,038	2,003	1,974	1,948	1,924	40
60	4,001	3,150	2,758	2,525	2,368	2,254	2,167	2,097	2,040	1,993	1,952	1,917	1,887	1,860	1,836	60
80	3,980	3,111	2,719	2,486	2,329	2,214	2,126	2,056	1,999	1,951	1,910	1,875	1,845	1,817	1,793	80
90	3,947	3,098	2,706	2,473	2,316	2,201	2,113	2,043	1,986	1,938	1,897	1,861	1,830	1,803	1,779	90
100	3,936	3,087	2,696	2,463	2,305	2,191	2,103	2,032	1,975	1,927	1,886	1,850	1,819	1,792	1,768	100
120	3,920	3,072	2,680	2,447	2,290	2,175	2,087	2,016	1,959	1,910	1,869	1,834	1,803	1,775	1,750	120
inf.	3,841	2,996	2,605	2,372	2,214	2,099	2,010	1,938	1,880	1,831	1,789	1,752	1,720	1,692	1,666	inf.

**Anexo 3: Certificado del material de referencia (Solución estándar de 1000 mg L<sup>-1</sup> MeHgCl)**



**Product Specification**

**33553 Methylmercury(II) chloride, standard solution in H<sub>2</sub>O, Methylmercury(II) chloride 1000ppm by AA**

Product Number: 33553  
CAS number: 115-09-3  
MDL number: MFCD00013592  
Molecular formula: CH<sub>3</sub>HgCl  
Molecular weight: 251.08

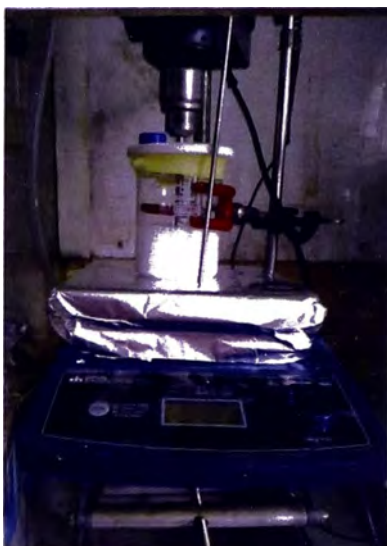
**Product Specification**

Concentration: 1,000 µg/ml Methylmercury(II) chloride  
Concentration: 1,000µg/mL ±1%  
Concentration: 1000µg/ml Methylmercury(II) chloride  
Matrix: Water  
Matrix: Water  
Starting Material: CH<sub>3</sub>HgCl  
Starting Material: Methylmercury(II) chloride  
Starting Material: Methylmercury(II) chloride

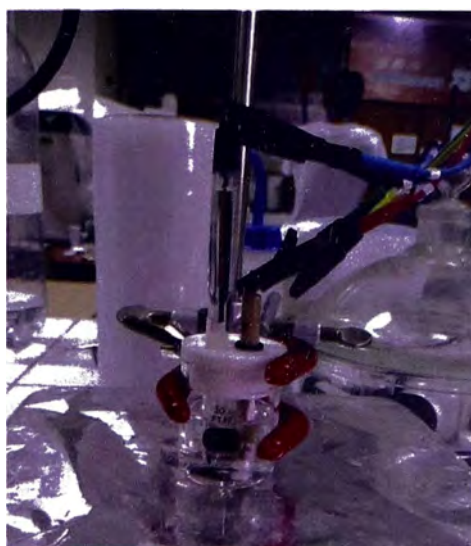
Date of Print: June 6, 2022  
Version: 1

Product Specifications are subject to amendment and may change over time

**Anexo 4: Imágenes de la parte experimental realizada**



**Figura I . Síntesis de los polímeros IIP-MBI-AA y IIP-MBT-AA**



**Figura II . Celda electroquímica para 3 electrodos**



**Figura III . Equipos utilizados para la medición de  $\text{MeHg}^+$  empleando el sensor electroquímico CPE / MWCNTs / IIP-  $\text{MeHg}^+$**